

Le diagnostic préimplantatoire en 2018.

Dr Gaëlle THIERRY/Dr Florence LEPELIER.

19^e journée de perfectionnement sur la prise en charge
des couples infertiles.

Equipe DPI.
CHU de Nantes

Collège de Gynécologie C.V.I.



Diagnostic Pré Implantatoire

- Loi de bioéthique du 6 août 2004 modifiée le 7 juillet 2011.
- Rechercher la mutation familiale dès les premiers stades du développement embryonnaire :



Législation française.

Article L2131-4 du Code de la santé Publique :
le DPI est autorisé «à titre exceptionnel».

• Conditions :

- ✓ Médecin d'un centre pluridisciplinaire de DPN.
- ✓ Maladie génétique d'une particulière gravité reconnue comme incurable au moment du diagnostic.
- ✓ Maladie identifiée chez un des parents ou un ascendant immédiat.
- ✓ Diagnostic ayant pour seul objet de rechercher cette affection ainsi que les moyens de la prévenir et de la guérir.
- ✓ Autorisation spéciale et agrément des personnes pouvant le pratiquer (délivrés par l'Agence de la Biomédecine).

Collège de Gynécologie CVL

En France :



En 2016 :

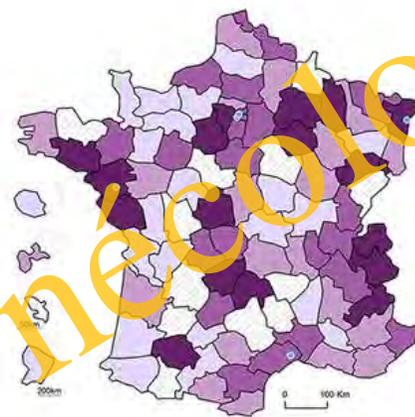
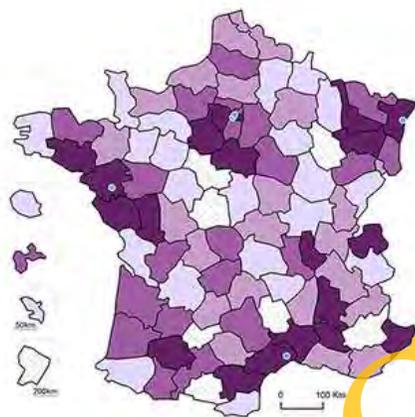
Nantes :
>230 demandes
>180 acceptées

Collège de Gynécologie CVL

Figure DPI2. Accès au DPI en France entre 2014 et 2015 selon le lieu de résidence des couples

Accès au diagnostic préimplantatoire en 2014

Accès au diagnostic préimplantatoire en 2015



Nombre de dossiers examinés par million de femmes en âge de procréer

- De 11,4 à 27,8
- De 27,9 à 52,6
- De 52,7 à 88,3
- De 88,4 à 173,9

* Centre de DPI
□ Sans demande

Source: Agence de la biomédecine

Nombre de dossiers examinés par million de femmes en âge de procréer

- De 12,4 à 27,8
- De 27,9 à 52,6
- De 52,7 à 88,3
- De 88,4 à 247,7

* Centre de DPI
□ Sans demande

Source: Agence de la biomédecine

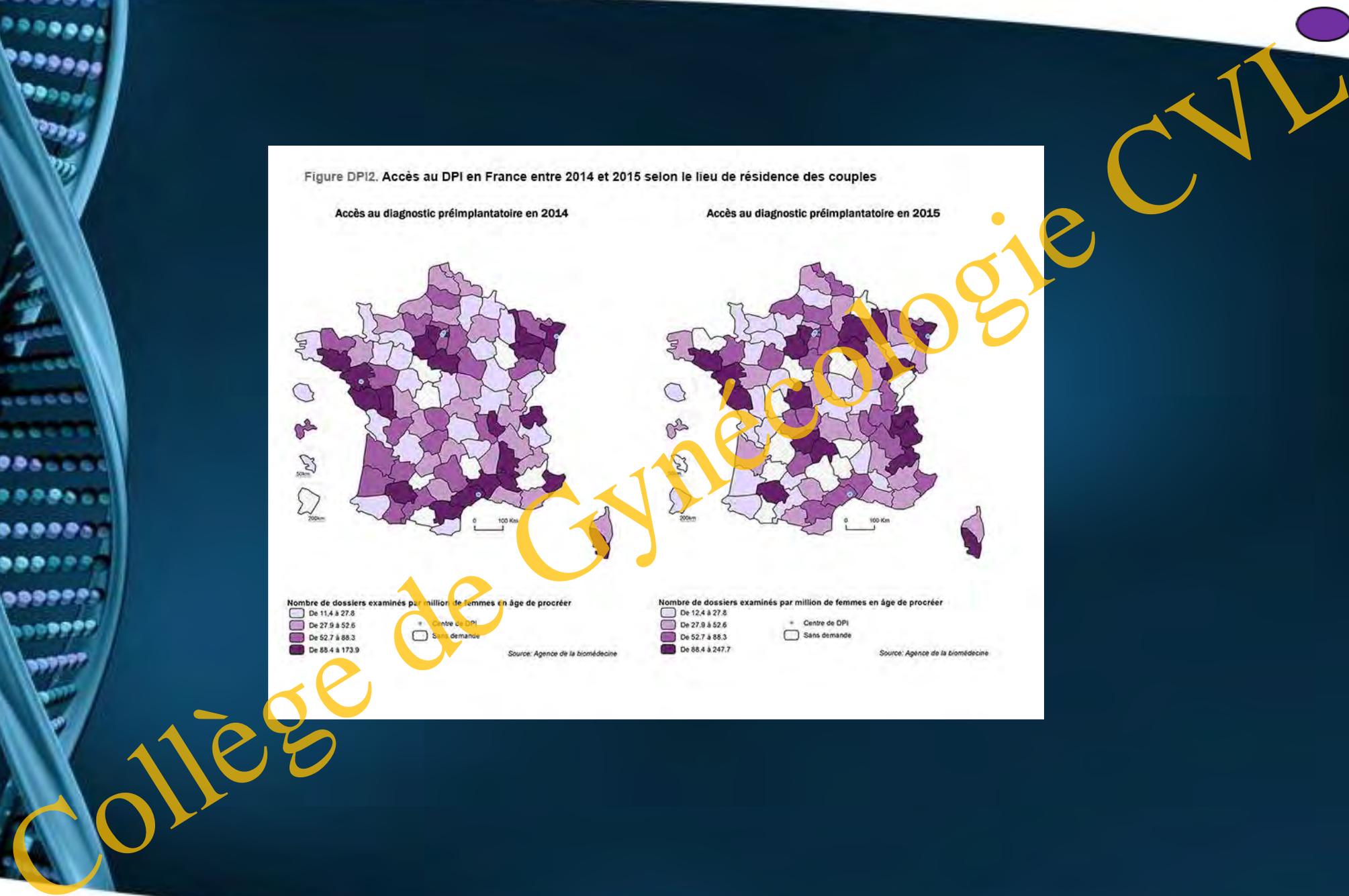
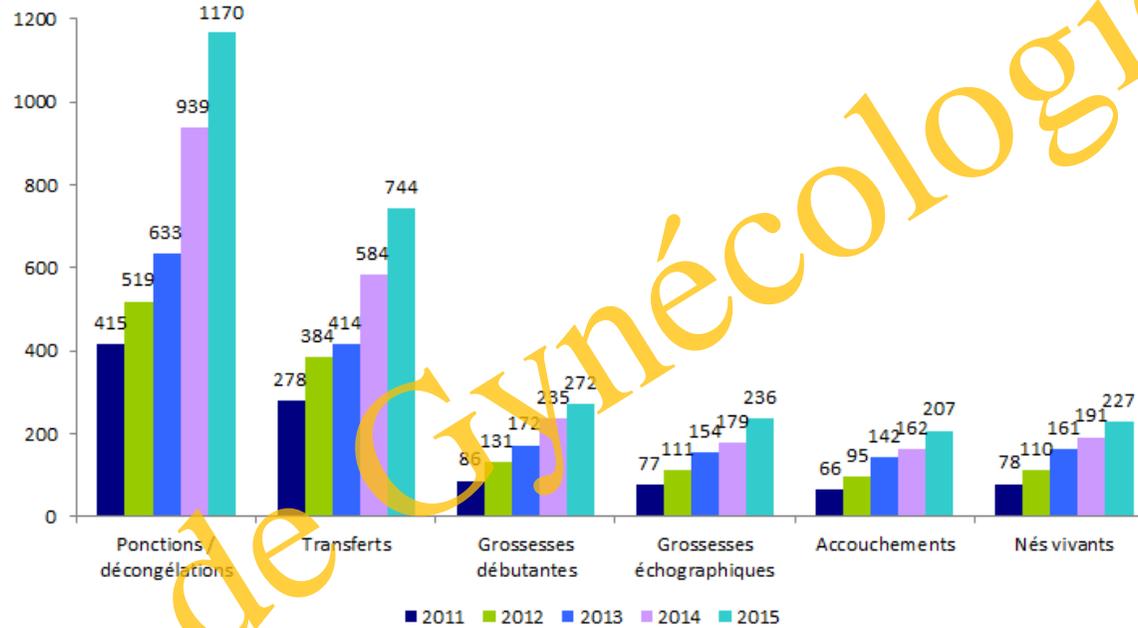


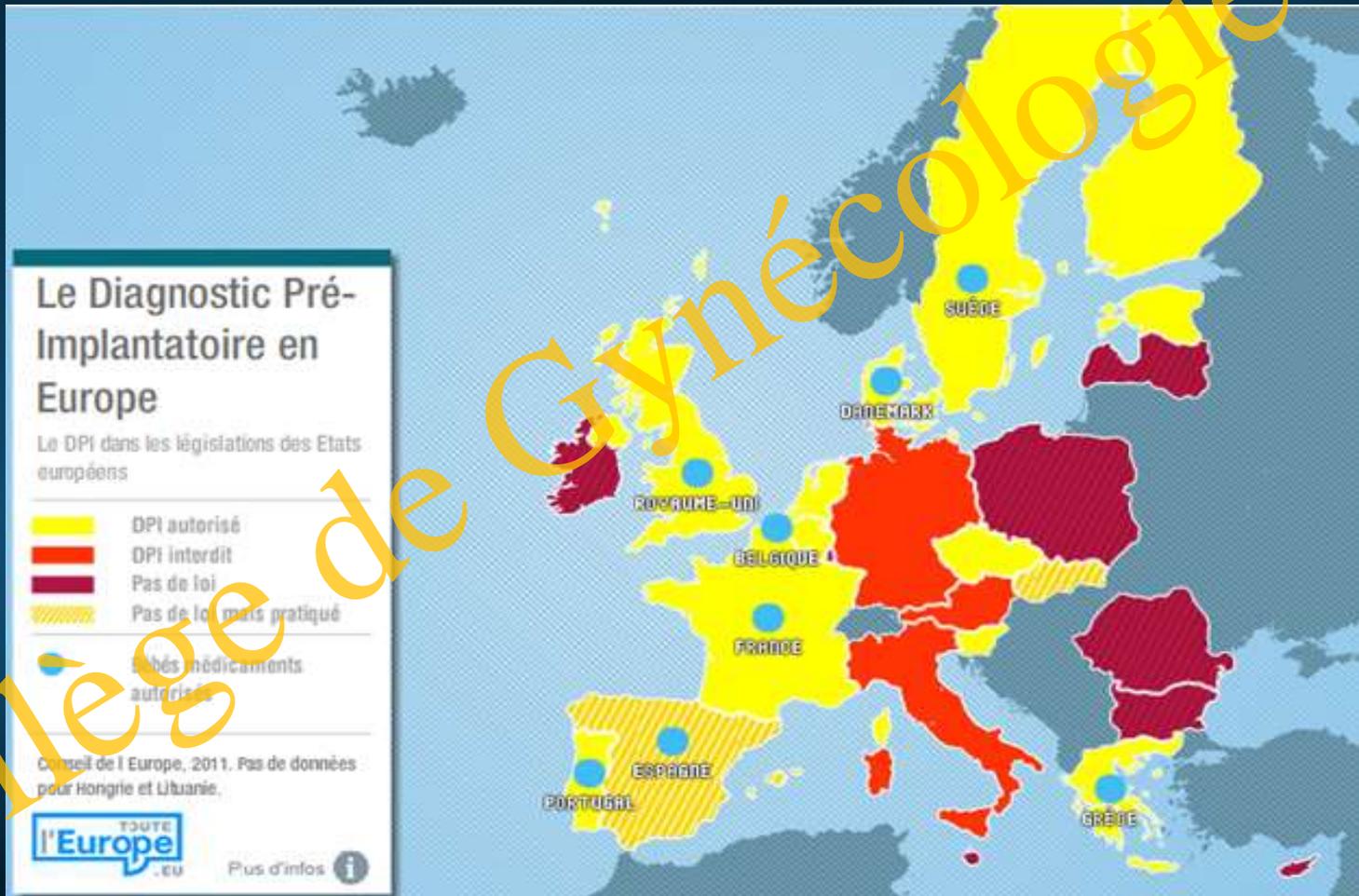
Figure DPI4. Evolution de l'activité de DPI en transfert d'embryons frais et décongelés de 2011 à 2015



Collège de Gynécologie CVL

Le DPI à l'étranger.

- Certains pays ont interdit expressément cette pratique, d'autres l'ont autorisée à certaines conditions et enfin d'autres pays n'ont pas de législation spécifique :





« Aneuploidy screening » = Détermination de la ploïdie de l'embryon avant transfert lors de FIV classique:



50% de l'activité mondiale.

« Social sexing »:



4% de l'activité mondiale.

Collège de Gynécologie CVI

Les indications moléculaires

60%

- Maladies héréditaires graves, incurables au moment du diagnostic

- **Autosomique Dominant**

50%

(Steinert, Huntington +/- exclusion, NF1, Alzheimer précoce...)

- **Autosomique Récessif**

25%

(Muco, SMA, Drép...)

Couples consanguins

- **Liée à l'X**

Exclusion ♂ atteints (sf Xfra ♀ et ♂)
(Duchenne/Beker, Wiskott Aldrich...)

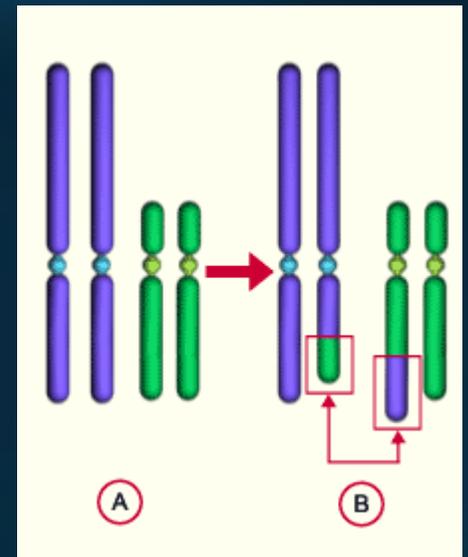
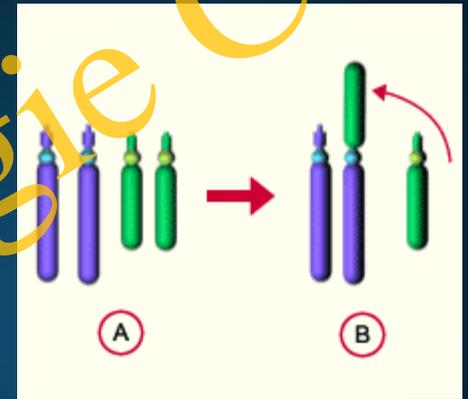
- Double indication moléculaire
- *De novo* Mr (sperm-typing)
- *De novo* Mme (Strasbourg et Montpellier)
- Moléculaire + cytogénétique : Montpellier

>220 pathologies disponibles en France

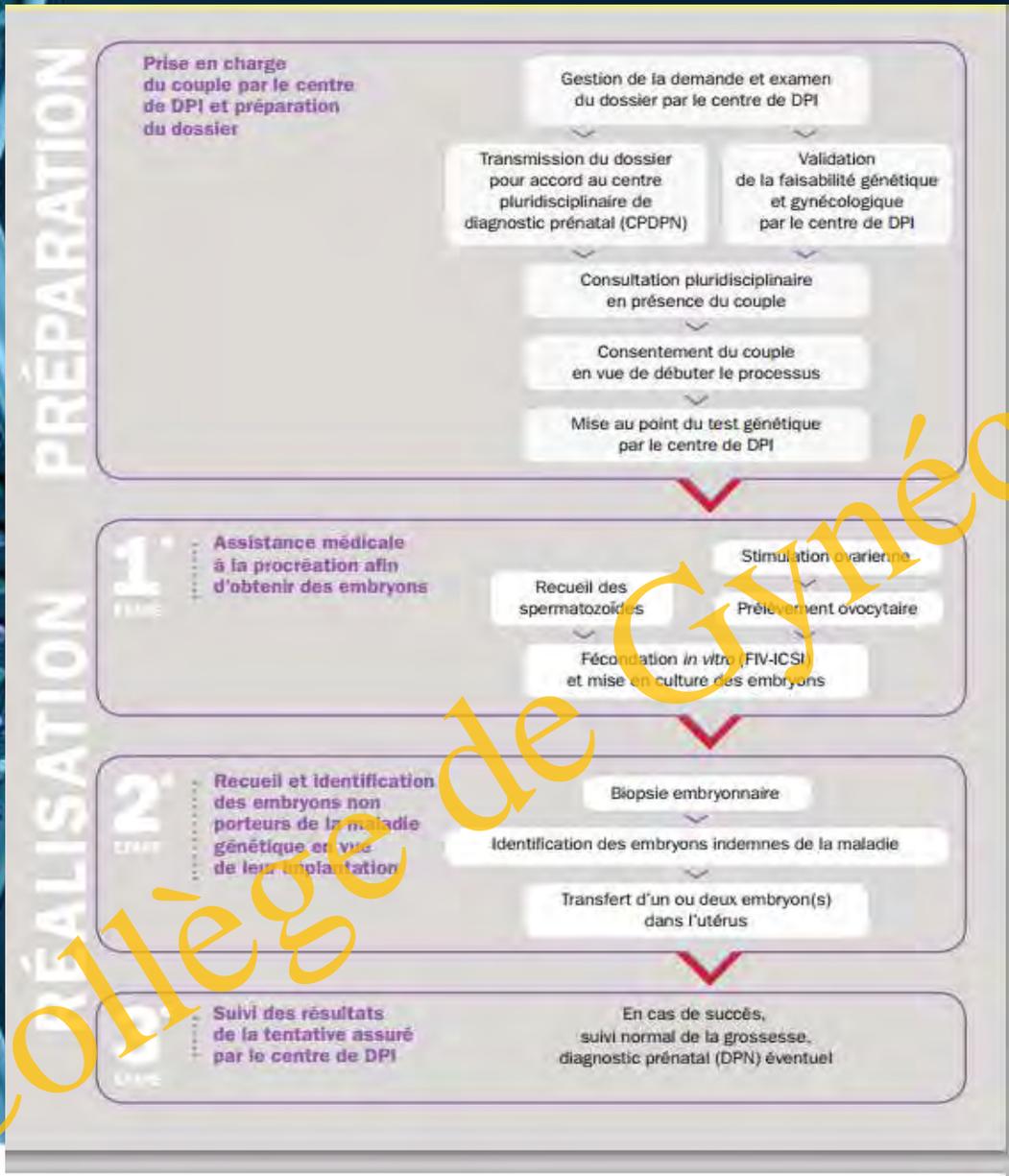
Les indications cytogénétiques

40%

- Translocations robertsoniennes
(chromosomes 13 14 15 21 22)
- Translocations réciproques
- Maladies liées à l'X
- Anomalies complexes, inversions, grandes délétions/duplications
- Double indication chromosomique



Parcours patients.



Histoire familiale ou obstétricale souvent douloureuse..

Collège de Gynécologie C.V.I.

Pré requis au staff DPI.

- Interrogatoire cliniqueX2.
- Consultation génétique avec arbre généalogique.
- Consultation pré conceptionnelle spécialisée dans certaines pathologies mme.
- CaryotypesX2.
- **POUR LE DPI MOLECULAIRE**
- Résultat de l'analyse génétique du/des membre(s) du couple concerné(s)
- Résultat de l'analyse génétique d'au moins un apparenté (diagnostic prénatal, enfant ou parent)
- Mme : CFA, BHJ3 avec TSH, bilan cavitaire et recherche d'hydrosalpinx, sérologie HIV et rubéole.
- Mr. spermogramme ± autoconservation, sérologie HIV.
- Autorisation de présentation au staff signé des deux membres du couple.
- Mêmes pré requis légaux que pour une AMP classique.

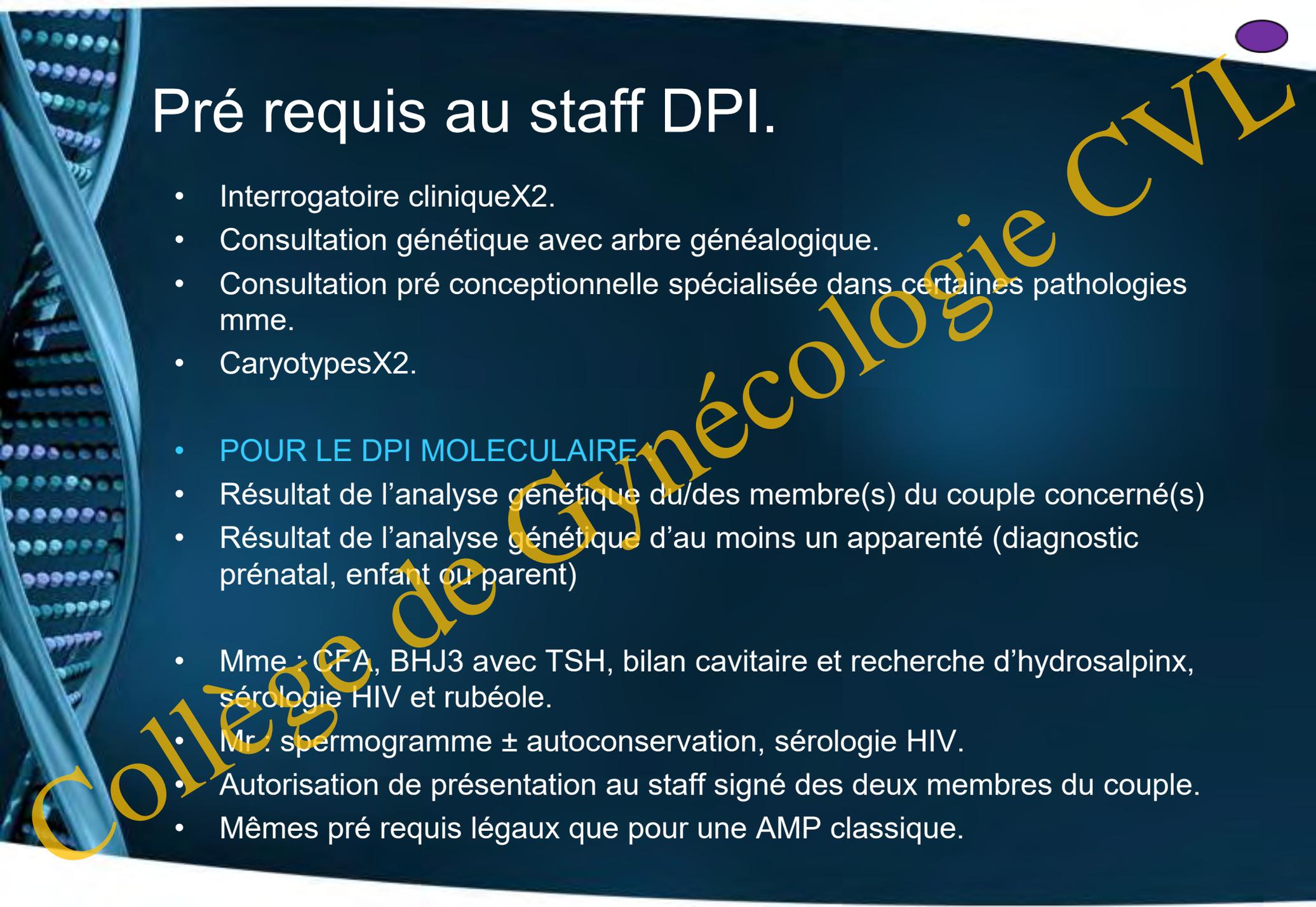
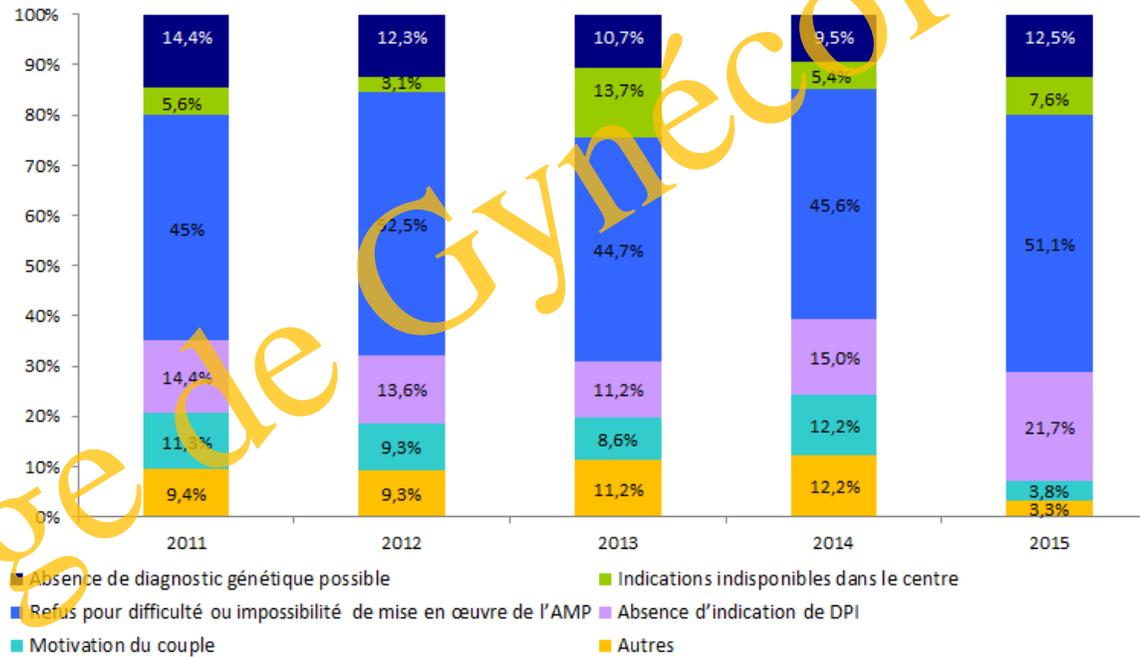


Tableau DPI3. Evolution de la fréquence des demandes acceptées par rapport aux demandes examinées

	2011	2012	2013	2014	2015
Demandes acceptées	506	566	608	595	582
Demandes examinées	666	729	805	742	766
% Demandes acceptées / Demandes examinées	76,0%	77,6%	75,5%	80,2%	76,0%

Figure DPI1. Evolution des motifs de refus des demandes présentées à la consultation spécialisée au cours de l'année dans le cadre d'un diagnostic biologique sur embryon in vitro



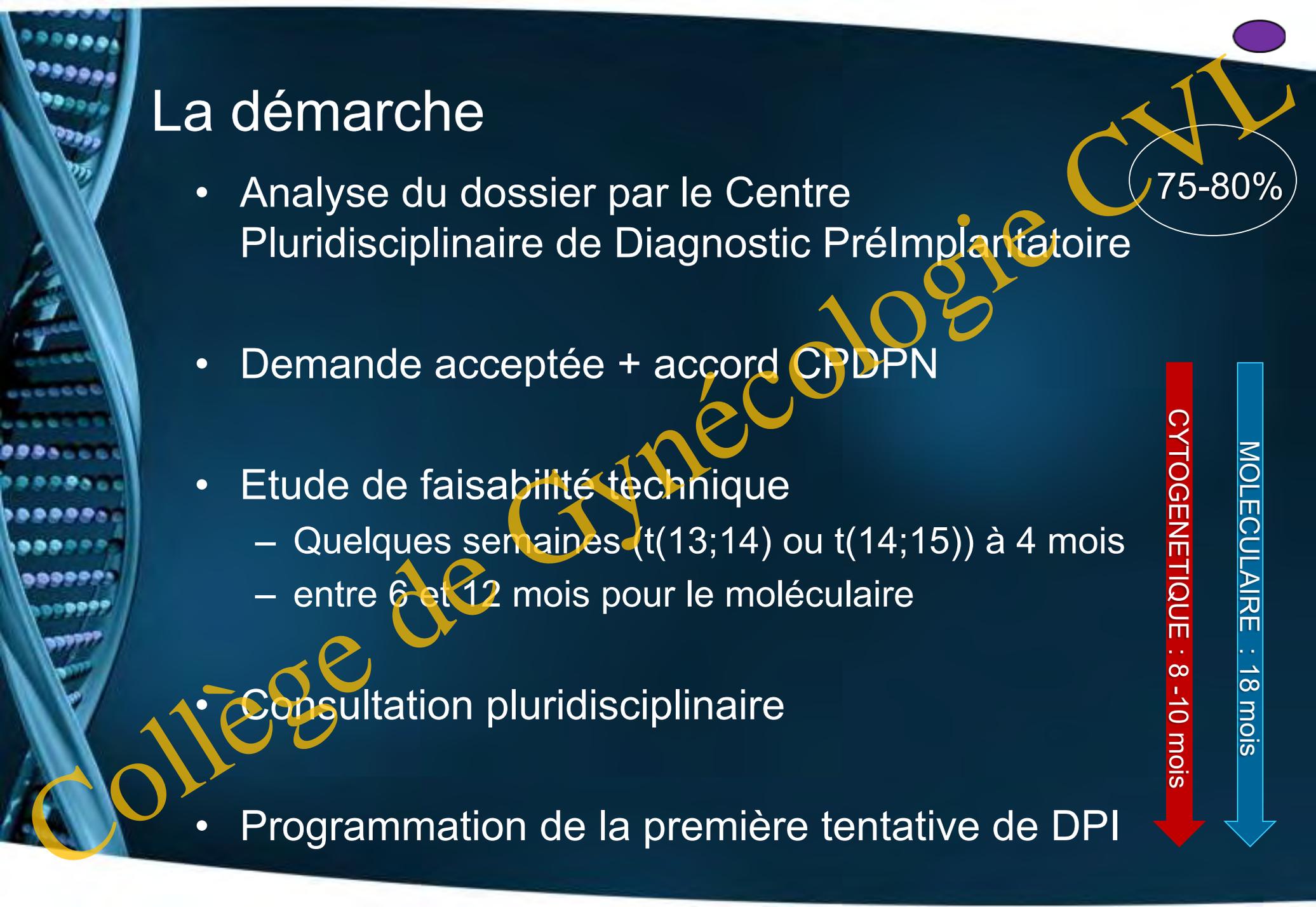
La démarche

- Analyse du dossier par le Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Préimplantatoire
- Demande acceptée + accord CPDPN
- Etude de faisabilité technique
 - Quelques semaines (t(13;14) ou t(14;15)) à 4 mois
 - entre 6 et 12 mois pour le moléculaire
- Consultation pluridisciplinaire
- Programmation de la première tentative de DPI

75-80%

CYTOGENETIQUE : 8 - 10 mois

MOLECULAIRE : 18 mois



Etapes du DPI.

Stimulation.

Ponction ovocytaire.

Mise en culture des embryons.

Biopsie de blastomère.

Diagnostic génétique.

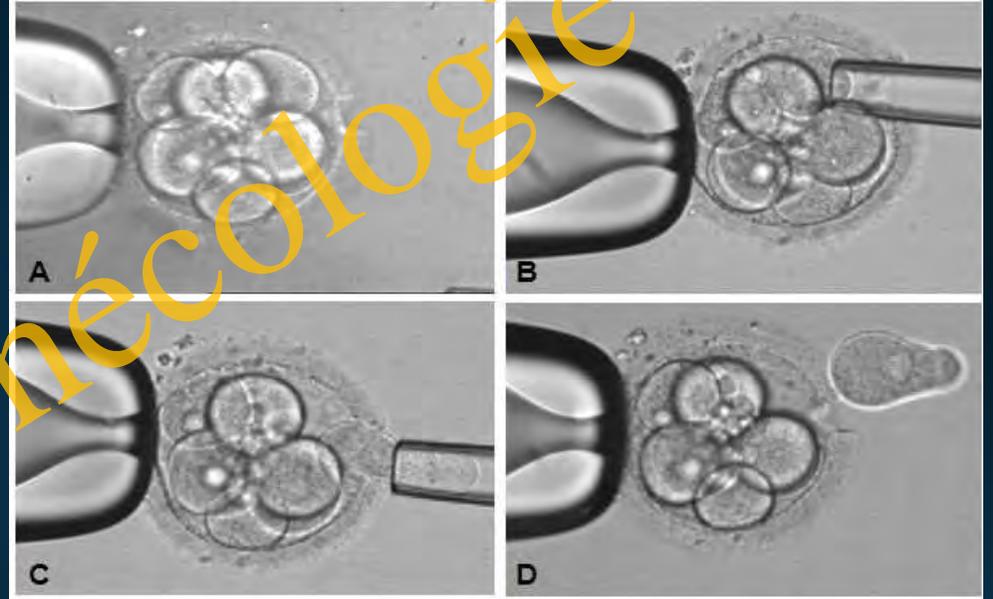
Transfert embryonnaire.

Vitrification embryonnaire.

Collège de Gynécologie C.V.I.

Biopsie de blastomères.

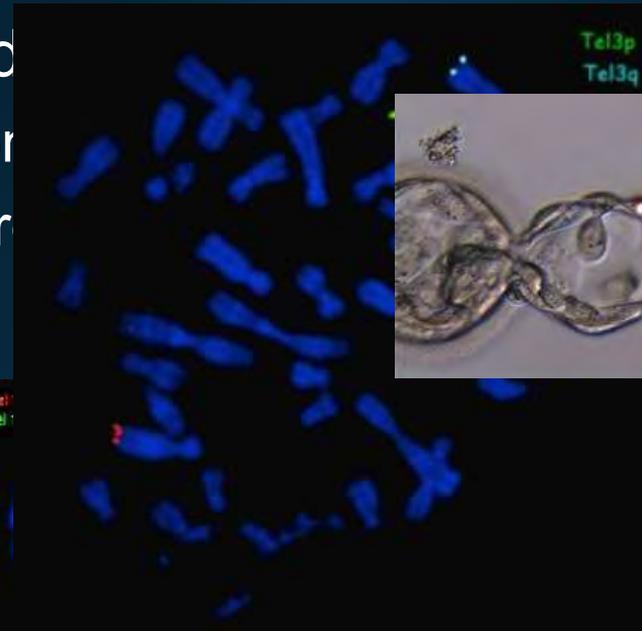
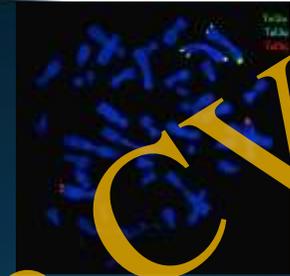
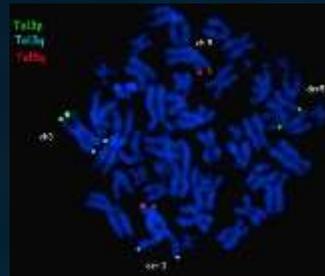

Day 3 8-cell Embryo biopsy.mp4



Collège de Gynécologie CVL

DPI cytogénétique

- Technique FISH
- Mise au point des sondes spécifiques de l'anomalie familiale sur 1 prélèvement hépariné des 2 membres du couple
- Confirmation du statut du porteur



Colège de Gynécologie CVL

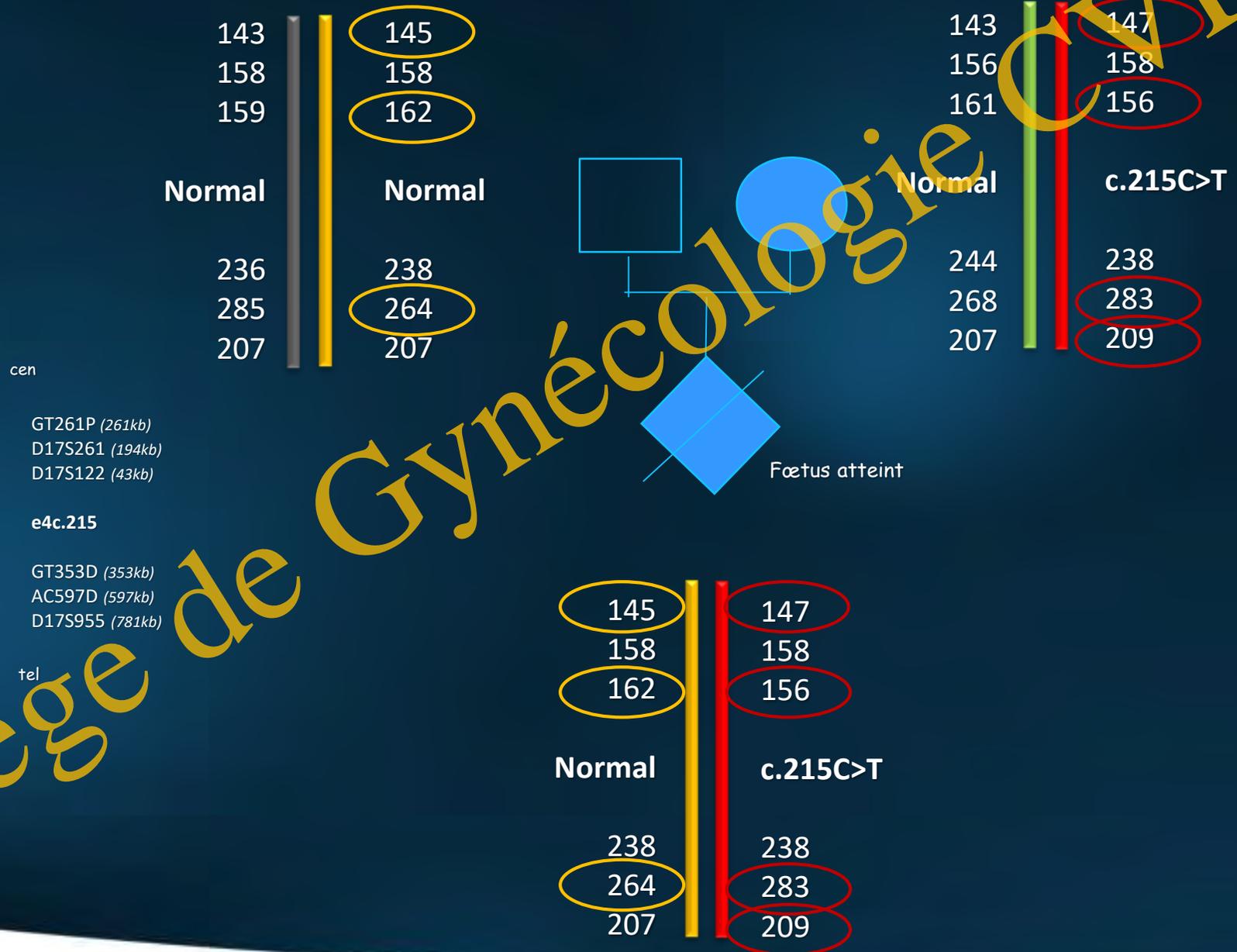
DPI moléculaire – mise au point

- But : identifier le(s) chromosome(s) porteur(s) de la (des) mutation(s)
 - Méthode directe : Recherche de la (des) mutation(s) familiale(s) si possible
 - Méthode indirecte : +++ Utilisation de marqueurs polymorphes proches du gène

Au moins un marqueur informatif de chaque côté du gène (<1Mb)

➔ Nécessité d'avoir 2 générations !

Exemple



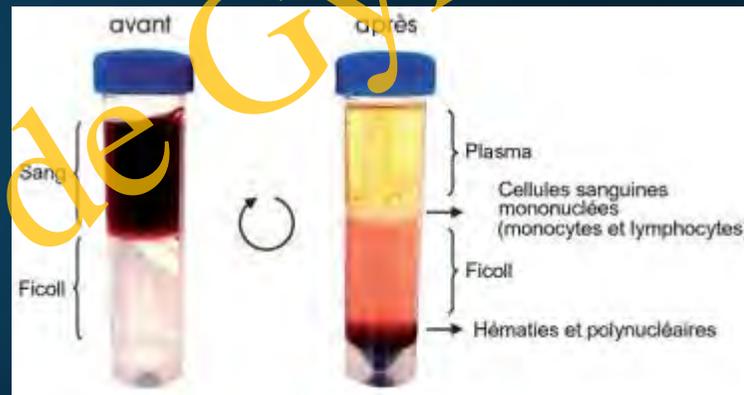
Collège de Gynécologie

Collège de Gynécologie

CMU

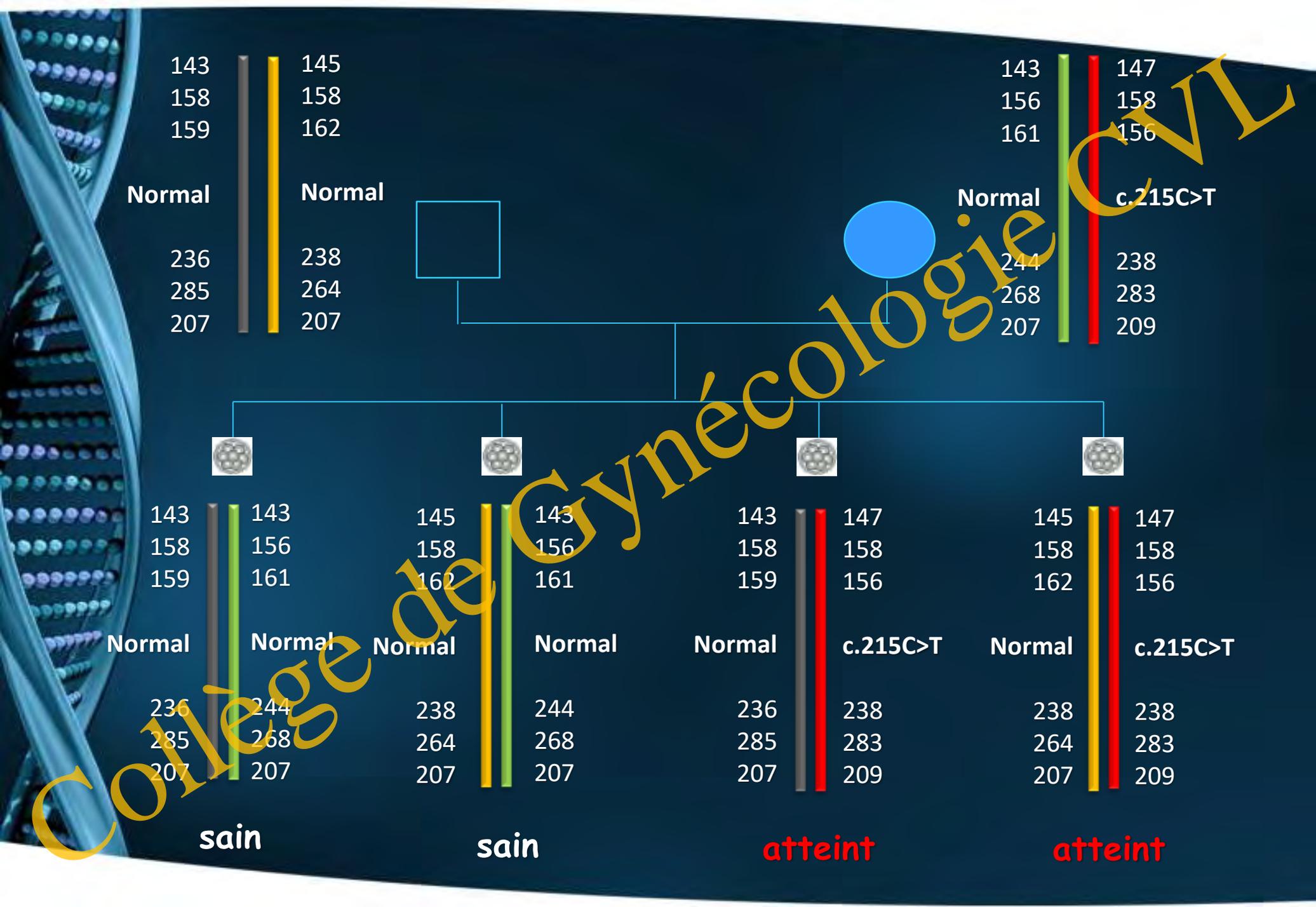
DPI moléculaire – mise au point

- Protocole sur cellule unique : 🚫
 - Risque ADO
 - Absence d'amplification
 - Risque de contamination (cellules maternelles, manipulateurs)
- Test sur cellule unique (> 50 lymphos isolés)



VALIDATION DE LA
FAISABILITE TECHNIQUE





143
158
159

145
158
162

Normal

Normal

143
156
161

147
158
156

Normal

c.215C>T

236
285
207

238
264
207

244
268
207

238
283
209

143
158
159

143
156
161

Normal

Normal

145
158
162

143
156
161

Normal

Normal

143
158
159

147
158
156

Normal

c.215C>T

145
158
162

147
158
156

Normal

c.215C>T

236
285
207

244
268
207

sain

238
264
207

244
268
207

sain

236
285
207

238
283
209

atteint

238
264
207

238
283
209

atteint

Colège de Gynécologie

DPI moléculaire diagnostic d'exclusion de la maladie de Huntington

Autosomique dominant, (CAG)_n dans l'exon 1 du gène *HTT* en 4p16.3



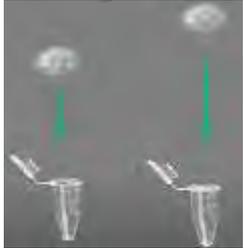
Biopsie

J3



2 Rincages des blastomères
2 Blancs par embryon

Tubage



Sous hotte et microscope
+ masque

Lyse 10' à 65°C

PCR multiplexe



4h

Exemple :
5 embryons = 34 tubes

DPI moléculaire



Injection de la PCR
multiplexe

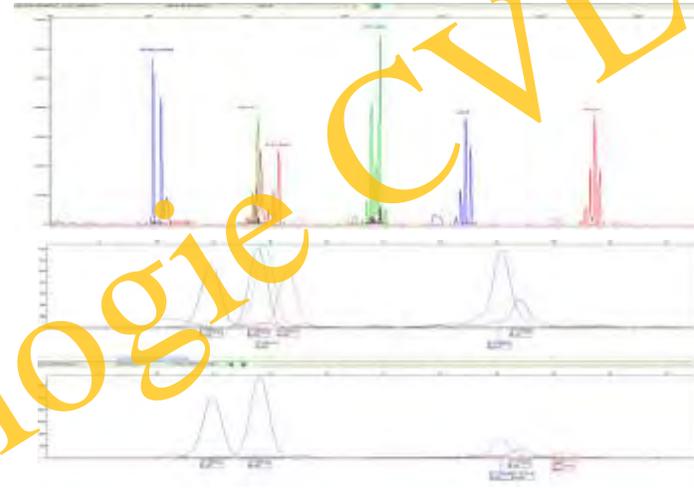
1 RUN = 8 tubes = 40min
5 embryons



3h40

J4

Résultats



Injection du SNaPshot

1 RUN = 8 tubes = 40min
5 embryons



2h

Si SNaPshot :

- Purification PCR sur colonne : 45 min si < 8 embryons
- Réaction de SNaPshot : 1h
- Purification SNaPshot : 1h30



3h15



Collège de Gynécologie CML

Activité nantaise :

- Environ 80 gènes développés

2017	Total	Bio mol	Cyto
Ponctions	335	219	116
Biopsies	204	105	99
Transferts frais	101	57	44
G bioch	29	19	10
G évolutives	26 (25,7%)	12 (+5) (29,8%)	9 (20,4%)
TEC	107	64	43
G bioch	33	18	15
G évolutives	24 (22,4%)	10 (+3) (20,3%)	8 (+3) (25,5%)

Collège

Gynécologie

CVL

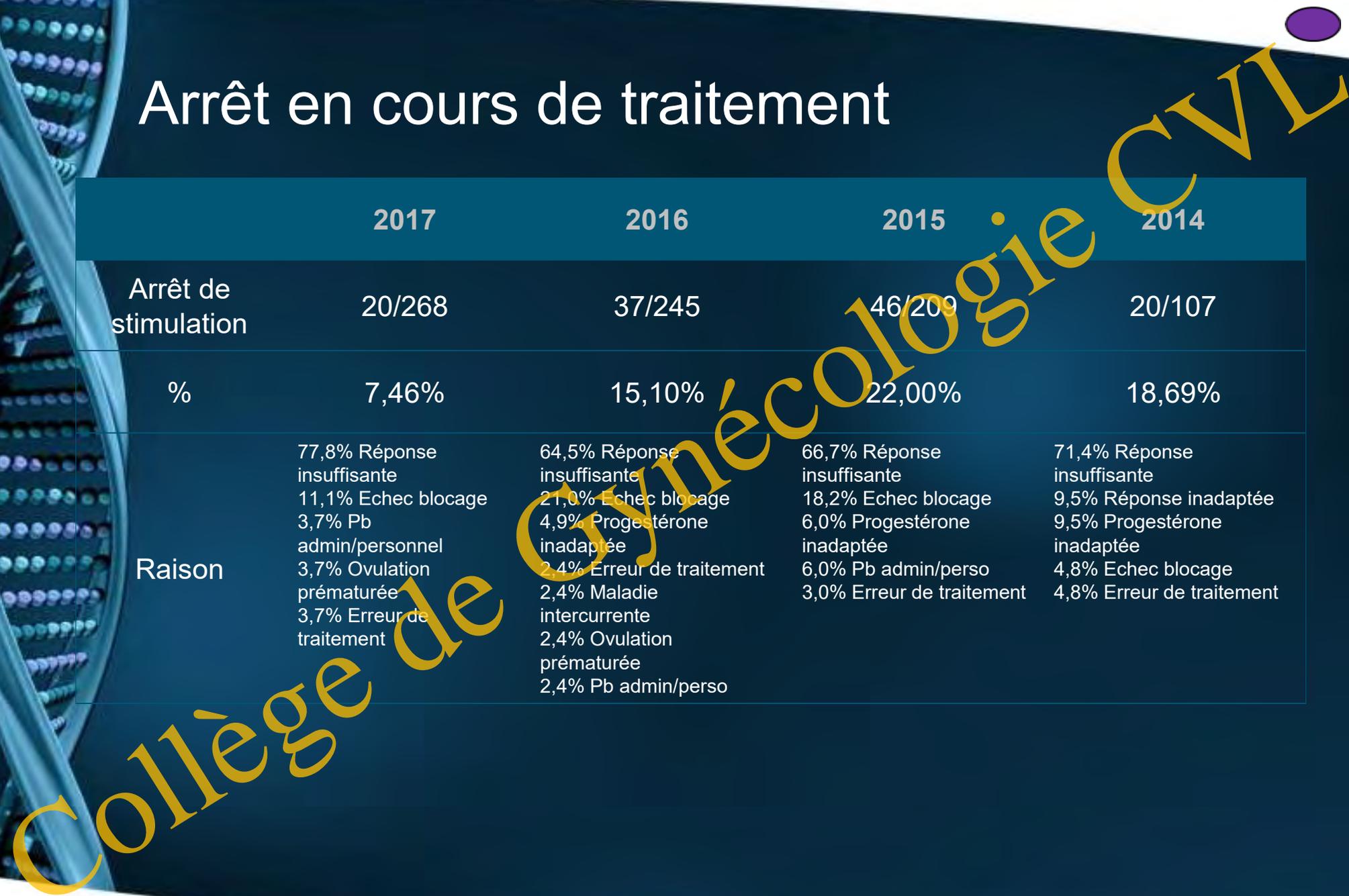
Arrêt avant traitement

	2017	2016	2015	2014
Arrêt avant démarrage	26/294	18/279	12/221	27/134
%	8,84%	6,45%	5,43%	20,14%

Collège de Gynécologie CVI

Arrêt en cours de traitement

	2017	2016	2015	2014
Arrêt de stimulation	20/268	37/245	46/209	20/107
%	7,46%	15,10%	22,00%	18,69%
Raison	77,8% Réponse insuffisante 11,1% Echec blocage 3,7% Pb admin/personnel 3,7% Ovulation prématurée 3,7% Erreur de traitement	64,5% Réponse insuffisante 21,0% Echec blocage 4,9% Progestérone inadaptée 2,4% Erreur de traitement 2,4% Maladie intercurrente 2,4% Ovulation prématurée 2,4% Pb admin/perso	66,7% Réponse insuffisante 18,2% Echec blocage 6,0% Progestérone inadaptée 6,0% Pb admin/perso 3,0% Erreur de traitement	71,4% Réponse insuffisante 9,5% Réponse inadaptée 9,5% Progestérone inadaptée 4,8% Echec blocage 4,8% Erreur de traitement



Merci de votre attention



Secrétariat DP : Sonia Blon : 02 40 08 33 97 / sonia.blon@chu-nantes.fr

Biologie de la reproduction

Hôpital Mère et Enfant

38 Bd Jean Monnet

44093 NANTES.



Lesquelles de ces indications peuvent être prises en charge en DPI cytogénétique ?

- Le syndrome de Klinefelter
- Les translocations robertsoniennes
- Les translocations réciproques
- Le syndrome de l'X fragile

Collège de Gynécologie CVL



Lesquelles de ces indications peuvent être prises en charge en DPI moléculaire ?

- La mucoviscidose
- La maladie d'huntington avec diagnostic d'exclusion
- Une translocation t(14 ;15)
- La neurofibromatose de type 1

Collège de Gynécologie CVL



A Nantes, quels délais sont annoncés aux couples ?

- Environ 18 mois entre l'acceptation de la demande et la tentative pour un DPI moléculaire
- Environ 2 mois pour la mise au point d'un DPI moléculaire
- Environ 12 mois pour la mise au point d'un DPI cytogénétique
- Environ 6 mois entre l'acceptation de la demande et la tentative pour une t(13 ;14)

Collège de Gynécologie CVL



Quelles sont les affirmations exactes ?

- Pour un DPI cytogénétique, seul un prélèvement du couple est nécessaire à la mise au point
- Pour un DPI moléculaire, il faut des prélèvements sur 2 générations (enfant, DPN ou parents + couple)
- Le DPI moléculaire pour mutation de novo chez la dame est fait dans tous les centres
- Généralement, les embryons féminins conducteurs d'une maladie liée à l'X sont transférés



Quelles sont les affirmations fausses ?

- On recherche la T21 lors d'un DPI pour une t(13 ;14)
- La proportion théorique d'embryons atteints est de 50% pour une maladie autosomique récessive
- La proportion théorique d'embryons atteints est de 50% pour une maladie autosomique dominante
- En DPI moléculaire, le diagnostic repose uniquement sur la recherche directe de la mutation



La législation française en matière de DPI retient que :

- La pathologie recherchée doit être reconnue incurable au moment du diagnostic et d'une particulière gravité.
- L'activité de DPI dépend d'un centre de CPDPN.
- En cas de recours au DPI il est permis, si le couple en formule la demande, de réaliser la recherche systématique d'une trisomie 21 sur l'embryon.
- Le diagnostic de sexe pour choix du couple est permis sur l'embryon si le couple en formule la demande, mais la procédure sera alors à sa charge financièrement.



L'offre en matière de DPI en France :

- Répond parfaitement à la demande des couples.
- Permet un accès équivalent dans tout le territoire.
- Il existe 4 centres ayant l'agrément pour cette activité en France.
- Il n'y a pas de « tourisme médical » vers les pays frontaliers pour cette activité.



La procédure de DPI :

- Nécessite une hyperstimulation ovarienne contrôlée équivalente à celle d'une FIV.
- Est possible chez une femme de plus de 40 ans.
- Donne de meilleurs taux de grossesse qu'une prise en charge en FIV classique puisqu'il s'agit de couples fertiles.
- Contre indique le transfert de deux embryons.