



Développement du National Center of Genetics et son service de Génétique Clinique en 2020

*Dr Barbara Klink et Dr Guillaume Jouret
(National Center of Genetics, LNS)*





A National Center of Genetics for Luxembourg*

Mission :

« Le Centre National de Génétique Humaine est un centre de référence national pour l'étude des *maladies génétiques héréditaires et non-héréditaires*, qui a vocation de couvrir la génétique dans toutes ses dimensions *cliniques* et de *laboratoire*.

Il a pour mission globale de contribuer à une *médecine de précision* tant au niveau préventif que thérapeutique.
»

(Concept Centre National de Génétique Humaine, Plan National Cancer Luxembourg 2014-2018)

***Depuis le 1^{er} avril 2020: extension de l'autorisation en tant que National Centers of Pathology et Genetic (NCP & NCG) au LNS par le Ministère de la Santé pour 4 ans**

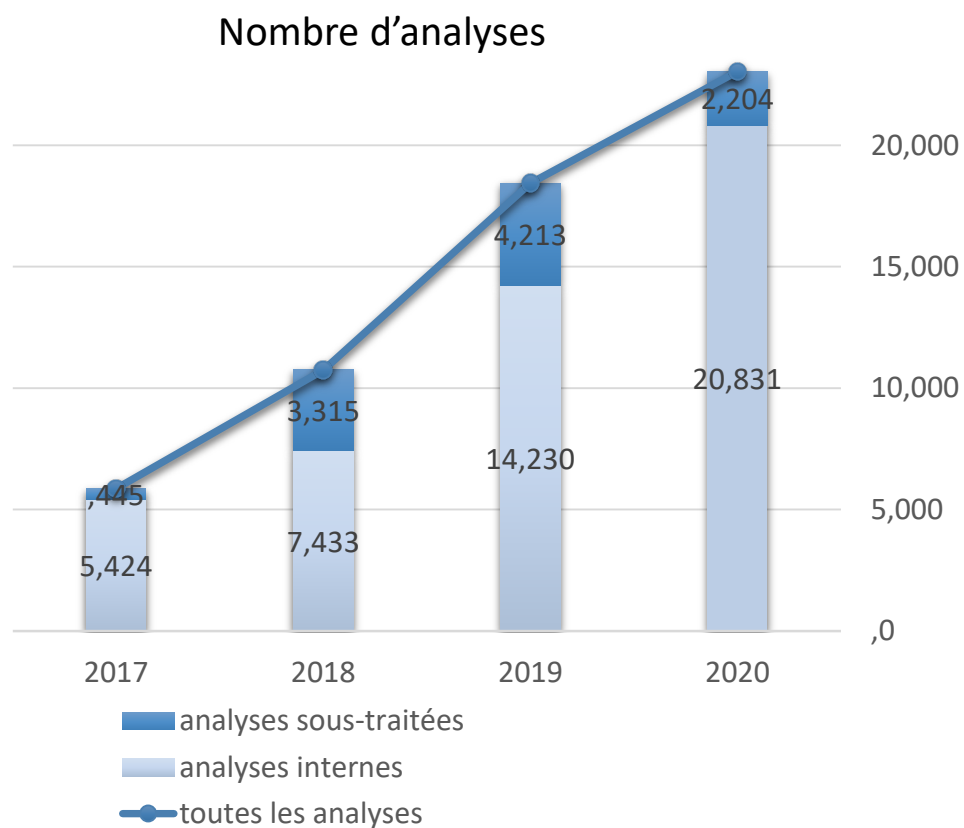
Couverture de tous les domaines de la génétique médicale :

- Génétique clinique
- Cytogénétique & cytogénétique moléculaire (pré- et postnatal)
- Génétique moléculaire (maladies génétiques héréditaires et non héréditaires)
- Onco-hématologie





Activité de laboratoire interne et externalisée



Développement de l'activité interne: x3 en 2019, x4 en 2020



Prise en charge clinico-génétique globale en prénatal

- Longue expérience du diagnostic prénatal conventionnel
- Mise en place du NIPT à partir d'août 2019
 - Depuis : analyse des prélèvements de 9.796 patientes (>7.300 en 2020)
 - Anomalies chromosomiques identifiées chez 60 patientes : T21, T13, T18 (0.61%)
 - Autres anomalies identifiées chez 42 patientes
- Prise en charge en équipe multidisciplinaire avec gynécologues, généticiens, pédiatres, etc.
- Proposition de consultations de génétique sous une semaine
- Suivi des grossesses et réalisations d'autres analyses génétiques en pré/postnatal (CGH-array, etc.)
- Réunions pluridisciplinaires chaque semaine au LNS avec généticiens cliniciens, cytogénéticiens, fœtopathologiste
- Participation aux réunions de médecine prénatale chaque semaine au CHL
- Suivi postnatal et préconceptionnel





Unité de Génétique Clinique

- En 2020, agrandissement de l'équipe avec un nouveau médecin généticien
- 2020 : plus de 1.300 familles rencontrées en consultation, dont la majorité dans un contexte de maladie rare
- Consultations en français, en allemand et en anglais
- Indication : toute suspicion de maladie d'origine génétique
- Discussions cliniques hebdomadaires du NCG (médecins, conseillers, cytogénéticiens, biologistes moléculaires, fœtopathologiste Didier MENZIES du National Center of Pathologie)
- Participation aux différentes réunions multidisciplinaires au CHL (WebEx en raison de COVID-19)



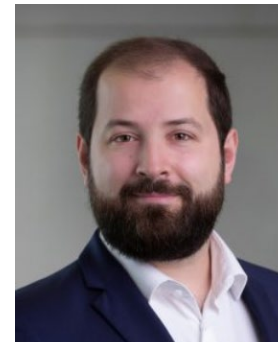
Karin Dahan
Médecin interniste



Barbara Klink
Médecin généticien



Guillaume Jouret
Médecin généticien



Arthur Sorlin
Médecin généticien



Christian Müller
Médecin en voie de
spécialisation (MEVS)



Phillipe Theis
Conseiller en Génétique

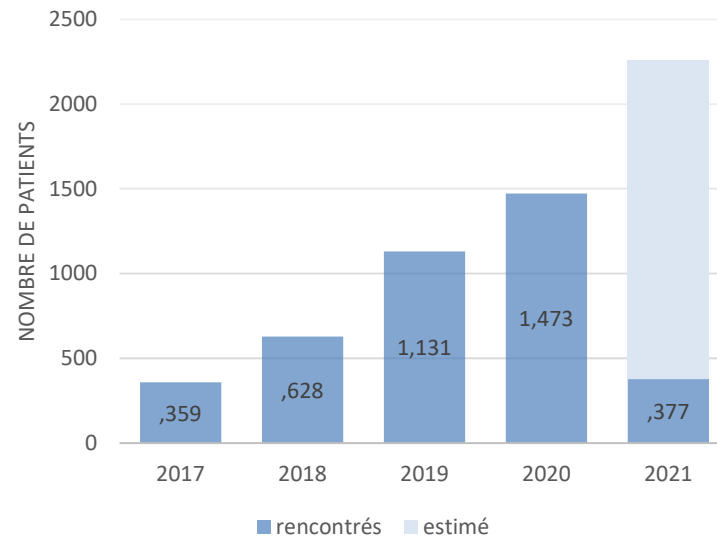




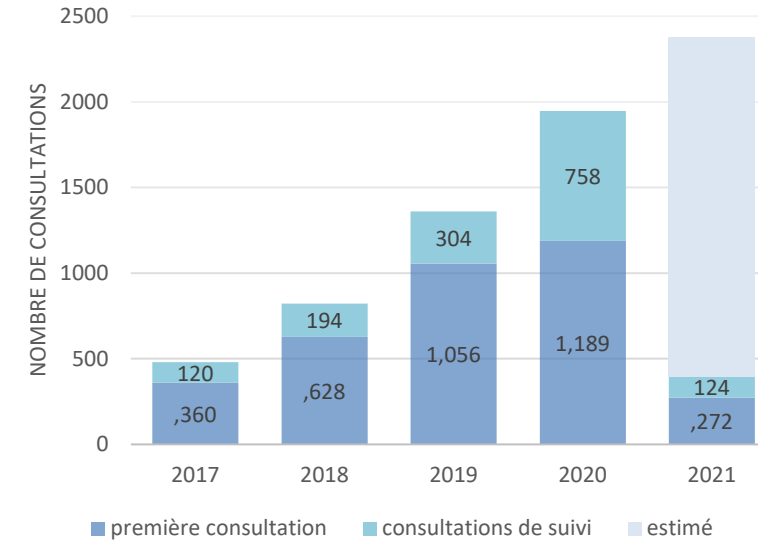
Développement des activités conseil genetique:



Nombre de patients



Nombre de consultations



Augmentation du nombre de consultations malgré la nécessité de réduire les consultations lors du premier lock-down
→ passage à des consultations virtuelles si possible pour certaines indications



Qu'est-ce que la Génétique Clinique ?

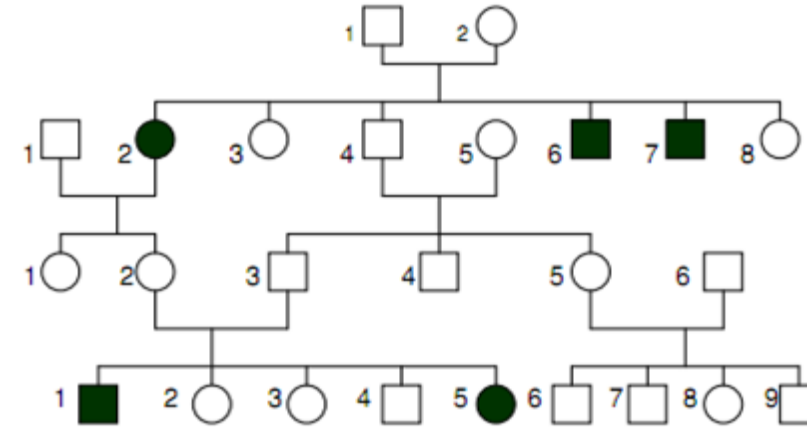
- Spécialité médicale récente
- Organisée autour de consultations :
 - 1. Suspicion de maladie génétique, mais le diagnostic n'est pas connu :**
 - Réalisées par un médecin généticien
 - Indications : retard des acquisitions psychomotrices, syndrome polymalformatif, maladie osseuse constitutionnelle, maladie neurologique ou neuromusculaire, surdité, anomalies du tissu conjonctif, avance staturale, retard statural, épilepsie, maladies dermatologiques, maladie rénales, maladies métaboliques, mucoviscidose, infertilité, etc.
 - Anamnèse
 - Examen clinique
 - Enquête généalogique
 - Syndromologie



Qu'est-ce que la Génétique Clinique ?

Organisée autour de consultations :

1. **Suspicion de maladie génétique, mais le diagnostic n'est pas connu**
2. **Lorsque le diagnostic est connu**
 - Conseil génétique aux apparentés
 - Discussions d'éventuelles possibilités de diagnostic prénatal et préimplantatoire
 - Réalisée par un médecin ou un Conseiller en Génétique
 - Coordination du parcours de soin
 - Information, explication, dialogue avec le patient sur des notions complexes





PNMR: Groupe de travail Conseil génétique

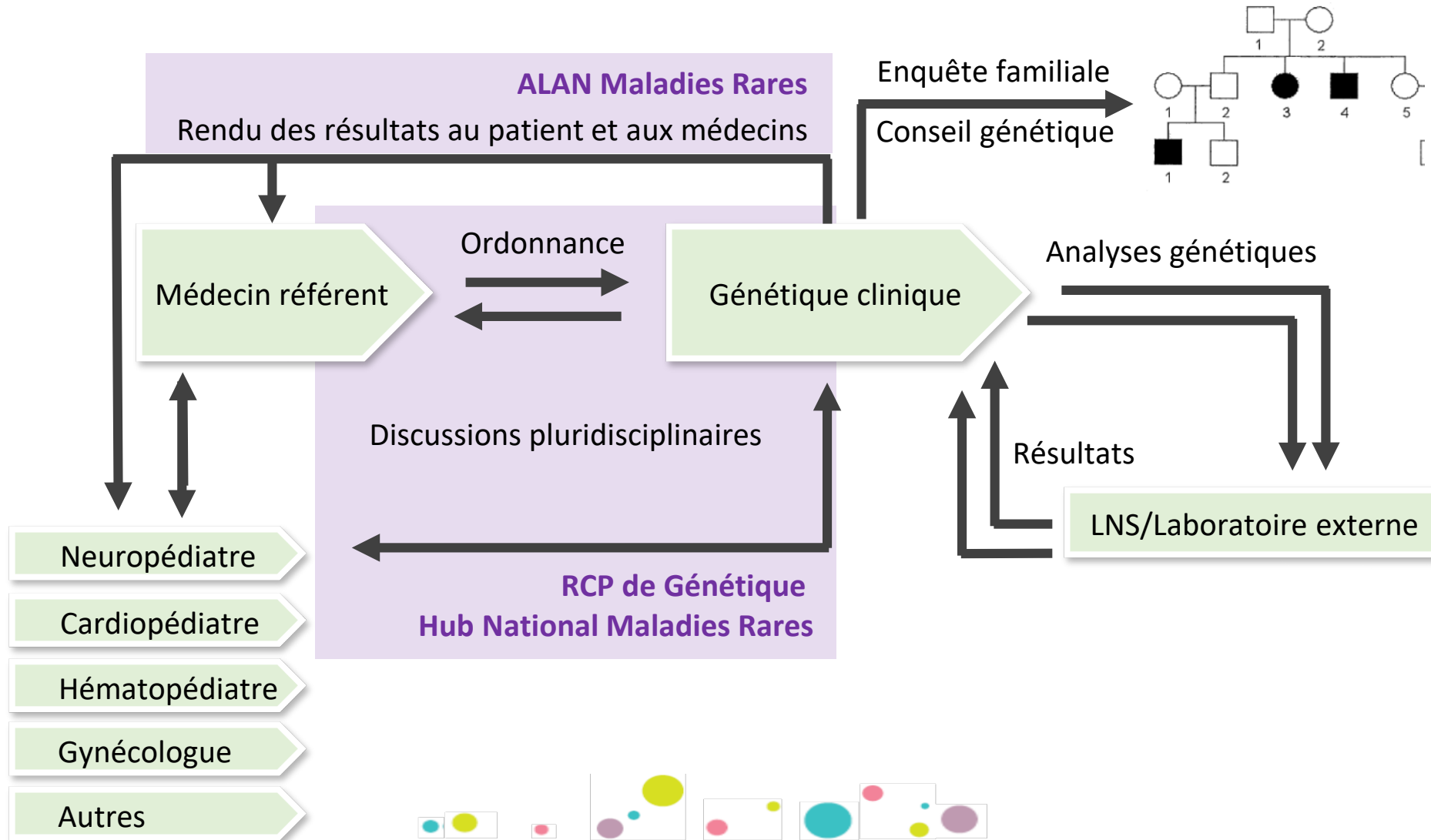
Deux réunions avant la COVID-19

1. **Intégration de la consultation de génétique clinique dans le parcours de soin**
2. **Challenge** : la profession de Conseiller en Génétique n'existe pas au Luxembourg
 - Attributions des Conseillers en Génétique :
 - Non médecins
 - Diplôme de Master en Conseil Génétique
 - Accompagnement dans le parcours de soin des patients atteints de maladies génétiques
 - Travail au sein d'une équipe de référence supervisée par des médecins généticiens
 - Consultations de Conseil Génétique lorsqu'un diagnostic de maladie génétique est connu dans la famille
 - Intégration dans les réunions pluridisciplinaires
 - La profession de Conseiller en Génétique est reconnue dans les pays anglosaxons depuis longtemps (Angleterre : 1980 ; Etats-Unis : 1969), puis extension en France à partir de 2005 et Autriche partir de 2019
 - Important pour soutenir l'expansion de la demande de consultations de génétique qui accompagne l'essor spectaculaire du diagnostic moléculaire des maladies génétiques





Place de la Génétique Clinique dans le parcours de soin





Mise en place de RCP de Génétique avec le Hub de Coordination Nationale ERN-Maladies Rares et le National Center of Genetics



- Réunions pluridisciplinaires mensuelles (première réunion le 09.02.2021)
- Information et accord préalable des patients
- Permettent d'aborder toutes les questions de diagnostic et de conseil génétique
- Mise à disposition d'un secrétariat, de moyens techniques, et d'une valorisation de l'activité
- Les généticiens du LNS bénéficient d'un accès aux dossiers des patients suivis au CHL préalablement inscrits



National Center of Genetics (NCG)

Exemple d'odyssée diagnostique

- Patient de 4 ans rencontré en Consultation de Génétique Clinique au LNS
- Retard global des acquisitions : premiers pas après 3 ans, dix mots à 4 ans
- Malformation digestive : chirurgie à répétition, alimentation par gastrostomie
- Microcéphalie sévère

Analyses génétiques et diagnostic à l'âge de quatre ans :

- Délétion emportant *BRD4* (nouveau gène candidat)
- Seulement 3 autres patients dans le monde





National Center of Genetics (NCG)

Exemple d'odyssée diagnostique



translational/basic research project? **Y**

About ERN ITHACA | Experts & Missions | Resources | Patients & Families | Eurodysmorpho | **Research** | Account | Contact |

28/04/2020 - Understanding the New BRD4-related Syndrome

Targeted gene(s)/phenotype under study : BRD4-related Cornelia de Lange-like syndrome

To date, only four patients have been reported in the literature with *BRD4* point mutations. However, a small but growing body of scientific literature is emerging about clinical findings in patients with 19p13.12 deletions overlapping *BRD4*, since nine patients are described. Interestingly, they share a characteristic phenotype including growth retardation, microcephaly, intellectual disability, cardiac defects and a facial dysmorphism suggestive of Cornelia de Lange-like spectrum disorder. To characterize this new syndrome with a cohort study, we are collecting new patients with *BRD4* point mutations or deletions of the region 19:15347647-15443356, GrCH37. This collaborative study will contribute to a better delineation of the clinical spectrum associated with *BRD4*, while providing sufficient clinical and molecular data to investigate clinically relevant genotype-phenotype correlations.

Coordinating clinician: Dr Guillaume Jouret

Institution: National Center of Genetics, Laboratoire National de Santé, Dudelange, Luxembourg

Contact: Guillaume.Jouret@lns.etat.lu

Specific requirements beyond clinical data and genotype data sharing:

Re-analysis of DNA samples: **N**

Resampling of patients: **N**

Linked to a translational/basic research project? **N**



➡ Appel à collaboration internationale
➡ **11 nouveaux patients**
➡ Caractérisation de ce **nouveau syndrome**



National Center of Genetics (NCG)

Pour conclure : exemple d'odyssée diagnostique

Résultats

- Rares patients dans le monde :
 - Interprétation des données génétiques grâce aux bases de données internationales
 - Organisation d'un travail de recherche international regroupant les patients qui ont la même variation génétique
 - Meilleure caractérisation de ce nouveau syndrome
 - **Adaptation du parcours de soin**
 - **Personnalisation** de la prise en charge médicale
 - Conseil génétique des **apparentés**
 - Eligibilité pour une éventuelle future **thérapie**

Très grand intérêt de la mise à la disposition des patients des nouvelles technologies de séquençage

Vers un médecine génomique pour le Luxembourg





Vers un médecine génomique pour le Luxembourg

*Dr Barbara Klink et Dr Daniel Stieber
(National Center of Genetics, LNS)*





Médecine génomique



La médecine génomique est une discipline médicale émergente qui implique l'utilisation d'informations génomiques d'un individu dans le cadre de ses soins cliniques (par exemple pour le diagnostic ou la prise de décision thérapeutique)

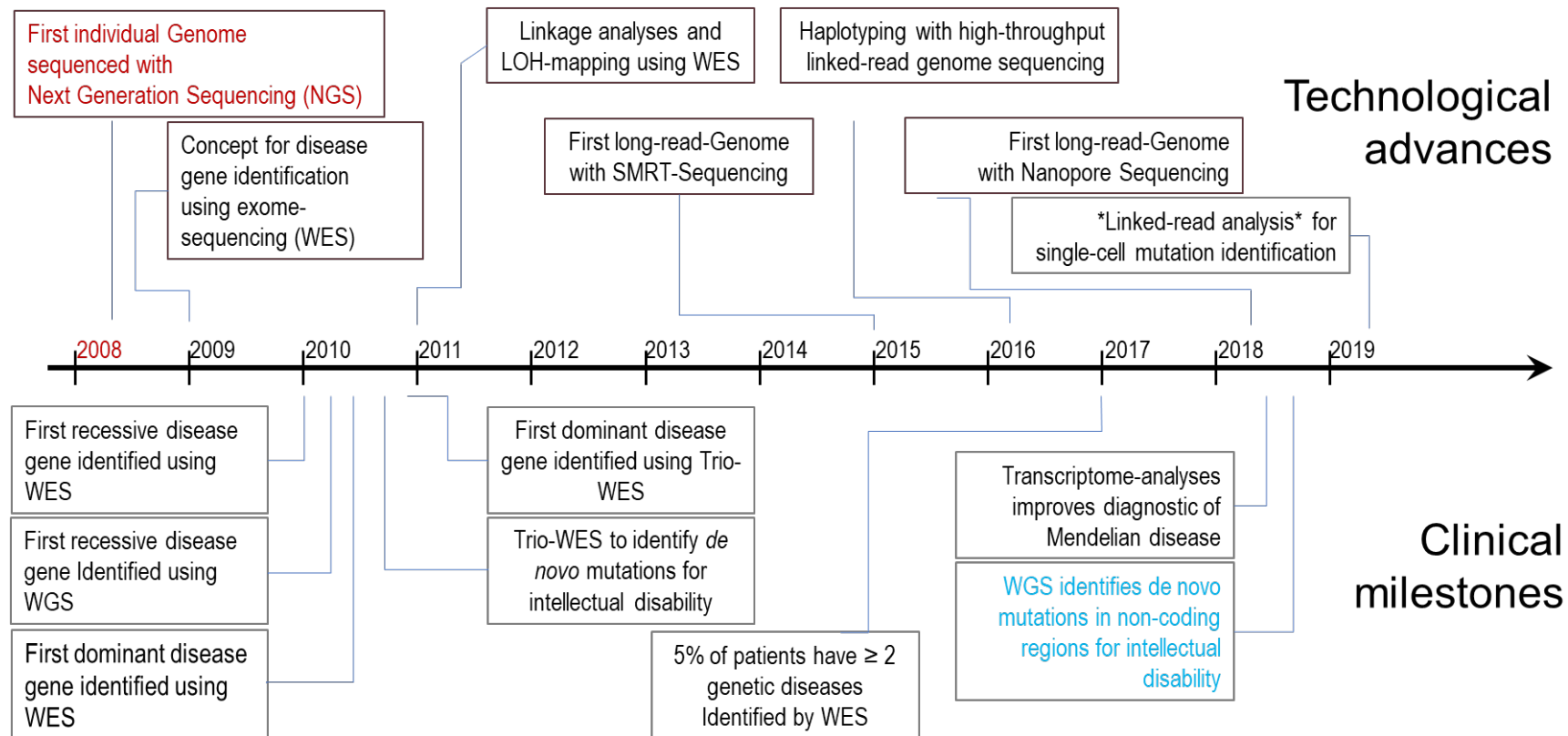
La médecine génomique a déjà un impact dans les domaines de l'oncologie, des maladies infectieuses, de la pharmacologie, et des maladies rares et sans diagnostic

Grâce à la nouvelle génération d'appareils de séquençage, il est désormais possible de séquencer à grande échelle avec notamment le séquençage du génome entier à un prix raisonnable, ce qui fait de plus en plus de la médecine génomique une réalité





Les nouvelles technologies de séquençage constituent un tournant dans la recherche, le diagnostic et le traitement des maladies rares



Adapted from Bolz et al. 2019; medizinische genetik



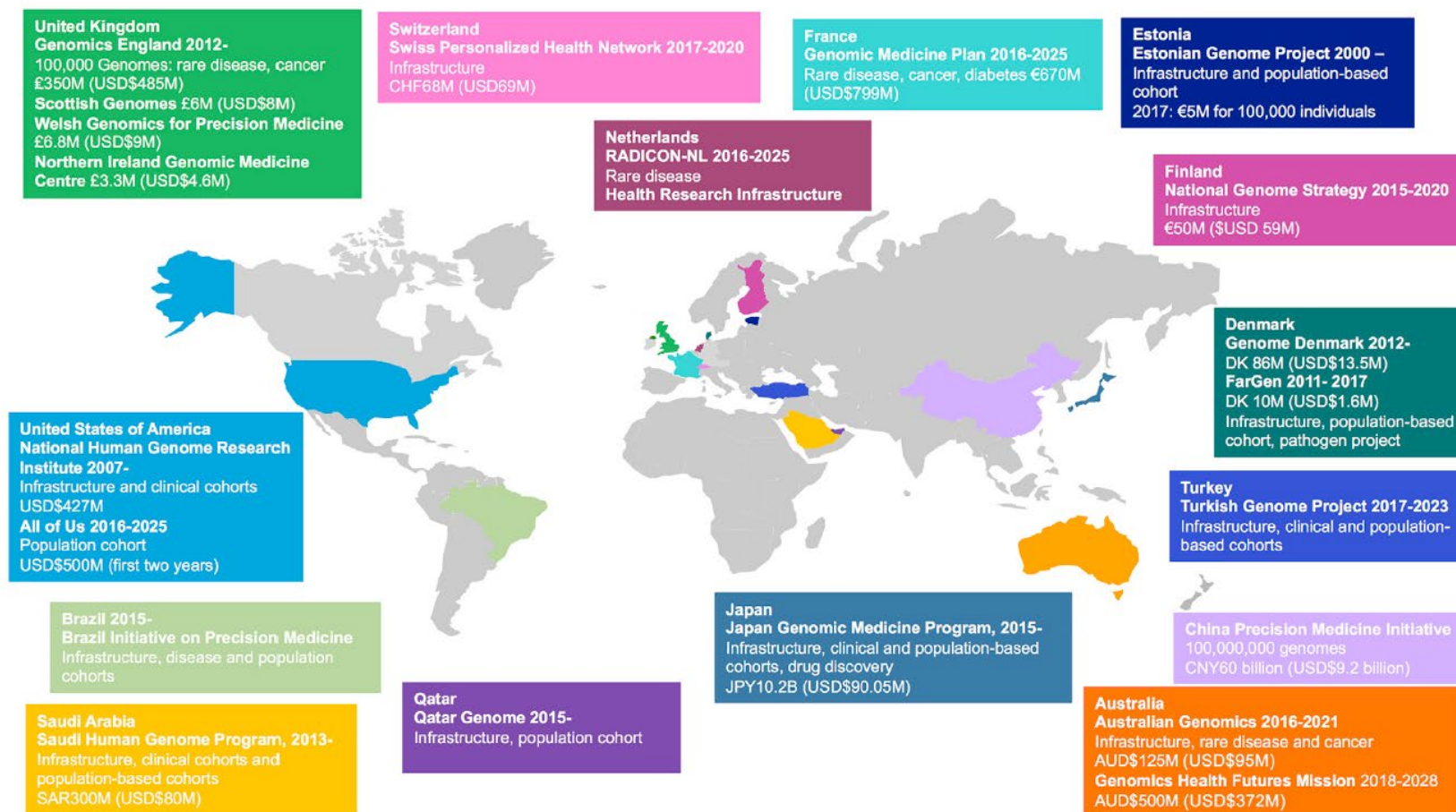


Figure 1. Map of Currently Active Government-Funded National Genomic-Medicine Initiatives

Stark et al. 2019: Integrating Genomics into Healthcare: A Global Responsibility. The American Journal of Human Genetics





Médecine génomique - Une opportunité pour les maladies rares

Les maladies rares constituent l'un des principaux défis sanitaires mondiaux du XXI^e siècle :

- *“Individually rare – Collective common”*: Les maladies rares touchent environ 1 personne sur 15
- en moyenne 8 ans (entre 3 et 15 ans) pour que les patients reçoivent un diagnostic précis
→ l'odyssée du diagnostic : des diagnostics erronés, des traitements inefficaces, fardeau humain et sociétal pour les patients et les familles
- aucun traitement efficace n'est disponible pour 95% des maladies rares
→ le pronostic de nombreuses maladies rares est mauvais : 3 enfants sur 10 atteints d'une maladie rare mourront avant l'âge de 5 ans
- *“Rare disease conundrum”*: le manque de perspectives de traitement concrètes limite l'intérêt des initiatives de recherche visant à améliorer le diagnostic ou la détection précoce des maladies rares





Cliniques et recherche vont de pair

Chaque patient est unique

- La prise en charge des patients atteints de maladies rares est complexe et prend du temps
- Le rendement diagnostique actuel des maladies rares à l'aide de tests basés sur le *NGS* varie entre 25% et 52% environ, selon le type de maladie rare et les stratégies d'analyse employées
- Les technique *NGS* peuvent accélérer le diagnostic, augmenter le rendement diagnostique et permettre une prise en charge plus rapide
- Les analyses à l'échelle du génome génèrent d'énormes quantités de données, dont l'évaluation dépasse le cadre du diagnostic
- L'évaluation des variantes de signification inconnue représente l'un des obstacles majeures à faire des technologies *NGS* à l'échelle du génome la norme dans la pratique clinique



Exemple d'application: *Fast track clinical whole genome* pour les nouveaux-nés avec pathologies sévères

Le problème :

- Maladies génétiques sont la cause de 25% des décès de nourrissons
- La progression de la maladie chez les nourrissons est rapide
- > 10.000 maladies génétiques sont connues et les présentations se chevauchent souvent chez les patients gravement malades
- Les tests basés sur des hypothèses diagnostiques sont lents et itératifs

Objectif: implémenter une approche WGS pour aboutir à un diagnostique rapide de nourrissons gravement malades

- Un traitement ciblé avant dommage d'organes
- Empêcher la progression, diminuer la gravité, prévenir les complications, améliorer la qualité de vie
- Là où le pronostic est sombre : Dignité, retrait des soins, facilitation du deuil



Sarah Maxey, nytimes.com



Diagnosics

ORIGINAL ARTICLE

OPEN ACCESS

Rapid Paediatric Sequencing (RaPS): comprehensive real-life workflow for rapid diagnosis of critically ill children

Lamia Mestek-Boukhibar,¹ Emma Clement,² Wendy D Jones,² Suzanne Drury,³ Louise Ocaka,¹ Andrey Gagunashvili,¹ Polona Le Quesne Stabej,¹ Chiara Bacchelli,¹ Nital Jani,¹ Shamima Rahman,⁴ Lucy Jenkins,⁵ Jane A Hurst,² Maria Bitner-Grindzicz,⁴ Mark Peters,⁶ Philip L Beales,¹ Hywel J Williams¹

RESEARCH ARTICLE | GENETIC DIAGNOSIS

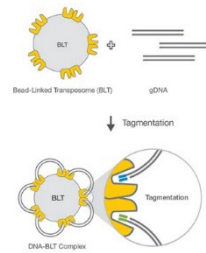
Diagnosis of genetic diseases in seriously ill children by rapid whole-genome sequencing and automated phenotyping and interpretation

Michelle M. Clark¹, Amber Hildreth^{1,2,3}, Sergey Batalov¹, Yan Ding¹, Shimul Chowdhury¹, Kelly Watkins¹, ...
+ See all authors and affiliations

Science Translational Medicine 24 Apr 2019:
Vol. 11, Issue 489, eaat6177
DOI: 10.1126/scitranslmed.aat6177

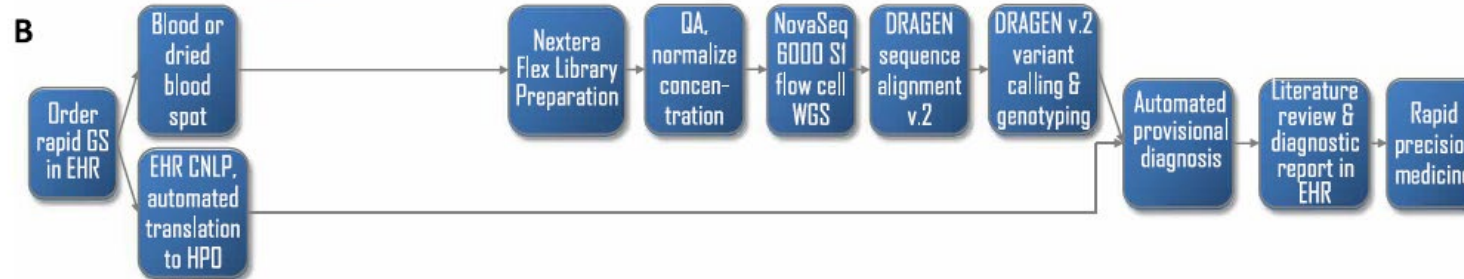


Rapid Whole Genome Sequencing pour les nouveaux-nés avec pathologies sévères



GENETIC DIAGNOSIS

Diagnosis of genetic diseases in seriously ill children by rapid whole-genome sequencing and automated phenotyping and interpretation



- Séquençage de génome accéléré: Temps moyen 20h de la prise de sang au résultat
- Combiné à un algorithme de traitement clinique du langage naturel explorant les données cliniques
- Permet d'apporter un diagnostic à des nouveau-nés en situation critique en un temps record



Séquençage et génome humain

Le génome humain est l'ensemble de l'information génétique portée par l'ADN sur les 23 paires de chromosomes

ADN est constitué de 4 nucléotides distincts (ATCG)
Taille du génome humain: 3×10^9 nucléotides

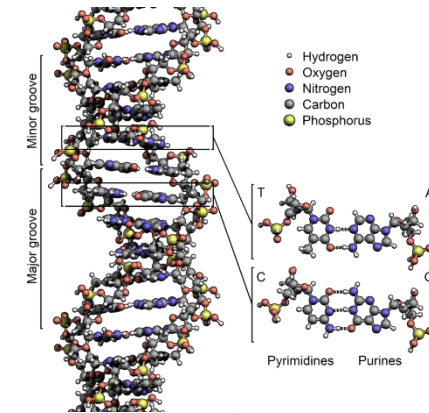
Le séquençage = lire l'ADN

Consiste à déterminer l'ordre d'enchaînement des nucléotides pour un fragment d'ADN donné.

Techniques classiques:

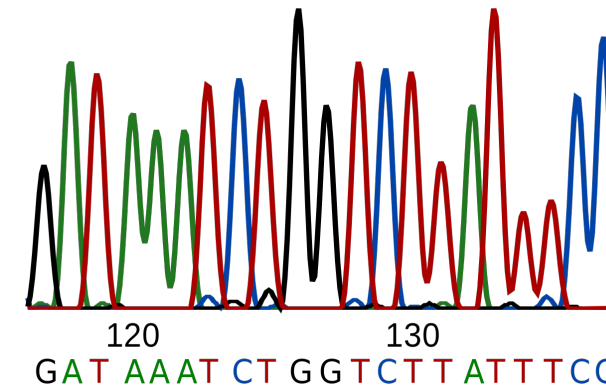
Séquençage selon Sanger (technique ddNTP)

Longueur de lecture typiquement de ± 600 pb et donc débit insuffisant pour une vue globale du génome



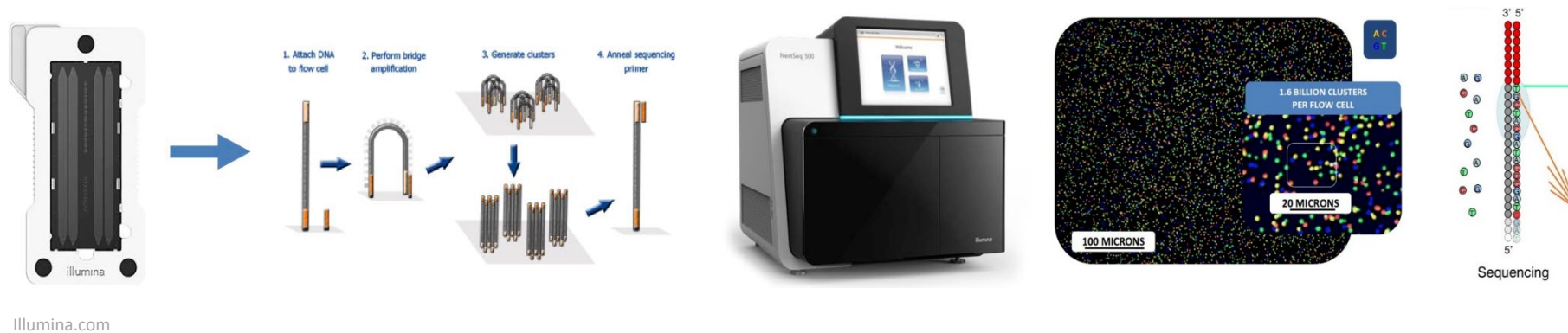
<https://en.wikipedia.org/wiki/DNA>

```
ATGCAGAGGATTTCTTTCATTCATACATCACCATAC
|||||
TACGTCTCCTAAAGAAAGTAAGTATGTAGTGGTATG
```



Séquençage de nouvelle génération (NGS – “Next Generation Sequencing”)

- Séquençage à haut débit ou « massivement parallèle »
- Basé sur une miniaturisation et une parallélisation élevée de la réaction de séquençage
- Débit modulable par le nombre de réactions en parallèle ($10^3 - 10^{10}$)
- Séquenceur haut débit = système micro fluide + caméra ultra-haute résolution + système d'analyses d'images de pointe



Illumina.com



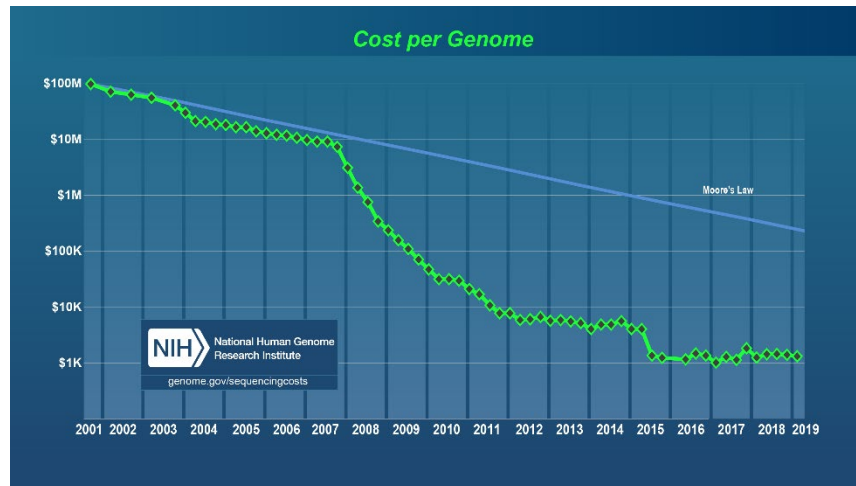


Evolution des couts de séquençage

Le projet de séquençage du Génome Humain a mis 15 années pour être complet avec un cout estimé de €3 milliards

Sur les deux dernières décennies des évolutions technologiques importantes ont permis une réduction de coûts progressant plus vite que la loi de Moore

Aujourd'hui, en utilisant le NGS, le cout a été réduit à €650 pour un génome humain complet



National Human Genome Research Institute (NHGRI)
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=30648381>





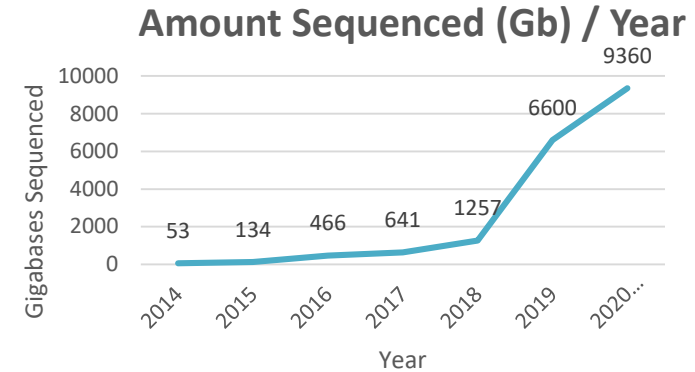
Le NGS est une réalité dans le diagnostic de laboratoire au NCG

Techniques NGS utilisées en routine

- Séquençage de gènes
- Panel cancer héréditaire
- Panels onco sur tumeurs
- DPNI

Utilisation

- 2020: +-8500 Patients ont été testés par techniques basé sur le NGS

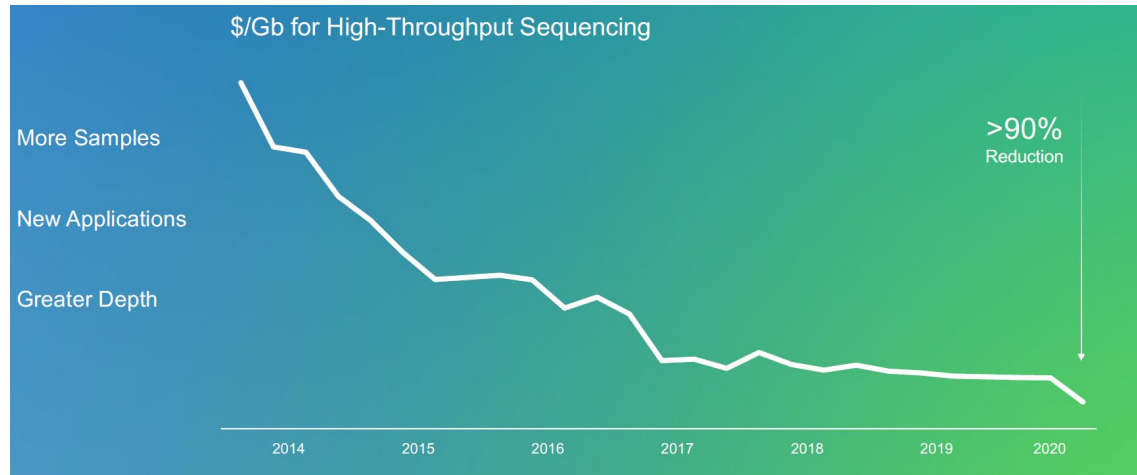


2016-2020: augmentation de 3500%
de la quantité de séquençage / an

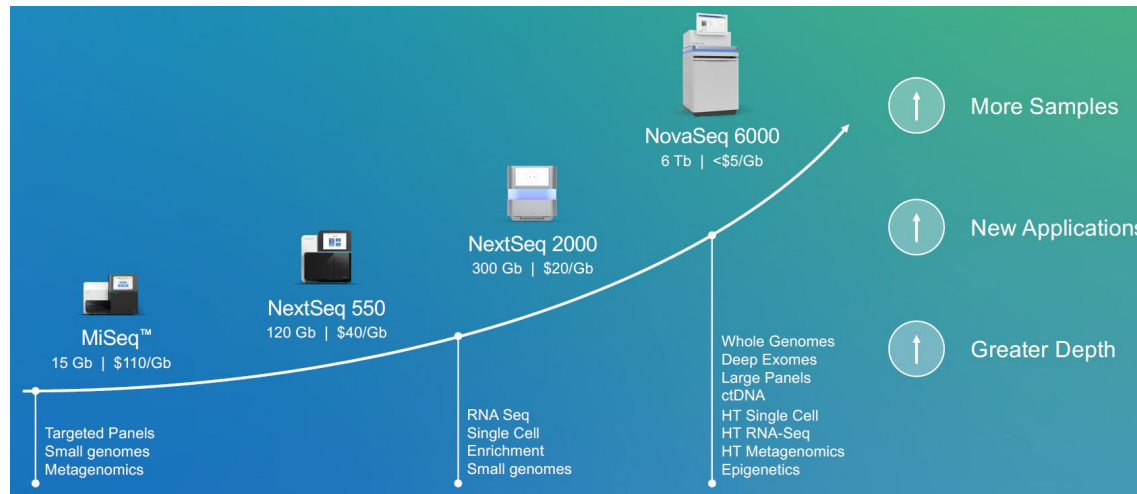




Plus de séquençage à moindre coûts: des opportunités nouvelles



Illumina.com



Illumina.com

Permet d'implémenter de nouvelles applications:

- Grand Panels de gènes
- Exomes
- Génomes
- Séquençage à forte profondeur
 - Oncologie
 - Biopsies liquides





NovaSeq 6000



Séquenceur haut débit à échelle de production

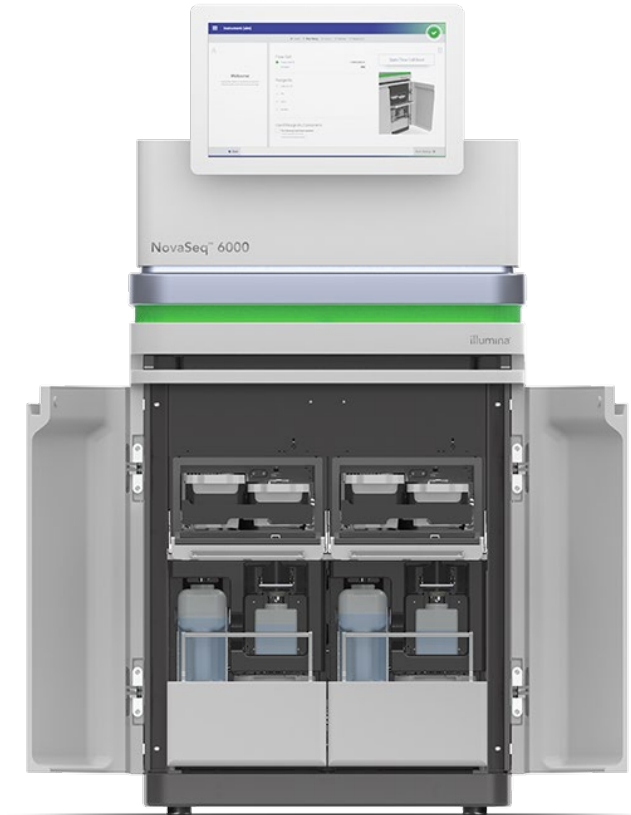
Grande flexibilité (2 cellules de flux indépendantes / différents formats de cellules de flux)

Les coûts de séquençage les plus bas du marché

Instrument utilisé dans toutes les initiatives de génomique clinique à grande échelle (PFMG, Genomics England (100K Genomes))

Financement approuvé par le MISA sur proposition de la CPH le 5/11/20

Installé au NCG en décembre 2020



illumina.com





Le WGS permet d'accéder à une vue globale du génome



SNV
Single Nucleotide Variant



Indel
Insertion or Deletion



Fusion



CNV
Copy Number Variant

Sequencing.roche.com

	Sanger	Targeted NGS	PCR	FISH	Karyotype	CMA	WES	WGS
SNVs & indels	✓	✓	✓				✓	✓
CNVs			✓	✓		✓	limited	✓
Repeat expansions			✓					✓
Structural variants				✓	✓		limited	✓
Mitochondrial	✓	✓					✓	✓

1

Unlike other methods, WGS robustly captures **all** common variant types¹⁻⁴

2

WGS captures CNVs with greater resolution than chromosomal microarrays (CMAs)^{1,5-6}

3

WGS captures variants in exomes with greater accuracy than Whole-exome Sequencing (WES)^{1,2}

4

WGS is technologically simpler than WES, with faster turnaround time

Illumina.com

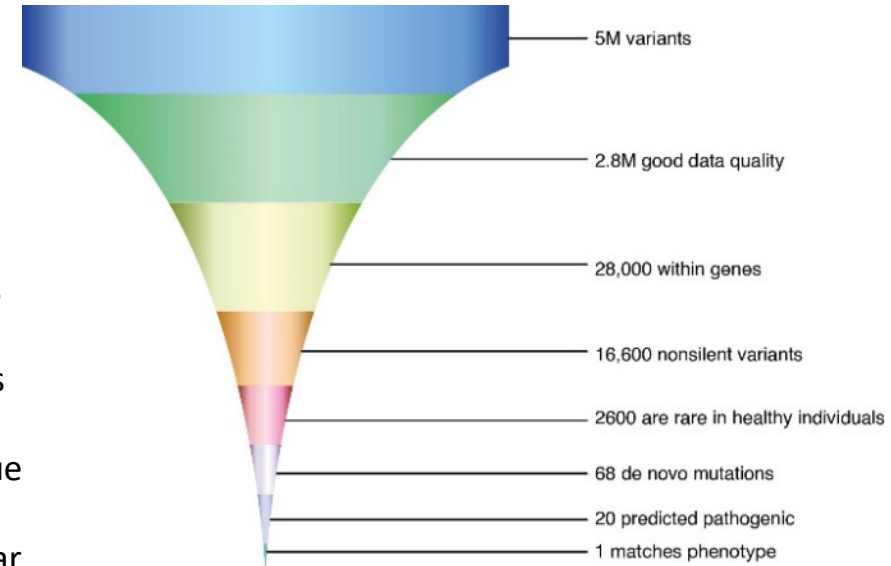


De la génération de données au diagnostique

En moyenne chaque être humain possède environ 5×10^6 variants par rapport à la séquence de référence

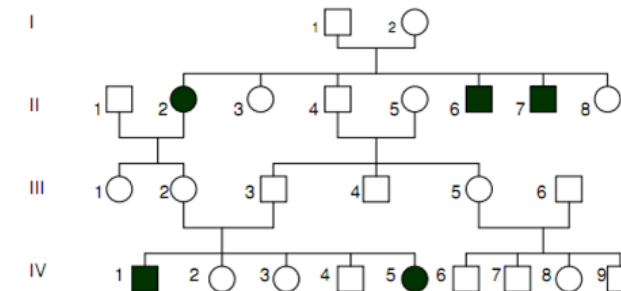
Employer des moyens complexes d'analyses pour déterminer quel variant est causal

- Analyse bioinformatique poussée avec des cascades de filtres élaborés
- Importance de l'intégration des données génétiques de la famille et des phénotypes cliniques
- Diverses expertises requises: Labo-BioInfo-Génétique Clinique-Clinicien
- Nécessite l'évaluation médicale des données NGS par des médecins généticiens



<https://www.garvan.org.au/research/kinghorn-centre-for-clinical-genomics/learn-about-genomics/dna-base/collection1/filtering-and-analysing-genomic-variants>

Chaque patient est un projet de recherche unique:
pas encore une approche de routine





Perspectives 2021 et au-delà

Permettre une médecine personnalisée de pointe au Luxembourg pour:

- le diagnostic (et le traitement) des maladies rares (PNMR)
- le diagnostic, le pronostic et le traitement du cancer (PNC)

Participation à l'*initiative européenne 1+Mio Genomes (1+MG)*

Mettre le WGS à la disposition des patients atteints de maladies rares

Etablissement de projets de recherche translationnels et en santé publique avec le LIH, les hôpitaux, le LCSB et l'Université du Luxembourg, pour permettre une transposition rapide de la recherche vers la Clinique

