



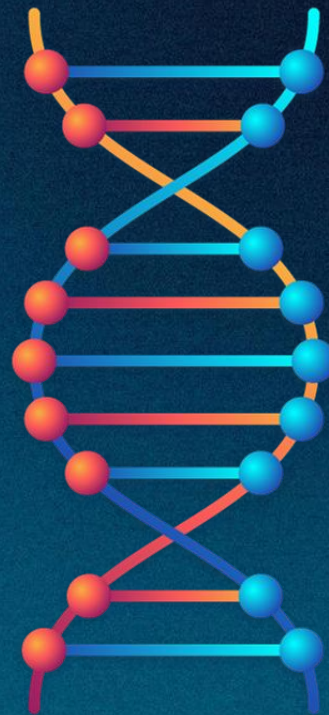
:

DPNI des maladies monogéniques

Etat des lieux et perspectives

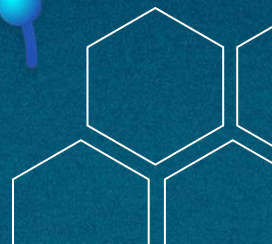


01/10/2025



Dr Juliette NECTOUX

Fédération de Génétique et de Médecine Génomique
APHP.Centre - Université Paris Cité - Hôpital Cochin



DPNI des Maladies Monogéniques

Contexte

- Plusieurs milliers de gestes invasifs réalisés chaque année
→ *Anxiété accrue pour les parents*
- Avancées de la médecine génomique et prénatale
→ *Options thérapeutiques in utero ou en période néonatale*
- Nécessité de proposer un diagnostic prénatal précoce, fiable et sûr
→ *Permettre aux parents de prendre des décisions éclairées*
→ *Adapter la prise en charge de la grossesse et de l'accouchement...*

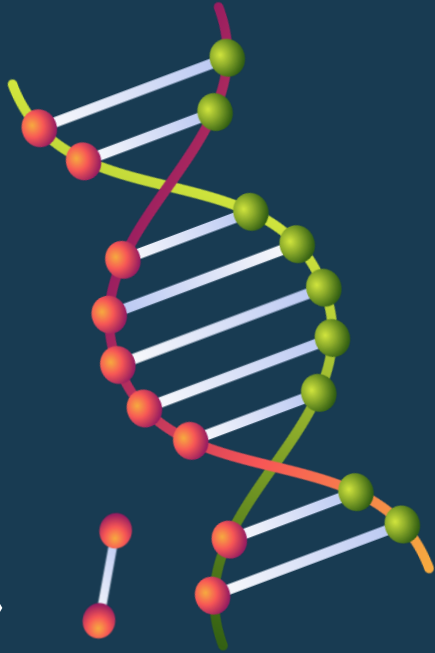
	Nombre de laboratoires avec une activité	Nombre d'examens ⁽¹⁾	Nombre de résultats positifs ⁽²⁾
Génétique			
• ADNic : dépistages d'aneuploidies	23	124861	1712
• ADNic : déterminations du rhésus fœtal	12	71361	23566
• Caryotypes avec ou sans ACPA	47	13434	3679
• ACPA seule	37	8465	385
• Maladies monogéniques ⁽³⁾	55	2958	506
Biologie infectieuse			
• Virologie	31	4428	234
• Toxoplasmose	26	827	45
Biochimie et marqueurs sériques			
• Marqueurs sériques maternels	65	601326	111779
• Déficit de fermeture du tube neural	5	278	174

Rapport Annuel 2023– Agence de Biomédecine



Le “D” de DPNI...

Diagnostic ou Dépistage ?



DPNI des aneuploïdies → **Dépistage**

Risque de faux positifs dus aux mosaïques confinées au placenta
Nécessité de confirmation par un test invasif



DPNI maladies monog → **Diagnostic**

Tests ciblés pour grossesses à haut risque
Pas de mosaïques confinées au placenta pour les variants hérités
Pas de nécessité de confirmation par un test invasif

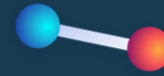


DPNI maladies monog → **Dépistage**

Tests commercialisés à l'étranger
Grossesses à bas risque, plusieurs gènes ciblés
Nécessité de confirmation par un prélèvement invasif
Controverse ++

DPNI des Maladies Monogéniques

Applications

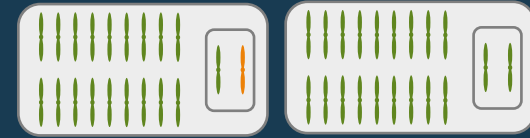


Détection Qualitative de Variants Absents du Génome Maternel

- Maladies associées à des variants *de novo*
Achondroplasie, TD, Syndrome d'Apert... → SAE ou mosaïque germinale
- Maladies dominantes de transmission paternelle
Neurofibromatose de Type 1..... → risque de transmission = 50%
- Diagnostic d'exclusion des maladies récessives
Mucoviscidose, Beta-thalassémie... → risque de transmission = 25%

Mutant
allele

WT
allele

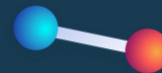


Orhant et al, Prenat Diag, 2016
Gruber et al, Clin Chem Lab Med, 2018
Pacault et al, BJOG, 2022
Verebi et al, GOFs, 2023



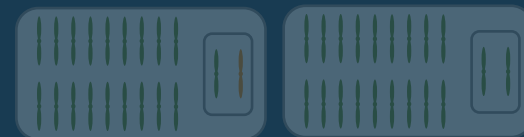
DPNI des Maladies Monogéniques

Applications



Détection Qualitative de Variants Absents du Génome Maternel

- Maladies associées à des variants *de novo*
Achondroplasie, TD, Syndrome d'Apert... → SAE ou mosaïque germinale
- Maladies dominantes de transmission paternelle
Neurofibromatose de Type 1,... → risque de transmission = 50%
- Diagnostic d'exclusion des maladies récessives
Mucoviscidose, Beta-thalassemie... → risque de transmission = 25%



Orhant et al, Prenat Diag, 2016
Gruber et al, Clin Chem Lab Med, 2018
Pacault et al, BJOG, 2022
Verebi et al, GOFs, 2023

Détection Quantitative de Variants Présents dans le Génome Maternel

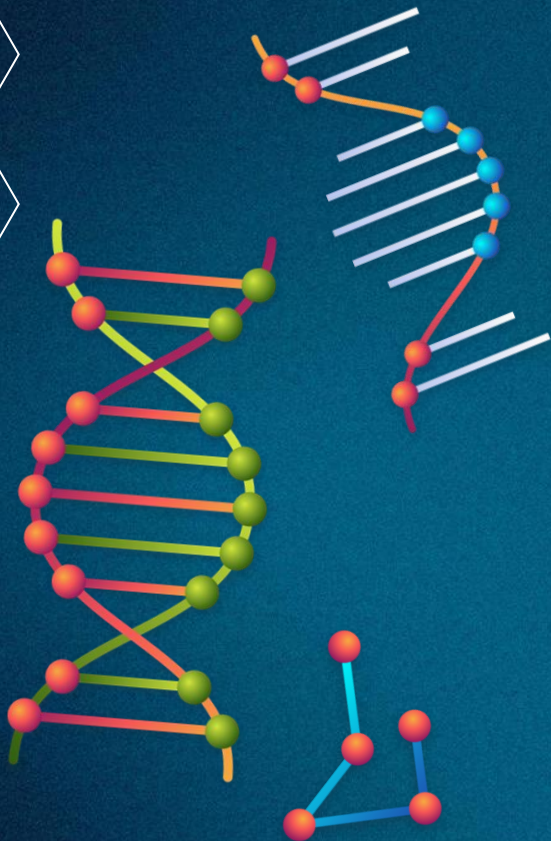
- Maladies liées à l'X
Dystrophie musculaire de Duchenne, Hémophilies...
- Maladies dominantes de transmission maternelle
Neurofibromatose de Type 1, Syndrome de Marfan ...
- Maladies récessives
Mucoviscidose, Amyotrophie spinale, Drépanocytose...



Pacault et al, PlosOne, 2023



Détection qualitative de variants absents du génome maternel



Détection Qualitative de Variants Absents du Génome Maternel

Evolutions techniques

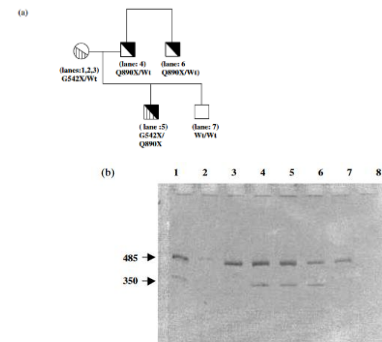
PCR – Digestion enzymatique

Prenatal Diagnosis 2002; 22: 946–948.
Published online in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com). DOI: 10.1002/pd.439

SHORT COMMUNICATION

Prenatal detection of a cystic fibrosis mutation in fetal DNA from maternal plasma

M. C. González-González¹*, M. García-Hoyos¹, M. L. Trujillo¹, M. Rodríguez de Alba¹, I. Landa-Sánchez¹, J. Díaz-Reusens¹, E. Gallardo², C. Ayuso² and C. Ramos¹



Gonzalez-Gonzalez et al, Clin. Chem, 2002

NGS – Panel de capture

DOI: 10.1002/pd.4392

Prenatal Diagnosis

ORIGINAL ARTICLE

Non-invasive prenatal diagnosis of achondroplasia and thanatophoric dysplasia: next-generation sequencing allows for a safer, more accurate, and comprehensive approach

Ivy S. Chitty^{1,2*}, Sarah Maslow³, Angela N. Baran⁴, Fiona McKay⁵, Nicholas Lench⁶, Rebecca Doherty⁷ and Lucy A. Jenkins⁸

Confirmed postnatal diagnosis	Mutation	Prenatal test result			NGS panel		
		True positive	False negative	Inconclusive	True positive	False negative	Inconclusive
Achondroplasia	c.11380C>A (p.C380Y)	14	0	1	8	0	0
	c.825A>T (p.Ser276Cys)	ND	ND	ND	0	1*	0
Thanatophoric dysplasia	c.382C>T (p.Arg128Gln)	4*	1*	1*	4*	0	0
	c.1948A>G (p.Lys633Glu)	3	0	3	0	0	0
	c.1118A>G (p.Tyr373Cys)	ND	ND	ND	2	0	0
	c.748C>G (p.Ser249Cys)	ND	ND	ND	2	0	0
	c.3417T>A (p.“8007Arg” 101)	ND	ND	ND	1	0	0
Does not carry CFTR mutation	45*	0	3	20*	0	0	0
Total		66	1	5	46	95.25 (81–99)	0
Sensitivity		88.0% (95% CI 71–96) taking into account that some positive in false negative					
Specificity		100% (85–100)					
Positive predictive value		100% (86–100)					
Negative predictive value		92.9 (83.5–97.8) taking into account that some positive in false negative					
Inconclusive rate		7%					

Chitty et al, Prenat. Diag, 2015

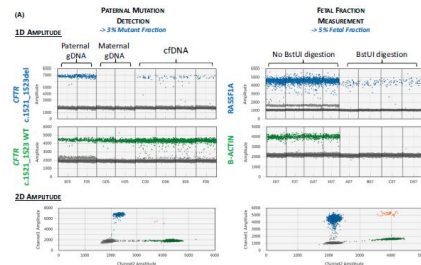
PCR digitale

Accepted 22 January 2022
DOI: 10.1111/1471-0541.17001

RESEARCH ARTICLE

Non-invasive prenatal diagnosis of single gene disorders by paternal mutation exclusion: 3 years of clinical experience

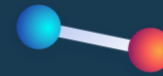
Mathilde Pacault^{1,2*}, Camille Verheul¹, Maureen Lopez¹, Nicolas Vancouleur¹, Lucie Orliant¹, Nathalie Debourgne¹, France Letoury¹, Dominique Vilard¹, Emmanuelle Girardon¹, Thierry Bieuvre¹, Juliette Nectoux¹



Pacault et al, BJOG, 2022

Détection Qualitative de Variants Absents du Génome Maternel

PCR digitale ddPCR

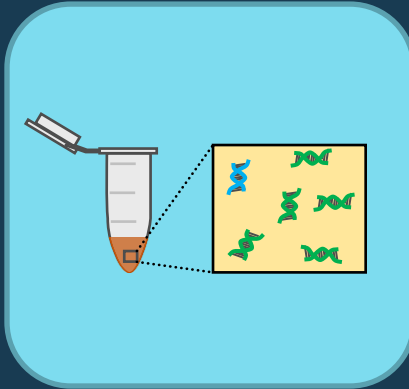


Extrême sensibilité et spécificité
Essais personnalisés, adaptés aux SNV
dans n'importe quel gène



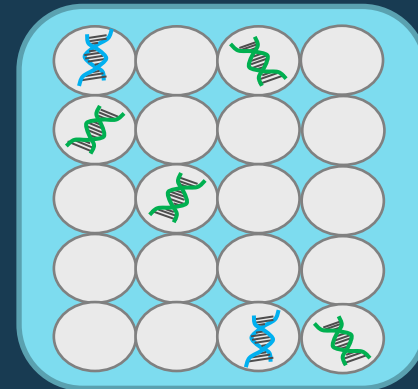
Ressources humaines et financières

01 Préparation de l'échantillon



02 Partitionnement

ADN distribué dans les microgouttelettes de l'émulsion



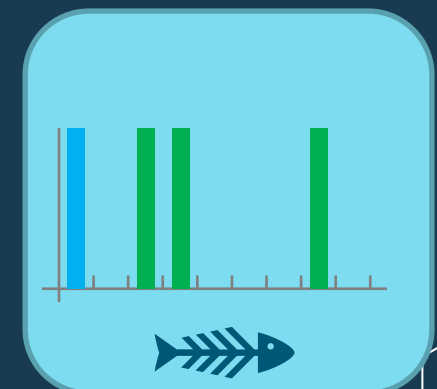
03 Amplification PCR

● Positive PCR
● Negative PCR



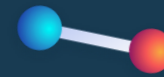
04 Comptage et Analyse

Détection d'un signal fluorescent
→ Quantification absolue

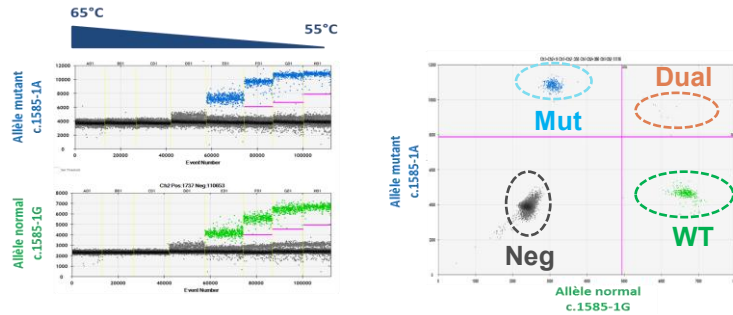


Détection Qualitative de Variants Absents du Génome Maternel

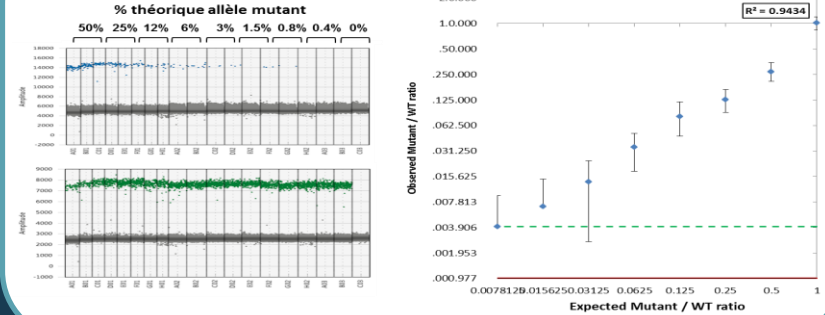
PCR digitale ddPCR



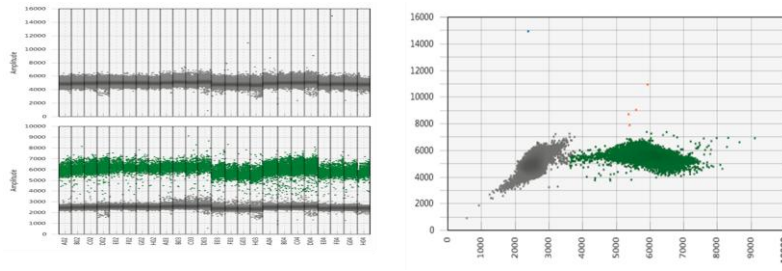
Gradient de Température



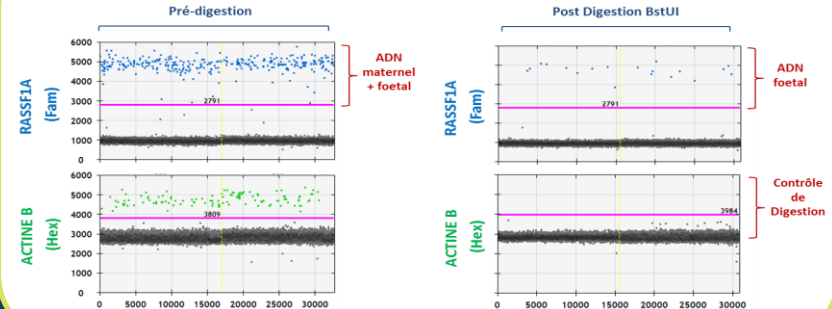
Linéarité



Sensibilité & spécificité



Evaluation de la fraction fœtale



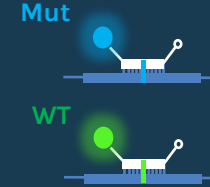
Détection Qualitative de Variants Absents du Génome Maternel

PCR digitale ddPCR

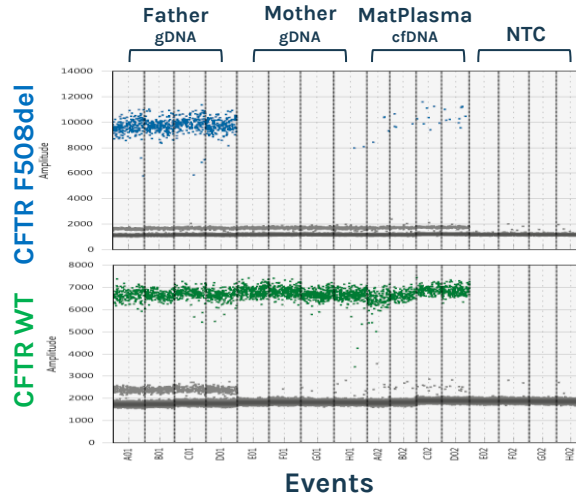
DPNI exclusion mucoviscidose



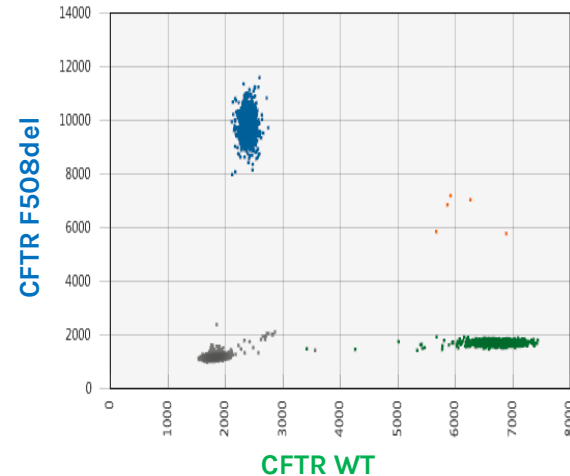
Family 17DP156
 $CFTR_{pat}$ p.Phe508del



1D amplitude



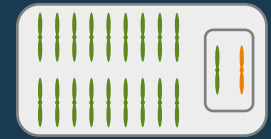
2D amplitude



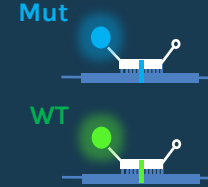
Détection Qualitative de Variants Absents du Génome Maternel

PCR digitale ddPCR

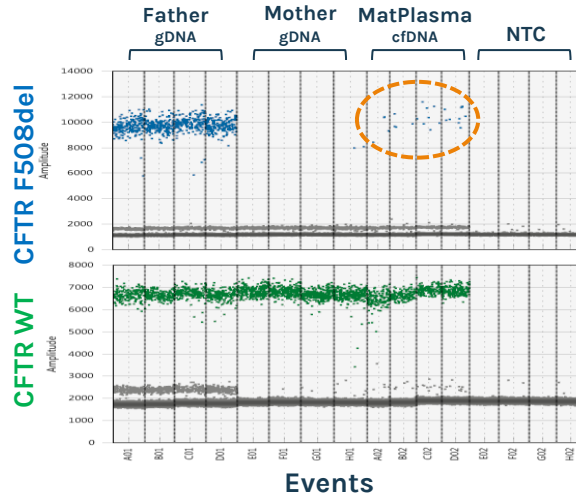
DPNI exclusion mucoviscidose



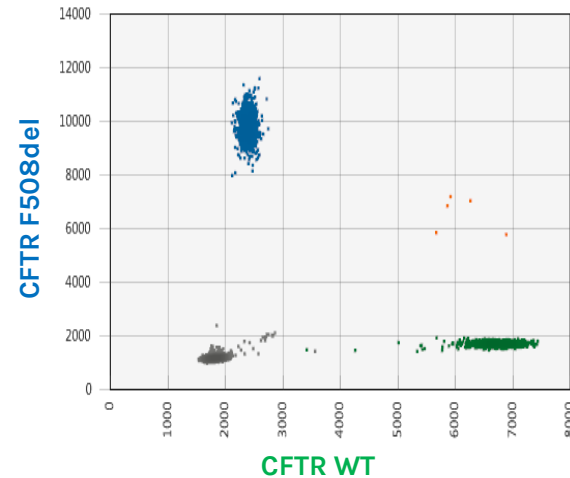
Family 17DP156
 $CFTR_{pat}$ p.Phe508del



1D amplitude

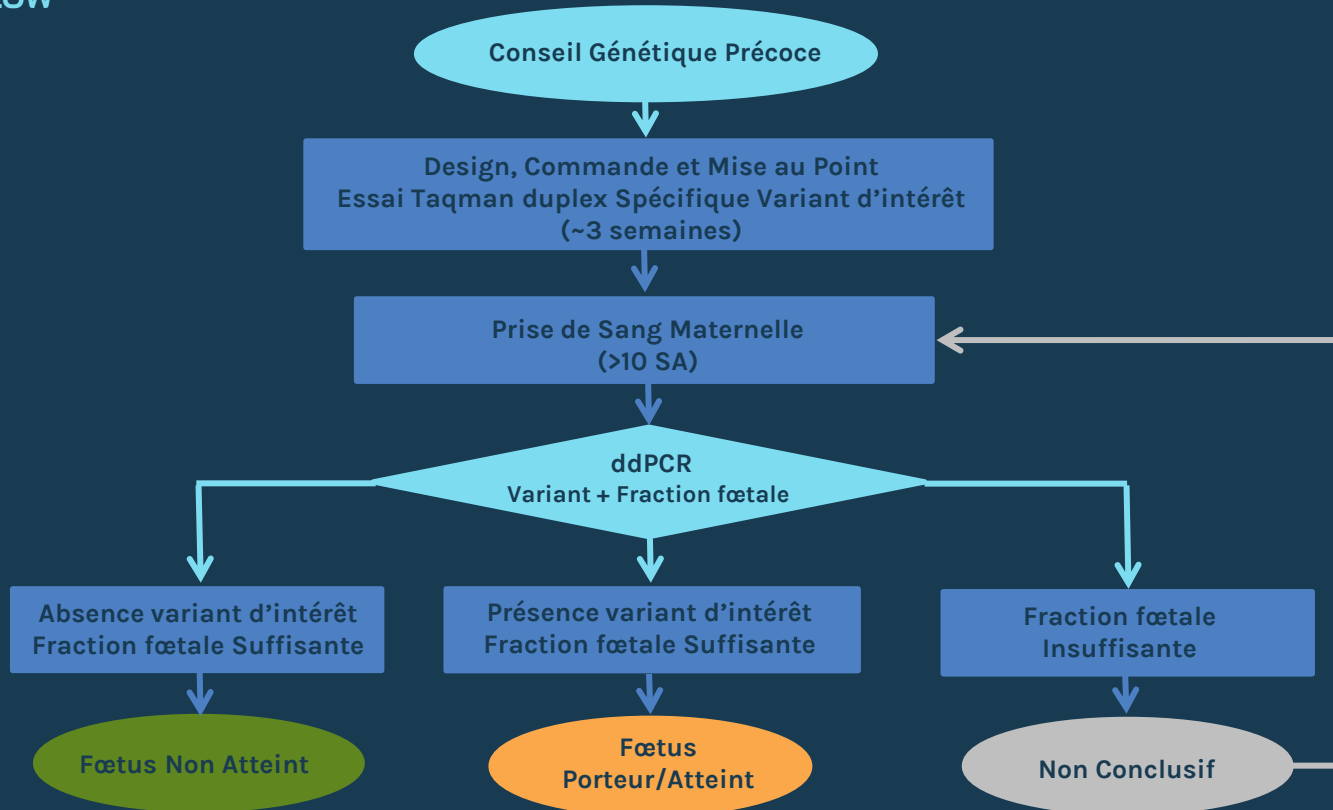


2D amplitude



DPNI d'exclusion des variants *de novo*/ paternels

WORKFLOW



Prélèvement Sanguin de
Confirmation
1 semaine plus tard

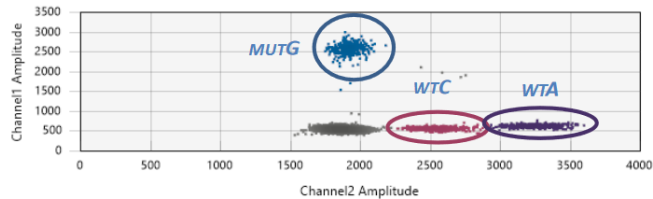
Si pathologie récessive : prélèvement
invasif pour statut mutation
maternelle

Gruber et al, Clin. Chem. Lab. Med., 2018
Pacault et al, BJOG, 2022

Détection Qualitative de Variants Absents du Génome Maternel

PCR digitale ddPCR

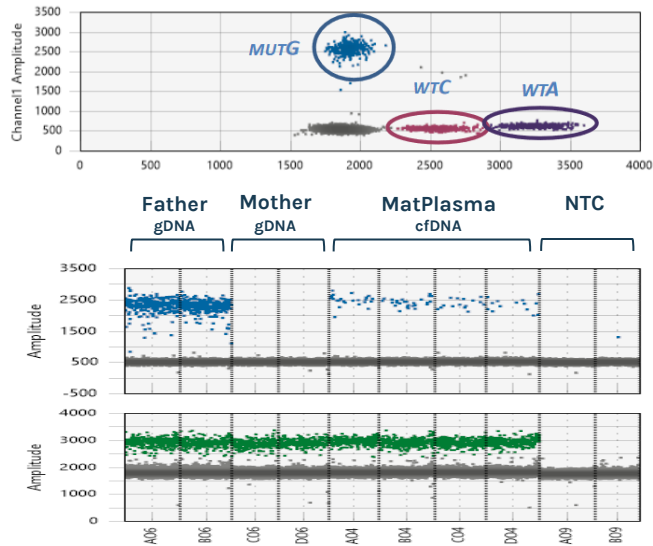
Spécificité : *CYP21A2* c.293-13A/C>G



Détection Qualitative de Variants Absents du Génome Maternel

PCR digitale ddPCR

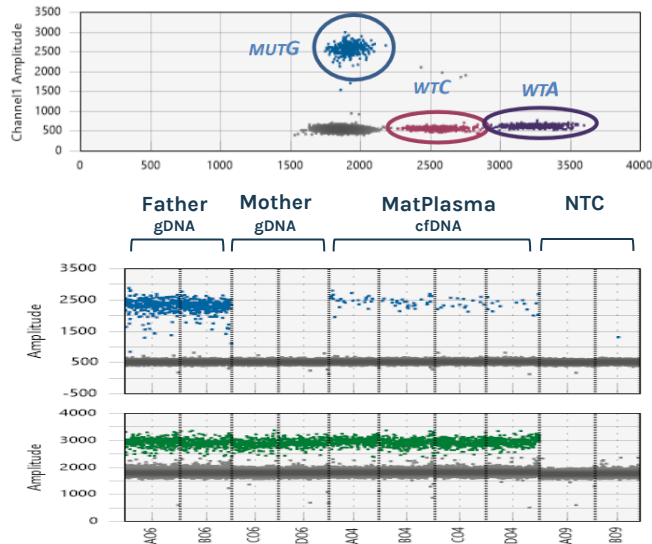
Spécificité : *CYP21A2* c.293-13A/C>G



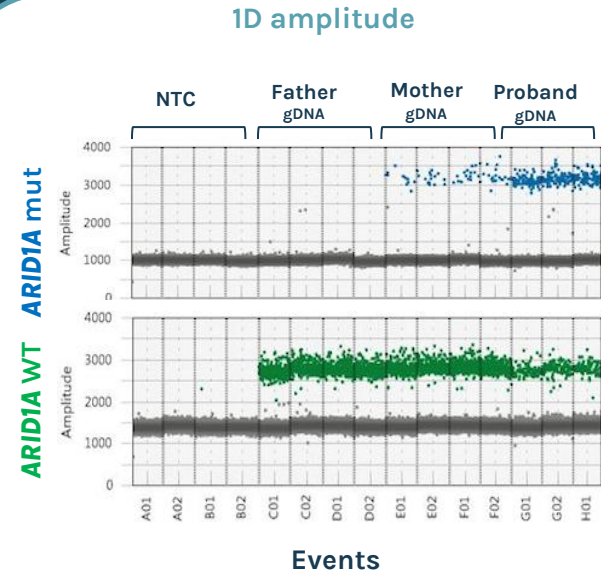
Détection Qualitative de Variants Absents du Génome Maternel

PCR digitale ddPCR

Spécificité : *CYP21A2* c.293-13A/C>G



Sensibilité : détection mosaïques

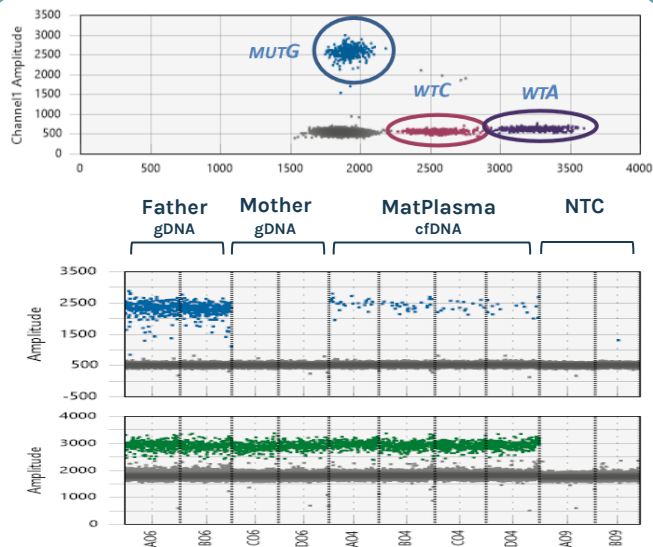


Dr Marie-Claire VINCENT, Dr Margot COMEL & Marina LAMAIRIA, Montpellier

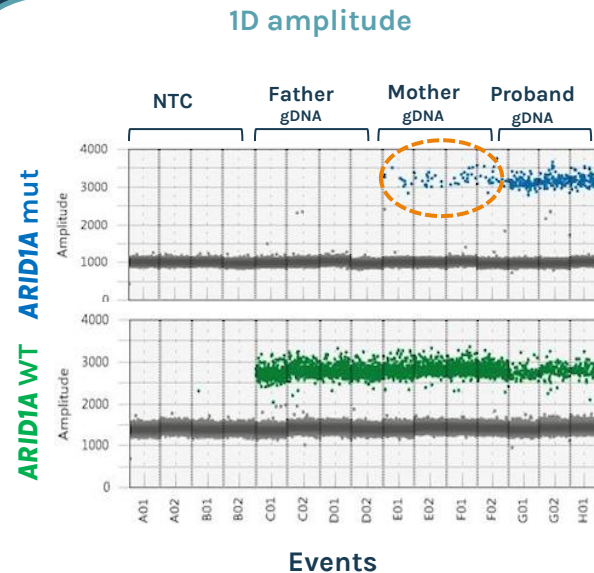
Détection Qualitative de Variants Absents du Génome Maternel

PCR digitale ddPCR

Spécificité : *CYP21A2* c.293-13A/C>G



Sensibilité : détection mosaïques

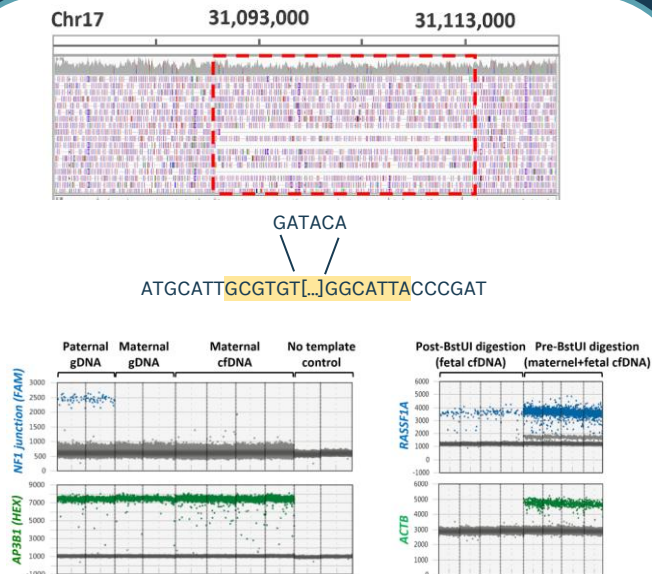


Dr Marie-Claire VINCENT, Dr Margot COMEL &
Marina LAMAIRIA, Montpellier

Détection Qualitative de Variants Absents du Génome Maternel

PCR digitale ddPCR

Flexibilité : design personnalisable



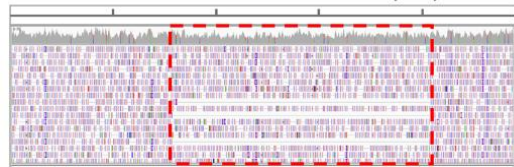
Dr. Dominique Vidaud
Pacot et al, Human Genetics, 2022

Détection Qualitative de Variants Absents du Génome Maternel

PCR digitale ddPCR

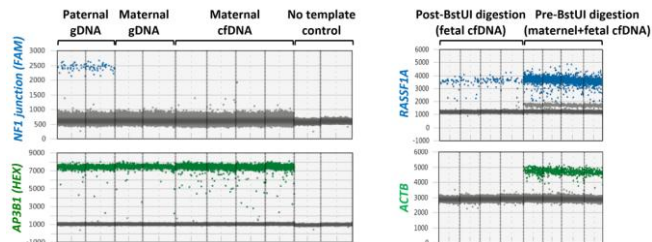
Flexibilité : design personnalisable

Chr17 31,093,000 31,113,000



GATACA

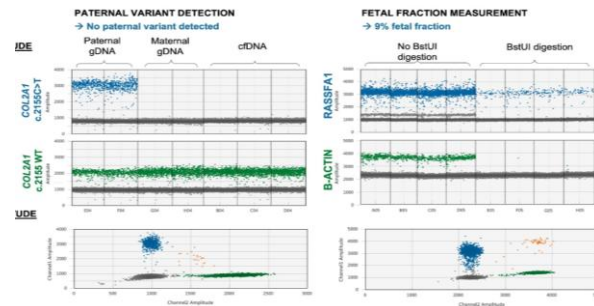
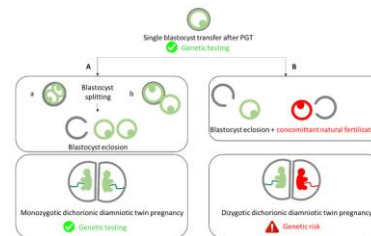
ATGCATTGCGTGT[.]GGCATTACCCGAT



Dr. Dominique Vidaud
Pacot et al, Human Genetics, 2022

Complémentarité avec le DPI

A. 7+6 WG



Dr. Marjolaine Willems
Brouillet et al, Int. J. Mol. Sci. 2022

DPNI d'exclusion des variants *de novo*/ paternels

BILAN D'ACTIVITÉ DU RÉSEAU FRANÇAIS 2017-2024



*The French
Connection**

	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024	Total
Maladies associées à des variants <i>de novo</i>	28	20	32	38	54	98	150	244	664
Maladies dominantes	3	7	2	17	23	40	40	51	183
Maladies récessives	21	18	24	49	72	88	128	102	502

1349

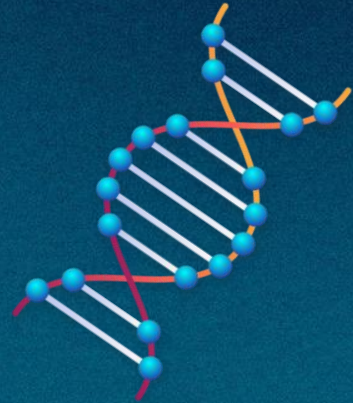
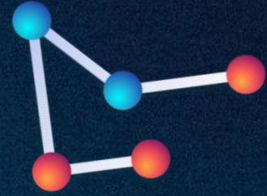
*

APHP CCH RDB, CHU Montpellier, CHU Brest

A venir : CHU Marseille, CHU Rouen, CHU Lille...

1349 tests

DPNI d'exclusion des variants *de novo* / paternels



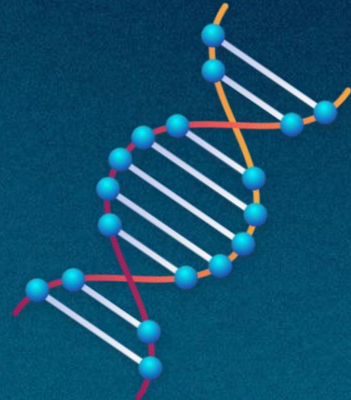
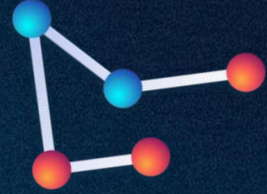


1349 tests

DPNI d'exclusion des variants *de novo* / paternels

540 essais, 280 gènes

Custom design pour les variants ponctuels, petites indel





1349 tests

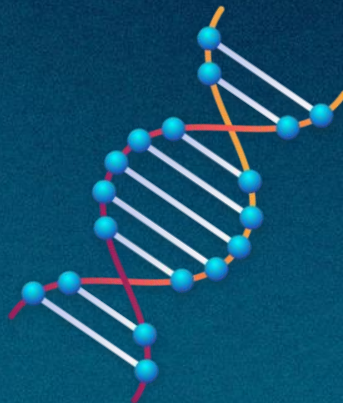
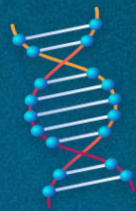
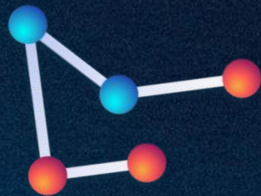
DPNI d'exclusion des variants *de novo* / paternels

540 essais, 280 gènes

Custom design pour les variants ponctuels, petites indel

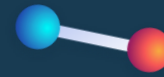
No, No, No

Faux positif, faux négatif, 



DPNI des Maladies Monogéniques

Applications



Détection Qualitative de Variants Absents du Génome Maternel

- Maladies associées à des variants *de novo*
Achondroplasie, Dysplasie thanatophore... → SAE ou mosaïque germinale
- Maladies dominantes de transmission paternelle
Neurofibromatose de Type 1,... → risque de transmission = 50%
- Diagnostic d'exclusion des maladies récessives
Mucoviscidose, Beta-thalassémie... → risque de transmission = 25%



Orhant et al, Prenat Diag, 2016
Gruber et al, Clin Chem Lab Med, 2018
Pacault et al, BJOG, 2022
Verebi et al, GOFs, 2023

Détection Quantitative de Variants Présents dans le Génome Maternel

- Maladies liées à l'X
Dystrophie musculaire de Duchenne, Hémophilies...
- Maladies dominantes de transmission maternelle
Neurofibromatose de Type 1, Syndrome de Marfan ...
- Maladies récessives
Mucoviscidose, Amyotrophie spinale, Drépanocytose...

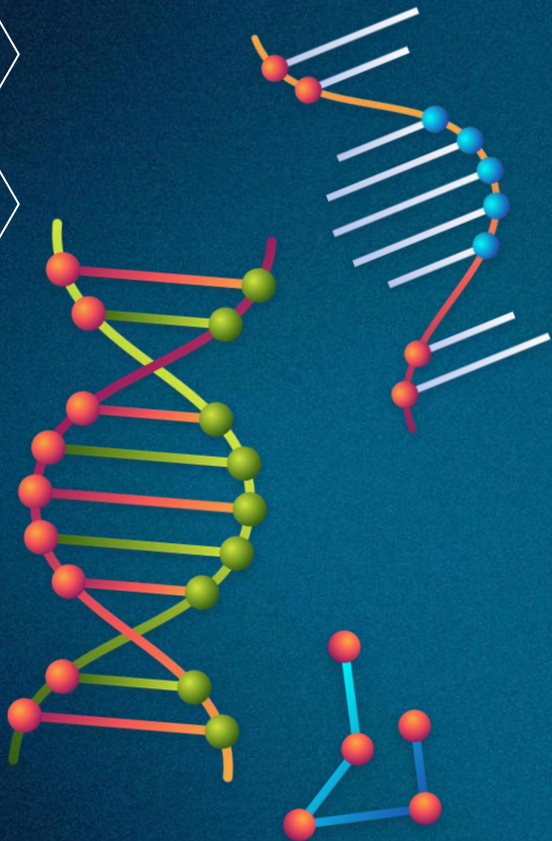


Pacault et al, PlosOne, 2023

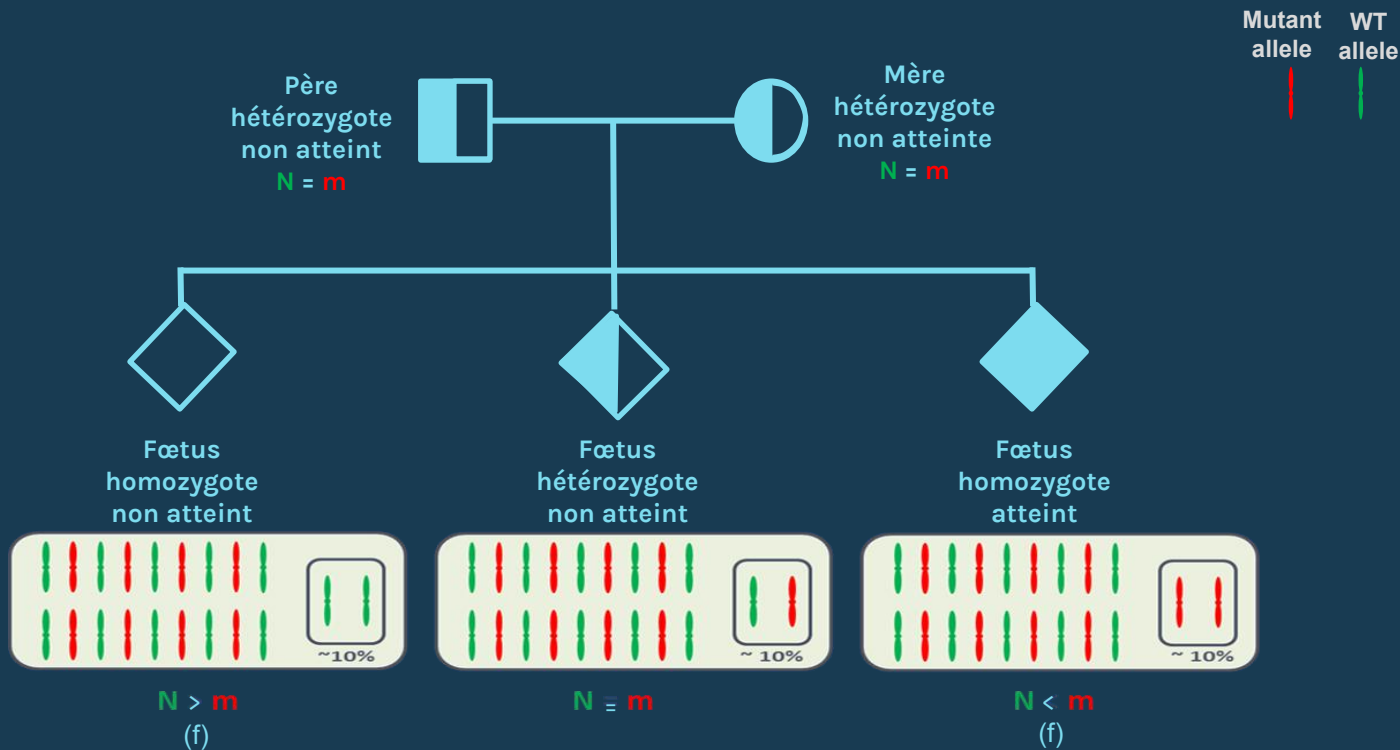




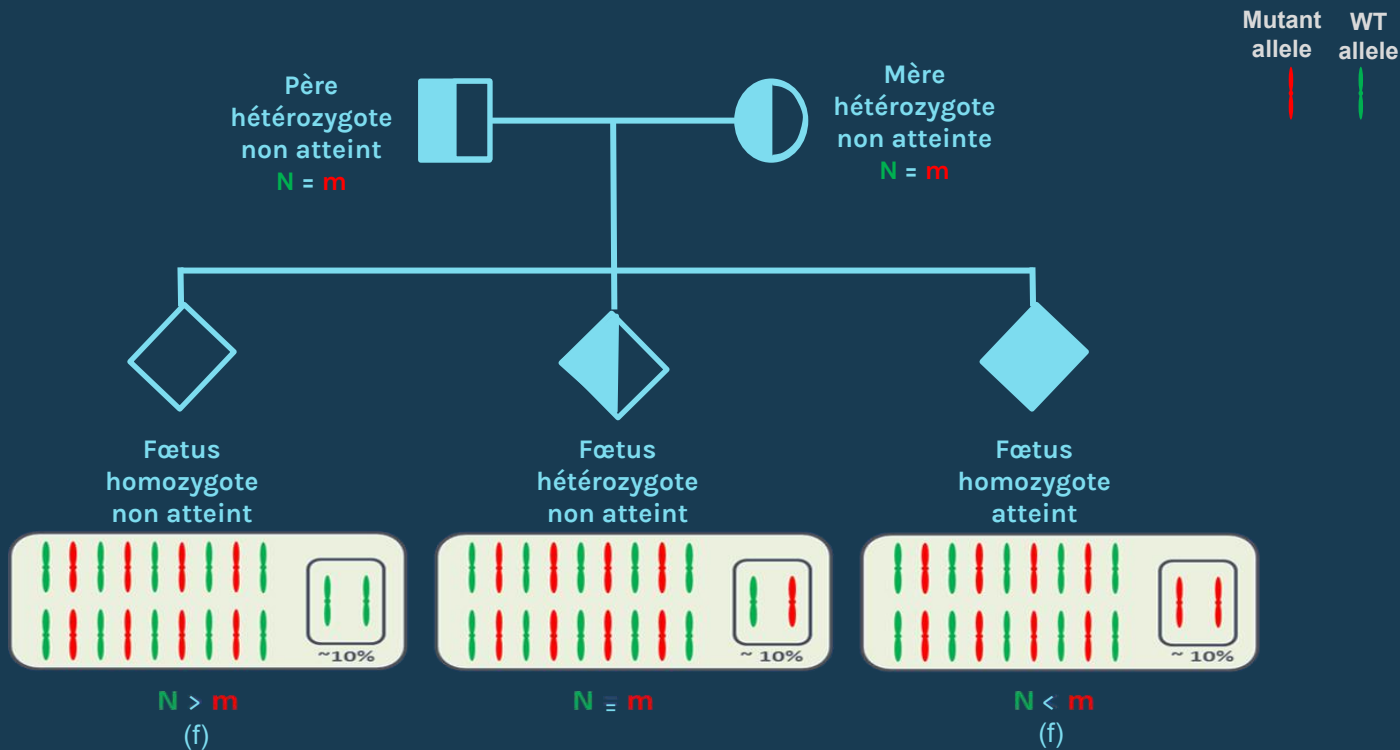
Détection quantitative de variants présents dans le génome maternel



Détection Quantitative de Variants Présents dans le Génome Maternel



Détection Quantitative de Variants Présents dans le Génome Maternel



Urgent need for 

Détection Quantitative de Variants Présents dans le Génome Maternel

Evolution des solutions proposées

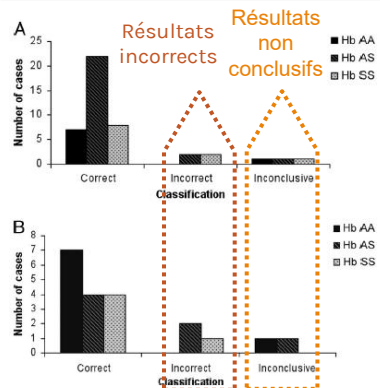
Dosage Relatif de Mutation RMD

Clinical Chemistry 58:6
1030-1037 (2012)

Molecular Diagnostics and Genetics

Digital PCR Analysis of Maternal Plasma for Noninvasive Detection of Sickle Cell Anemia

Angela N. Barrett,^{1,2} Thomas C.R. McDonnell,^{1,2} K.C. Allen Chan,³ and Lyn S. Chitty^{1,4*}



Lun et al, PNAS, 2008

Tsui et al, Blood, 2011

Barrett et al, Clin. Chem., 2012

Dosage relatif d'haplotype RHDO-SPRT

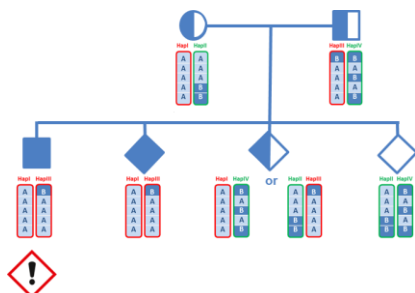
RESEARCH ARTICLE

PRENATAL DIAGNOSIS

Maternal Plasma DNA Sequencing Reveals the Genome-Wide Genetic and Mutational Profile of the Fetus

Y. M. Dennis Lo,^{1,2*} K. C. Allen Chan,^{1,2} Hao Sun,^{1,2} Eric Z. Chen,^{1,2} Peiyong Jiang,^{1,2} Fiona M. F. Lum,^{1,2} Yama W. Zheng,^{1,2} Tak Y. Leung,² Tze K. Lau,² Charles R. Cantor,⁴ Hessa W. K. Chiu^{1,2}

(Published 8 December 2010; Volume 2 Issue 61 61a201)



Lo et al, Sci. Transl. Med., 2010

Parks et al, Prenat. Diag., 2016

Parks et al, Eur. Jour. Hum. Genet., 2017

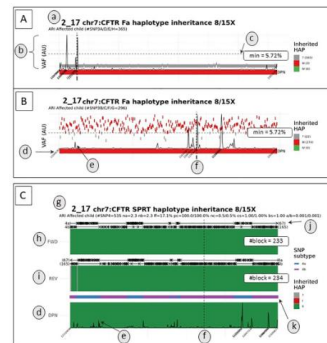
Chandler et al, Clin. Chem., 2020

Dosage relatif d'haplotype combiné RHDO-SPRT + RHDO-HMM

RESEARCH ARTICLE

Non-invasive prenatal diagnosis of single gene disorders with enhanced relative haplotype dosage analysis for diagnostic implementation

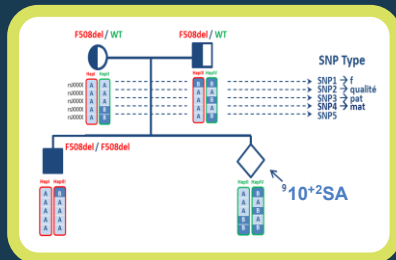
Mathilde Pacault,^{1,2} Camille Verreble,² Magali Champion,² Lucie Orhan,² Alexandre Perrier,² Emmanuelle Giron,² France Leturcq,² Dominique Vidaud,² Claude Férec,² Thierry Bienvenu,² Romain Daveau,² Juliette Nectoux,^{2*}



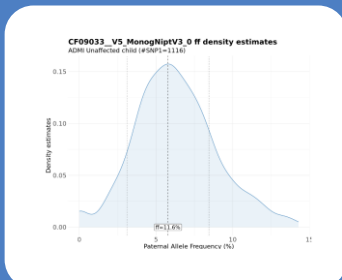
Pacault et al, PlosOne, 2023

Mucoviscidose

CFTR – Transmission AR



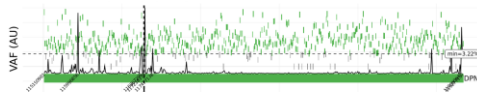
Estimation fraction fœtale
(#SNP1 → AA, BB)



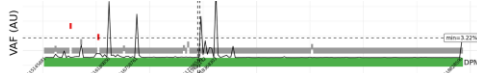
RHDO-SPRT

Détection qualitative de l'haplotype paternel (#SNP3 → AA, AB)

SNP haplotype paternel non à risque



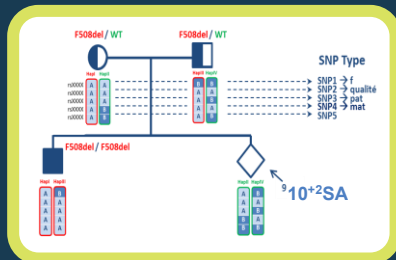
SNP haplotype paternel à risque



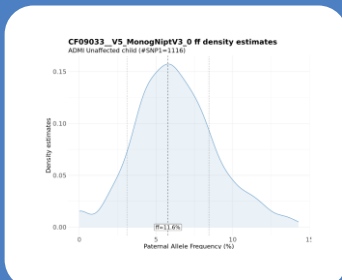
Détection quantitative de l'haplotype maternel (#SNP4 → AB, AA)

Mucoviscidose

CFTR – Transmission AR



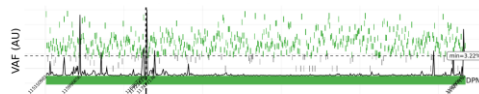
Estimation fraction fœtale (#SNP1 → AA, BB)



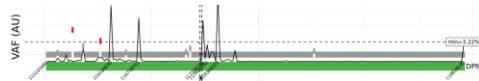
RHDO-SPRT

Détection qualitative de l'haplotype paternel (#SNP3 → AA, AB)

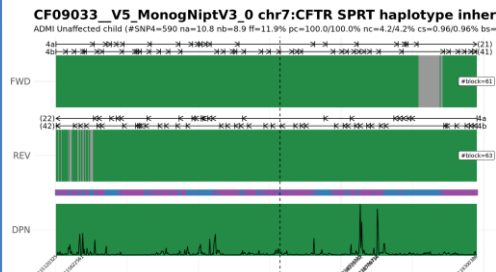
SNP haplotype paternel non à risque



SNP haplotype paternel à risque

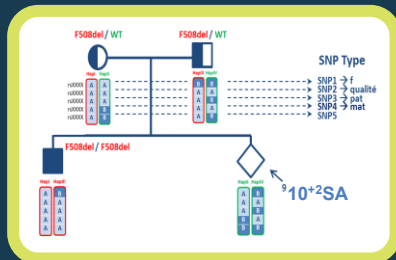


Détection quantitative de l'haplotype maternel (#SNP4 → AB, AA)

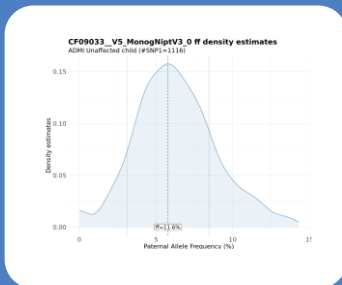


Mucoviscidose

CFTR – Transmission AR



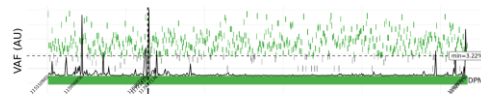
Estimation fraction fœtale (#SNP1 → AA, BB)



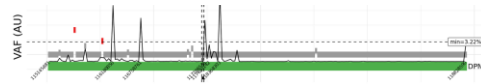
RHDO-SPRT

Détection qualitative de l'haplotype paternel (#SNP3 → AA, AB)

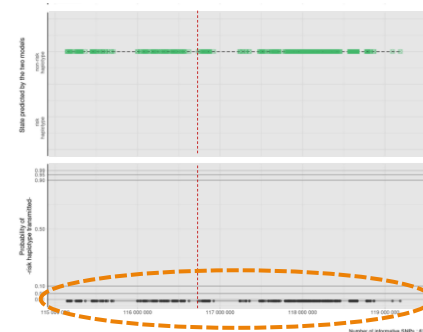
SNP haplotype paternel non à risque



SNP haplotype paternel à risque



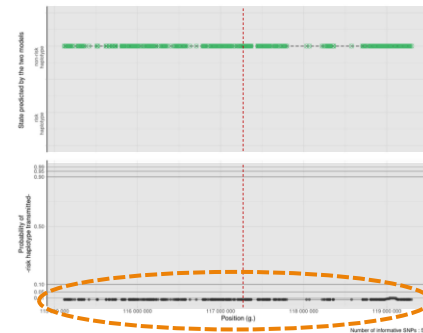
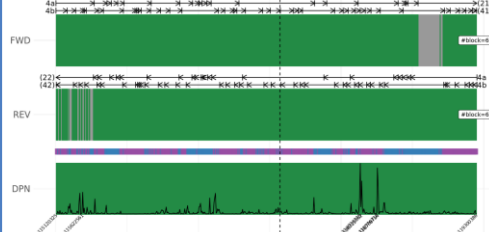
RHDO-HMM



Détection quantitative de l'haplotype maternel (#SNP4 → AB, AA)

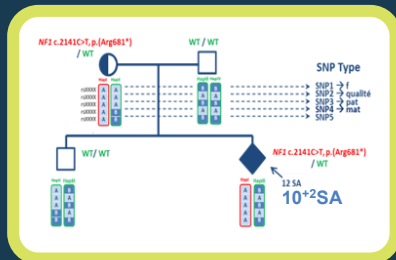
CF9033_V5_MonogNiptV3_0 chr7:CFTR SPRT haplotype inher

ADNM unaffected child (#SNP4=590 na=10.8 nb=8.9 pi=11.9% pc=100.0/100.0% nc=4.2/4.2% cs=0.96/0.96% bs=

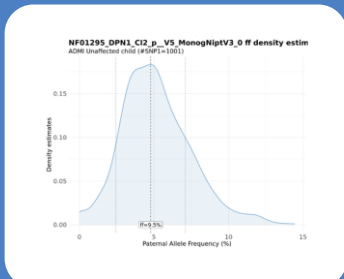


Neurofibromatose de type 1

NF1 – Transmission AD

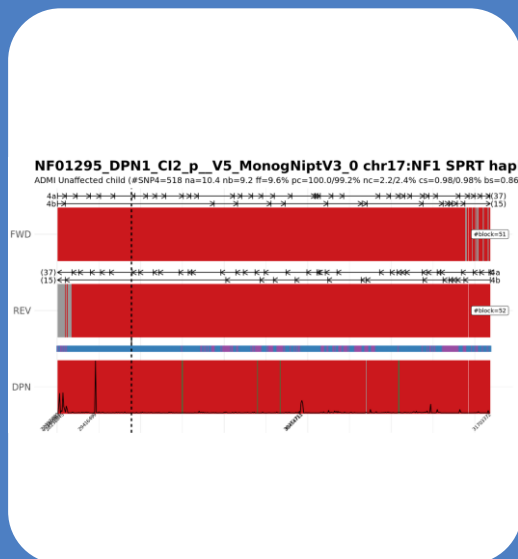


Estimation fraction fœtale (#SNP1 → AA, BB)

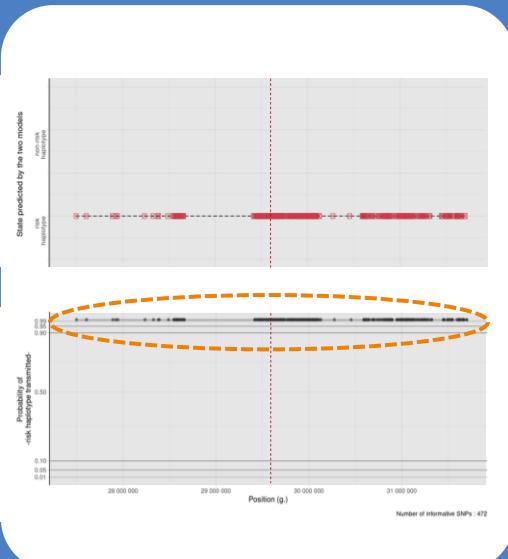


RHDO-SPRT

Détection quantitative de l'haplotype maternel (#SNP4 → AB, AA)

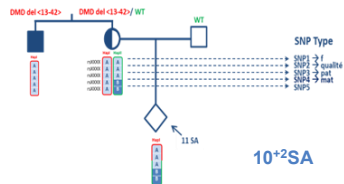


RHDO-HMM

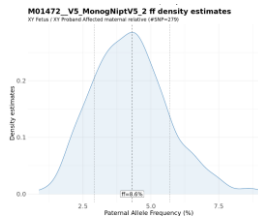


Myopathie de Duchenne

DMD – Transmission liée à l'X

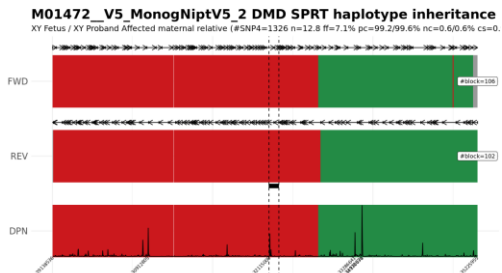


Estimation fraction fœtale
(#SNP1 → AA, BB)

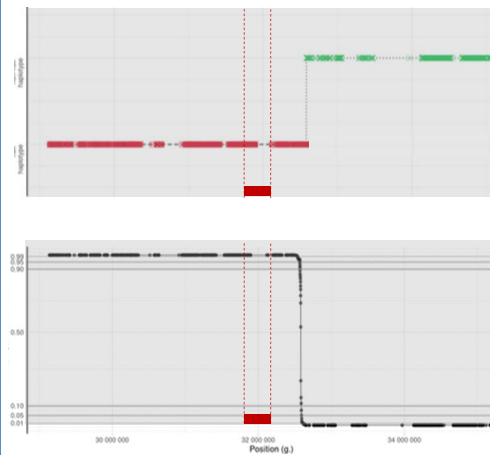


RHDO-SPRT

Détection quantitative de l'haplotype maternel (#SNP4 → AB, AA)



RHDO-HMM



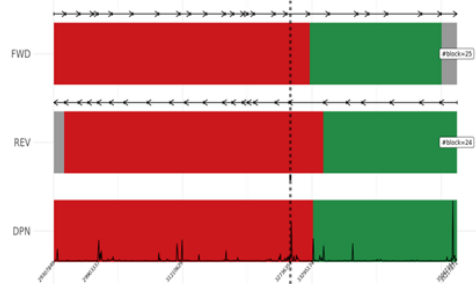
Enfin des statistiques !

De l'intérêt de combiner plusieurs approches statistiques

(1) En cas de recombinaison

M00689 DMD SPRT haplotype inheritance 8/15X

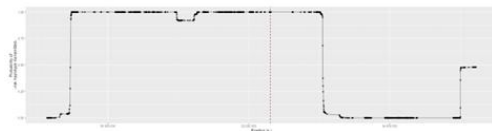
XY Fetus / XX Proband Affected close relative (#SNPs=624 n=25.5 f=4.4% pc=98.3% nc=3.2% cs=0.88 bs=0.69 al)



Input summary Sample statistics Father haplotype analysis Mother haplotype analysis SPRT results

Summary of the known data process

For identification of the maternal haplotype



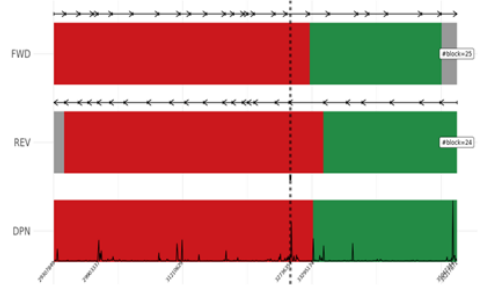
Enfin des statistiques !

De l'intérêt de combiner plusieurs approches statistiques

(1) En cas de recombinaison

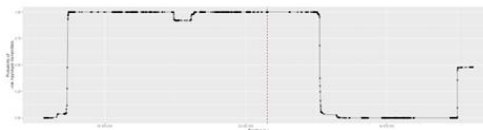
M00689 DMD SPRT haplotype inheritance 8/15X

XY Fetus / XX Proband Affected close relative (#SNP=624 n=25.5 f=4.4% pc=98.3% nc=3.2% cs=0.88 bs=0.69 al)



Input summary Sample statistics Father haplotype analysis Mother haplotype analysis Marker map

Summary of the Markov chain process for inheritance of the maternal haplotype

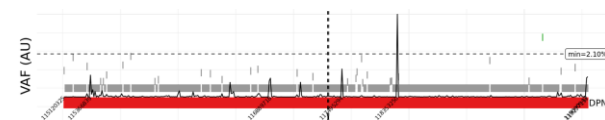


(2) En cas de consanguinité

Pas de SNP informatif sur

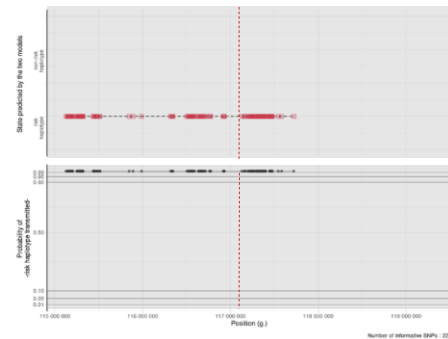
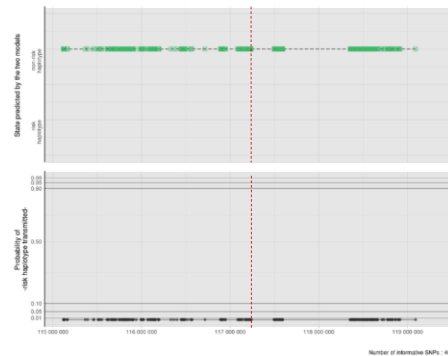
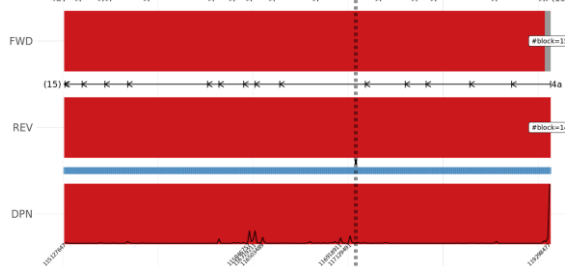
- l'haplotype paternel à risque
- l'haplotype maternel à risque

SNP haplotype paternel non à risque



CF11639_DPN1_C12_V5_MonogNiptV3_0 chr7:CFTR SPRT hapi

ADMI Unaffected child (#SNP=256 na=17.7 nb=0.0 f=7.8% pc=100.0/100.0% nc=0.6/0.6% cs=0.99/0.99% bs=)



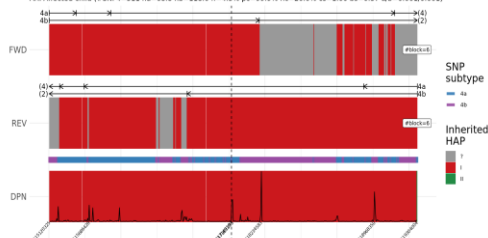
Enfin des statistiques !

De l'intérêt de combiner plusieurs approches statistiques

(3) En cas non conclusivité de l'une des 2 approches

CF10621 chr7:CFTR SPRT haplotype inheritance 8/15X

ARI Affected child (#SNP4=511 na=68.8 nb=118.0 R=4.5% pc=99.9% nc=20.0% cs=1.00 bs=0.37 ab=0.001/0.001)

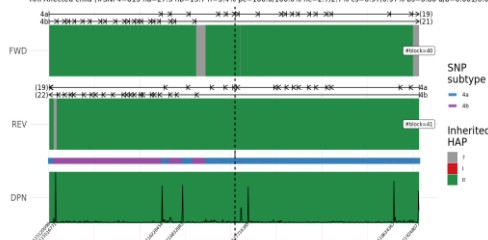


for Monogenic Maladies

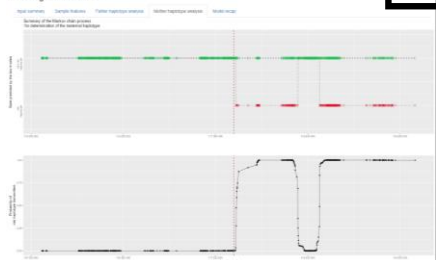


CF BR_BOUR chr7:CFTR SPRT haplotype inheritance 8/15X

ARI Affected child (#SNP4=813 na=27.3 nb=13.7 R=5.4% pc=100.0/100.0% nc=2.7/2.7% cs=0.97/0.97% bs=0.80 ab=0.001/0.001)

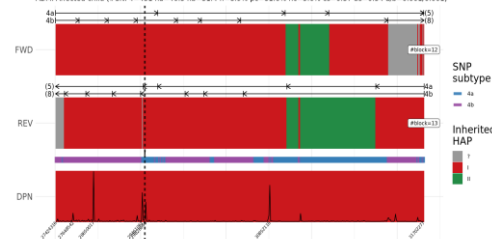


for Monogenic Maladies



NF01935 chr17:NF1 SPRT haplotype inheritance 8/15X

ADRI Affected child (#SNP4=431 na=40.5 nb=31.4 R=8.9% pc=81.6% nc=5.6% cs=0.37 bs=0.54 ab=0.001/0.001)



for Monogenic Maladies

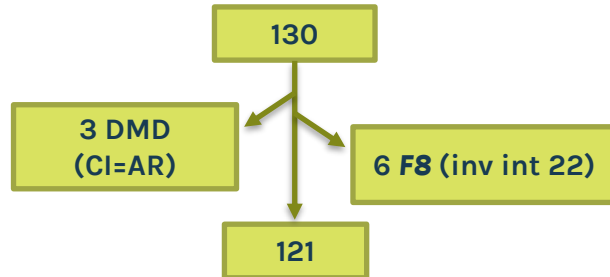


Etude DANNI

Résultats



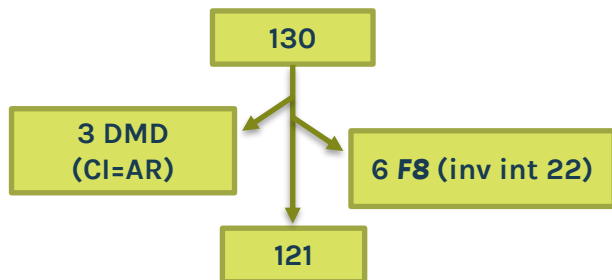
- 130 grossesses for 122 familles (12^{+6} SA, f=10%)
- Mucoviscidose (**CFTR**) n=57
 - ✓ Autosomal recessive transmission
- Neurofibromatose de type 1 (**NF1**) n=28
 - ✓ Autosomal dominant transmission
- Myopathie de Duchenne (**DMD**) n=26
 - ✓ X-linked recessive transmission
- Hémophilie A (**F8**) n=16
 - ✓ X-linked recessive transmission
- Hémophilie B (**F9**) n=3
 - ✓ X-linked recessive transmission



Etude DANNI

Résultats

- 130 grossesses for 122 familles (12⁺⁶ SA, f=10%)
- **Mucoviscidose (CFTR) n=57**
 - ✓ Autosomal recessive transmission
- **Neurofibromatose de type 1 (NF1) n=28**
 - ✓ Autosomal dominant transmission
- **Myopathie de Duchenne (DMD) n=26**
 - ✓ X-linked recessive transmission
- **Hémophilie A (F8) n=16**
 - ✓ X-linked recessive transmission
- **Hémophilie B (F9) n=3**
 - ✓ X-linked recessive transmission



RÉSULTATS RHDO-SPRT

- 117/121 analyses avec résultat conclusif & concordant
- 4/121 analyses avec résultat non conclusif
- 0/121 analyses avec résultat discordant

RÉSULTATS RHDO-HMM

- 118/121 analyses avec résultat conclusif & concordant
- 3/121 analyses avec résultat non conclusif
- 0/121 analyses analyses avec résultat discordant

En combinant les approches SPRT et HMM

Spécificité = 100% (120 concordants / 120 conclusifs)

Sensibilité = 99% (120 conclusifs & concordants / 121 résultats)



The French Connection** *is back*

Maladie monogénique	Gène
Drépanocytose	HBB
Mucoviscidose	CFTR
Syndrome X Fragile	FMR1
Amyotrophie spinale	SMN1
Dystrophie myotonique de Steinert	DMPK
Dystrophie musculaire de Duchenne	DMD
Neurofibromatose de type 1	NF1

Maladie monogénique	Gène
Maladie de Huntington	HTT
Hémophilie A	F8
Hémophilie B	F9
Maladie de Menkes	ATP7A
Hydrocéphalie liée à l'X	L1CAM
Polykystose rénale	PKHD1
Diabète MODY-GCK	GCK



▪ Quand y penser et où envoyer les prélèvements?

Pathologie	Gène	DPN invasif	DPNI (4 tubes BCT)
Maladie de Menkes	ATP7A	Lyon	TOU
Mucoviscidose	CFTR	Besançon ou CCH	CCH (ou BDX, BRE, MPL, STB, TOU)
Myopathie Duchenne/Becker	DMD	CCH	CCH
Dystrophie de Steinert	DMPK	STB	STB (ou BDX, MPL, TOU)
Hémophilie A ou B	F8, F9	-	CCH
Syndrome X Fragile	FMR1	Besançon	CCH (ou BDX, BRE, MPL, STB, TOU)
Drépanocytose	HBB	Mondor	RDB (ou BDX)
Maladie Huntington	HTT	STB, Nancy	MPL
Hydrocéphalie liée à l'X	L1CAM	-	ROU
Neurofibromatose type 1	NF1	CCH	CCH
Polykystose rénale AR	PKHD1	Lyon	BRE
Amyotrophie Spinale	SMN1	ROU	ROU (ou RDB)
Diabète MODY-GCK	GCK	Post natal à PSL	PSL

BDX : CHU Bordeaux; BRE : CHU Brest; CCH : APHP Cochin; MPL : CHU Montpellier;
PSL : APHP Robert Debré; ROU : CHU Rouen; STB : CHU Strasbourg; TOU : CHU
Tours

▪ Compléter

- ✓ **Consentement**
- ✓ **eCRF**
- ✓ **Feuille de suivi du prélèvement**



Date de réunion de mise en place :
N° Centre / service :

90 inclusions à ce jour !!



Inclusion

- ✓ Femme enceinte > 9SA
- ✓ Grossesse singleton
- ✓ Effectuant un DPN invasif dans un contexte d'antécédent familial
- ✓ Variant.s pathogène.s paternel et/ou maternel précédemment identifié.s
- ✓ Agée de 18 ans ou plus
- ✓ Ayant signé un consentement éclairé

Non inclusion

- ✓ DPN sur risque de mosaïque germinale (variant pathogène *de novo* chez un enfant précédent)
- ✓ Femme sous protection juridique
- ✓ Autre maladie génétique



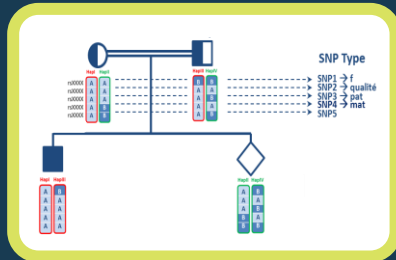
Une question réglementaire? noemie.baudoin@aphp.fr

Une question médicale? juliette.nectoux@aphp.fr

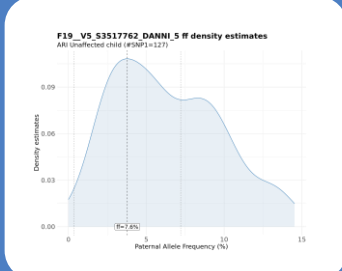
Etude DANNI_{gene}

AMYOTR. SPINALE

SMN1 – Transmission AR



Estimation fraction fœtale (#SNP1 → AA, BB)



RHDO-SPRT

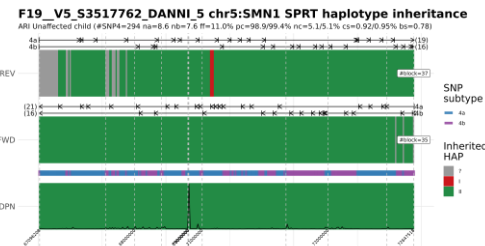
Détection qualitative de l'haplotype paternel (#SNP3 → AA, AB)

SNP haplotype paternel non à risque



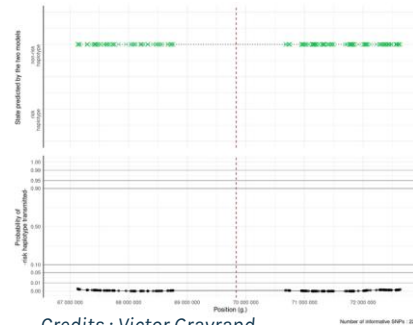
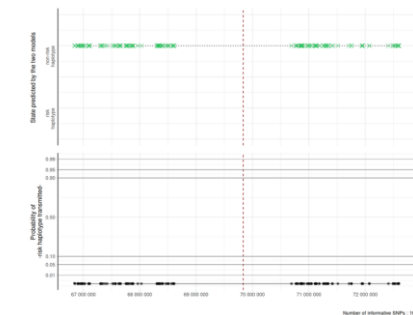
SNP haplotype paternel à risque

Détection quantitative de l'haplotype maternel (#SNP4 → AB, AA)



Credits : Joseph Guillet

RHDO-HMM

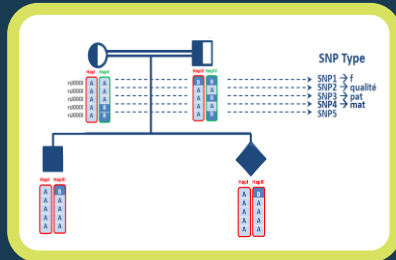


Credits : Victor Gravrand

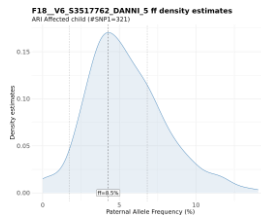
Etude DANNI_{gene}

DRÉPANOCYTOSE

HBB – Transmission AR



Estimation fraction fœtale (#SNP1 → AA, BB)

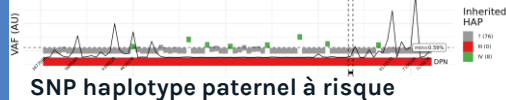


RHDO-SPRT

Détection qualitative de l'haplotype paternel (#SNP3 → AA, AB)

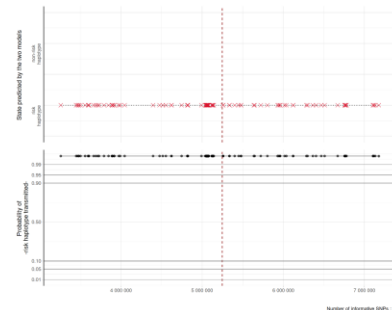
SNP haplotype paternel non à risque

F18_V6_S3517762_DANNI_5 chr11:HBB Fa haplotype inheritance
ARI Affected child (#SNP3A/CDEH=84)



SNP haplotype paternel à risque

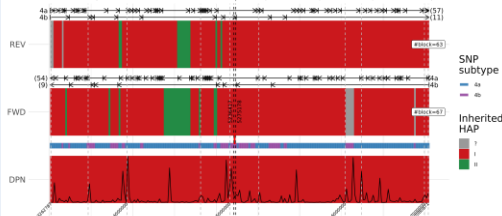
RHDO-HMM



Détection quantitative de l'haplotype maternel (#SNP4 → AB, AA)

F18_V6_S3517762_DANNI_5 chr11:HBB SPRT haplotype inheritance

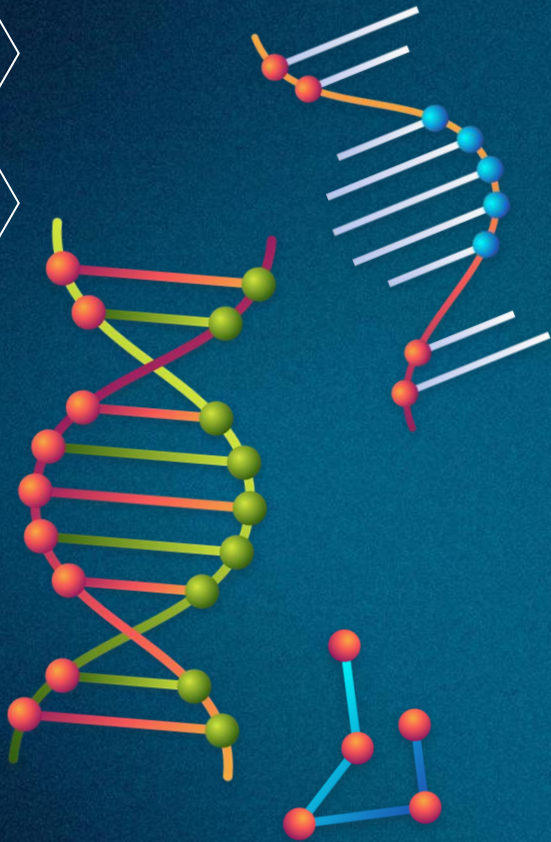
ARI Affected child (#SNP4=227 na=3.2 nb=5.3 ff=8.2% pc=93.6/92.3% nc=2.0/2.0% cs=0.58/0.54% bz=0.87)



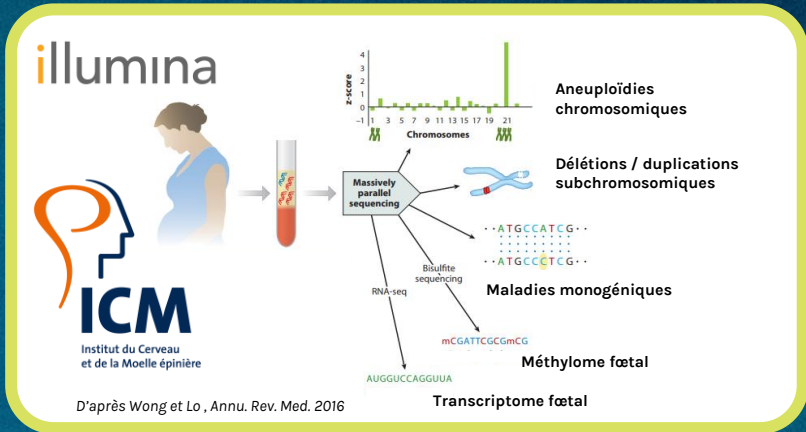
Credits : Joseph Guillet



Credits : Victor Gravrand



Et pour demain... Le DPNI universel ??





NIPD-WGS

Séquençage du génome fœtal à partir de sang maternel

Objectifs du projet



Nicolas Roserot



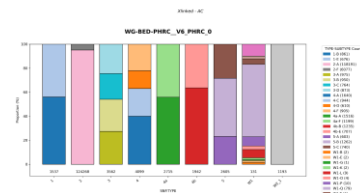
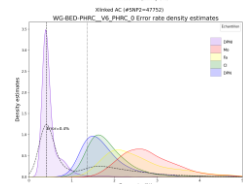
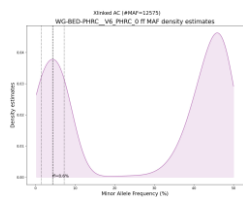
Yannick Marie
Delphine Bouteiller

- Proposer une méthode universelle de diagnostic prénatal non invasif des maladies monogéniques en reconstruisant le génome fœtal à partir du plasma maternel
- Preuve de concept sur 3 familles, chaque famille comprenant
 - ✓ ADN constit père (bibliothèques short read + long read ICLR)
 - ✓ ADN constit mère (bibliothèques short read + long read ICLR)
 - ✓ ADN constit cas index (bibliothèque short read uniquement)
 - ✓ ADN constit fœtus (bibliothèque short read uniquement)
 - ✓ ADN plasmatique maternel (bibliothèque cell free DNA)
- On vise une profondeur >30X pour tous les ADN constit et entre 100 et 200X pour l'ADN plasmatique.

NIPD-WGS

Séquençage du génome fœtal à partir de sang maternel

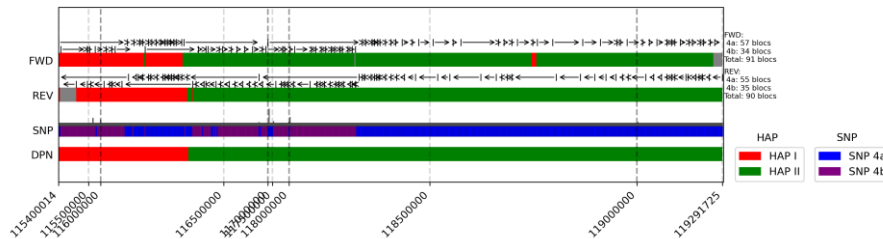
Analyse RHDO ciblée sur les gènes autosomiques de l'étude DANNI



Credits : Joseph Guilliet

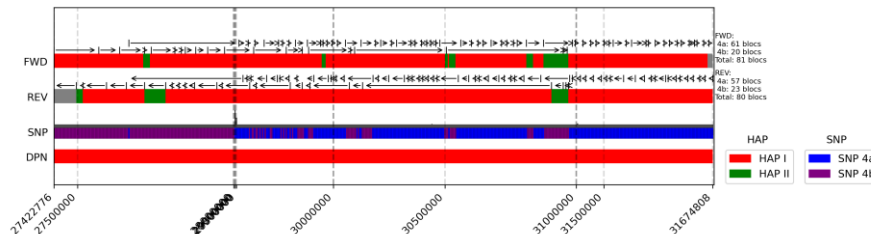
Famille : WG-BED-PHRC analyse : 0 ; chromosome 7 ; gene CFTR

(#SNP4 600; #SNP4a 405; #SNP4b 195; #SNP4x 0; #FWD 91; #REV 90; #MUA 7.23; #MUB 5.65; %FWD 98.5
%REV 99.8; PC2 98.3; NC2 2.0; PC3 99.2; NC3 2.0; CS2 0.86; CS3 1.0; BS 0.98)



Famille : WG-BED-PHRC analyse : 0 ; chromosome 17 ; gene NF1

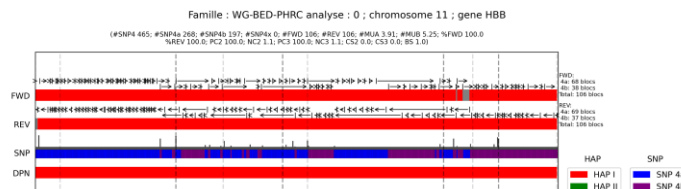
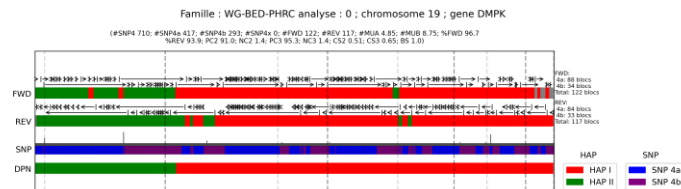
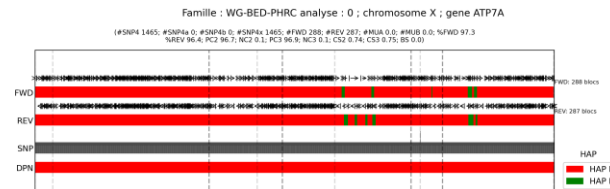
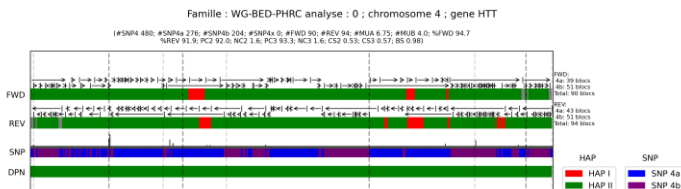
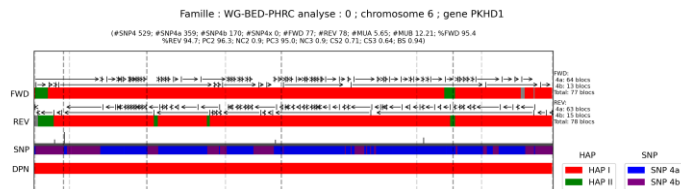
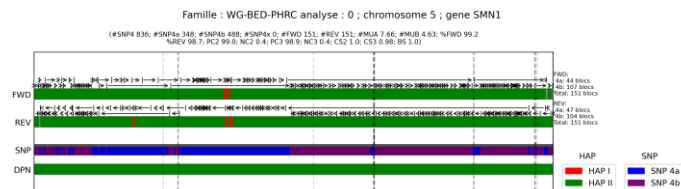
(#SNP4 503; #SNP4a 293; #SNP4b 210; #SNP4x 0; #FWD 81; #REV 80; #MUA 4.97; #MUB 9.82; %FWD 92.2
%REV 93.0; PC2 91.9; NC2 2.2; PC3 92.6; NC3 2.2; CS2 0.52; CS3 0.54; BS 0.95)



NIPD-WGS

Séquençage du génome foetal à partir de sang maternel

Analyse RHDO ciblée sur les gènes autosomiques de l'étude DANNIgene

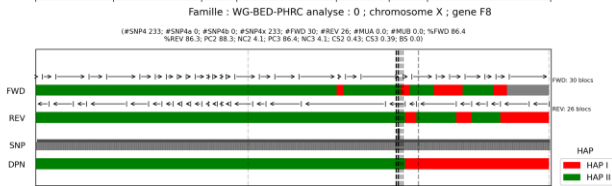
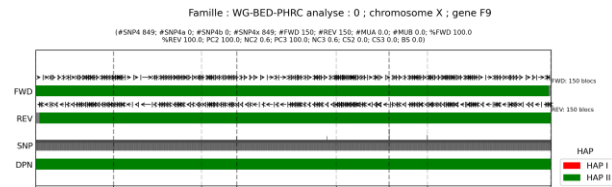
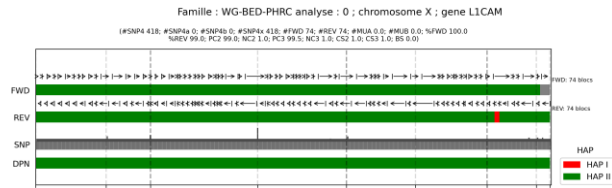
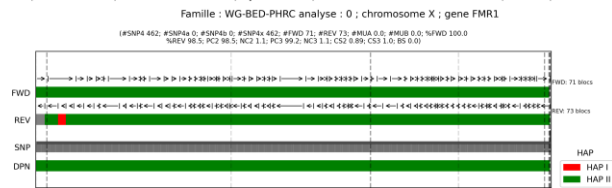
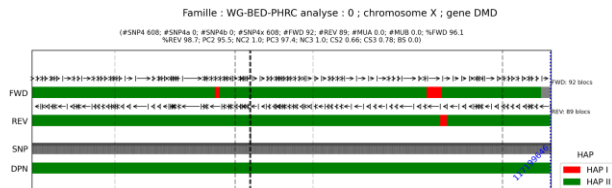




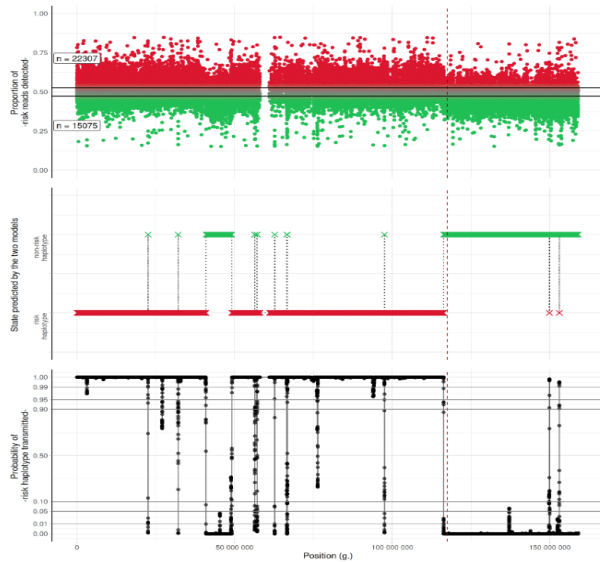
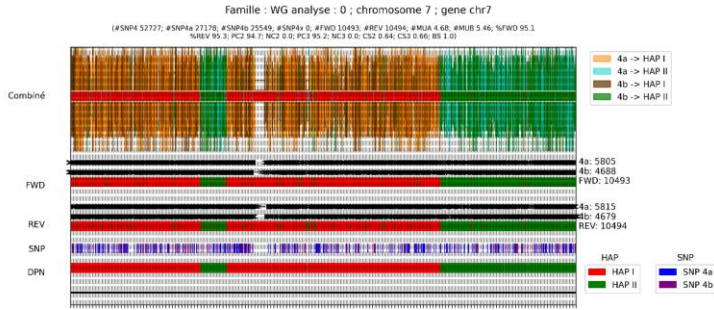
NIPD-WGS

Séquençage du génome fœtal à partir de sang maternel

Analyse RHDO ciblée sur les gènes du ChrX de l'étude DANNIgene

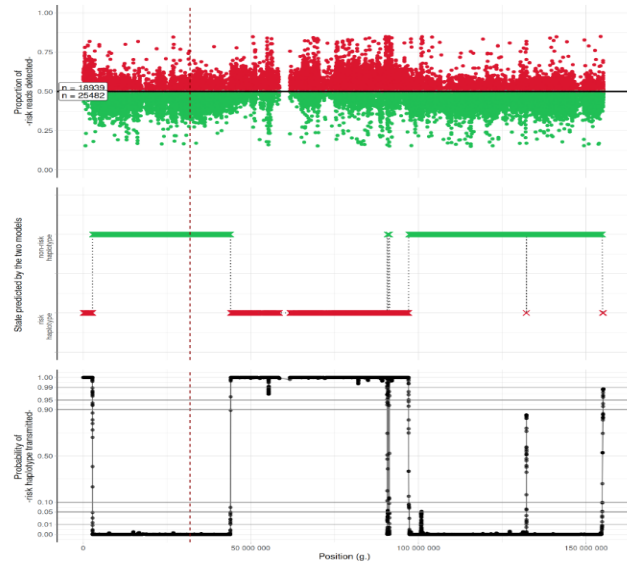
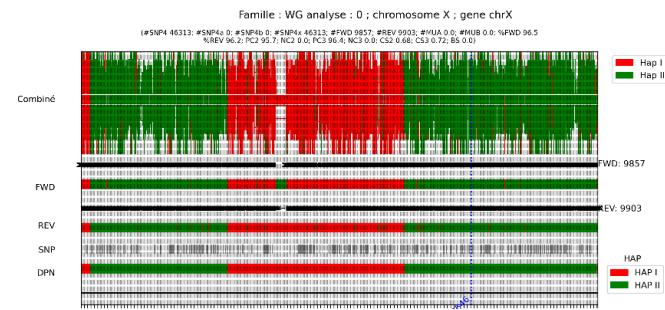


Chr7 :1-159,138,663 (soit 159 Mb !!)



Number of Informative SNPs : 152656

chrX:1-155,270,560 (soit 155 Mb !!)



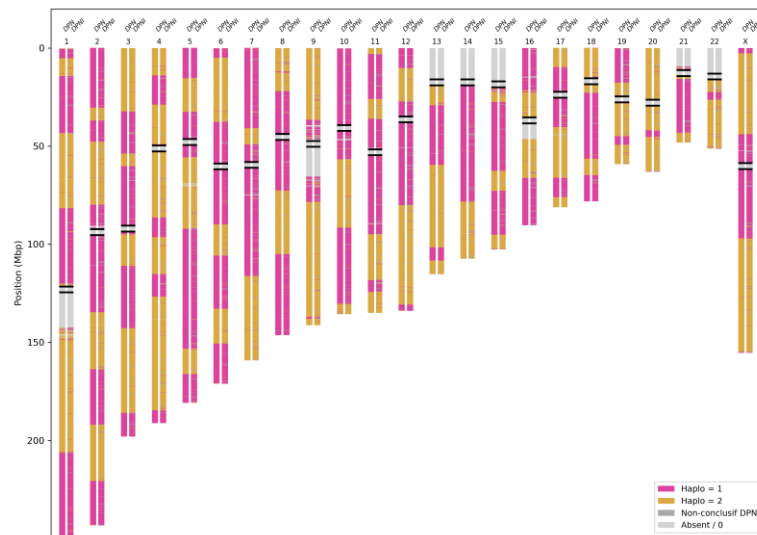
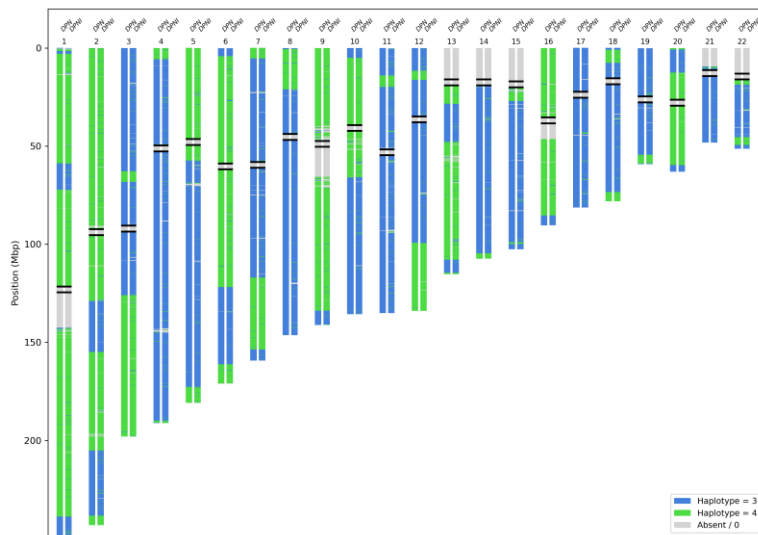
Number of Informative SNPs : 46249



NIPD-WGS

Séquençage du génome fœtal à partir de sang maternel

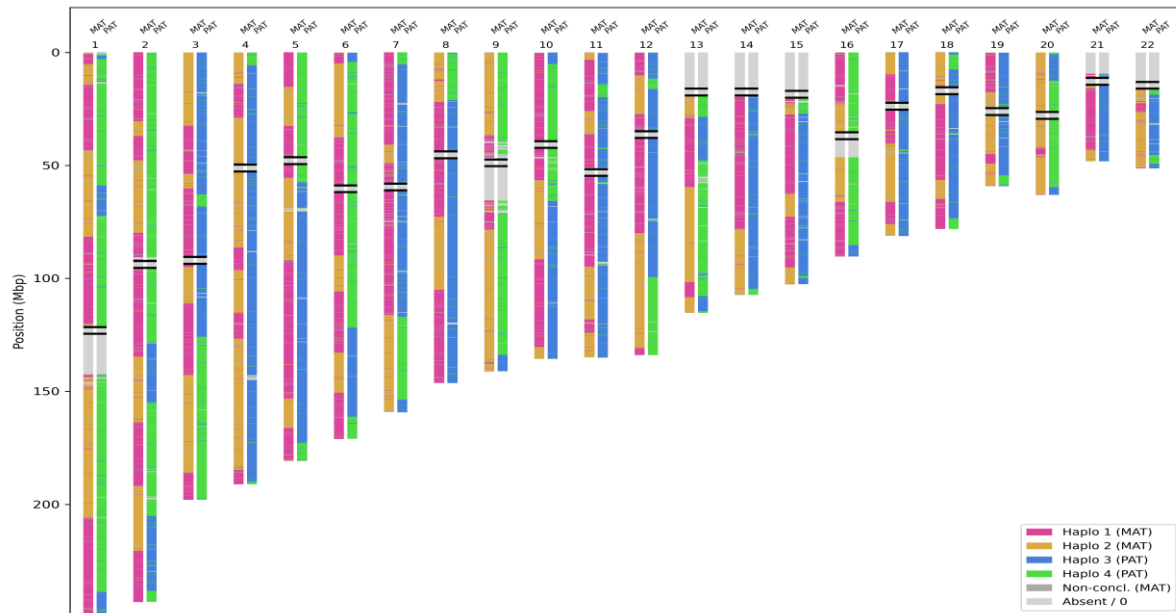
MeioMap RHDO (Father, Mother)



NIPD-WGS

Séquençage du génome foetal
à partir de sang maternel

MeioMap RHDO (Combined)

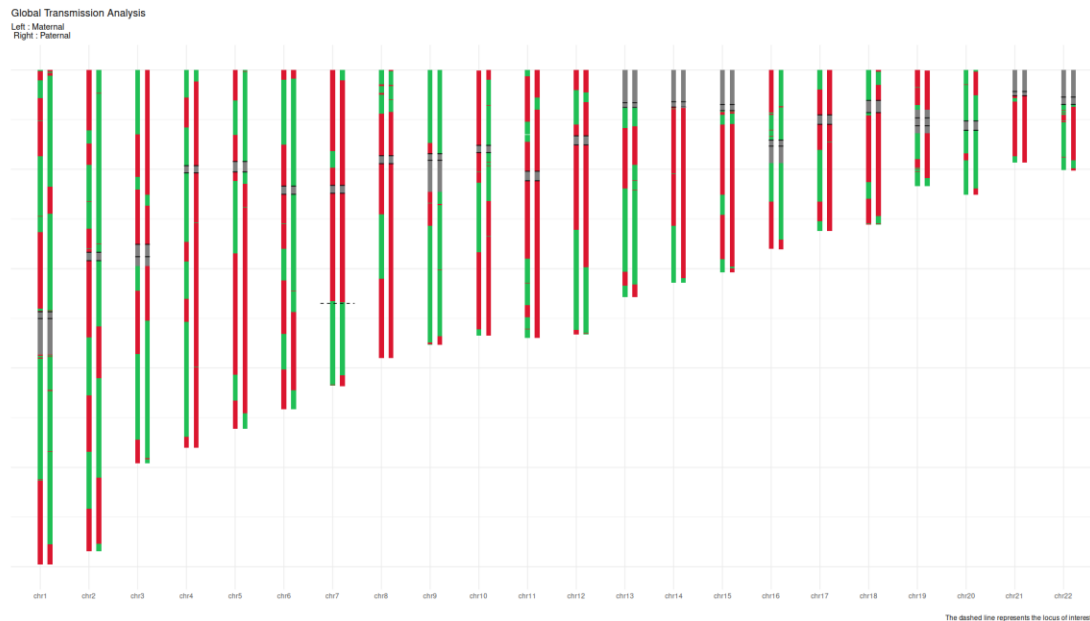


Credits : Joseph Guilliet

NIPD-WGS

Séquençage du génome fœtal
à partir de sang maternel

MeioMap RHDO (Combined)



Credits : Victor Gravrand



NIPD-WGS

Séquençage du génome fœtal à partir de sang maternel

MeioMap HMM (Father, Mother)

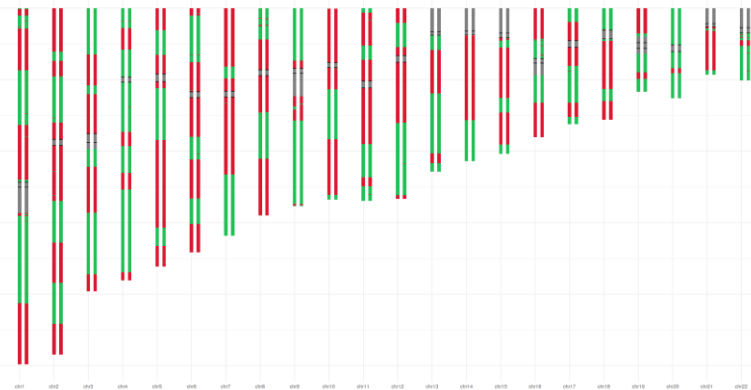
Paternal Transmission Analysis

Left: Inverse
Right: Predicted



Maternal Transmission Analysis

Left: Inverse
Right: Predicted





NIPD-WGS

Séquençage du génome fœtal à partir de sang maternel

Performances diagnostiques

SNP3_RHDO	Concordant	Non-concordant	Total
Significatif	502 866 (58%)	2 270 (0%)	505 136 (58%)
Non Significatif	307 618 (35%)	59 238 (7%)	366 856 (42%)
Total	810 484 (93%)	61 508 (7%)	871 992 (100%)

SNP3_HMM	Concordant	Non-concordant	Total
Significatif	709 571 (99,8%)	401 (0,1%)	709 972 (99,9%)
Non Significatif	728 (0,1%)	126 (0%)	854 (0,0%)
Total	710 299 (99,9%)	527 (0,1%)	710 826 (100%)

SNP4_RHDO	Concordant	Non-concordant	Total
Conclusif	858 605 (89%)	1 806 (0%)	860 411 (89%)
Non Conclusif	70 910 (7%)	38 470 (4%)	109 380 (11%)
Total	929 515 (96%)	40 276 (4%)	969 791 (100%)

SNP4_HMM	Concordant	Non-concordant	Total
Significatif	862 220 (93,9%)	754 (0,1%)	862 974 (93,9%)
Non Significatif	52 970 (5,8%)	2 705 (0,3%)	55 675 (6,1%)
Total	915 190 (99,6%)	3 459 (0,4%)	918 649 (100%)

Les prochaines étapes

- Masquer les régions problématiques de génome (régions répétées)
- Evaluer les performances sur les gènes OMIM sévères (~1000 gènes)
- Evaluer les performances sur plusieurs familles, en fonction de f

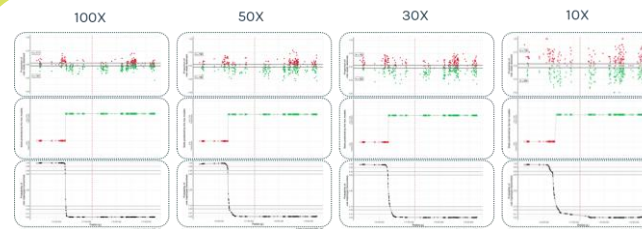


NIPD-WGS

Séquençage du génome fœtal à partir de sang maternel

FUTURES DIRECTIONS

- ✓ Simulations de sous échantillonnage pour identifier les limites de notre modèle et définir les prérequis



SNP4_HMM	Concordant	Non-concordant	Total
Significatif	862 220 (93,9%)	754 (0,1%)	862 974 (93,9%)
Non Significatif	52 970 (5,8%)	2 705 (0,3%)	55 675 (6,1%)
Total	915 190 (99,6%)	3 459 (0,4%)	918 649 (100%)

SNP4_10X_HMM	Concordant	Non-concordant	Total
Significatif	504 029 (54,9%)	185 (0,0%)	504 214 (54,9%)
Non Significatif	411 589 (44,8%)	2 846 (0,3%)	414 435 (45,1%)
Total	915 618 (99,7%)	3 031 (0,3%)	918 649 (100%)



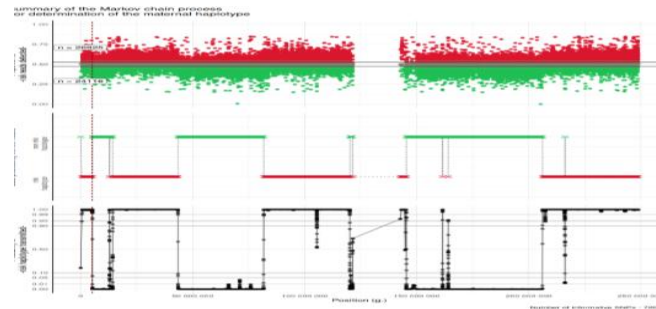
NIPD-WGS

Séquençage du génome fœtal à partir de sang maternel

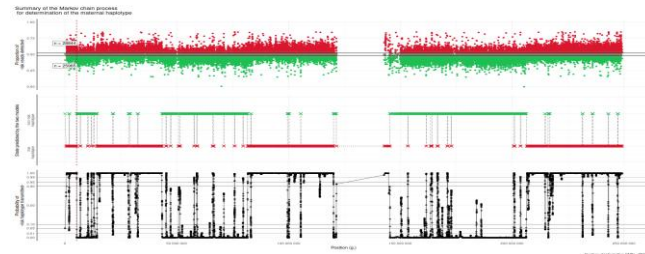
FUTURES DIRECTIONS

- ✓ Simulations de sous échantillonnage pour identifier les limites de notre modèle et définir les prérequis
- ✓ Développer une méthode indépendante du père

Etude de la transmission de l'haplotype maternel (with father)



Etude de la transmission de l'haplotype maternel (without father)





NIPD-WGS

Séquençage du génome fœtal à partir de sang maternel

FUTURES DIRECTIONS

- ✓ Simulations de sous échantillonnage pour identifier les limites de notre modèle et définir les prérequis
- ✓ Développer une méthode indépendante du père

SNP4_HMM	Concordant	Non-concordant	Total
Significatif	862 220 (93,9%)	754 (0,1%)	862 974 (93,9%)
Non Significatif	52 970 (5,8%)	2 705 (0,3%)	55 675 (6,1%)
Total	915 190 (99,6%)	3 459 (0,4%)	918 649 (100%)

SNP4_woFather_HMM	Concordant	Non-concordant	Total
Significatif	604 982 (65,9%)	13 081 (1,4%)	618 063 (67,3%)
Non Significatif	229 334 (25,0%)	71 252 (7,8%)	300 586 (32,7%)
Total	834 316 (90,8%)	84 333 (9,2%)	918 649 (100)



NIPD-WGS

Séquençage du génome fœtal à partir de sang maternel

FUTURES DIRECTIONS

- ✓ Simulations de sous échantillonnage pour identifier les limites de notre modèle et définir les prérequis
- ✓ Développer une méthode indépendante du père
- ✓ Approches sans cas index, par haplotypage direct

Et l'ICLR au fait ??



Illumina Sequence Hub						
Biosamples						
Sample ID	Sample Name	Project	Updated	Owner	Last Status	
New	ICLR-M-17842-04MY1372-MAMAN-MERGED	ICLR_RUN_01_26_23_25	2023-03-27 10:19	NIPD genome	New	
New	ICLR-M-17842-04MY1372-PAPA-MERGED	ICLR_RUN_01_26_23_25	2023-03-27 12:05	NIPD genome	New	
New	DNA-PCR-Free-M-17842-04MY1372-PAPA-ME	ICLR_RUN_01_26_23_25	2023-03-27 12:04	NIPD genome	New	
New	DNA-PCR-Free-M-17842-04MY1372-MAMAN-	ICLR_RUN_01_26_23_25	2023-03-27 12:04	NIPD genome	New	
New	ICLR-M-17842-04MY1372-PAPA	---	2023-03-27 11:21	juillette rectoux	New	
New	DNA-PCR-Free-M-17842-04MY1372-PAPA	---	2023-03-27 11:21	juillette rectoux	New	
New	ICLR-M-17842-04MY1372-MAMAN	---	2023-03-27 11:21	juillette rectoux	New	
New	DNA-PCR-Free-M-17842-04MY1372-MAMAN	---	2023-03-27 11:21	juillette rectoux	New	

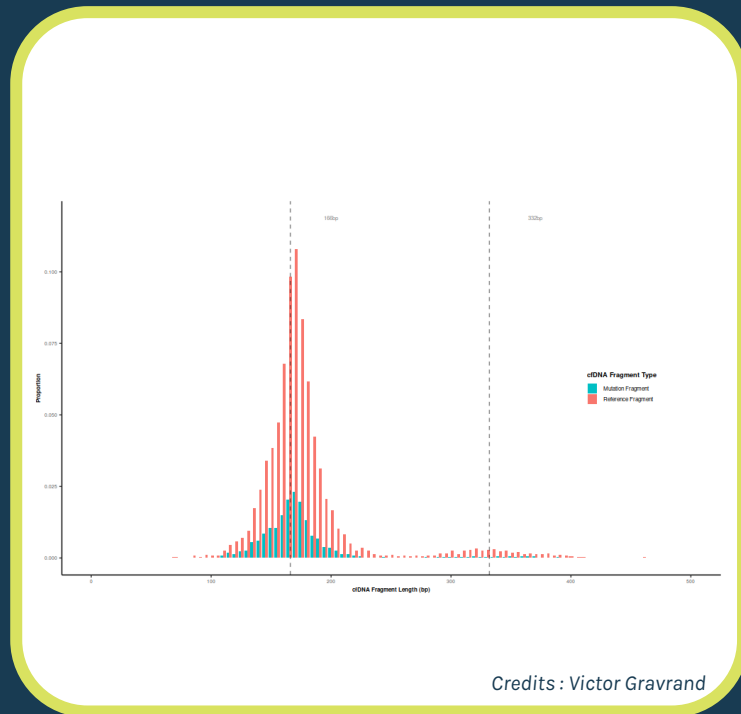


NIPD-WGS

Séquençage du génome fœtal à partir de sang maternel

FUTURES DIRECTIONS

- ✓ Simulations de sous échantillonnage pour identifier les limites de notre modèle et définir les prérequis
- ✓ Développer une méthode indépendante du père
- ✓ Approches sans cas index, par haplotypage direct
- ✓ Optimisation des performances du DPNI
 - Fragmentomique
 - Profil de méthylation



A suivre...



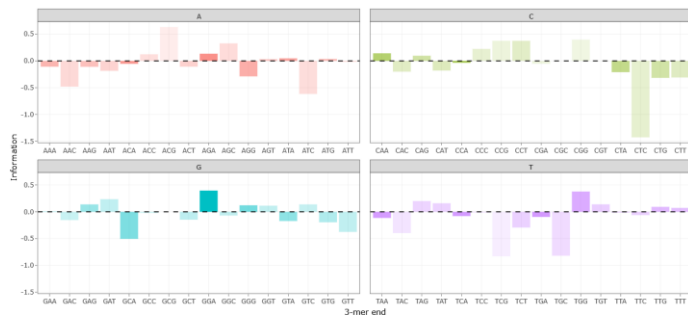
NIPD-WGS

Séquençage du génome fœtal à partir de sang maternel

FUTURES DIRECTIONS

- ✓ Simulations de sous échantillonnage pour identifier les limites de notre modèle et définir les prérequis
- ✓ Développer une méthode indépendante du père
- ✓ Approches sans cas index, par haplotypage direct
- ✓ Optimisation des performances du DPNI
 - Fragmentomique
 - Profil de méthylation

Information_3merEnd



Credits : Victor Gravrand

A suivre...



Remerciements

Pas de conflit d'intérêt

Financements



DIRECTION
GÉNÉRALE
DE L'OFFRE
DE SOINS

PHRC

Bioinformatique

Joseph GUILLIET

MOABI, Plateforme bio-informatique AP-HP

Biostatistiques

Victor GRAVRAND

SMGMSO, Cochin AP-HHP

Techniciens de laboratoire, biologistes, conseiller.es en génétique, cliniciens...

Laboratoire

Victor GRAVRAND
Lucie ORHANT
Camille VEREBI
Solène DOPPLER
Philippine GARRET
Mathilde PACAULT
France LETURCQ
Emmanuelle GIRODON
Cyril BURIN DES ROZIERES
Thierry BIENVENU

Le DAN de Port Royal

Olivia ANSELEM
Vassilis TSATSARIS
Clémence MOLAC
Adèle BARILLEC

Institut du Cerveau et de la Moelle

Yannick MARIE
Delphine BOUTEILLER



French consortium (1)

Nathalie COUQUE
Marie-Pierre AUDREZET
Marie-Claire VINCENT
Annie LEVY

French consortium (2)

Séverine DRUNAT
Christine BELLANNE CHANTELOT
Caroline ROORYCK THAMBO
Benoit ARVEILER
Pascale SAUGIER-VEBER
Kevin CASSINARI
Pascal CHAMBON
François LECOQUIERRE
Nadège CALMELS
Paul GUEGUEN

Les patients et leur famille



Des questions ?

Juliette.nectoux@aphp.fr

