



L'origine des ADN circulants et demain quel dépistage ?

Un nouveau paradigme en biologie médicale

10-10-2017

Journée Scientifique du SDB Paris



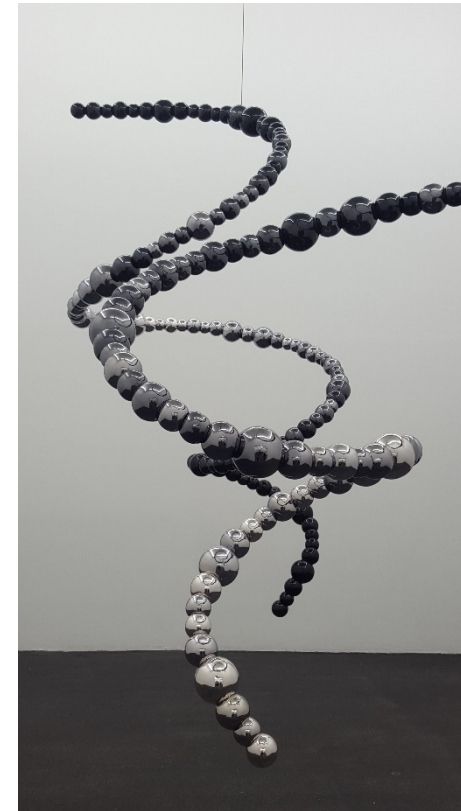
Pierre-Jean Lamy
Institut Médical d'Analyse Génomique
Montpellier, France

1948: 1ère publication sur l'ADNct

Les acides nucléiques du plasma sanguin chez l'Homme,

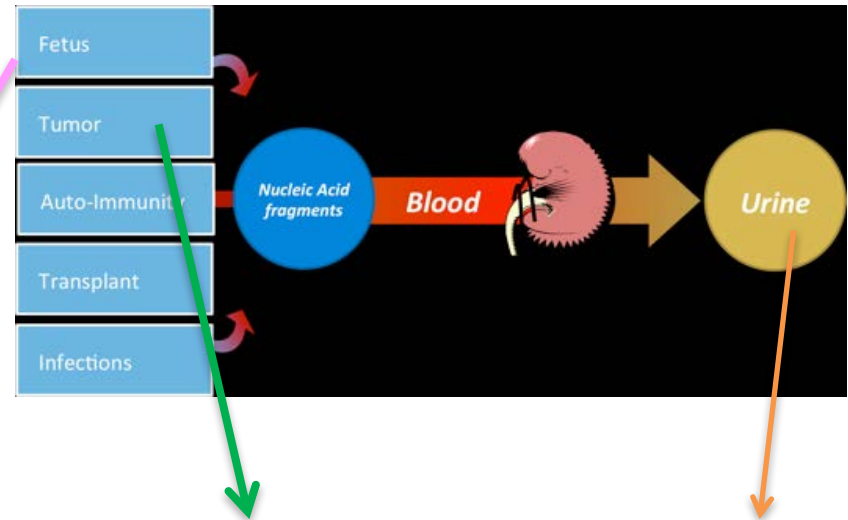
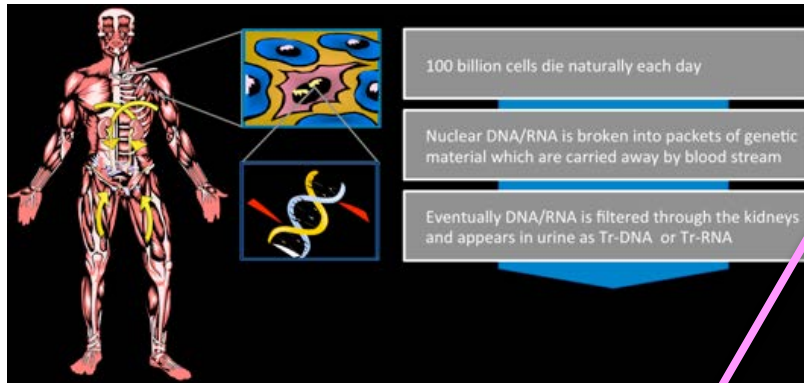
par P. MANDEL et P. MÉTAIS.

Sujet	Sexe	Age	Affection	P phospho- protéine mg.	P ribonu- cléique mg.	P desoxyri- bonu- cléique mg.	P total acides nucléiques mg.
1	F	42	Normal	0	5,0	1,2	6,2
2	F	22	»	0	4,0	0,4	4,4
3	H	24	»	0	5,2	1,3	6,5
4	F	27	»	0	4,7	0,3	5,0
5	F	20	»	0	3,7	0,8	4,5
6	H	48	»	0	4,6	1,3	5,9
7	H	45	»	0	4,5	0,6	5,1
8	F	26	»	0	5,0	0,2	5,2
9	F	37	»	0	4,8	0,6	5,4
10	H	39	»	0	5,0	0,9	5,9
11	H	62	Insuffis. card.	0	3,8	0,7	4,5
12	H	62	»	0	3,8	0,45	4,25
13	H	42	»	0	5,1	0,9	6,0
14	F	33	Endocard. maligne	0	3,35	0,65	4,0
15	H	19	Goutte	0	5,6	0,4	6,0
16	F	5	Basedow	0	3,6	0,3	3,9
17	H	48	Diabète	0	3,6	0,4	4,0
18	H	61	»	0	3,5	0,4	3,9
19	H	48	Cirrhose	0	5,3	1,2	6,5
20	F	52	Ictère	0	3,6	0,4	4,0
21	H	48	Goutte	0	3,5	1,0	4,5
22	H	33	Goutte	0	2,66	0,8	3,46
23	H	26	Néphrite	0	3,75	0,7	4,45
24	H	37	Tuberculose	0	3,5	0,45	3,95
25	F	23	Grossesse 7 ^e m.		7,65	1,35	9,0
	»	»	»		7,25	1,00	8,25

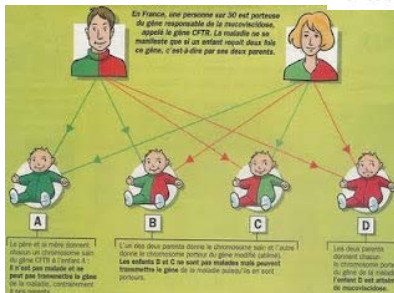


BIOLOGIE. COMPTES RENDUS. — N° 3-4, 1948. T. CXLII.

Circulating cell-free DNA

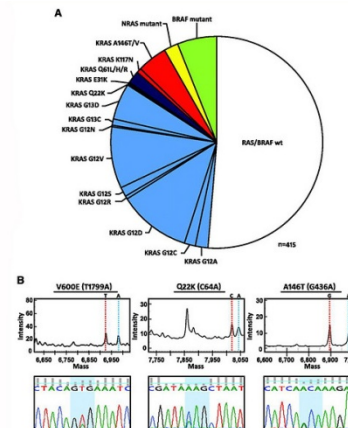


Fetal DNA for non invasive prenatal diagnosis



Down Syndrom

Cell-free tumor DNA for tumor genotyping



Urine
DNA/RNA
Ex : Fusion
genes
detection in
prostate cancer

Autres liquides LCR/Ponctions

PJ Lamy 2017

L'ADN hors de la cellule

ADN dans ultrafiltrat

- Le diagnostic pré-natal non invasif
 - Trisomies et anomalies génétiques
- Le cancer et la biopsie liquide
 - Les cellules tumorales circulantes
 - L'ADN tumoral circulant
- La transplantation
- Les infections



Une nouvelle dans le dépistage pré-natal

LE DPNI



Dr H. Rahil G. Egea

L'ADN foetal libre circulant



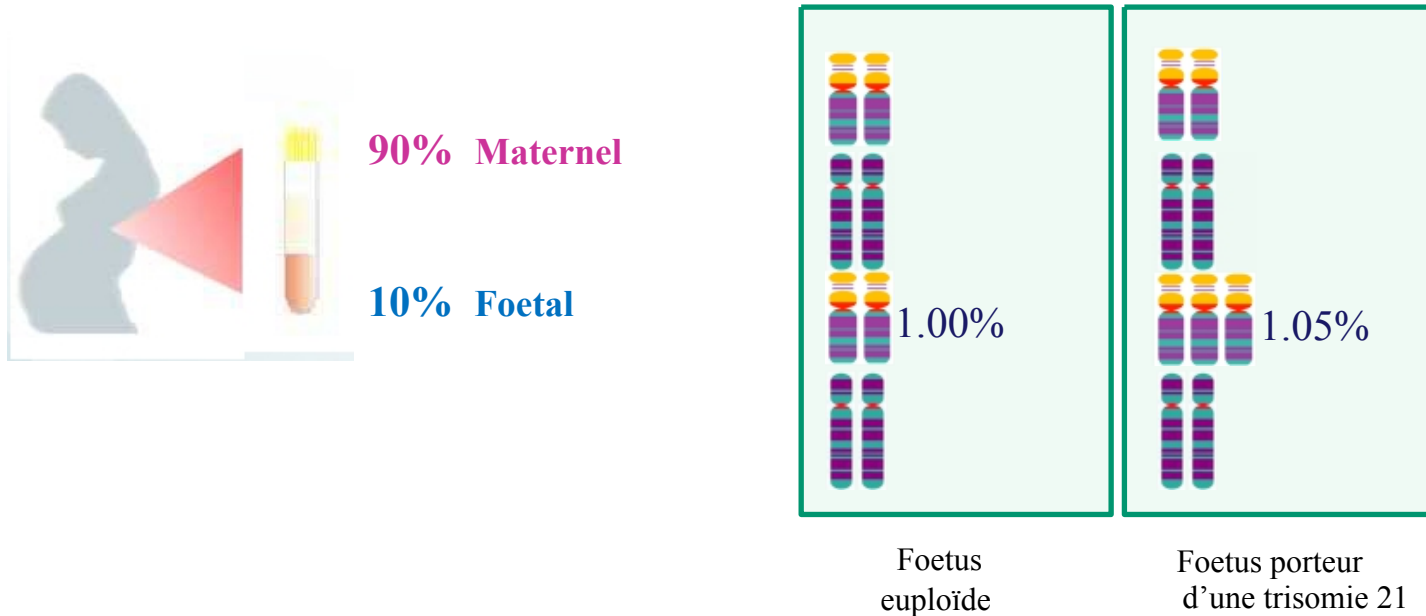
- Le sang maternel contient à la fois de l'ADN maternel et foetal
 - 2–20% de ADNc est foetal
- ADNlc foetal provient des cellules trophoblastiques du placenta
- Libéré dans le sang maternel sous forme de petits fragments d'ADN (150–200bp)
- Détectable dès la 7ème semaine d' aménorrhée
- Indétectable dans le sang maternel après l'accouchement

Applications de l'ADN foetal circulant

- Diagnostic
 - ✓ Détermination sexe foetal
 - ✓ Génotypage RHD
 - ✓ Achondroplasie
- ploidy
 - ✓ ADNlcT21
 - ✓ Autres aneuploidies
- Whole Genome Sequencing : le génome du foetus

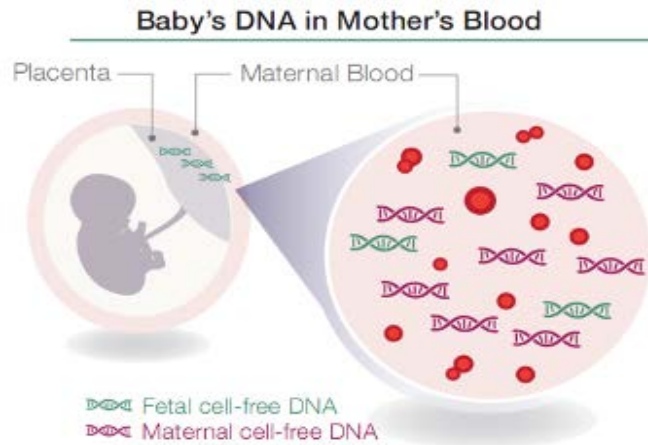
Analyse quantitative

Challenge: mise en évidence d'une sur-représentation d'ADNcf total lorsque le fœtus est porteur d'une aneuploïdie

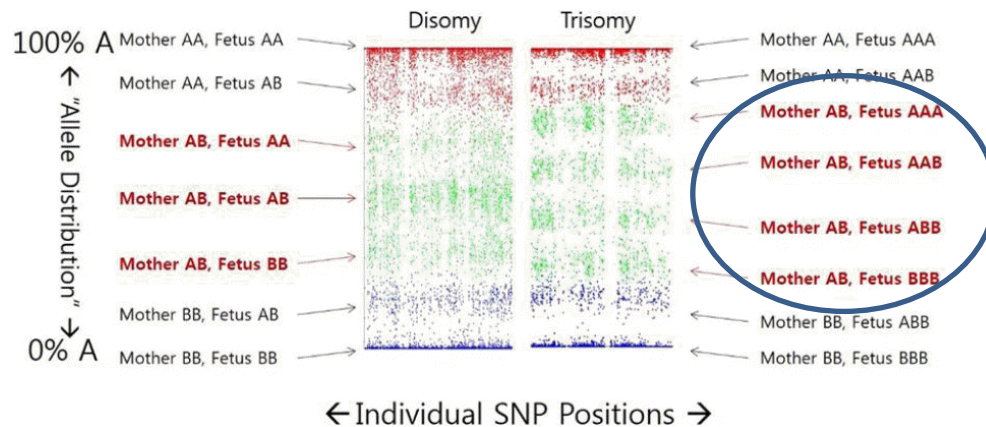
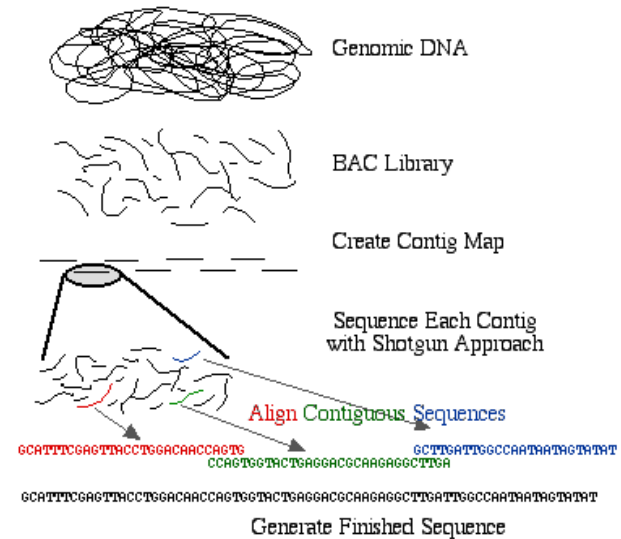


Différence de l'ordre de 0.05% avec une Se, Sp à 99% et VPP à 95% → NGS

Principe du DPNI



Hierarchical Shotgun Sequencing Method



Une sur-représentation des marqueurs du Chr21 du fœtus par rapport au marqueurs de la mère signe une trisomie 21

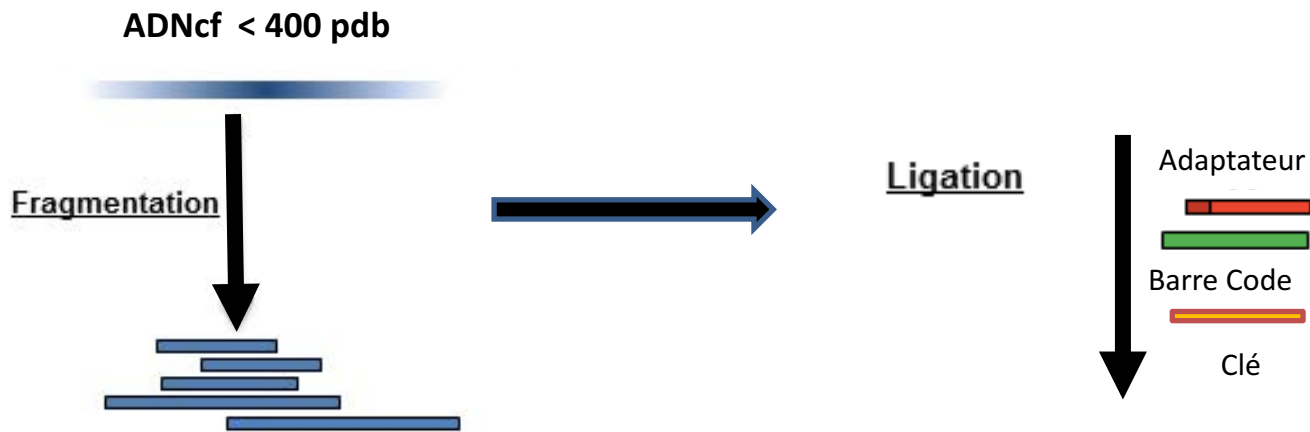
En théorie : $Mf:Mm = 3/2$

La technologie de séquençage NGS

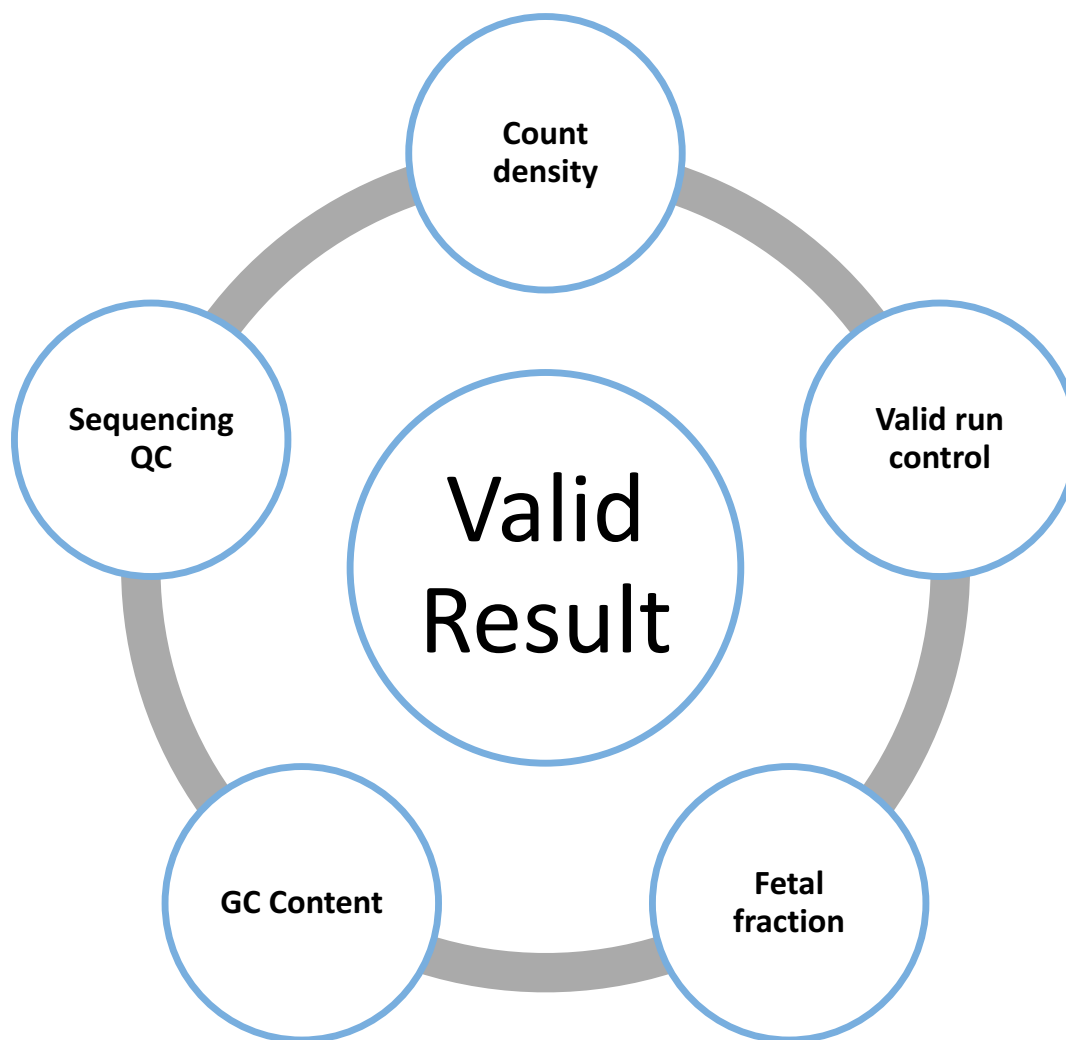
Aperçu technique



Préparation de la librairie d'ADN



Le contrôle qualité



Les résultats

LABOSUD OC BIOLOGIE Montpellier - Alco

N° FINESSE : 34 3 73062 8
141 Avenue Paul Bringuier - 34080 - MONTPELLIER ☎ : 04 67 45 45 18 📠 : 04 99 23 15 79
Dr RAHIL Dr LAMY Dr Y EHRHARD - Biologiste Médical

Madame JEUX DPNI

DOCTEUR TEST
24 rue toto de titi

34160 BUZIGNARGUES

Edité le, mercredi 23 mars 2016

Attention compte rendu partiel

Copie à : DOCTEUR TEST

Copie à : TEST

X Demande n° 02/03/16-q-1142 -TEST-

dossier enregistré le 02/03/16 à 11H19

Patient né(e) le 10/10/1980

FSE Hors tiers payant - ACCUE-XYMA

Prélèvements effectués par le laboratoire le 02/03/16 à 11H29

Diagnostic prénatal

DEPISTAGE PRÉNATAL NON INVASIF de la trisomie 21

(Test IONA - Premathea Health)

EC Certificate : CE on In Vitro Diagnostic (CE-IVD n°732.150203)

Certificate of registration : ISO 13485:2003 (n°10220799.PDWS)

Date du prélèvement 26/02/16

Age de la grossesse 14,2 SA

Date de réception 28/02/16

Date de l'échographie 20/01/16

Indication Age maternel

Nombre de foetus 1

Résultat du test pour les chromosomes 13, 18 et 21 : **NÉGATIF**

Conclusion

Le résultat ne montre pas de sur-représentation du nombre de séquences ADN dérivées des chromosomes 13, 18 et 21. Ce résultat n'est pas en faveur d'une trisomie foetale 13, 18 ou 21.

Ce test ne remplace pas le caryotype foetal et ne permet pas de rechercher d'autres anomalies chromosomiques déséquilibrées, ni les anomalies en mosaïque. La surveillance échographique de la grossesse doit rester inchangée. Nous vous remercions de bien vouloir nous tenir informé de l'issue de cette grossesse.

Technique utilisée : Next Generation Sequencing (NGS) (life technologies) d'après les données fournies par Premathea Health

Méthodologie : La proportion relative des chromosomes 13, 18 et 21 est calculée par séquençage massif en parallèle après purification et conversion de l'ADN libre circulant plasmatisque en librairie d'ADN génomique (Premathea Health)

Performance du test : Selon les données fournies par Premathea Health, la sensibilité et la spécificité du test est supérieure à 99 % pour les trois chromosomes étudiés (13, 18 et 21).

Limites du test : Bien que la spécificité de ce test soit élevée, un résultat négatif n'exclut pas formellement la possibilité pour le foetus d'être atteint de l'affection recherchée. De même, un résultat positif ne signifie pas obligatoirement que le foetus soit atteint de l'affection et doit être impérativement confirmé par un caryotype foetal.

EXAMENS EN COURS :

Non Invasif Prenatal Test HW

S

SYLVIE MARTINEZ

Page 1/1

Madame JEUX DPNI

DOCTEUR TEST
24 rue toto de titi

34160 BUZIGNARGUES

Edité le, mercredi 23 mars 2016

Attention compte rendu partiel

Copie à : DOCTEUR TEST

Copie à : TEST

X Demande n° 02/03/16-q-1142 -TEST-

dossier enregistré le 02/03/16 à 11H19

Patient né(e) le 10/10/1980

FSE Hors tiers payant - ACCUE-XYMA

Prélèvements effectués par le laboratoire le 02/03/16 à 11H29

Diagnostic prénatal

DEPISTAGE PRÉNATAL NON INVASIF des aneuploïdies fetales

(Test IONA - Premathea Health)

EC Certificate : CE on In Vitro Diagnostic (CE-IVD n°732.150203)

Certificate of registration : ISO 13485:2003 (n°10220799.PDWS)

des aneu

Date du prélèvement 26/02/16

Age de la grossesse 14,2 SA

Date de réception 28/02/16

Date de l'échographie 20/01/16

Indication Age maternel

Nombre de foetus 1

Résultat du test : **POSITIF pour la trisomie 21**

Conclusion

Le résultat montre une sur-représentation du nombre de séquences ADN dérivées du chromosome 21. Ce résultat évoque une trisomie 21 foetale.

La patiente doit être vue en consultation de conseil génétique et un contrôle par caryotype foetal doit être réalisé afin de confirmer ce résultat. Un résultat positif ne signifie pas obligatoirement que le foetus soit atteint de l'affection. Ce test ne permet pas de rechercher d'autres anomalies chromosomiques déséquilibrées, ni les anomalies chromosomiques en mosaïque.

Nous vous remercions de bien vouloir nous adresser le résultat de ce caryotype et de nous tenir informé de l'issue de cette grossesse.

Technique utilisée : Next Generation Sequencing (NGS) (life technologies) d'après les données fournies par Premathea Health

Méthodologie : La proportion relative des chromosomes 13, 18 et 21 est calculée par séquençage massif en parallèle après purification et conversion de l'ADN libre circulant plasmatisque en librairie d'ADN génomique (Premathea Health)

Performance du test : Selon les données fournies par Premathea Health, la sensibilité et la spécificité du test est supérieure à 99 % pour les trois chromosomes étudiés (13, 18 et 21).

Limites du test : Bien que la spécificité de ce test soit élevée, un résultat négatif n'exclut pas formellement la possibilité pour le foetus d'être atteint de l'affection recherchée. De même, un résultat positif ne signifie pas obligatoirement que le foetus soit atteint de l'affection et doit être impérativement confirmé par un caryotype foetal.

S

SYLVIE MARTINEZ

Page 1/2

Les limites

	Sensibilité	Specificité	VPN	VPP	Taux de détection
Population à risque de trisomie 21	99%	98%	99.8%	99%	99.6%
Population générale	100%	99.7%	100%		

Faux positifs:

- ✓ 2^{ème} Jumeau évanescent
- ✓ Mosaïque Confinée au Placenta (MCP)
- ✓ CNV maternel (ex chr 18)
- ✓ Mosaïque maternelle et néoplasie

Faux négatifs:

- ✓ Discordance Foeto-Placentaire
- ✓ Taux faible d'ADN foetal
- ✓ Triploïdies

Echec de la technique ou
résultat douteux

Depuis le 2 Mai 2016 :

- 3179 tests
- 52 cas de trisomie 21 (1,74%) :
dont 51 confirmés par caryotype sur geste invasif
un faux positif

Tests	Test positif	VP 21	FP 21	VPP 21
3179	52	51	1	99%

- Taux de reconvoction: 0,9%
- Taux d'échec: 0,06%
- Délai moyen : 5 jours

Place des tests ADN libre circulant dans le sang maternel dans le dépistage de la trisomie 21 foétale

Date de validation par le collège : avril 2017

Vu le Décret no 2017-808 du 5 mai 2017 relatif à l'introduction dans la liste des examens de diagnostic prénatal des examens de génétique portant sur l'ADN foetal libre circulant dans le sang maternel

Le décret permet l'introduction dans la liste des examens de diagnostic prénatal d'un examen de génétique portant sur l'ADN foetal libre circulant dans le sang maternel, dont les conditions de prescription et de réalisation seront fixées par un arrêté du ministre de la santé pris sur proposition du directeur général de l'Agence de la biomédecine, après avis de l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé.

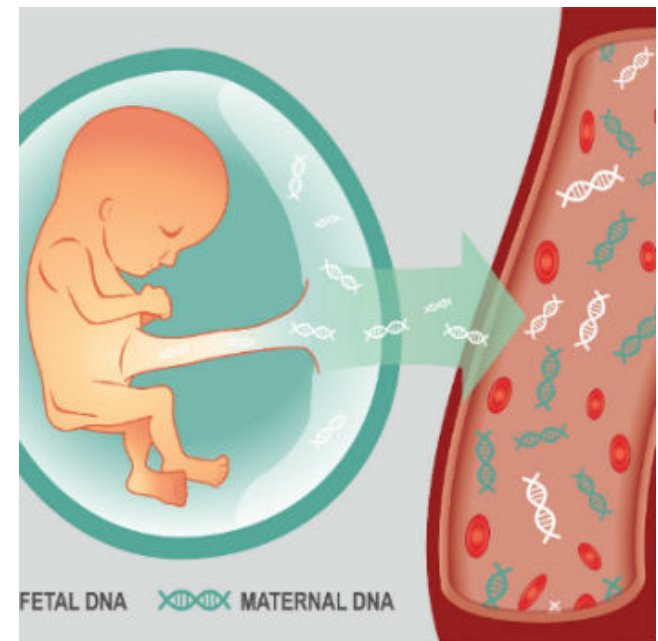
Le DPNI

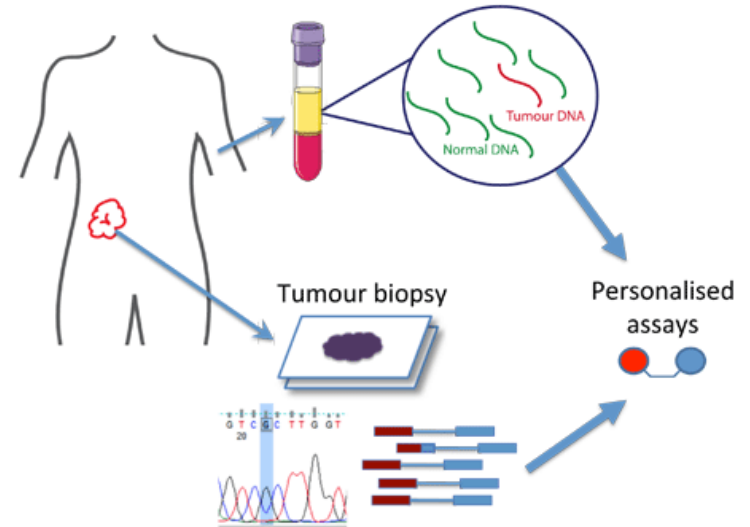
- « **Dépistage de la trisomie 21 foétale par l'analyse de l'ADN libre circulant dans le sang maternel** »
- Seconde intention après les marqueurs sériques pour un risque compris entre 1/51 à 1/1000 inclus
- Confirmation des positifs par amniocentèse
- Un autre acte porte sur la réalisation d'un nouveau test après un résultat ininterprétable sur le premier :
- « **Second dépistage de la trisomie 21 foétale par analyse de l'ADN libre circulant dans le sang maternel** »

RECOMMANDATION EN SANTÉ PUBLIQUE

Place des tests ADN libre circulant dans le sang maternel dans le dépistage de la trisomie 21 foétale

Date de validation par le collège : avril 2017





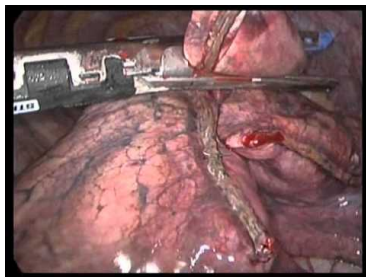
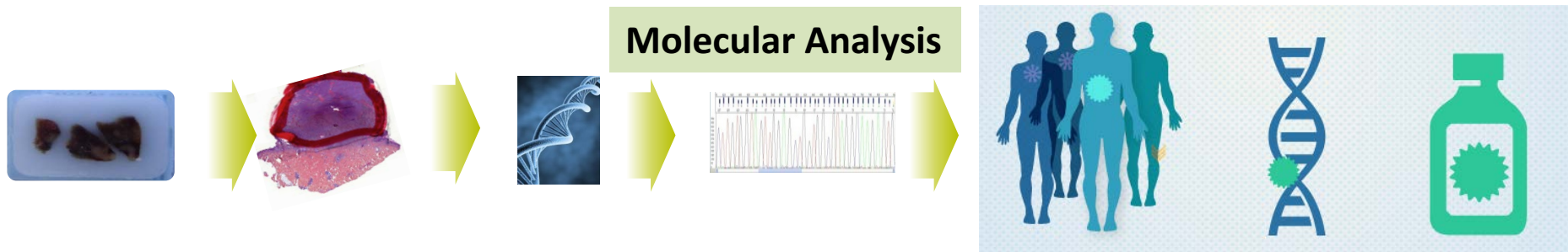
Une nouvelle ère pour les marqueurs tumoraux

LE CANCER ET LA BIOPSIE LIQUIDE

- CELLULES TUMORALES CIRCULANTES
- ADN CIRCULANT

Médecine personnalisée

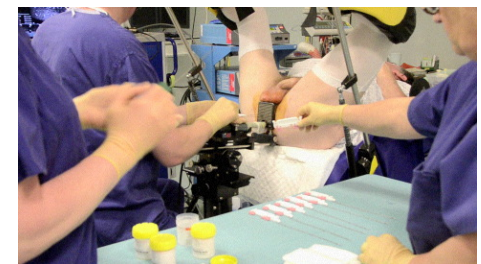
Le bon traitement pour le bon patient



Lung biopsy

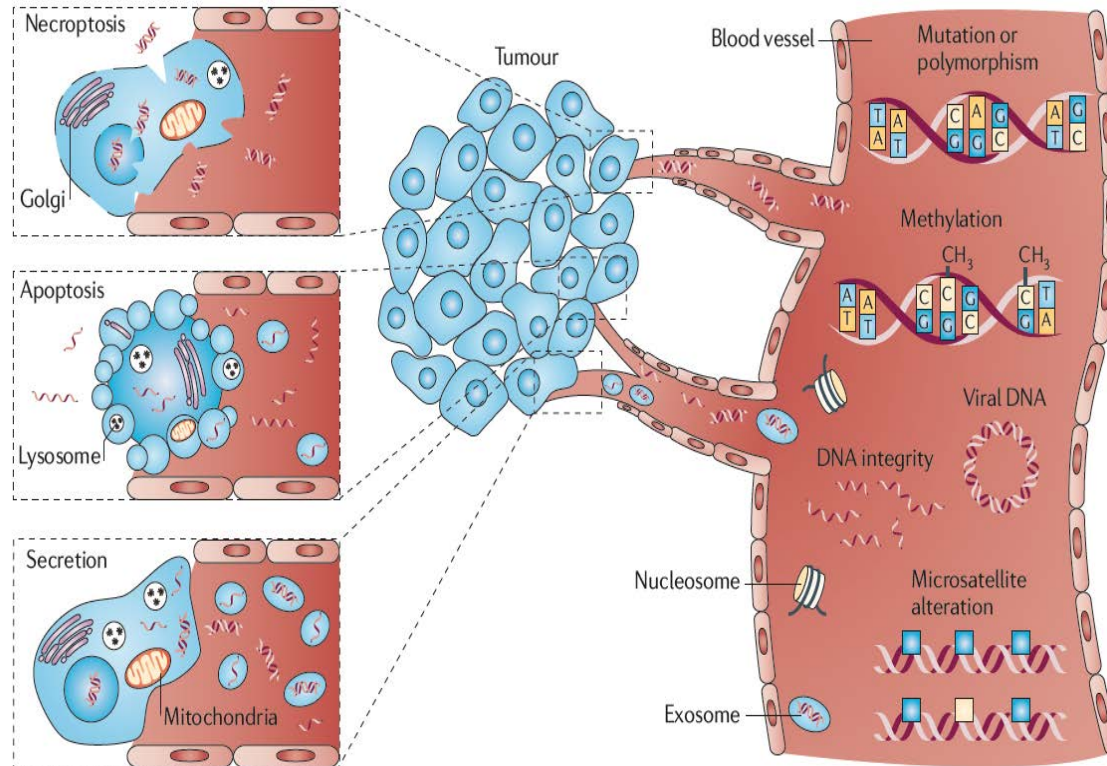


Breast biopsy



Prostate biopsy

Qu'est ce que la biopsie liquide?

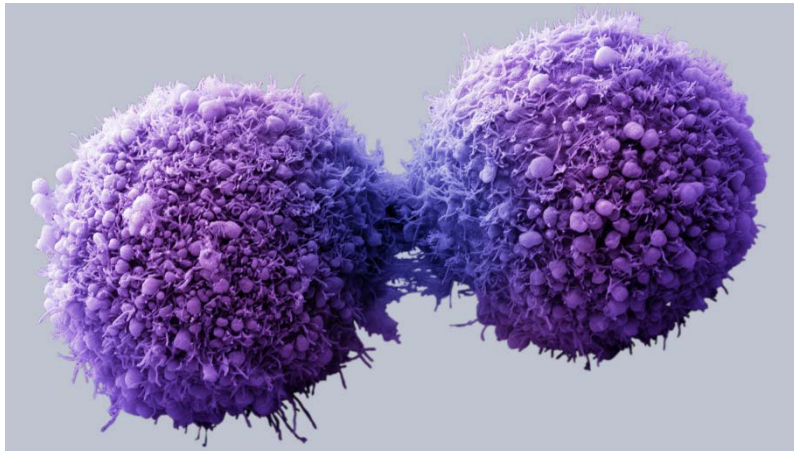


From Schwartzenbach Nat Rev Cancer 2011



Circulating tumor cells
Proteins (tumor markers)

**Obtenir une information tissulaire
sans acte invasif**

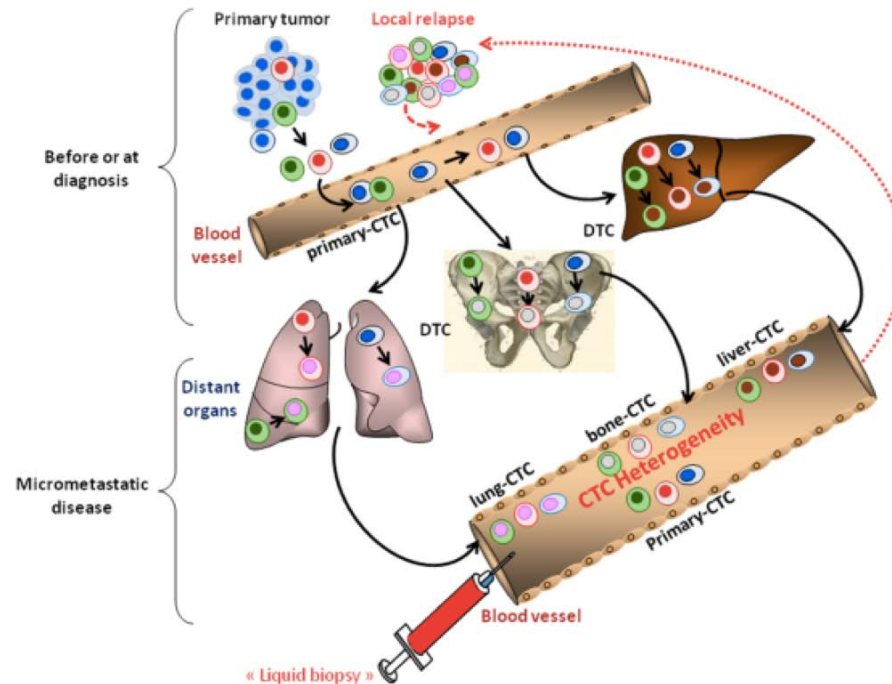


Le cancer et La biopsie liquide

LES CELLULES TUMORALES CIRCULANTES

ima
genome
INSTITUT MÉDICAL D'ANALYSE GÉNOMIQUE

Circulating Tumor Cells



Alix-Panabières Clin Chem 2013

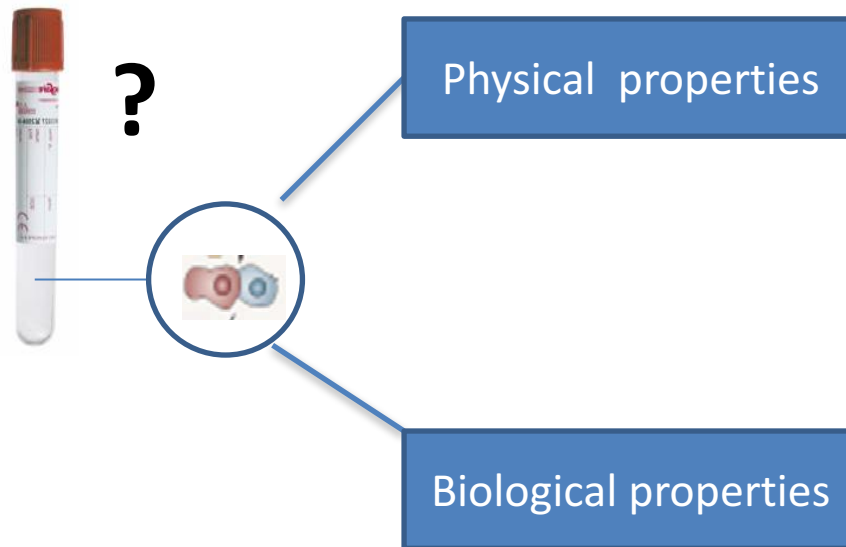
- CTC's are cells coming from the tumor or metastasis.
- They are related to the metastatic process

- Early detection
- Diagnosis
- Prognosis
- Prediction of response to treatment
- Detection of relapse

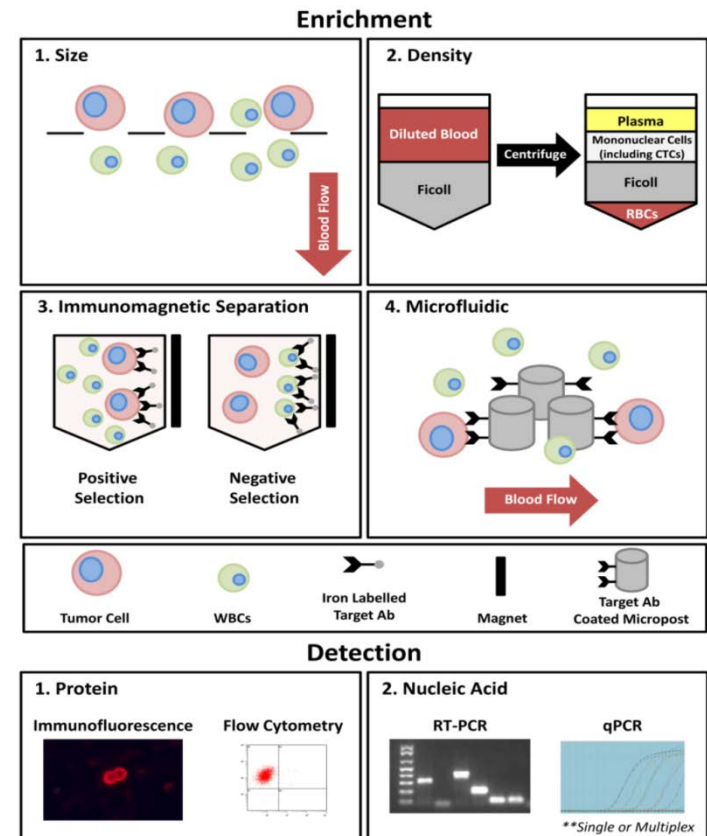
Comment attraper les CTC's?



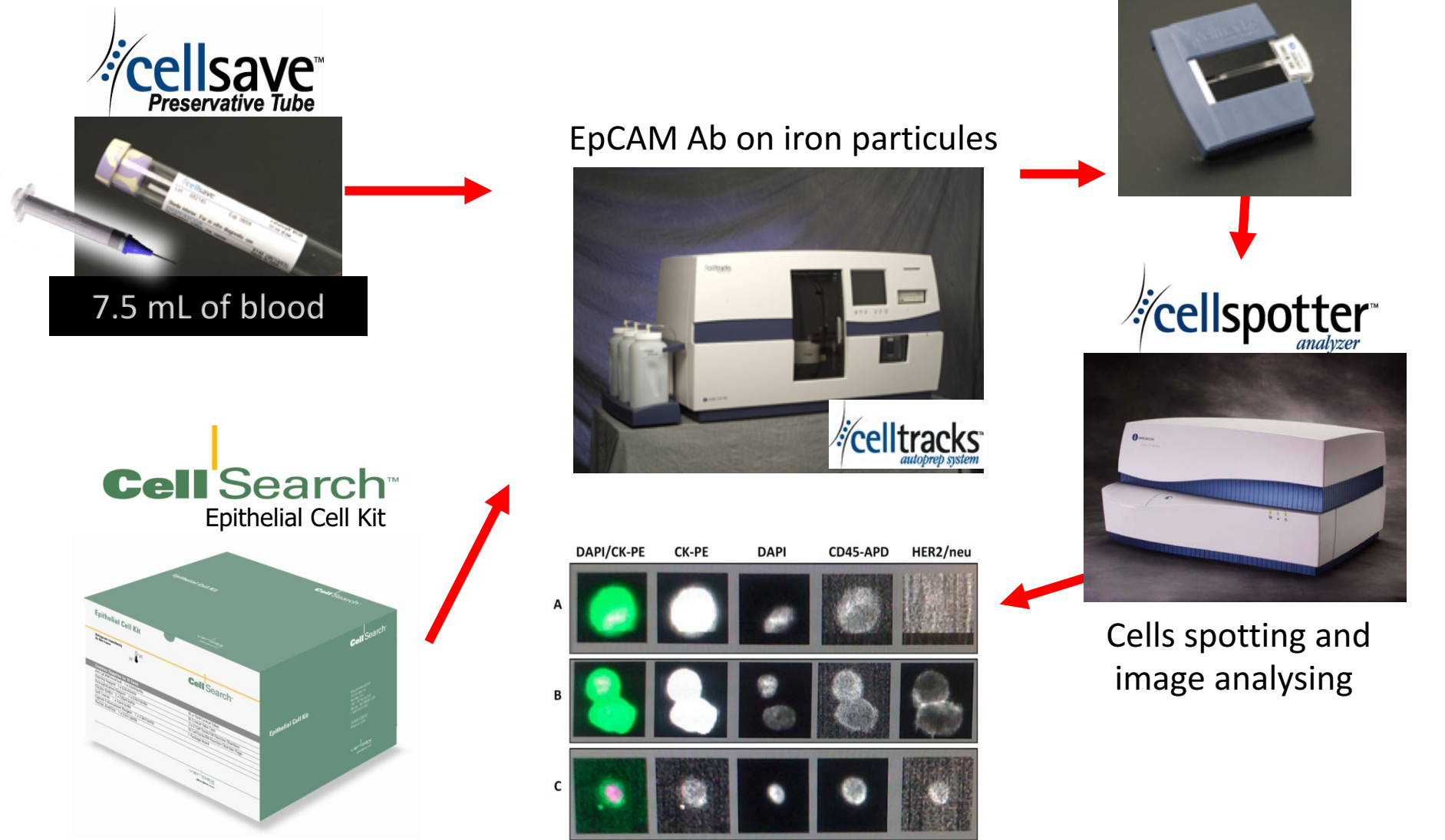
- Pas de cellules epitheliales circulantes dans le sang



Lowes et al 2014

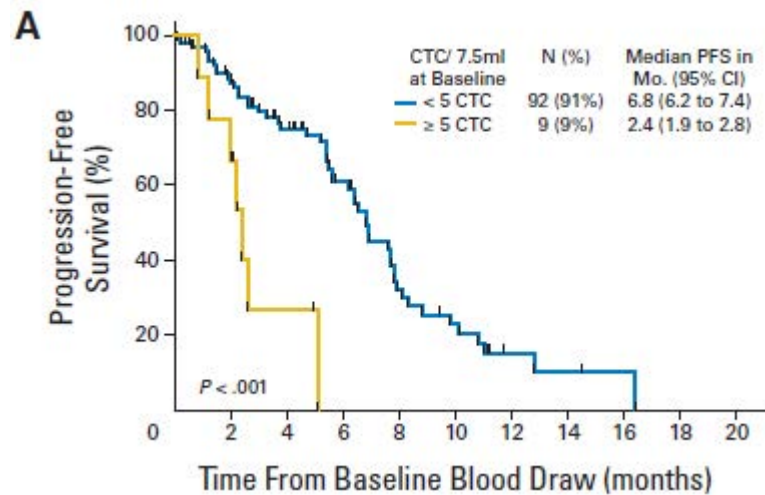


The FDA-cleared Cell search system



Applications des CTCs

- Enumeration of cells
 - Prognostic
 - Detect recurrent disease in breast, prostate, NSCLC



Prognosis value of CTC in NSCLC Krebs JCO 2011

- Molecular characterization

- Prognostic and predictive features

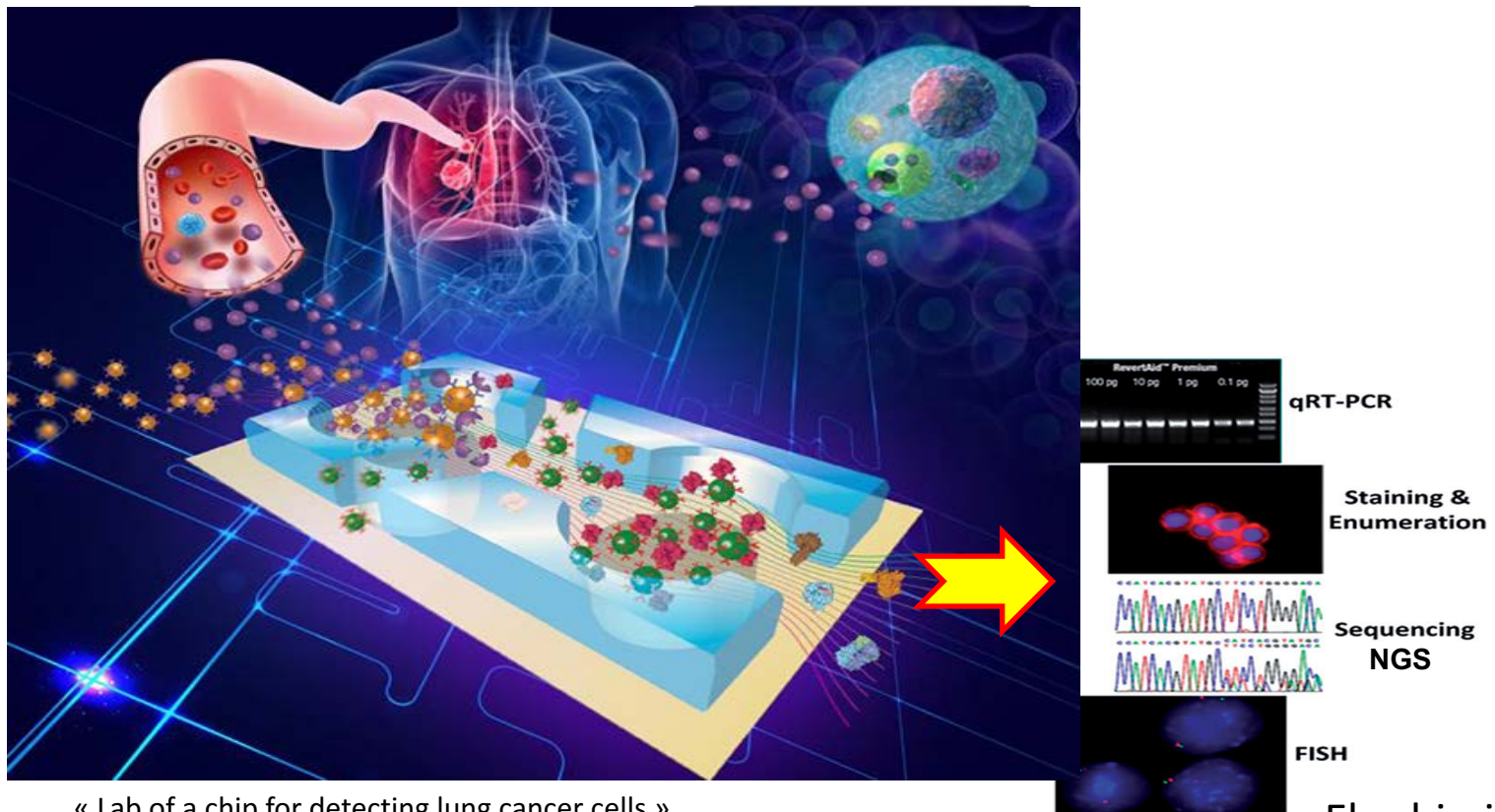
- Ex : ARNv7 AR Prostate

Non fonctionnal mRNA of androgen receptor =

Correlated with relapse of anti-hormonal therapy in prostate cancer

Future developments

- Sample : size does matter!
- Molecular CTC's characterisation

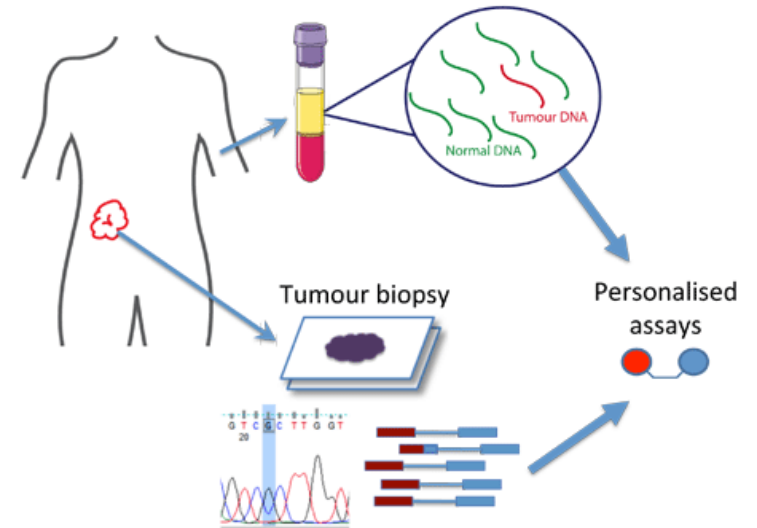


« Lab of a chip for detecting lung cancer cells »
Credit : university of Kansas/KU News Services

Ebrahimi 2014

Les CTC en routine?

- **ISET ? : NON** – pas de marquage CE ni de validation FDA (le site précise « pour la recherche »)
- « Ce test ne constitue pas un diagnostic médical. Il est effectué à des fins exclusifs de recherche clinique » (CR de la société ISET)
- **CELL Search** validé FDA pour les cancers du sein de la prostate et du poumon
 - Y a –til un intérêt clinique? **pas encore**

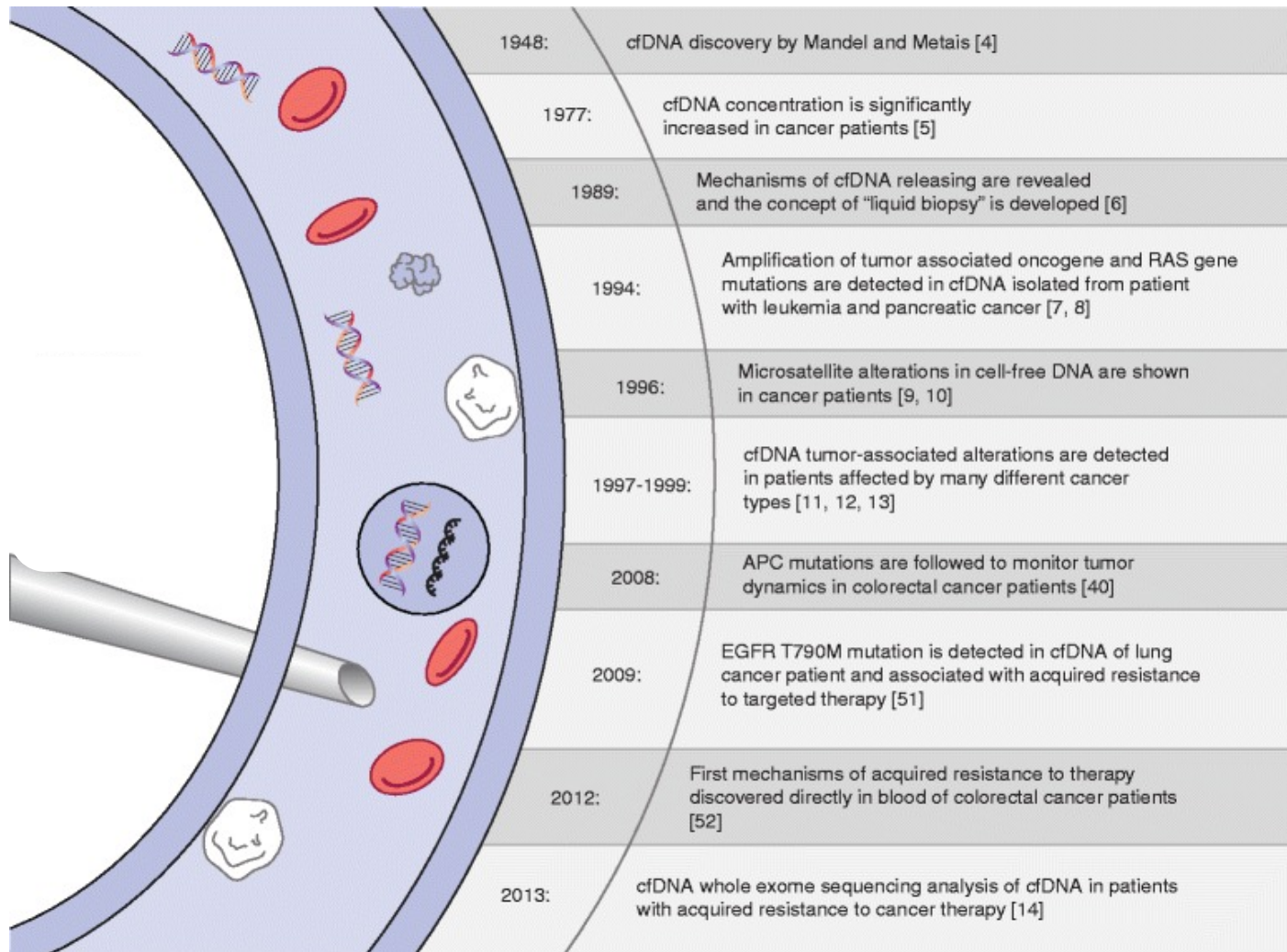


Le cancer et La biopsie liquide

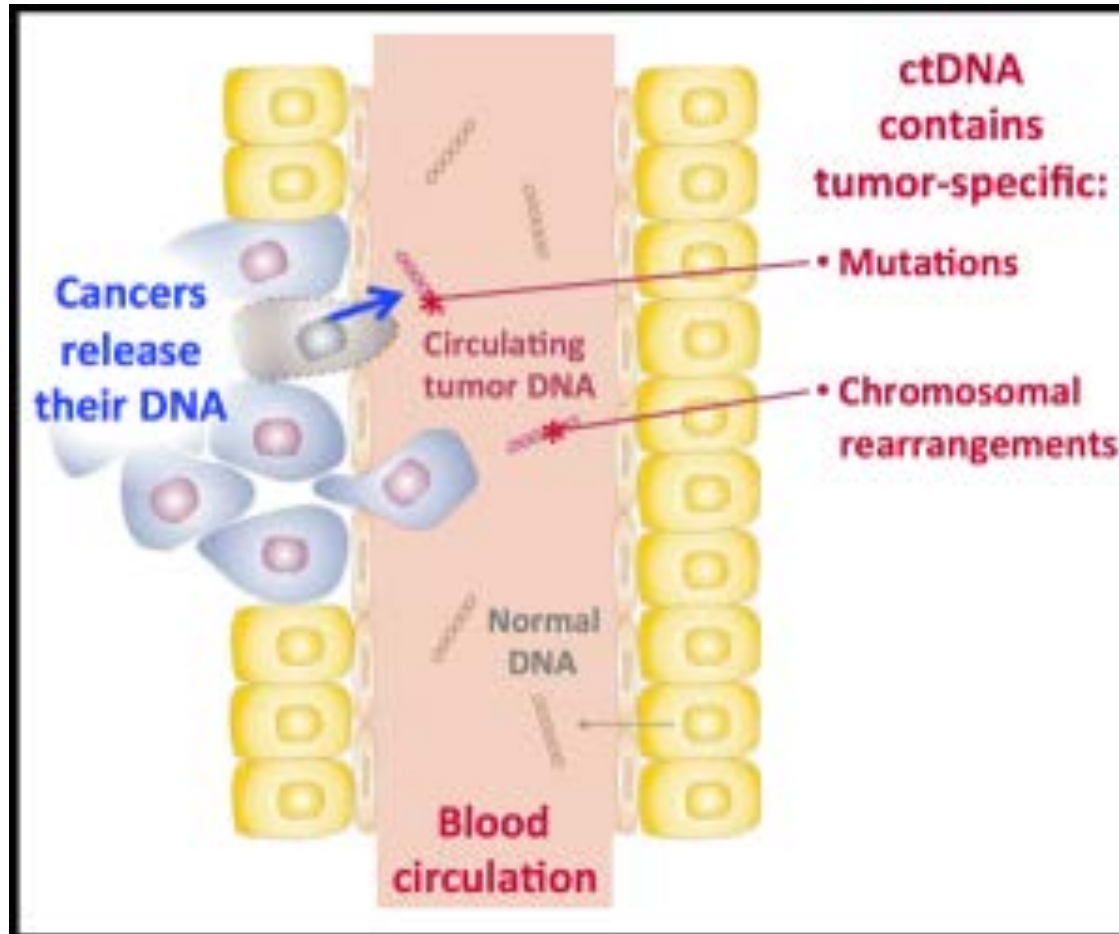
L'ADN TUMORAL CIRCULANT

imagenome
INSTITUT MÉDICAL D'ANALYSE GÉNOMIQUE

ADNct et cancer



From Siravegna Genome Biology 2014



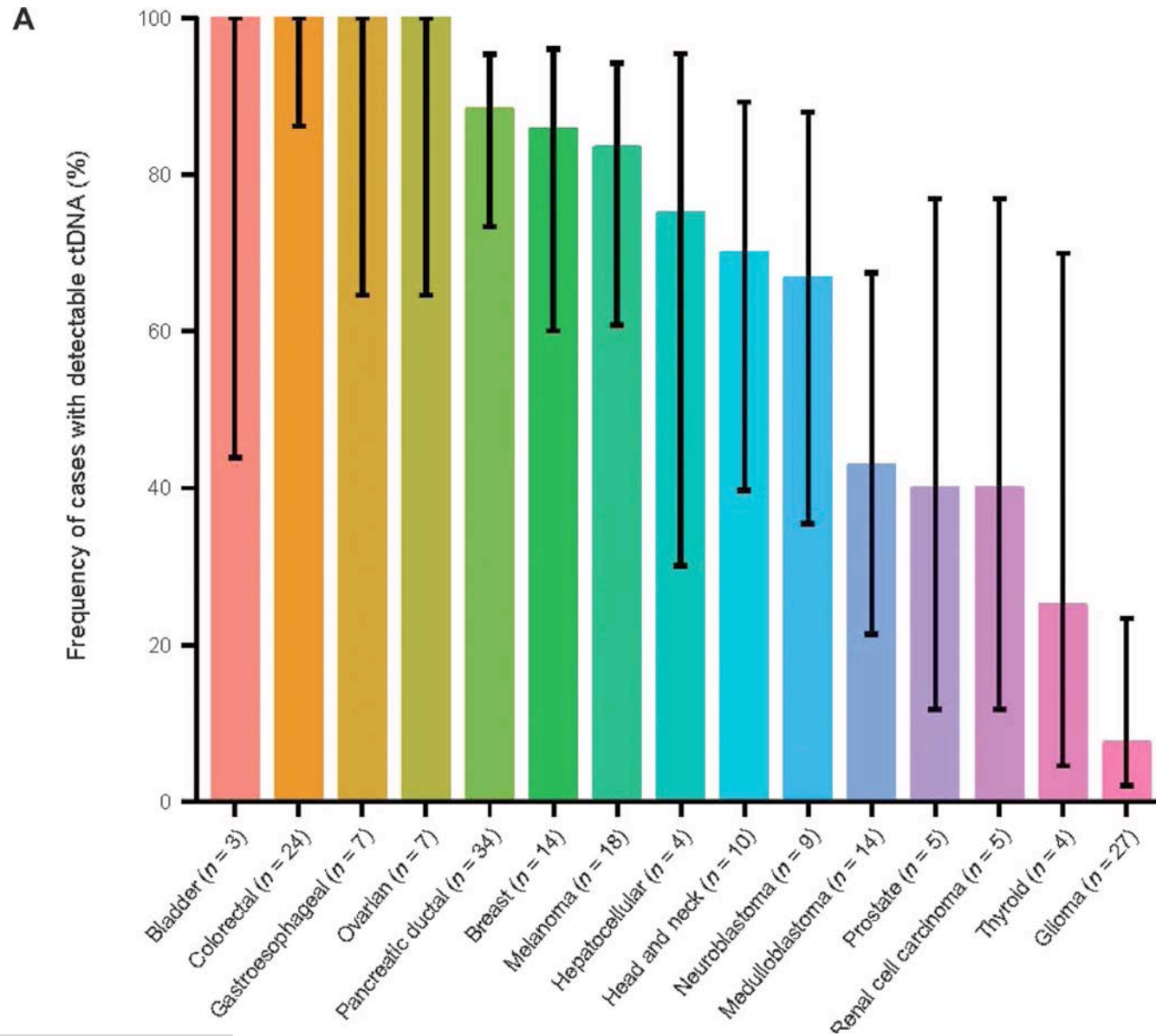
ADN normal

Sécrétion physiologique
Inflammation
Traumatisme...

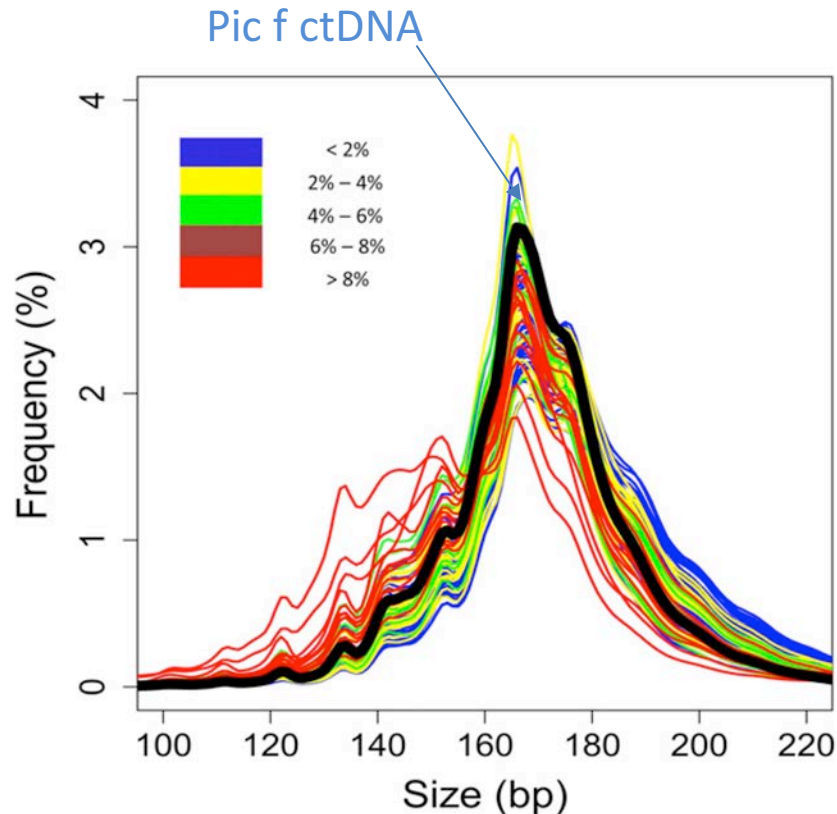
ADN tumoral

Nécrose
Apoptose
Sécrétion

ctDNA in various cancers

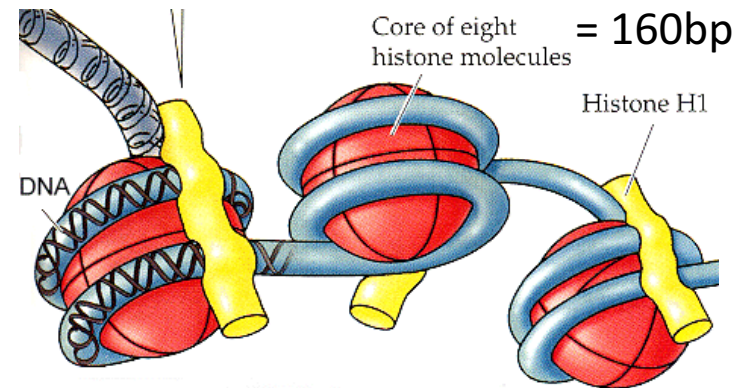


Taille de l'ADN tumoral circulant



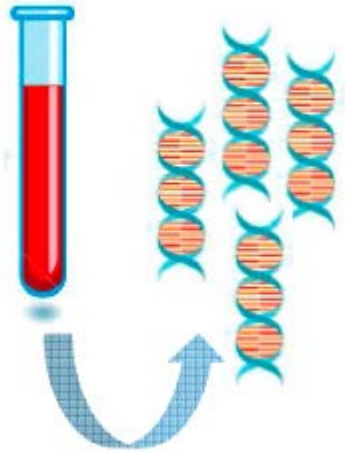
plasma DNA in HCC patients (From Jiang pnas 2015)

- Apoptose lead to oligonucleosomal fragment (150-166 bp)



- Necrosis leads to longer fragment (300bp)

Pré-analytique



- Plasma better than serum (no heparin) - high volume (> 3 ml)**

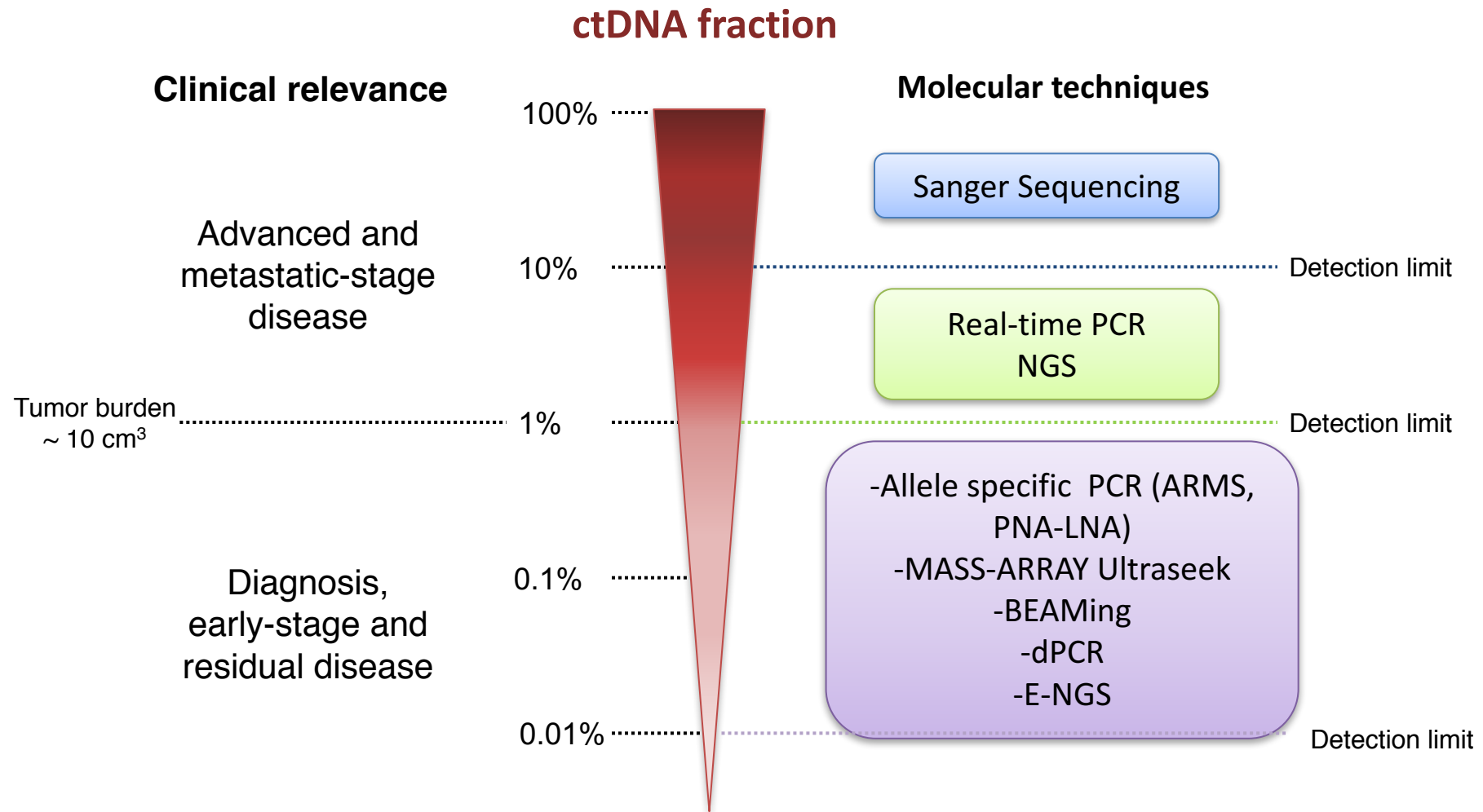
- Quick release of normal DNA by WBC** : stabilization by formaldehyde (Streck or ROCHE DNA collection tube)

- Double centrifugation** : high speed (2000 g – 2000 to 16000 g)

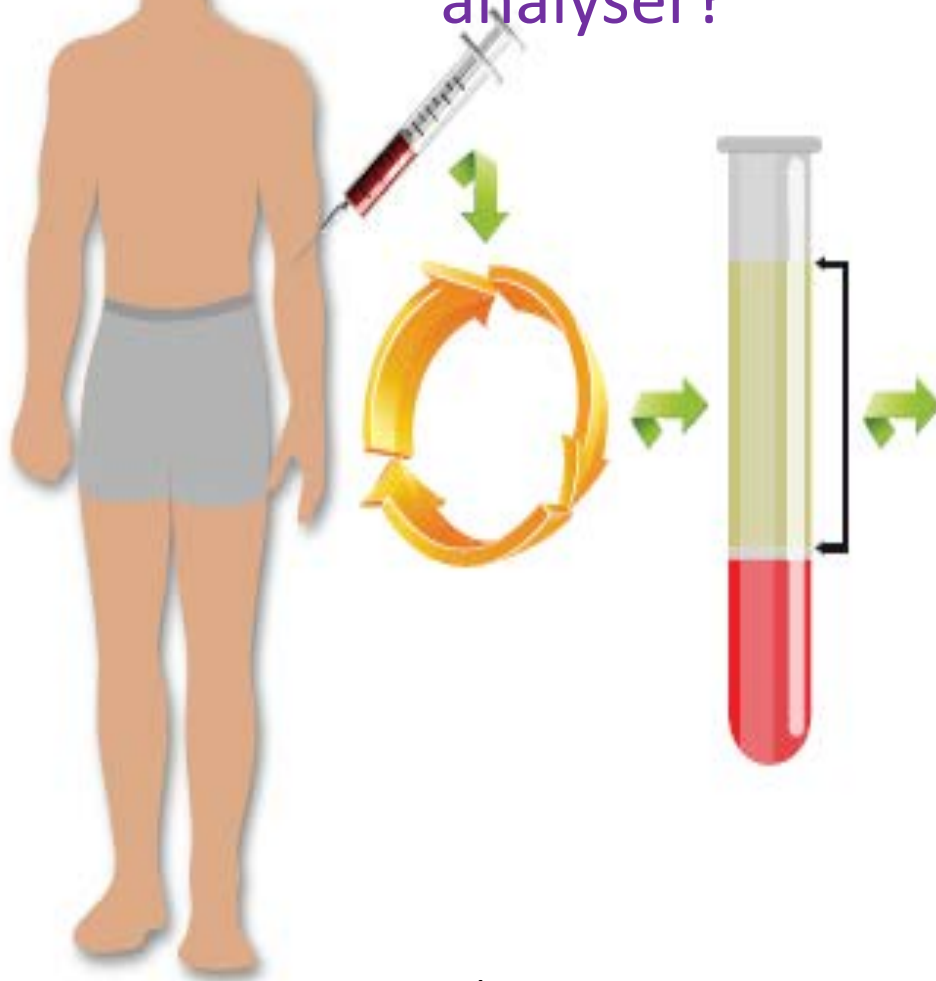
- Extraction** : QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit / Cobas[®] cfDNA Sample Preparation Kit

- Quantification** : small fragments (160 pb peak)
qPCR is better than spectrophotometry

détection : un ADN dilué dans l'ADN normal



Quels sont les acides nucléiques que l'on peut analyser?



Gonzales-Mazia Oncotarget 2013

Analyses of plasma cfDNA:

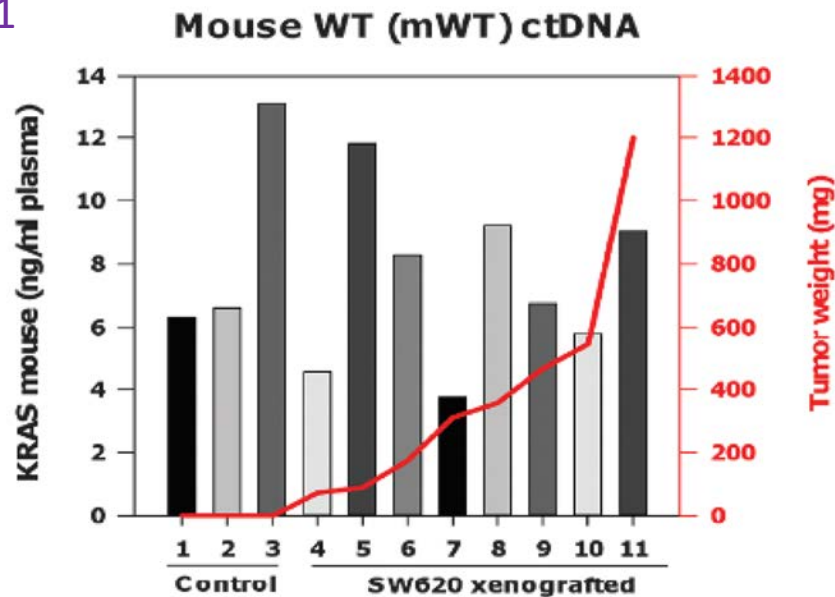
- Quantitation of total cfDNA
- Quantitation of tumor cfDNA
- DNA integrity index
- Detection of molecular alterations harbored in primary tumors:
 - Mutations in oncogenes and/or tumor suppressor genes (eg, KRAS, APC, p53, PIK3CA, BRAF, EGFR, HER2)
 - Methylation of genes (eg, p16, APC, SEPT9, RASSF1A, GSTP1, DAPK)
 - Loss of heterozygosity
- Detection of viral DNA (eg, Epstein-Barr virus, human papillomavirus)
- Quantitation of mitochondrial cfDNA
- Mitochondrial DNA integrity

Analyses of plasma cfRNA:

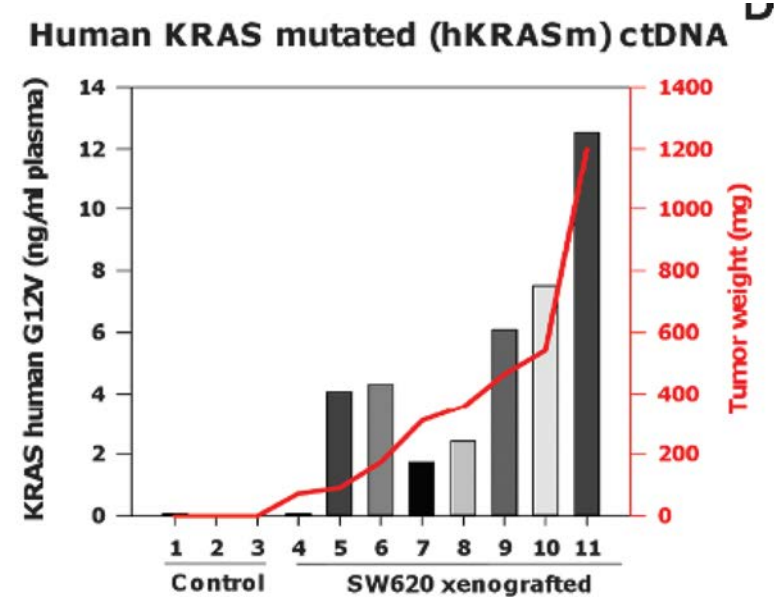
- Quantitation of specific mRNA sequences (eg, metastasin, cytokeratin 19, mammaglobin, squamous cell carcinoma-antigen, human telomerase reverse transcriptase)
- Quantitation of specific miRNA sequences (eg, miR-1, miR-15, miR-17-3p, miR-21, miR-25, miR-29a, miR-30d, miR-44, miR-92, miR-92a, miR-106a, miR-128b, miR-141, miR-221m, miR-223, miR-361-3p, miR-486, miR-625)

ctDNA et charge tumorale

1



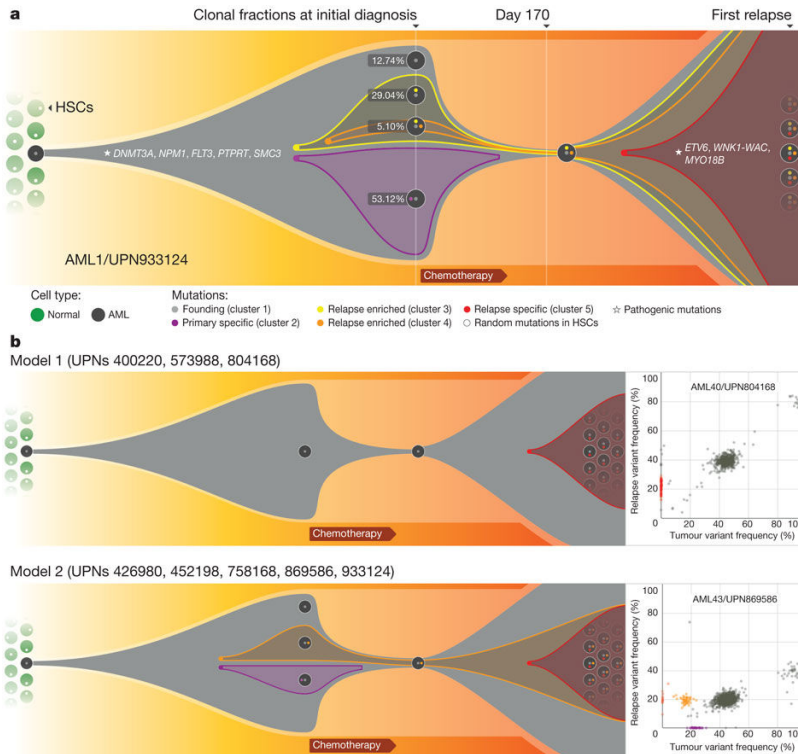
2



Human colorectal cancer cells KRAS mutated xenografted in mice

Application de la biopsie liquide en cancérologie

- Dépistage
- Diagnostic
- Maladie résiduelle
- Détection de la récive
- Détection des résistances
- Prédiction de la réponse



Ding, Nature 2012, **481**, 506–510

Comparaison avec les marqueurs sériques

		Marqueurs sériques	ADN circulant
 DEPISTAGE		Aucune application Défaut de spécificité	En cours d'évaluation
	 DIAGNOSTIC	Apport limité	Utilisation validée En l'absence de biopsie solide
SUIVI 	BILAN INITIAL	Pronostic	Utilisation validée
	MALADIE RESIDUELLE	Utilisation	Apport potentiel
	RESISTANCES	Utilisation	Utilisation validée

E Rouleau

Génotypage du cancer colo-rectal

**nature
medicine**

A. Thierry ... PJ Lamy 2014

Clinical validation of the detection of *KRAS* and *BRAF* mutations from circulating tumor DNA

Double-blinded clinical study

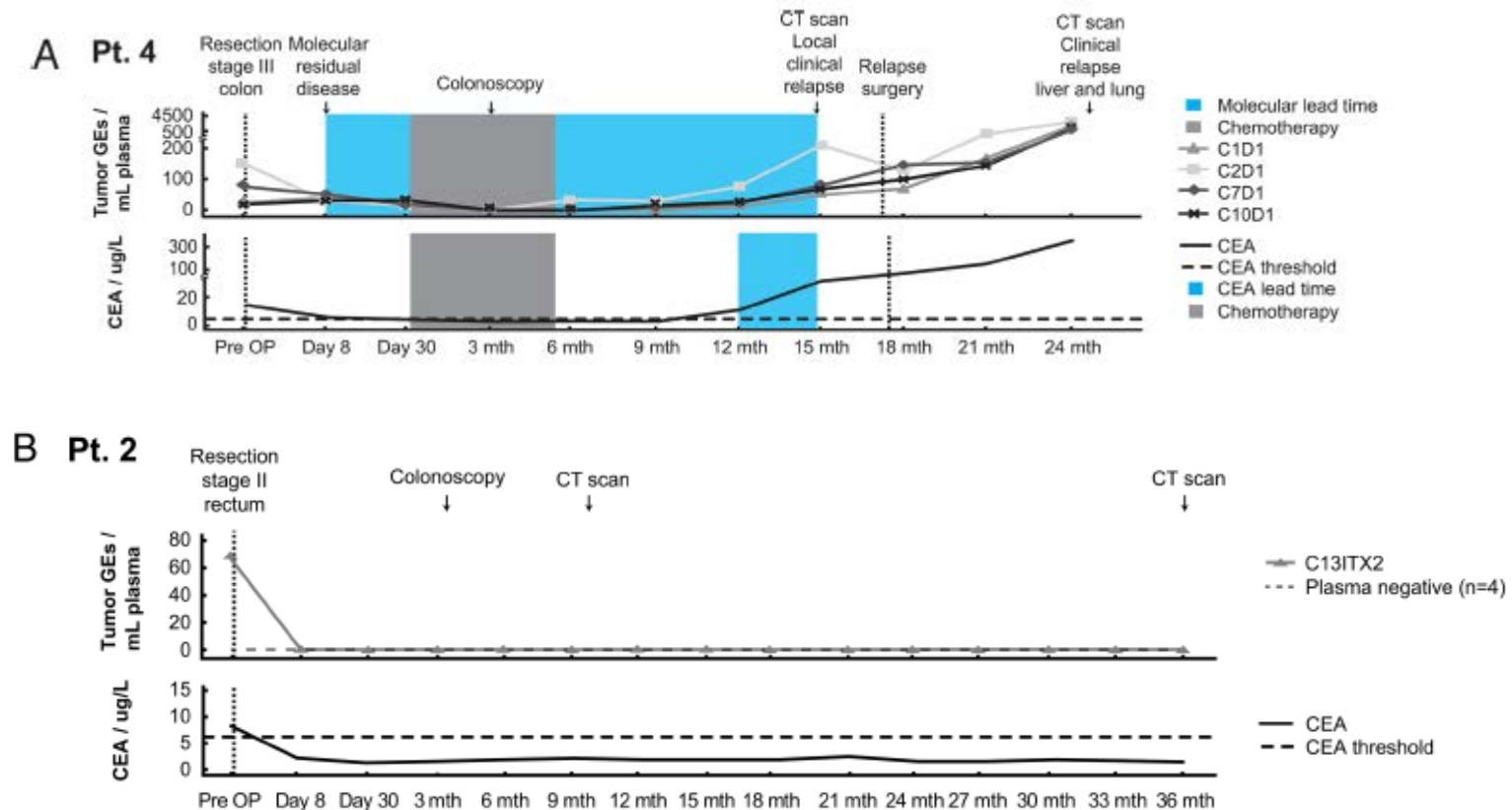
Table 2 Concordance between tumor-tissue analysis and cfDNA analysis (*n* = 95)

		Tumor-tissue analysis				
		<i>KRAS</i>	Mutant	WT	Sensitivity	Specificity
cfDNA analysis	Mutant		36	1	92%	98%
	WT		3	55		
	Total		39	56		
		<i>BRAF</i>	Mutant	WT	Sensitivity	Specificity
cfDNA analysis	Mutant		5	0	100%	100%
	WT		0	90		
	Total		5	90		
		All mutations	Mutant	WT	Sensitivity	Specificity
cfDNA analysis	Mutant		41	1	93%	98%
	WT		3	50		
	Total		44	51		

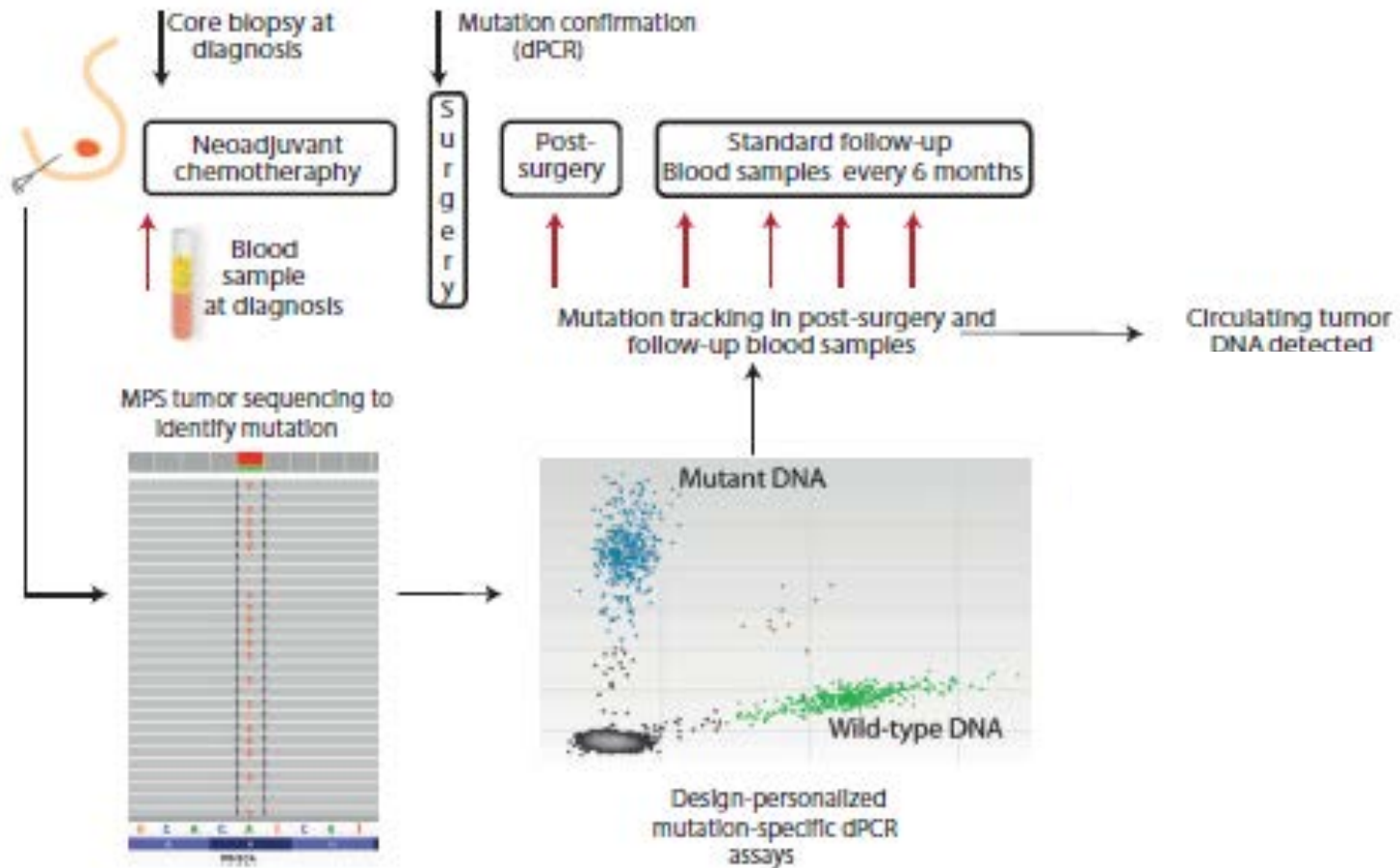
Suivi du cancer colorectal

Rheinert et al. Gut 2015

Plasma DNA from 2 to 4 mL plasma
CEA on Cobas (Roche)

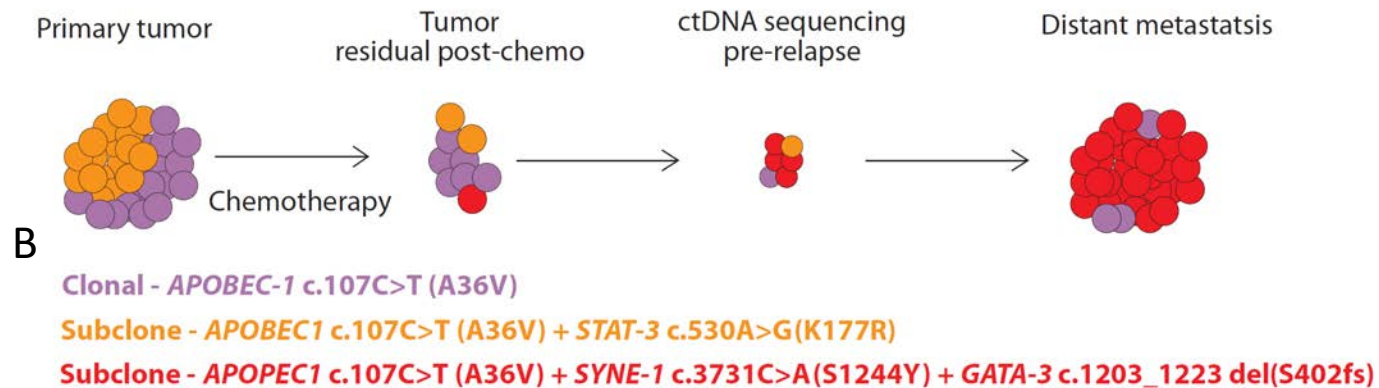
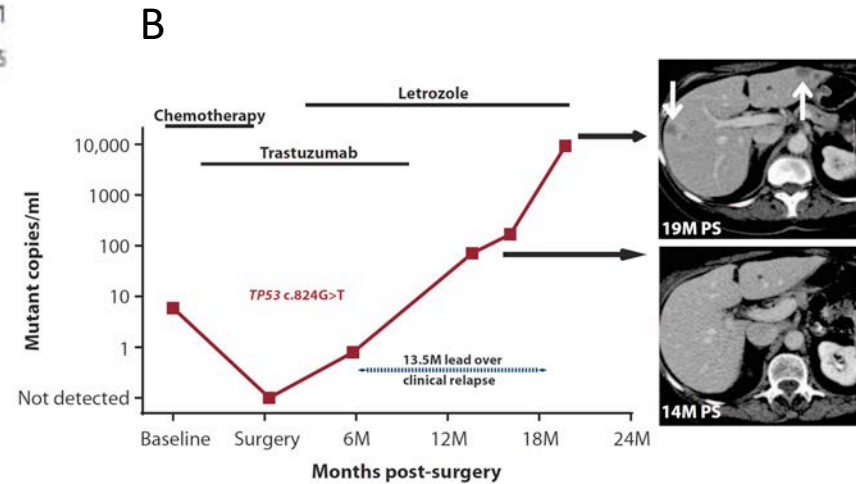
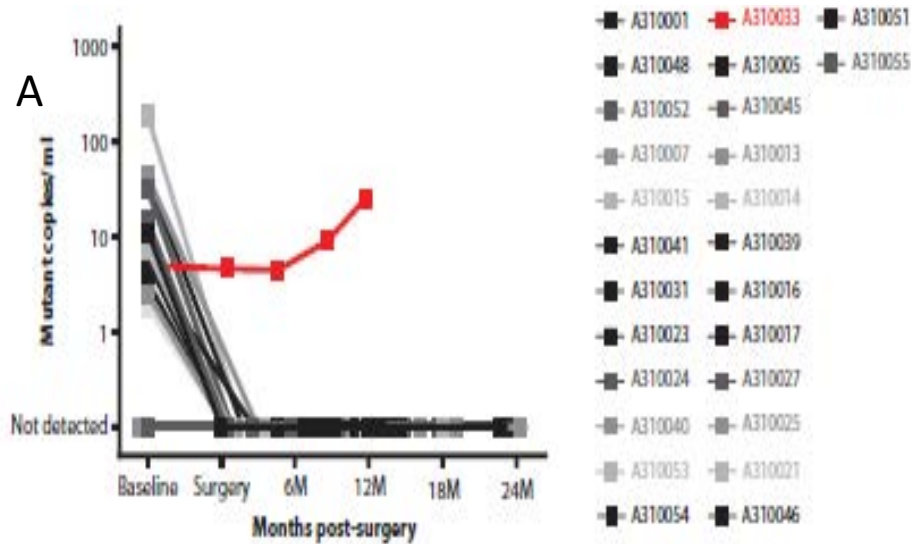


Prédiction de la récurrence



Garcia-Murillas et al, 2015

Prédiction de la récidence

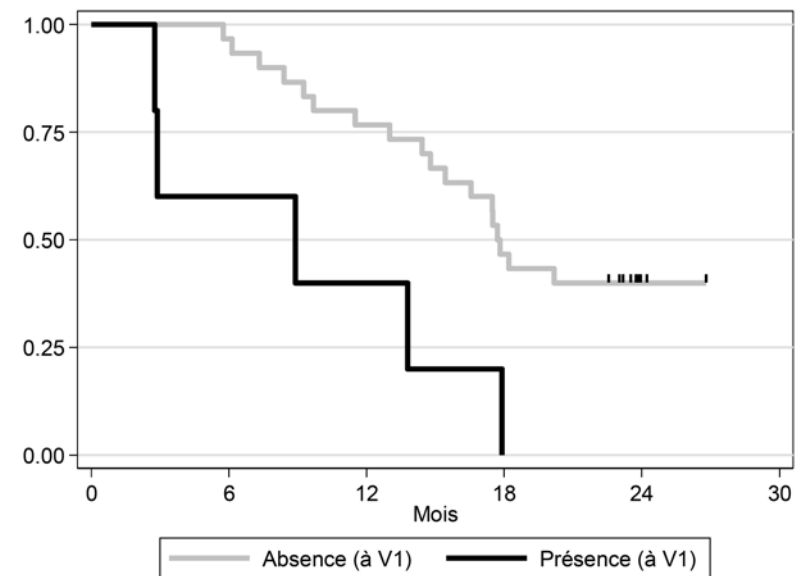


Garcia-Murillas et al, 2015

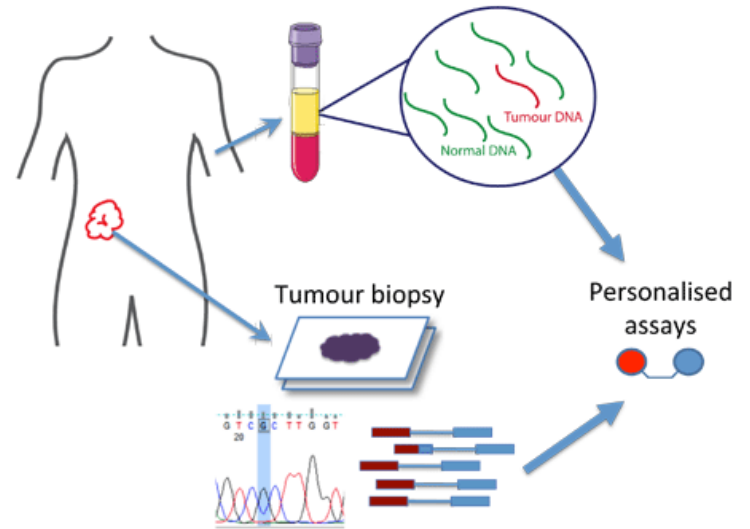
Prédiction de la réponse aux traitements

Circulating PIK3CA mutations in mBC treated by hormonotherapy

- Presence of a cfDNA *PIK3CA* mutation in the T0 sample was not associated with 1-year PFS
- Persistence of a detectable circulating mutation at T1 was highly significant of a worse 1-year PFS (40% vs. 76.7%; $p=0.0053$)



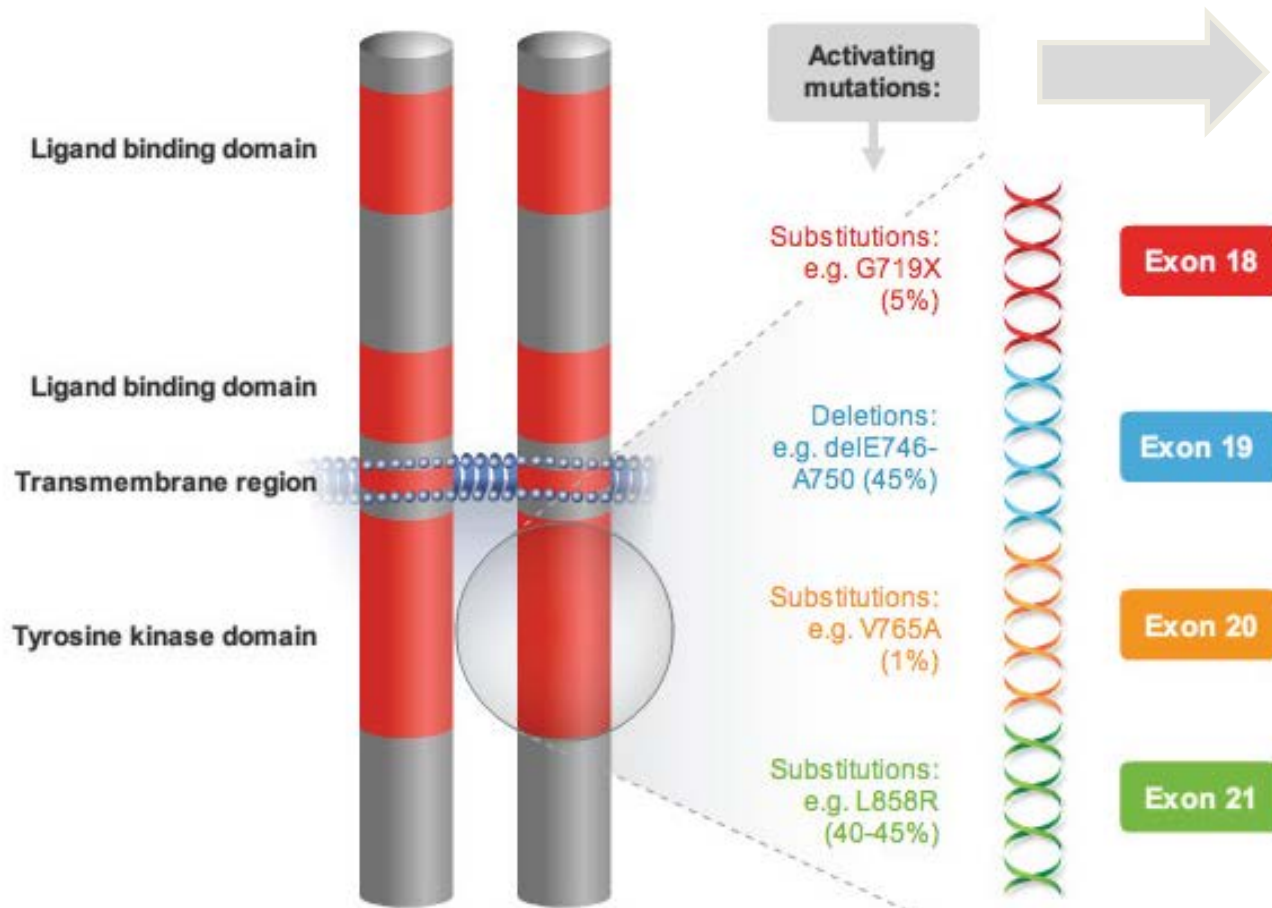
PJ Lamy et al. Unpublished data



En routine aujourd'hui

L'EXEMPLE DU CANCER DU POUMON

NSCLC mutation profile and targeted therapies



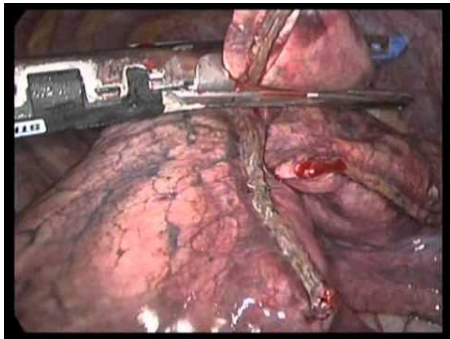
* T790M <5% at initial EGFR mutations, however it is the major resistance mutation (50%) after treatment with reversible TKIs

EGFR Inhibitors

IRESSA® –TARCEVA®

GIOTRIF®

Les biopsies pulmonaires



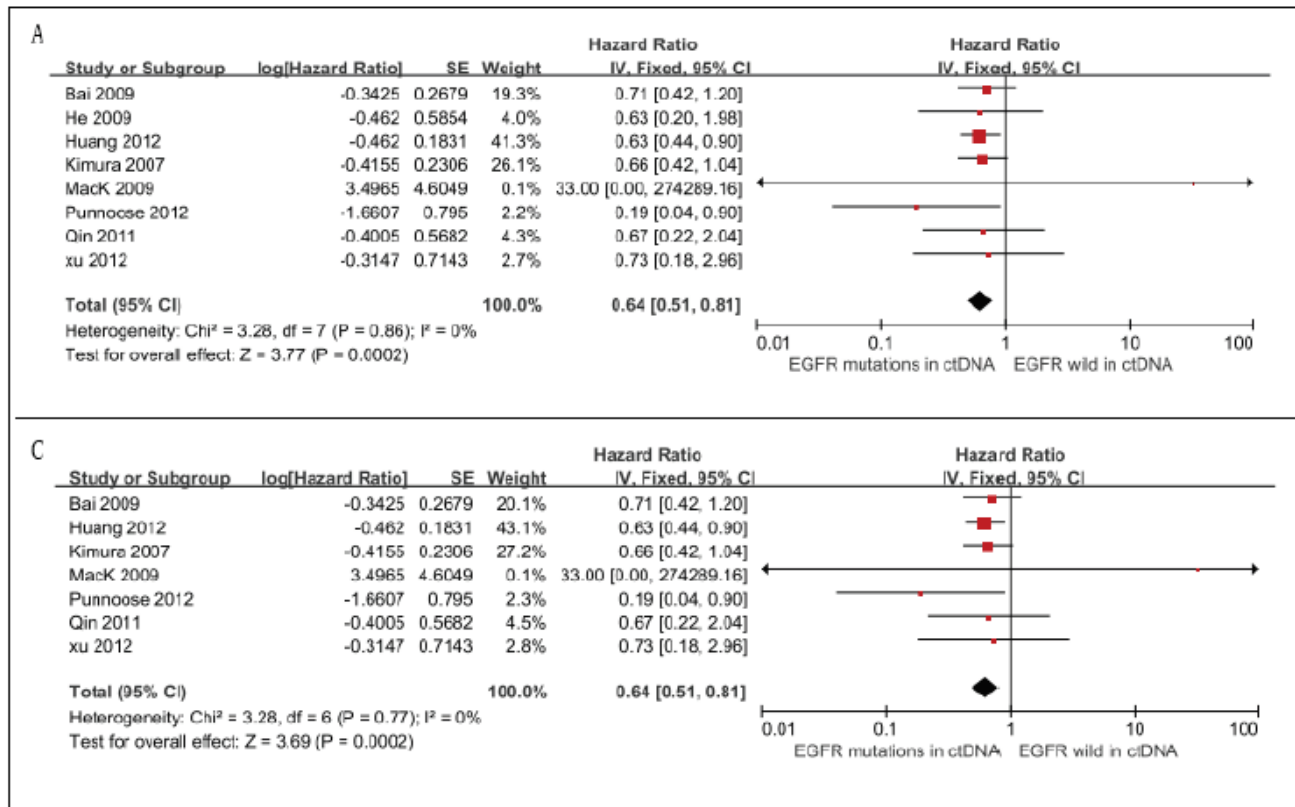
Lung Biopsy carry risks : blood clots, bleeding, pneumothorax, Infections, fever, pain, pneumoria

Difficult for patient with lung diseases (stop breathing, no coughing)

Not always informative : low number of cells. Insufficient for molecular analyses

Cost : 8000\$ - 38000 \$ with AE

EGFR ct and prognosis



- Patients treated or not by RTKI
- Kras ct mutation : worst prognosis
- EGFR ct mutation : better prognosis
 - >patients treated by RTKI

Fan G. Oncotarget 2017

ctDNA vs cytology/biopsy

Percentage of EGFR mutation positive tumours identified from matched ctDNA samples (sensitivity)



43.1%



65.7%

IPASS ¹ (i)	Tumour mutation status		
	M+	M-	Total
ctDNA mutation status			
M+	22 	0	22
M-	29 	35	64
Total	51	35	86

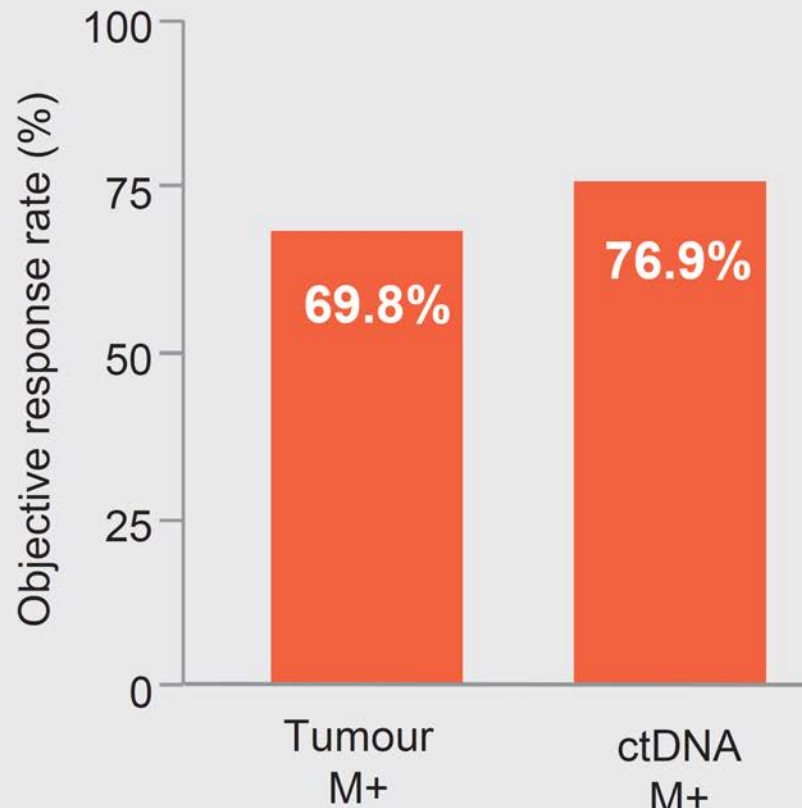
IFUM ¹⁷ (ii)	Tumour mutation status		
	M+	M-	Total
ctDNA mutation status			
M+	69 	1	70
M-	36 	546	582
Total	105	547	652

- Positive predictive value of ctDNA = 100%
- Specificity = 100%
- Concordance = 66.3 %

- Positive predictive value of ctDNA = 98.6 %
- Specificity = 99.8%
- Concordance = 94.3%

Clinical efficacy

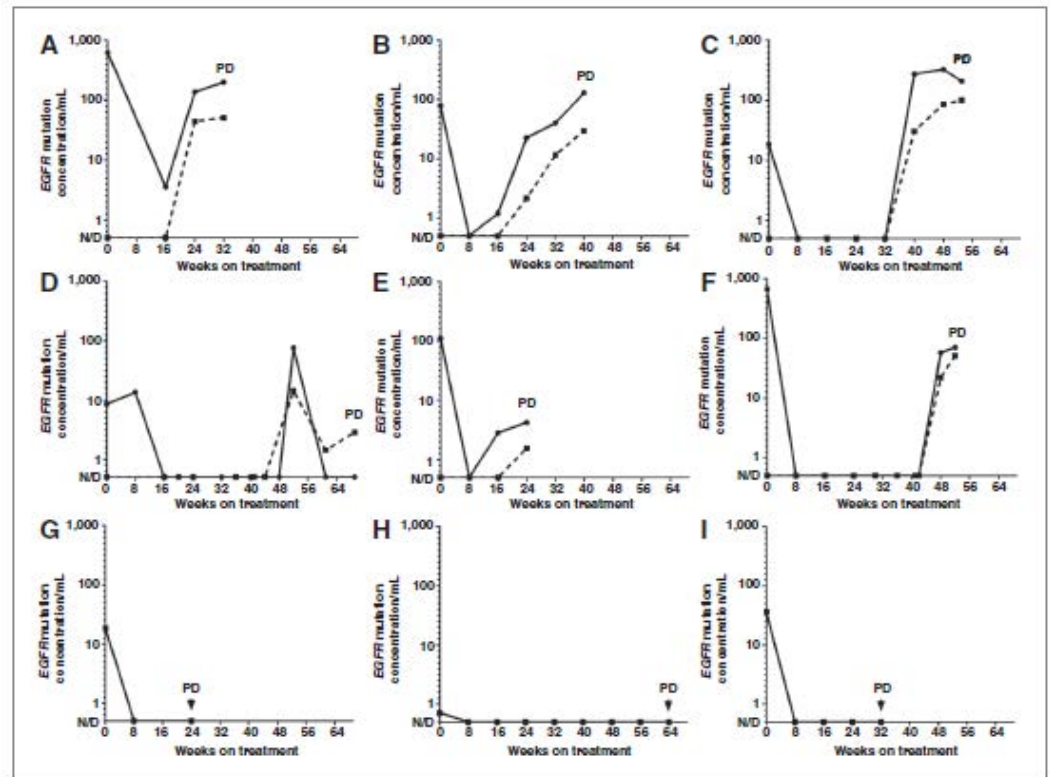
Objective response rate in patients with EGFR mutation positive ctDNA treated with gefitinib in IFUM^{17, 18}



IFUM: Douillard BJC 2014

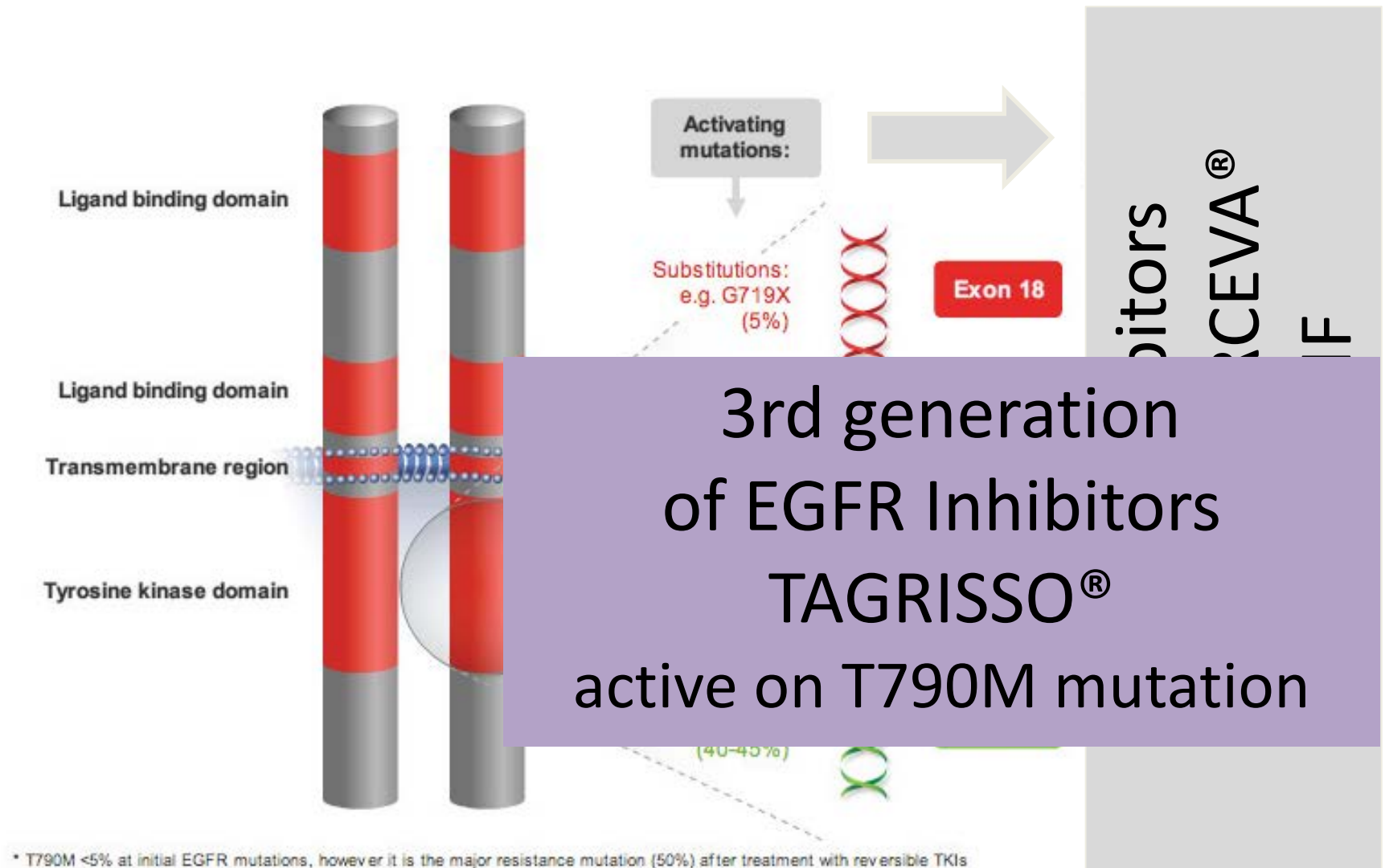
Monitoring patients with exon 19 del mutation treated by Tarceva®

Mutations in ctDNA
—— EGFR exon 19
-----T790M



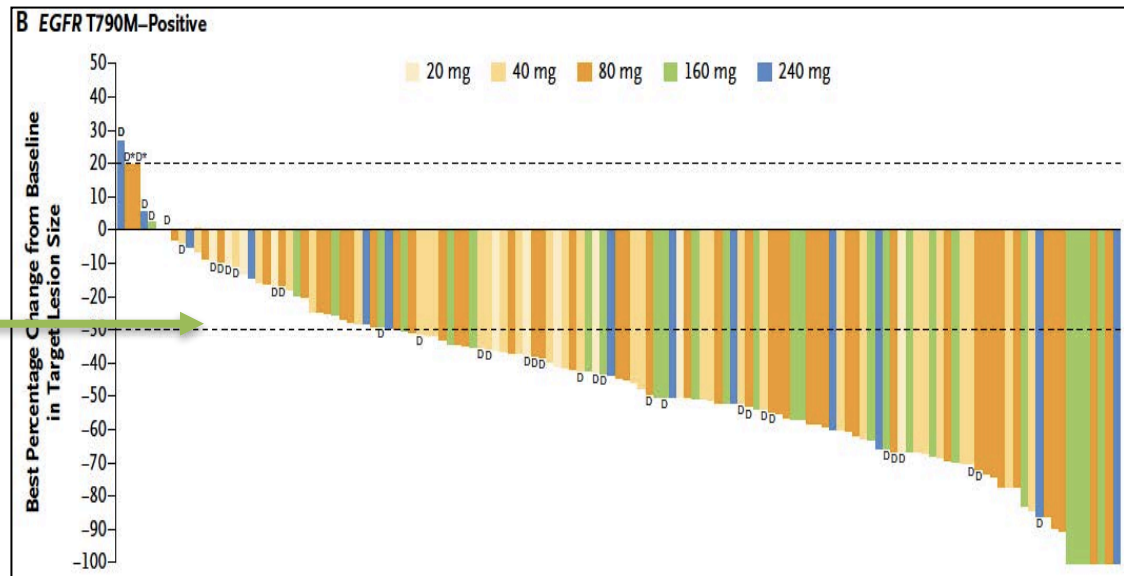
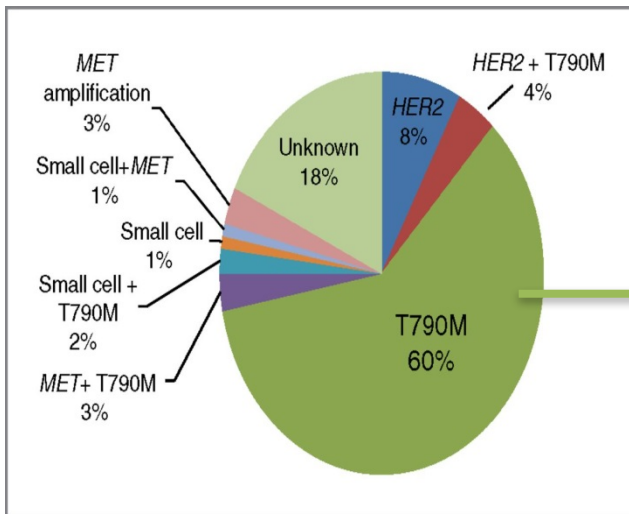
Patients with resistance mutations (T790M) detected 4 to 24 weeks before progression

NSCLC mutation profile and targeted therapies



OSIMERTINIB

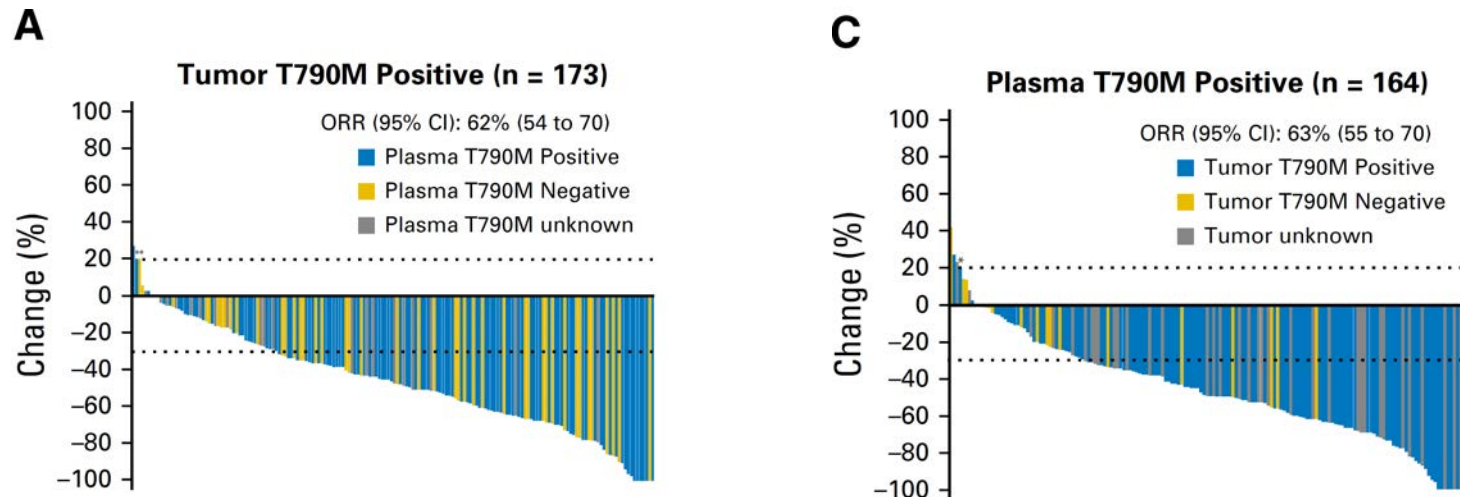
Tagrisso[®] Approved by FDA in FEB 2016



Sequist – NEJM 2015 * MItsudomi – WCLC 2015

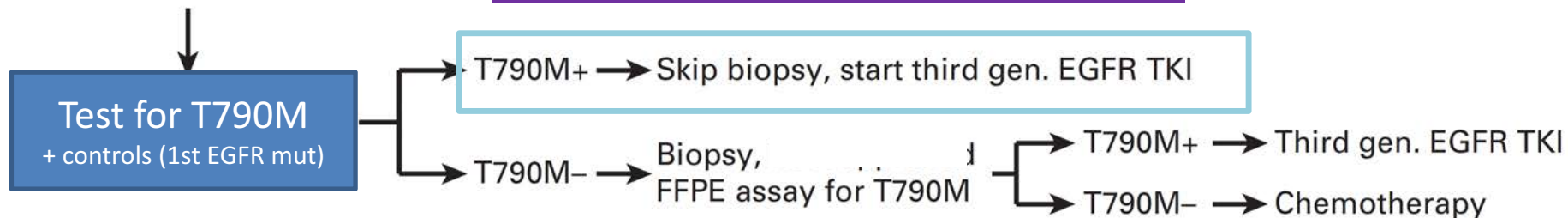
AURA clinical trial

Waterfall plots for best percentage change in target lesion diameter in patients with T790M mutation in tumor or plasma



Acquired resistance to EGFR TKI

Response rate is equivalent for selection based on tumor or ct DNA



Immunothérapies

Rétablir l'immunité anti-cancéreuse : 20% des patients répondent en moyenne

UC San Diego

UC San Diego News Center

October 01, 2017 | By Yadira Galindo

DNA Mutations Shed in Blood Predicts Response to Immunotherapy in Patients with Cancer

- >3 mutations : 45% de réponse
- <3 mutations : 15% de réponse

Les néo-antigènes tumoraux issus des mutations induisent une réaction immunitaire

Khagi & Kuzrock Clinical Cancer Research 2 Octobre 2017



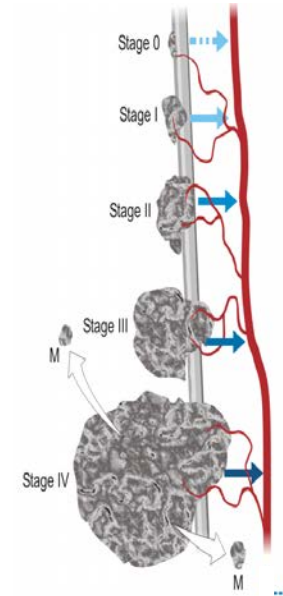
Le futur de l'ADN circulant

LE DEPISTAGE

Méthylation du gène SEPTINE 9

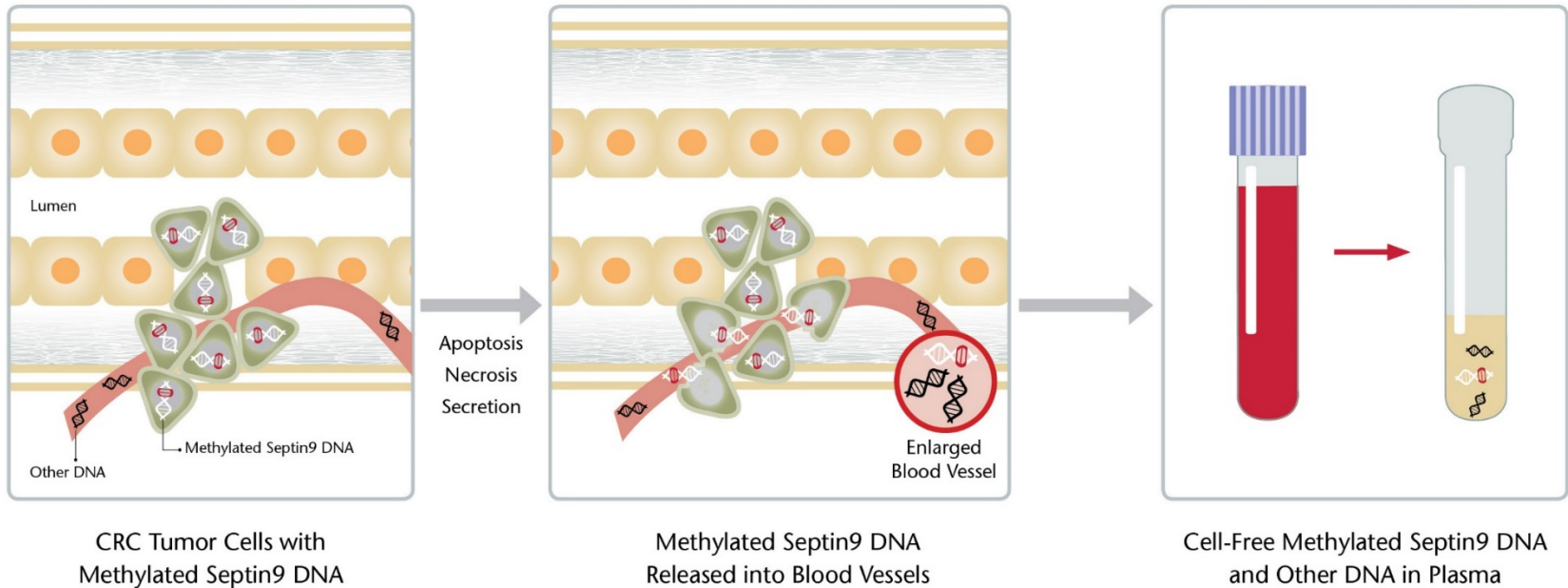
Un TEST DE DEPISTAGE NON INVASIF du Cancer Colo-rRectal

- **Septin9** : Simple blood-based tests widely seen as best way to close the “screening gap”
- Epi proColon® - Septin 9 is based on a single epigenetic biomarker: **methyated Septin9**
- High analytical **sensitivity** (6pg/ml), **specific** for colorectal cancer
- Equal capability to detect **left and right** sided cancerous lesions



Park et al. 2010. Am. J. Gastro.
Tetzner et al. UEGW 2011

ADN libre circulant sanguin

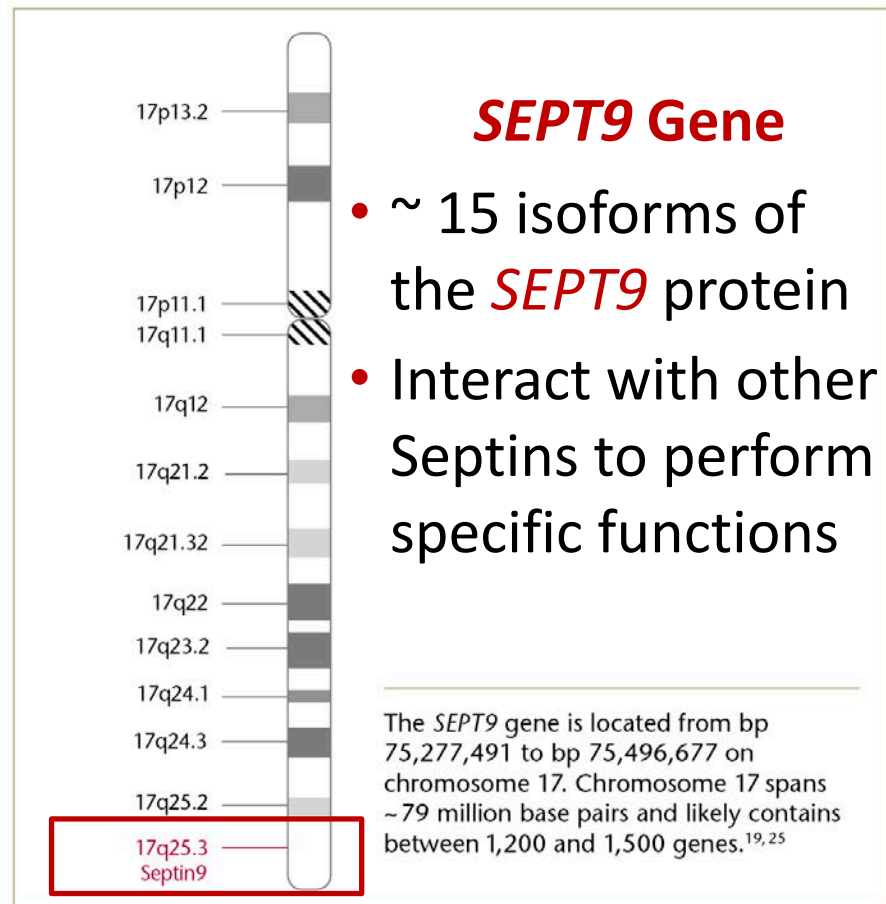


Septin9 Méthylé – un biomarqueur du CRC

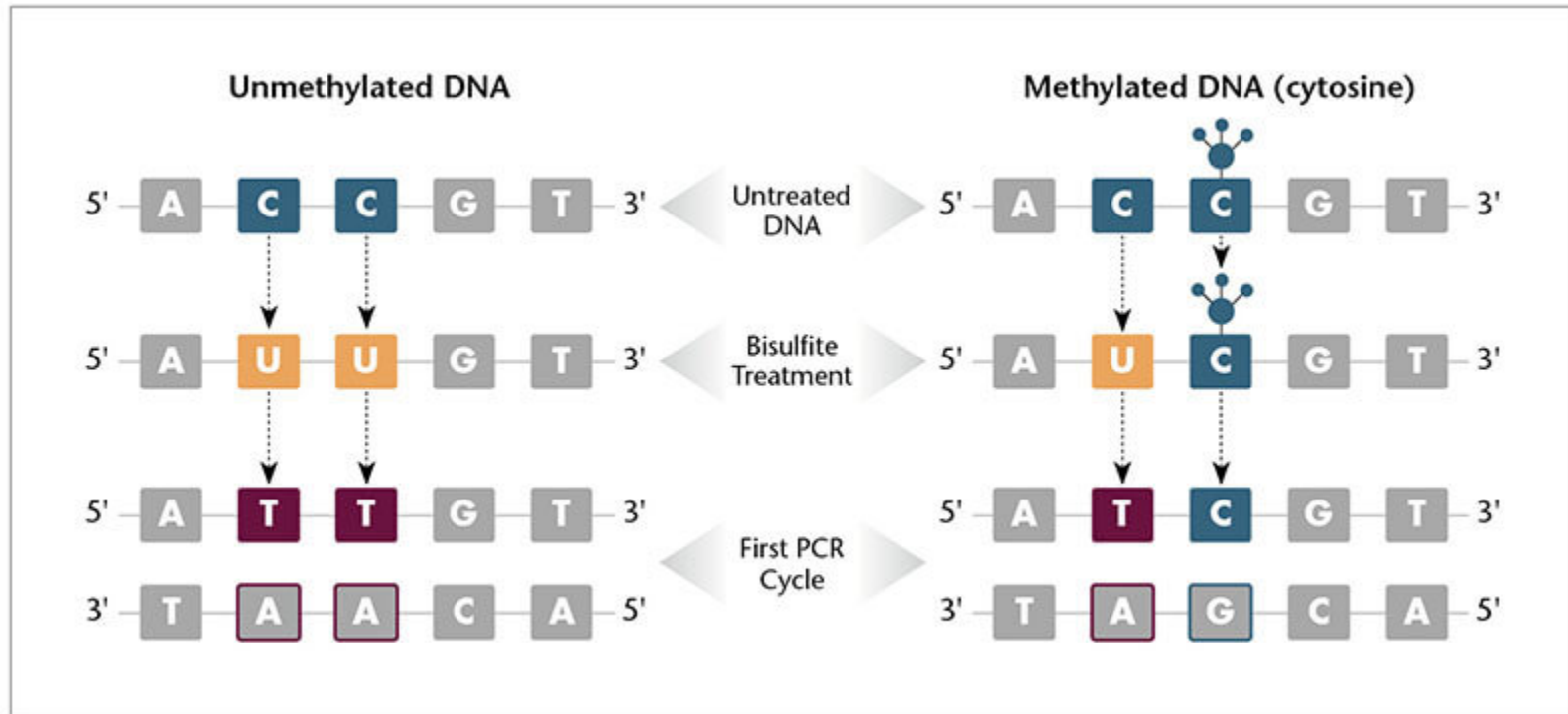
Par l'utilisation de techniques d'analyses du génome et du méthylome (puces à ADN) il a été montré une corrélation entre Sept9 méthylé et CRC

La protéine sept9 a un rôle critique dans :

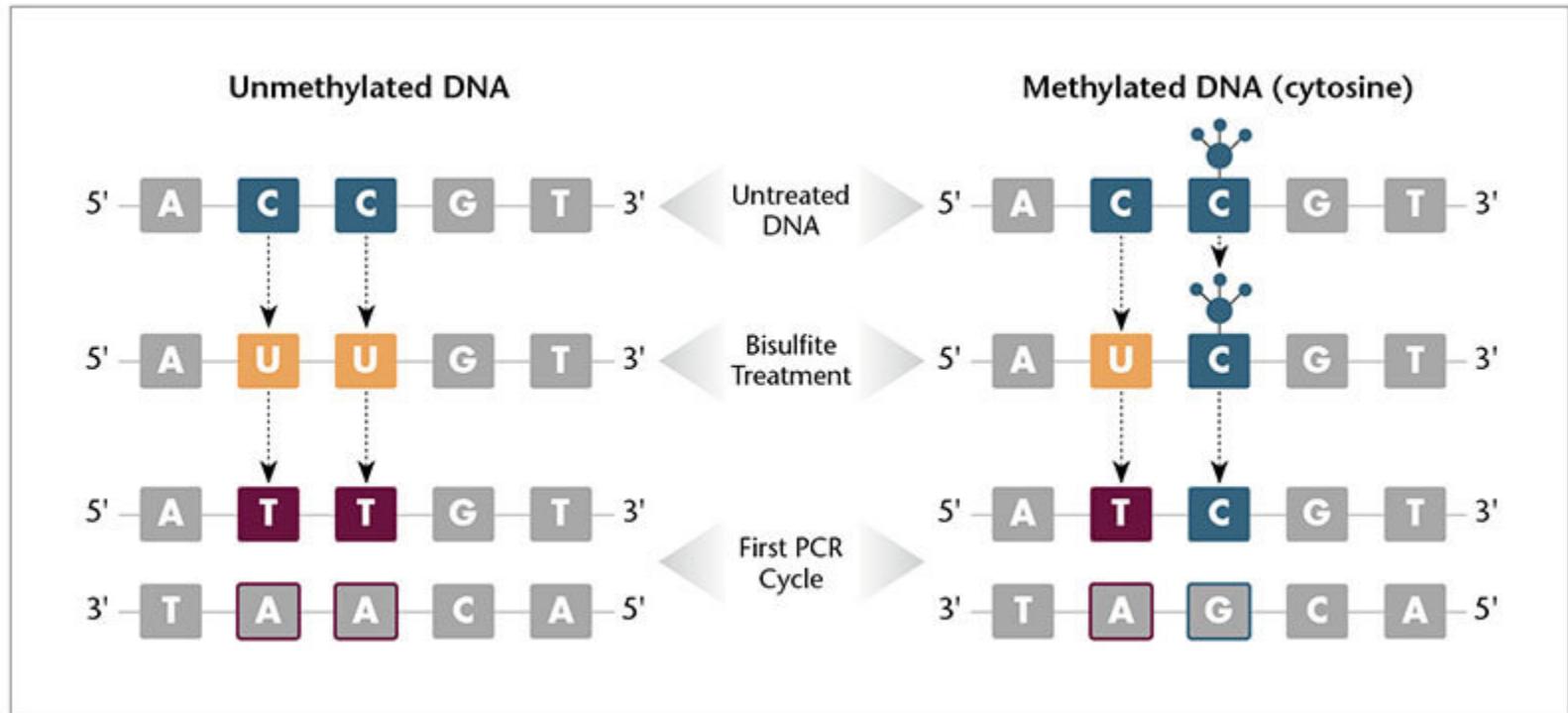
- La prolifération et division cellulaire
- La régulation cellulaire



Le traitement au Bisulfite

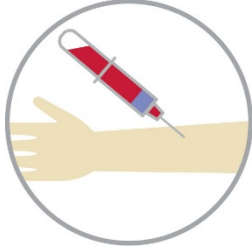


Le traitement au Bisulfite



Résultats et Interprétation

Blood Draw



30 ml blood sample

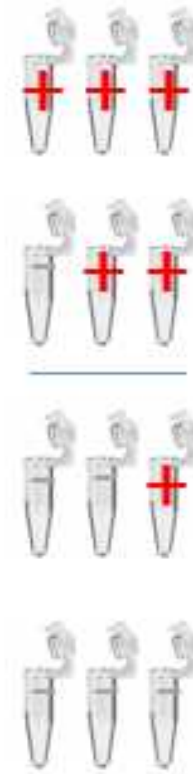


Min. 45 µl DNA

Septine 9[®] 2.0 CE

Test Result

(triplicate testing
of 15 µl each)



Test Positif

Doit être suivi d'une
coloscopie pour
confirmer le test

Test Négatif :

Suivi au cours du temps
Ex : tous les 2 ans

Comparison avec les autres tests

Method	Specificity	Sensitivity
Colonoscopy¹	95%	95%
gFOBT² (occult blood test)	99.7%	37.1%
iFOBT or FIT³ (immunological test)	93.7%	69.2%
eipi^{pro} colon[®]  2.0 CE ⁴	99.3%	80.6%

¹ Zauber AG et. al. Technology assessment report, project ID CRCC0608, 2009 ²Allison et al. 1996 NEJM, ³Park et al. 2010. Am. J. Gastro.

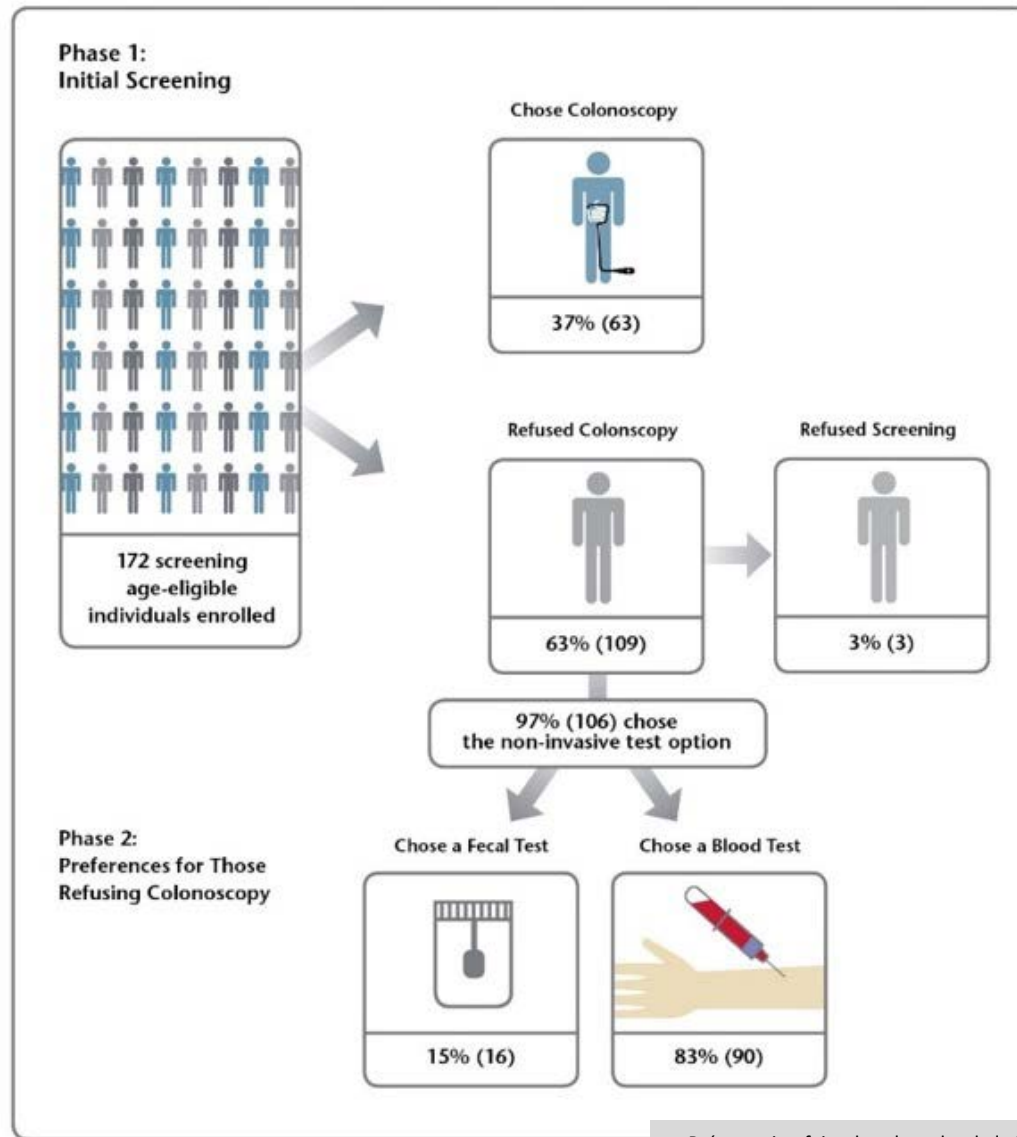
⁴Tetzner et al. UEGW 2011

Performance clinique

eipi^{pro} colon[®]  2.0 CE	Screening Cohort	Case-Control Cohort	CRC Cases
Valid Results	149	99	98
Positive	1	3	79
Negative	148	96	19
Specificity	99,0% (95,0%CI, 96-100)	97,0% (95,0% CI, 91-99)	
Sensitivity			81,0% (95,0% CI, 72-87)
NPV	99,0%	99,0%	
PPV	11,9%	28,9%	

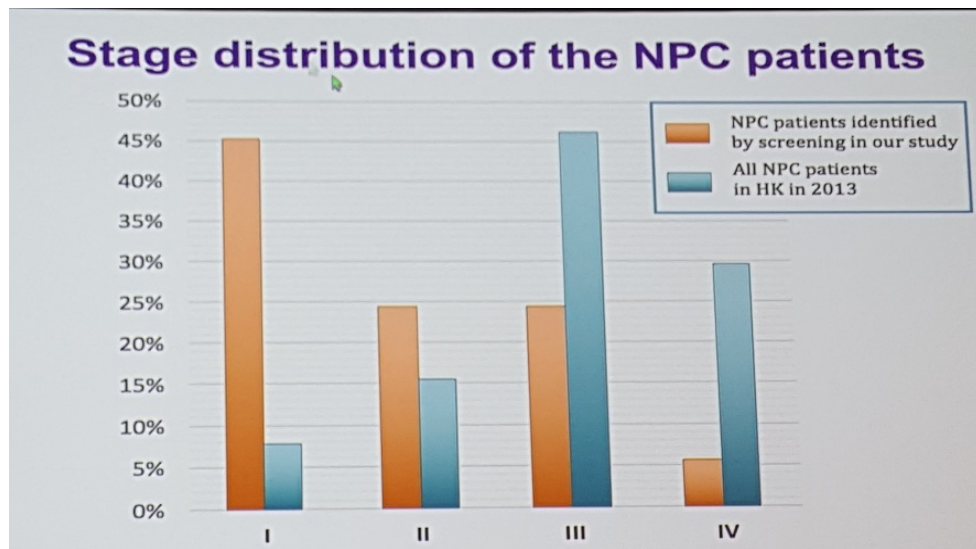
Epi proColon 2.0CE Instructions for Use (IFU 0009) and Epigenomics data on file

Adler et al. (BMC Gastroenterology): Improving compliance to colorectal cancer screening using blood and stool based tests in patients refusing screening colonoscopy in Germany

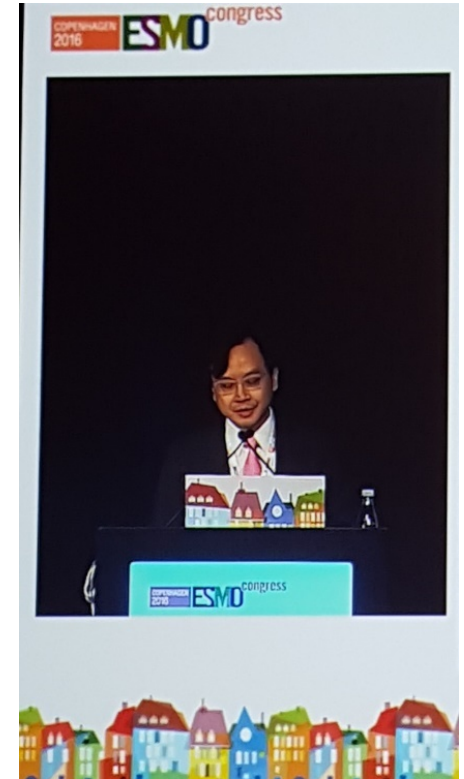


Nasopharyngeal cancer and EBV ctDNA

- Epstein Barr Virus : an oncogene of NPC
- 20 174 subjects screened
- 1,5 % (n=309) with 2 positive consecutive ctDNA tests
- 0,17 % (n=34) with cancer (a majority of low stage)



Dennis LO ESMO 2016



ADN circulant : autres usages

TRANSPLANTATION

Le suivi de la transplantation hépatique

Liver transplantation

- Irreversible aetiologies
- Increasing numbers globally
- Multidisciplinary breakthroughs
 - Surgical techniques
 - Immunosuppression
- Acceptable mortality



Suivi par les marqueurs sériques et biopsies

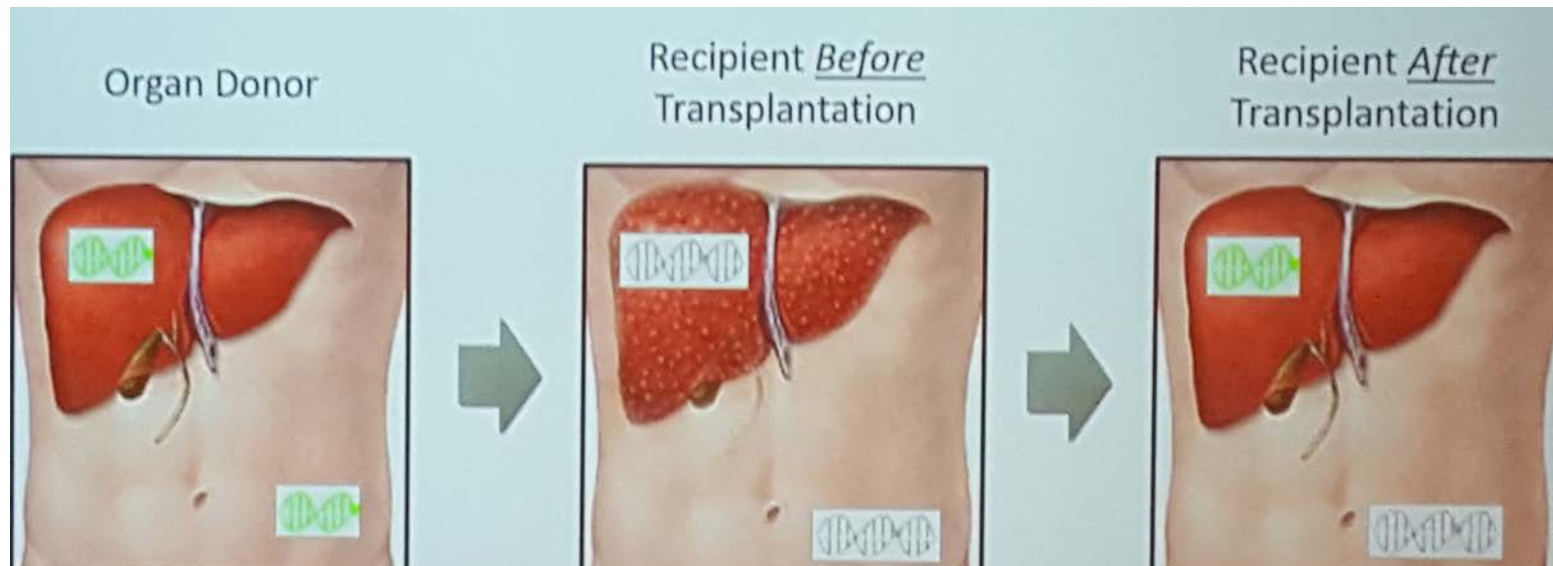
Levitsky Clin Gastrol and Hepatol 2016

PJ Lamy 2017

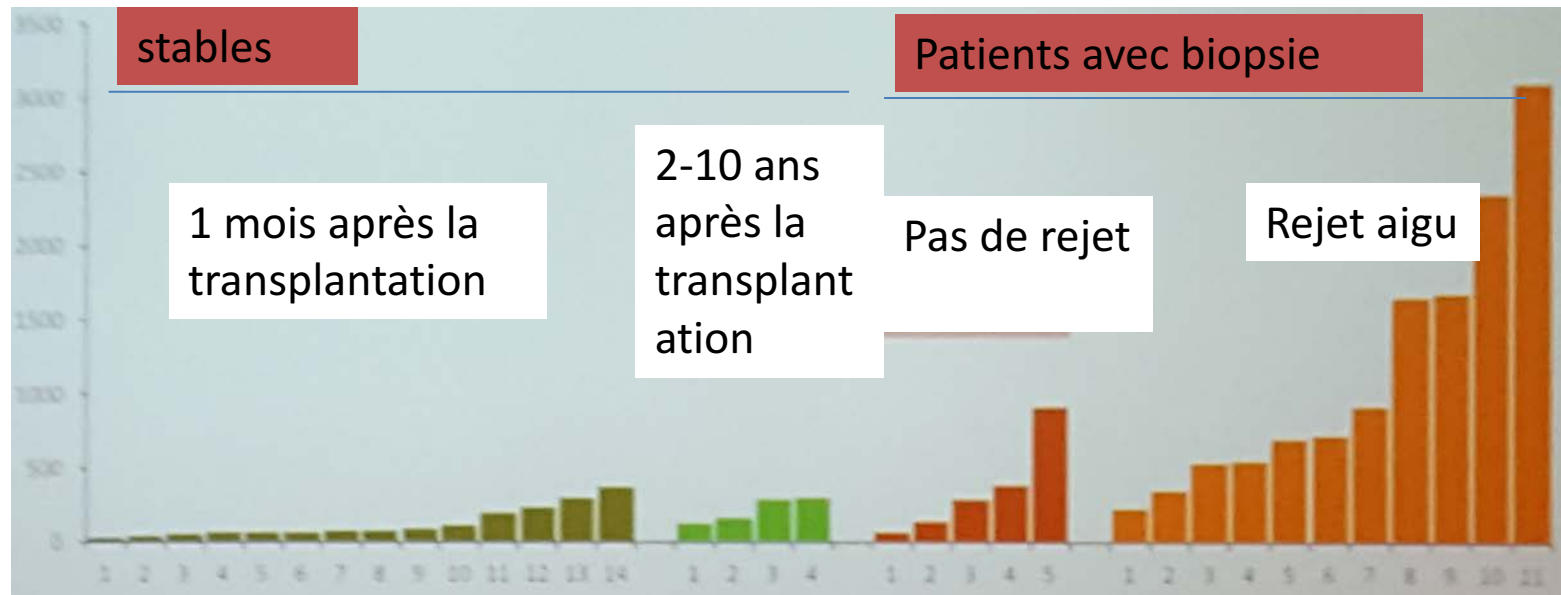
Présentation faite dans le cadre de la Première Journée scientifique du SDB 10/10/2017



Recherche d'un ADN hétérogène



Suivi par l'ADNct de patients greffés

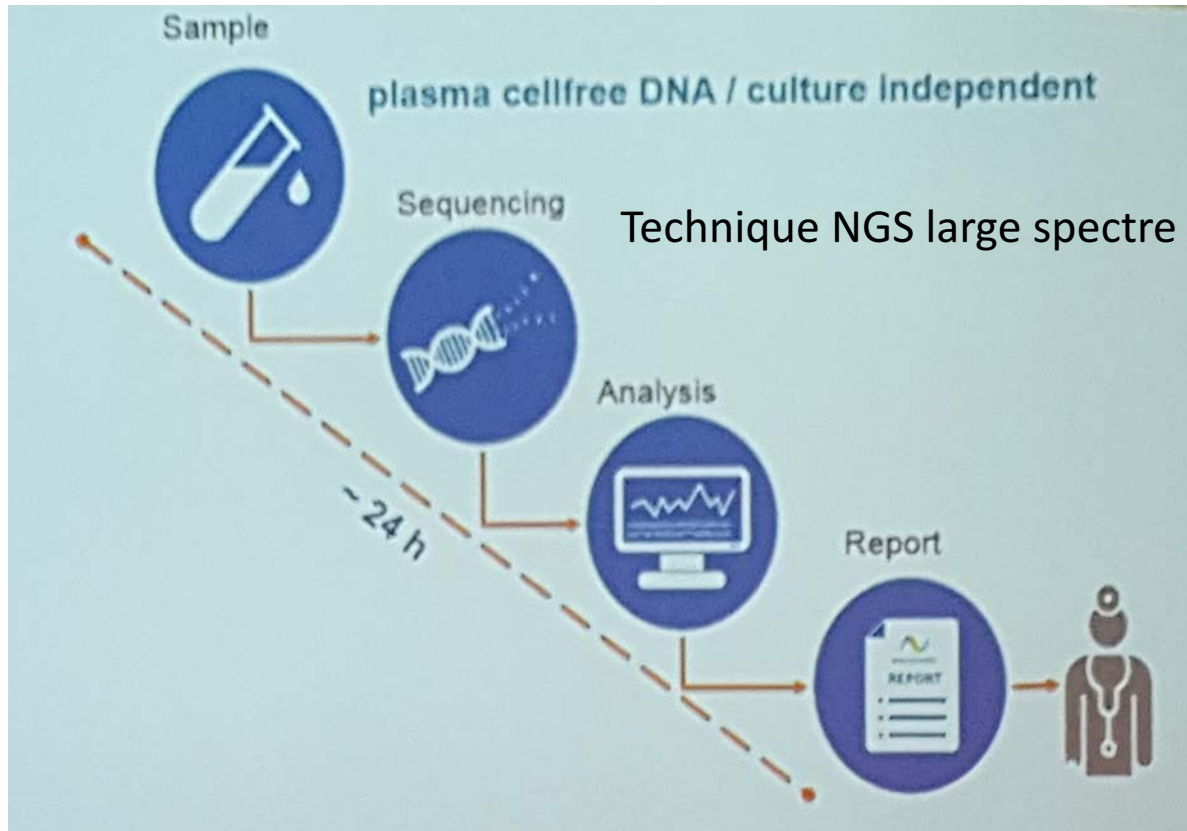


Su Kah Goh, Austin Health , Victorian Liver transplantation unit, Australia

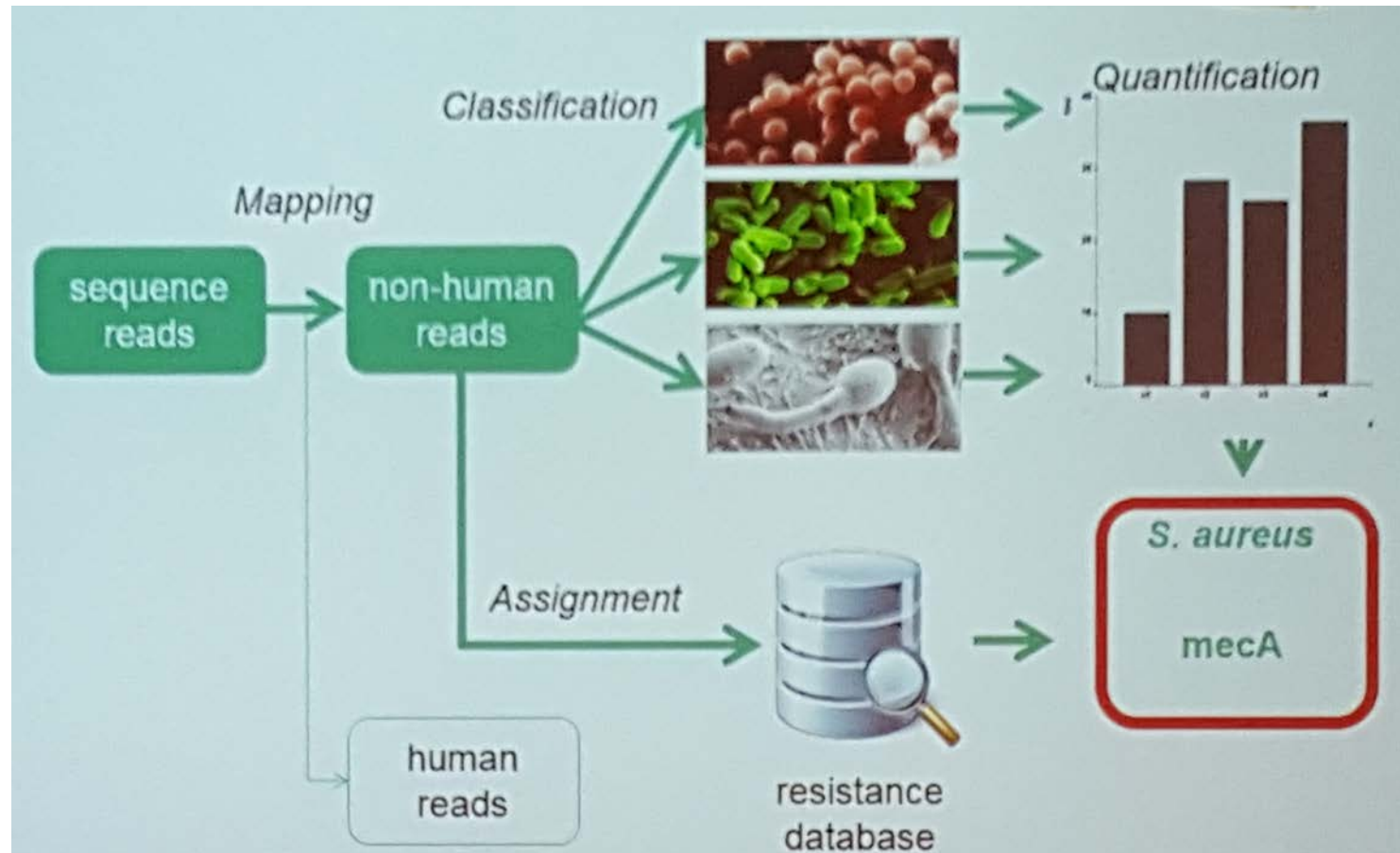
Autres utilisation de l'ADNct

DÉTECTION PRÉCOCE DU SEPTIS

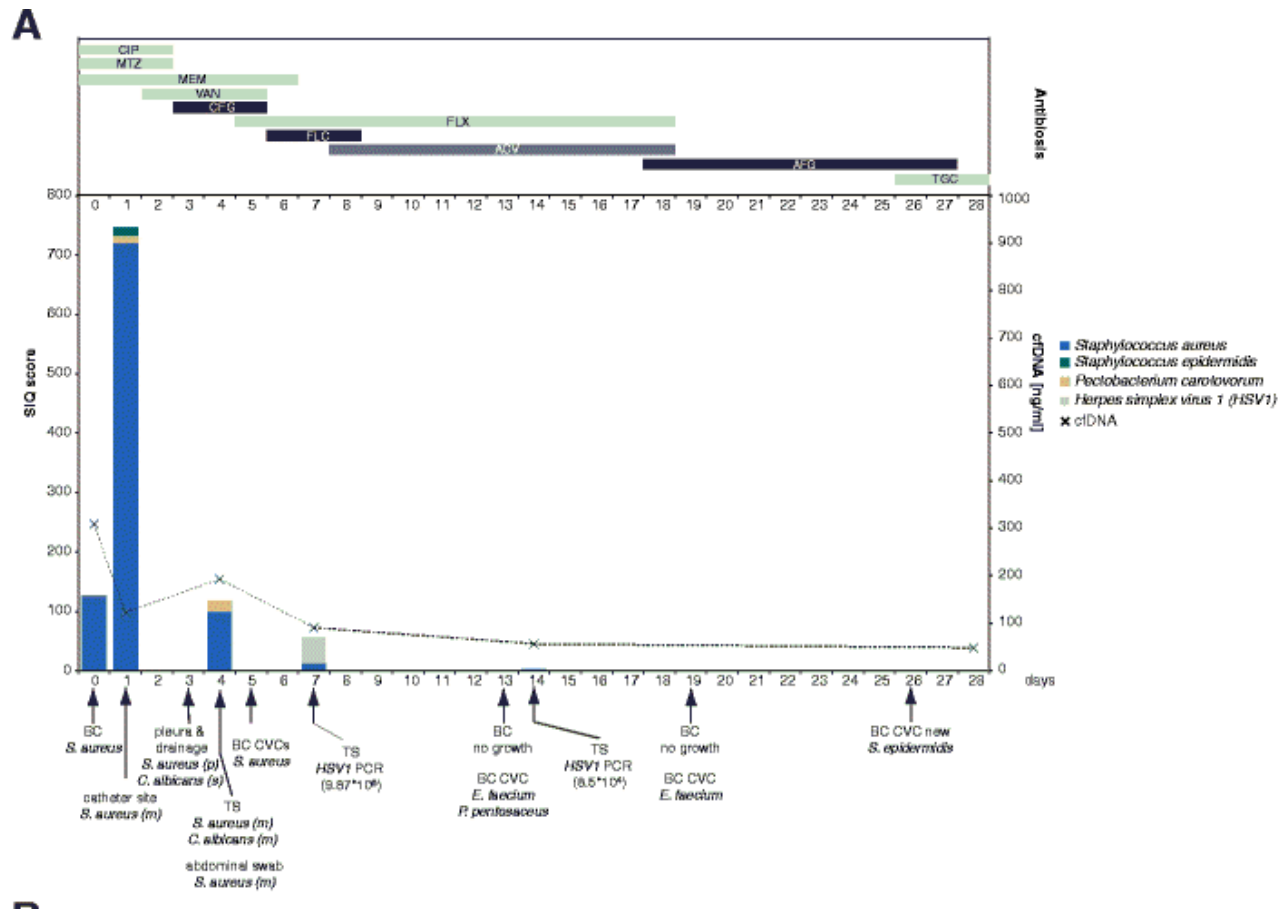
ADN bactérien circulant



ADN bactérien circulant



M. S10, 68 ans- Gastrectomie sur carcinose gastrique – choc septique à S Aureus



Silke Grumaz - Genome Medicine2016 8:73

conclusions

- Une nouvelle classe d'analyte circulant : les acides nucléiques
- Un mot clé : la spécificité
- ADN mais aussi ADN mitochondrial, ADN plaquettaire, ARNm, Micro-ARNs
- Génétique et épigénétique
- Comme avec la SM, possibilité d'analyse haut débit
- Contrôles de qualité
 - Extraction
 - Analyse
 - Bio-informatique
- Standardisation
- Coûts

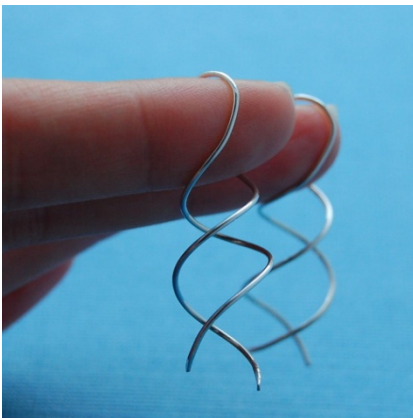
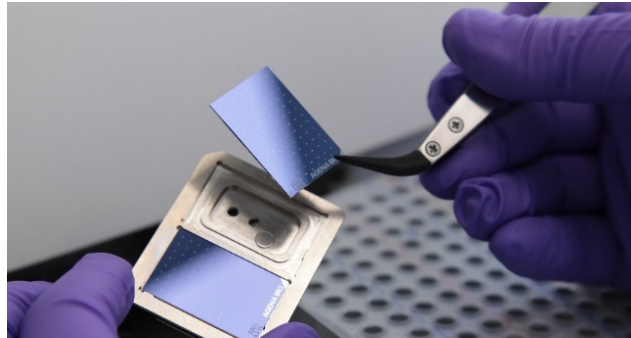


Merci

G Egea

H Rahil

Et toute l'équipe d'imagenome



imagenome
INSTITUT MÉDICAL D'ANALYSE GÉNOMIQUE

Groupe
LABOSUD

Contact

Pierre-Jean Lamy

imagenome@labosud-ocbiologie.fr

<http://imagenome.fr/>

