

# Recommandations pour le dépistage des anomalies chromosomiques fœtales par l'étude de l'ADN libre circulant (ADNlc)

---

Version 3 – 2017

ACLF

## Résumé

Le **dépistage** des aneuploïdies fœtales par l'étude de l'ADN libre circulant (ADNlc) dans le sang maternel (anciennement appelé DPNI pour dépistage prénatal non invasif) est techniquement réalisable depuis le début des années 2010. Ce test de dépistage a été rendu possible grâce à la découverte en 1997 de l'ADNlc et l'arrivée de la technique de séquençage massif en parallèle (MPS pour Massively Parallel Sequencing).

Concernant la trisomie 21, les résultats de ce test en population à risque accru d'aneuploïdie fœtale sont excellents avec des valeurs de sensibilité de 99,3%, de spécificité de 99,96 % et de valeur prédictive positive de 99,44 %. La sensibilité et la spécificité sont légèrement inférieures pour les trisomies 18 (97,4 % et 99,92 %) et 13 (97,4 % et 99,54 %).

Le **test sur ADNlc** est préconisé pour le **dépistage de la trisomie 21** fœtale. Il peut également s'appliquer au dépistage des trisomies 13 et 18 fœtales. Il n'est actuellement pas recommandé pour le dépistage des autres anomalies chromosomiques (anomalies gonosomiques, syndromes microdélétionnels et autres anomalies chromosomiques déséquilibrées).

Le test sur ADNlc est contre-**indiqué** en présence de **signe(s) d'appel échographique(s)** ou en cas de **clarté nucale (CN) supérieure ou égale à 3,5 mm** lors de l'échographie du 1<sup>er</sup> trimestre en raison du risque résiduel important que le fœtus soit porteur d'une autre anomalie chromosomique que celles recherchées par le test ADNlc. Certains signes échographiques dit mineurs, lorsqu'ils ont isolés, ne sont plus une contre-indication à un test sur ADNlc : artère ombilicale unique, artère sous clavière droite rétro-oesophagienne, kystes des plexus choroïdes, dilatation pyélocalicielle uni ou bilatérale, focus cardiaque hyperéchogène.

La Haute Autorité de Santé (HAS) a publié en mai 2017 un rapport indiquant que le test sur ADNlc dans le cadre du dépistage de la trisomie 21 peut être proposé si le **risque** estimé de trisomie 21 par le dépistage est **supérieur ou égal à 1/1000**, quelle que soit la stratégie utilisée (dépistage combiné du 1<sup>er</sup> trimestre ou MSM du 2<sup>ème</sup> trimestre). Par ailleurs, il est également recommandé qu'un caryotype fœtal soit proposé d'emblée à toute femme enceinte dont le niveau de risque de trisomie 21 est supérieur à 1/50. Un test sur ADNlc pourra cependant être réalisé si la femme enceinte le préfère.

L'ACLF recommandent de proposer également ce test pour les indications suivantes :

- en cas d'antécédent de grossesse avec aneuploïdie ou de translocation robertsonienne parentale impliquant un chromosome 13 ou 21, sans passer par l'étape des marqueurs sériques maternels et après conseil génétique ;
- en cas de grossesse multiple, sans passer par l'étape des marqueurs sériques maternels ;
- si l'échographie du premier trimestre ou le dépistage par les marqueurs sériques n'ont pas pu être réalisés;
- en cas de profil de MSM hors bornes, en particulier ceux évocateurs de trisomie 18.

Le prélèvement sanguin peut avoir lieu dès 10 SA mais il n'est recommandé qu'après la mesure de la clarté nucale lors de l'échographie du 1<sup>er</sup> trimestre. Il doit être prescrit au cours d'une consultation. Il doit faire l'objet d'une attestation de consultation par le professionnel de santé et d'un

consentement éclairé de la femme enceinte. Si le résultat est négatif, la femme enceinte doit être informée que le risque résiduel est faible et il n'est pas préconisé de réaliser un prélèvement invasif. En revanche, devant un résultat positif, le diagnostic d'aneuploïdie ne pourra être posé que par la réalisation d'un caryotype après prélèvement invasif, de préférence sur liquide amniotique (une éventuelle interruption de grossesse ne pourra être réalisée en absence de ce test diagnostic).

Le compte-rendu des résultats doit être simple, clair et explicite, donner les modalités techniques. Il doit préciser, si le résultat est positif, la nécessité d'un prélèvement invasif de diagnostic avec caryotype pour affirmer la trisomie et définir le mécanisme chromosomique (afin de proposer un conseil génétique adapté).

L'autonomie des personnes doit être respectée afin que la meilleure option pour la femme enceinte puisse être choisie : la réalisation d'un dépistage de la trisomie 21 doit rester un choix personnel, constituer une démarche proposée et non imposée aux femmes.

## Introduction

La trisomie 21 est la première cause de déficience intellectuelle d'origine génétique. La fréquence est d'environ 1/700. Elle fait l'objet d'un dépistage national anténatal depuis 1997.

Depuis 2009, celui-ci tient compte:

- de l'échographie de dépistage entre 11SA et 13 SA<sup>+6</sup> jours
- des marqueurs sériques maternels (MSM) du 1<sup>er</sup> trimestre ou à défaut du 2<sup>ème</sup> trimestre intégrant ou pas la mesure de la clarté nucale lors de l'échographie du 1<sup>er</sup> trimestre.

Le bilan de l'Agence de la Biomédecine montre d'une part que la valeur prédictive des MSM est d'environ 6.9% (Rapport d'activité prénatale, Agence de la Biomédecine 2015) et d'autre part que le nombre annuel d'enfants porteurs de trisomie 21 nés vivants est d'environ 500 (rapport d'activité de la génétique post-natale, Agence de Biomédecine 2016).

Le diagnostic est assuré par une étude chromosomique fœtale après prélèvement invasif, sachant que seul le caryotype conventionnel permet d'établir le mécanisme de la trisomie 21 et donc de rendre un conseil génétique. Les prélèvements invasifs présentent un risque de fausses couches évalués à 0,14 % par la Haute Autorité de Santé (HAS, recommandations 2017).

La découverte de la présence de l'ADN libre circulant dans le sang maternel d'ADN fœtal d'origine placentaire au cours de la grossesse par D. Lo en 1997 [Lo et al. 1997] couplée à la mise au point des nouvelles techniques de séquençage haut débit (séquençage massif en parallèle ou MPS) a permis de proposer un nouveau test de dépistage prénatal non invasif, nommé ADNlc, ayant une spécificité et une sensibilité très élevées.

L'objectif principal de ce document est de préciser

- les particularités techniques de l'ADNlc avec ses avantages et ses limites (p5),
- les anomalies chromosomiques recherchées (p6),
- les indications et les contre-indications de l'ADNlc (p8),
- qu'il s'agit d'un test de dépistage (p12),
- le parcours de soin dans lequel l'ADNlc doit s'inscrire (p13),
- les modalités du compte-rendu des résultats (p15),
- les échantillons et documents à conserver (p16),
- les aspects éthiques de ce dépistage anténatal (p17),
- les aspects législatifs (p17),
- ainsi que de fournir une bibliographie, base de notre réflexion (p19).

## Les particularités techniques des tests ADNlc

Le dépistage non invasif des aneuploïdies a représenté pendant plusieurs décennies un défi médical et technique. La combinaison de la découverte de l'ADN fœtal circulant en 1997 et les progrès fulgurants des technologies de séquençage de l'ADN ont permis de développer et d'intégrer les tests ADNlc dans la pratique clinique en moins de 15 ans. La validité clinique du dépistage par l'ADNlc a été initialement établie dans une population de femmes à risque chez laquelle la valeur prédictive positive (VPP) du test est comprise entre 80% et 99% [Skrzypek and Hui, 2017].

### *L'ADN fœtal circulant*

Depuis 1997, l'utilisation des cellules fœtales circulantes a donc rapidement été supplantée par des stratégies d'analyse de l'ADN fœtal circulant, présent dans le plasma maternel sous forme libre, non cellulaire (cffDNA pour *cell free fetal DNA*) [Lo et al. 1997]. Cet ADN fragmenté, de petite taille (<300pb), est essentiellement d'origine trophoblastique (cellules en apoptose du cytotrophoblaste) [Flori et al. 2004; Chan et al. 2004; Alberry et al. 2007]. Il apparaît de façon très précoce durant la grossesse, et est détectable à partir de la 6<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée (SA) jusqu'à la fin de la grossesse. Son taux plasmatique augmente régulièrement durant la grossesse [Lo et al. 1999] et disparaît rapidement quelques heures après l'accouchement [Benachi et al. 2003].

### *Application au dépistage des aneuploïdies*

Le principe général du test ADNlc des aneuploïdes repose sur la capacité de mettre en évidence une surreprésentation statistiquement significative de fragments d'ADN dérivés du chromosome 21 dans le plasma maternel comparativement à d'autres chromosomes « contrôles ». Il s'agit donc d'un test de quantification relative. L'approche technologique qui a fait la preuve de son efficacité depuis 2008, et qui reste la technologie la plus utilisée, est celle du MPS. Schématiquement, on peut distinguer aujourd'hui trois approches différentes. L'une dite « whole-genome » analyse sans a priori la totalité des fragments d'ADN présents dans le plasma maternel, les autres dites « ciblées » analysent spécifiquement les fragments dérivant du ou des chromosomes d'intérêt, soit à travers des régions non polymorphes, soit à travers des régions contenant des SNP (single-nucleotide polymorphism) [Skrzypek and Hui, 2017]. Une très large méta-analyse réalisée en 2016 sur l'ensemble des données publiées dans la littérature depuis 2007 montre une sensibilité globale de ces 3 approches de 99.3% pour la trisomie 21, 97.4% pour la trisomie 18 et 97,4% pour la trisomie 13. La spécificité est également très élevée atteignant 99,9% pour la trisomie 21. Il ne semble pas exister de différences significatives entre les différentes approches [Taylor-Philips et al. 2016]. Néanmoins, le taux d'échec du test est variable selon les plateformes : les plus importants étant rapportés pour les approches ciblées, notamment celles basées sur le génotypage des SNPs [Yaron 2016]. La cause la plus fréquente reste une fraction fœtale insuffisante (<4%) [Fiorentino et al. 2016]. La récente méta-analyse de Taylor-Philips [Taylor-Philips et al. 2016] estime un taux d'échec variable entre 0 et 12,87% et rapporte qu'environ 14% des femmes avec un ADNlc initial en échec ont un second échec sur un prélèvement ultérieur.

Plus récemment, une méthode d'analyse basée sur l'utilisation d'une technologie de puces à ADN selon une approche similaire à une CGH-array a permis de montrer des performances équivalentes

au séquençage MPS tout en évitant le recours à des plateformes complexes et coûteuses. De nouvelles approches fondées sur des PCR quantitatives ou des amplifications isothermes des molécules d'ADN sont en cours d'évaluation, l'objectif étant d'aboutir à un test peu coûteux et entièrement automatisé.

#### *Spécificités des analyses ADNlc*

Aucune méthode d'analyse de l'ADNlc n'est entièrement automatisée à ce jour. Le processus analytique est complexe et comprend schématiquement 3 étapes : la préparation de l'échantillon avec extraction des acides nucléiques, la modification des molécules ADN en vue de leur séquençage ou de leur hybridation sur puces, l'analyse bio-informatique des données selon des algorithmes qui varient selon les différents tests et approches mais dont la finalité est toujours d'évaluer une quantité relative sur la base d'un test statistique. L'analyse n'étant pas spécifique de l'ADN fœtal qui ne peut pas être isolé de celui de la mère, ni analysé spécifiquement l'évaluation de la proportion d'ADN fœtal (fraction fœtale) est habituellement une mesure utile et/ou indispensable à l'interprétation des résultats.

L'ADN fœtal circulant ne représente qu'une petite fraction de l'ADN circulant total composé essentiellement d'ADN maternel: il représente 5 à 10% (durant les deux premiers trimestres) à près de 20 % (lors du troisième trimestre de la grossesse) de l'ADN libre circulant total [Lun et al. 2008 ; Lo et al. 2010]. Le poids maternel influence considérablement la fraction d'ADN fœtal circulant : une faible fraction fœtale (<4%) est retrouvée chez 7% des femmes de 100 kg et jusqu'à 50% chez les femmes de plus de 160kg [Ashoor et al. 2013].

## **Anomalies chromosomiques recherchées**

#### *Dépistage de la trisomie 21 :*

La trisomie 21 est la seule anomalie chromosomique dont la fréquence dans la population est suffisamment élevée pour avoir justifié la mise en place d'un dépistage sérique national, dès 1997, au 2<sup>ème</sup> trimestre puis au 1<sup>er</sup> trimestre de la grossesse. Du fait de la sensibilité et la spécificité de ces tests, la HAS a rendu en 2016 un avis favorable pour l'introduction du test d'ADNlc au sein de la stratégie (Avis n°2016.0004/AC/SEAP du 13 janvier 2016).

En 2017, la HAS souligne les hautes performances de l'ADNlc : « Bien que les analyses de sensibilité aient mis en évidence une hétérogénéité liée à la variabilité des caractéristiques des études incluses dans la méta-analyse (notamment, niveau de risque de trisomie 21, sous-populations retenues, type de test ADNlcT21, valeur seuil du score de risque), les résultats de la méta-analyse ont montré que la sensibilité et la spécificité des tests ADNlcT21 étaient élevées, que ce soit chez les femmes enceintes à haut risque de trisomie 21 fœtale ou en population générale, avec un taux de détection > 99 % et un taux de faux-positifs < 1 % » [HAS 2017].

#### *Dépistage des autres anomalies chromosomiques et détermination du sexe fœtal :*

Les recommandations suivantes sont en accord avec celles d'autres sociétés savantes telles que l'American College of Medical Genetics and Genomics et la Society for Maternal-Fetal Medicine [Gregg et al. 2016; Society for Maternal-Fetal Medicine 2017]

- 1) Les trisomies 13 et 18 sont les seules trisomies autosomiques qui, avec la trisomie 21, sont viables sous une forme homogène dans l'espèce humaine. Elles peuvent également être recherchées. Néanmoins, leur dépistage est de moindre intérêt. D'une part, ces anomalies sont plus rares et d'autre part, leur diagnostic est facilité par la présence de signes d'appel échographiques précoces plus importants et plus fréquents que dans la trisomie 21. Cependant, leur dépistage par ADNlc associé à celui de la trisomie 21 peut être proposé car il peut permettre un diagnostic précoce dans certains cas et leur phénotype très sévère n'engendre pas de difficulté éthique particulière de conseil génétique au regard de leur pronostic extrêmement péjoratif.

Les sensibilités du dépistage sont légèrement moindres par rapport à celles pour la trisomie 21 : taux de détection de 97,4% pour les trisomies 18 et 13 versus 99,3% pour la trisomie 21 avec une spécificité de 99,9%, identique pour les trois aneuploïdies [Taylor-Phillips, 2016]. Les valeurs prédictives positives sont cependant plus faibles, respectivement de 64 et 44% pour les trisomies 18 et 13 [Wang JC, 2015], probablement en raison de leur faible prévalence en absence de signes échographiques.

- 2) Le dépistage des anomalies des chromosomes sexuels (gonosomes) n'entre pas dans le champ du dépistage par ADNlc pour des raisons de performances du test et d'éthique. D'un point de vue technique, la valeur prédictive positive est de 38% [Wang JC, 2015] essentiellement en raison (1) de la perte physiologique du chromosome X avec l'âge maternel pouvant mimer une monosomie X fœtale et (2) du fait que les gonosomes sont les chromosomes les plus souvent impliqués dans les mosaïques confinées au placenta. Par ailleurs, les anomalies gonosomiques sont fréquemment en mosaïque ou impliquent des remaniements de structure rendant le dépistage des seules anomalies de nombre homogènes très incomplet.

D'un point de vue éthique, la découverte des anomalies gonosomiques ne modifie en rien la prise en charge de la grossesse en l'absence de signes d'appel échographiques. L'annonce du résultat d'une pathologie des gonosomes le plus souvent non considérée d'une particulière gravité, rend le conseil génétique toujours compliqué.

- 3) La détermination du sexe fœtal ne peut être faite en France que devant une indication médicale. La HAS rappelle dans son rapport sur « la détermination prénatale du sexe fœtal à partir du sang maternel » de juillet 2009 que « Le diagnostic prénatal s'entend des pratiques médicales ayant pour but de détecter in utero chez l'embryon ou le fœtus une affection d'une particulière gravité » (article L. 2131-1 du Code de la santé publique) et que le diagnostic de sexe n'est indiqué que dans le cadre de l'hyperplasie congénitale des surrénales et les pathologies liées à l'X avec une technique de PCR sur sang maternel. Il n'est donc pas recommandé de rendre le sexe fœtal par ADNlc.

- 4) Le dépistage des syndromes microdélétionnels n'entre pas non plus dans ce champ à l'heure actuelle même si leur détection est possible [Valderramos et al 2016, Gross et al 2016]. Les résultats des différentes études sont contradictoires. Les populations étudiées ne sont pas homogènes (présence ou pas de signes échographiques, atteinte maternelle, ...), les issues de grossesse sont mal recueillies et les contrôles des résultats positifs non exhaustifs. Il n'existe donc pas pour le moment de preuve scientifique suffisante dans la littérature en ce qui

concerne la spécificité, la sensibilité et la VPP pour envisager l'utilisation de l'analyse de l'ADN fœtal circulant dans cette application, et ceci d'autant que, mis à part les anomalies en 22q11.2, la fréquence est très basse.

- 5) Le dépistage des anomalies chromosomiques de structure déséquilibrées est également possible [Zhao et al 2015, Helgeson et al 2015, Yin et al 2015 ; Lo et al 2016 ; Ehrich et al. 2017] et prometteur. Cependant, ce dépistage n'est pas recommandé à l'heure actuelle en remplacement des stratégies classiques (caryotype conventionnel ou ACPA).

Actuellement, le dépistage de ces anomalies par ADNlc peut relever de deux situations. Il peut s'agir d'une découverte fortuite lors d'un dépistage par ADNlc de la trisomie 21. Son interprétation devra alors tenir compte du type d'anomalie (compatible ou non avec une grossesse évolutive, connue ou non pour être une anomalie confinée au placenta, impliquant ou non un chromosome soumis à empreinte ...) et de l'histoire obstétricale de la femme enceinte. Une grande prudence à l'annonce d'un tel résultat, non validé techniquement, est nécessaire. Très prochainement, l'abandon des logiciels non marqués CE devrait permettre d'éviter ces découvertes incidentales. L'autre situation est la mise en place volontaire d'un processus (technique et logiciel) permettant leur dépistage. La sensibilité et la spécificité de ce dépistage dépendent de nombreux paramètres (en particulier de la taille de l'anomalie et de la profondeur de séquençage) [Yin et al 2015 ; Lo et al 2016], et devront avoir fait l'objet d'une étude de la méthode utilisée avant de pouvoir rendre un résultat. Les femmes devront être informées de la possibilité de ces découvertes supplémentaires.

## Indications et contre-indications

### Objectif(s)

Les objectifs du dépistage non invasif, tout en respectant l'autonomie des femmes enceintes, sont :

- **d'améliorer la sensibilité et la spécificité du dépistage des aneuploïdies** et en particulier de la trisomie 21.
- **de diminuer le recours aux gestes invasifs et ainsi potentiellement diminuer leur morbidité secondaire et de simplifier le parcours de soin**
- **de ne pas détériorer la qualité du diagnostic des autres anomalies chromosomiques déséquilibrées.**

### Situations où le dépistage par ADNlc n'est pas indiqué

- 1) *Signes d'appel échographiques (SAE) dont l'hyperclarté nucale lors de l'échographie de 1<sup>er</sup> trimestre*

La réalisation du test de dépistage par ADNlc, s'il est réalisable à partir de 10SA, n'est recommandée qu'après la mesure de la clarté nucale lors de l'échographie du 1<sup>er</sup> trimestre, donc en pratique seulement à partir de 11SA (HAS, (Avis n°2016.0004/AC/SEAP du 13 janvier 2016).

Le risque d'anomalies chromosomiques déséquilibrées autres que les trisomies 13, 18 et 21, les anomalies gonosomiques et les triploïdies, en présence de SAE varie de 2,5% (330/13407, tableau n°6, rapport Agence de la biomédecine, diagnostic prénatal 2015) à 8% [Benachi et al 2015].



De plus, le recours aux analyses chromosomiques sur puce à ADN (ACPA) est très largement recommandé, notamment par l'ACLF dans ces indications et contribue à détecter 5 à 10% d'anomalies chromosomiques supplémentaires [Oneda et al. 2017].

En théorie, le séquençage de l'ADN foetal circulant pourrait aussi être utilisé pour détecter ces autres anomalies chromosomiques déséquilibrées chez le fœtus.

Néanmoins, à ce jour, cette approche ne peut être recommandée en présence SAE puisque sa résolution, sa sensibilité ou sa valeur prédictive négative sont encore inférieures à celles des approches invasives [Oneda et al. 2016, Beulen et al 2017]. Les analyses sur ADN foetal circulant entraîneraient de plus un retard de prise en charge pour une proportion importante de femmes enceintes, vu la fréquence des anomalies chromosomiques déséquilibrées en présence SAE.

Par conséquent, en présence de signes échographiques, la réalisation d'un test invasif avec la réalisation d'un caryotype conventionnel ou moléculaire est recommandée.

### **Clartés nucales comprises entre le 95<sup>ème</sup> percentile et 3,4mm :**

D'après Kagan et al (2006), lorsque la clarté nucale mesurée lors de l'échographie du 1<sup>er</sup> trimestre est comprise entre le 95<sup>ème</sup> percentile et 3,4 mm, le risque d'anomalies déséquilibrées autres que les trisomies 13, 18 et 21, anomalies gonosomiques et triploïdies, est de 1/177. Il s'agit de dérivés de translocation, marqueurs, aneuploïdies en mosaïque, délétions ou duplications.

Par conséquent, en cas de clarté nucale comprise entre le 95<sup>ème</sup> percentile et 3,4mm, un ADNlc est possible après avoir expliqué à la femme enceinte les limites de ce test appliqué à sa situation.

#### *2) ADNlc et signe(s) d'appel échographique(s) mineur(s) (genetic scan) ou « soft signs »*

Il s'entend par « signe(s) d'appel échographique(s) mineur(s) » l'ensemble des signes échographiques qui ne constituent pas un signe direct de maladie fœtale, mais dont l'observation est un peu plus fréquente en cas d'anomalie du fœtus par rapport à la population générale. L'observation d'un ou de plusieurs de ces signes, même lorsque le dépistage par les MSM est normal, pose la question de la réalisation d'un prélèvement invasif.

Une revue de la littérature a permis de conclure sur l'absence de contre-indication à la réalisation d'un ADNlc (absence d'augmentation du risque d'anomalies chromosomiques autres que les principales aneuploïdies) dans les situations suivantes : dilatations pyéliqués uni- ou bilatérales [Carbone et al, 2011 ; Chudleigh et al, 2001], artère ombilicale unique [Dagklis et al, 2010], kystes des plexus choroïdes uniques ou multiples [Coco et al, 2004], artère sous-clavière droite rétro-œsophagienne [Svirsky et al, 2017 ; Pico et al, 2016 ; Borenstein et al, 2010], focus cardiaque hyperéchogène [Achiron et al, 1997 ; Ouzounian et al, 2007]. Ces signes, lorsqu'ils sont isolés, ne constituent pas une indication à la réalisation d'un test par ADNlc mais n'en sont plus une contre-indication.

Il pourra être utile à l'avenir de mieux déterminer l'impact des autres signes échographiques mineurs sur le risque d'anomalie chromosomique déséquilibrée autre que la trisomie 21, afin d'évaluer la faisabilité du test par ADNlc dans ces situations.

Par ailleurs, à la suite d'un test ADNlc négatif, notamment si celui-ci a été réalisé en début de grossesse et en raison de la grande sensibilité de ce dépistage (surtout s'il est effectué en première intention), il est recommandé par certaines sociétés savantes comme la Society for Maternal-Fetal Medicine de rapporter ce type de signes échographiques comme normal ou sans signification clinique. Le recours à un test diagnostique n'est alors pas recommandé.

### *Indications recevables*

#### *Recommandations médico-économiques de la Haute Autorité de Santé 2017*

La Haute Autorité Santé (2017) n'a statué, dans un rapport médico-économique, que sur les indications du dépistage par ADNlc pour le dépistage de la trisomie 21 dans les grossesses singletons [Place des tests ADN libre circulant dans le sang maternel dans le dépistage de la trisomie 21 fœtale, validation avril 2017].

Dans ce cadre, la pertinence de différentes stratégies a été étudiée en tenant compte des critères suivants : « coûts additionnels, nombre de T21 fœtales diagnostiquées supplémentaires suite au dépistage, nombre de pertes fœtales évitées et performances de la stratégie (notamment nombre de faux-positifs et de faux-négatifs) et sans pondération de ces différents critères entre eux. »

Les conclusions sont les suivantes :

« Diminuer la borne basse du seuil de risque, à partir de laquelle un test ADNlcT21 est proposé aux patientes, de 1/250 à 1/1 000 :

- n'avait pas d'impact sur le nombre de pertes fœtales induites (c'est-à-dire sur le nombre de tests invasifs à visée diagnostique) ;
- permettait de dépister correctement 80 T21 fœtales supplémentaires en phase prénatale (T21 fœtale suspectée au dépistage et confirmée par un caryotype fœtal ou à la naissance) ;
- augmentait le coût moyen du dépistage par femme enceinte de 34 € (soit 17,5 M€ sur l'ensemble de la population).

Diminuer la borne haute du seuil de risque de 1 à 1/50, et proposer un caryotype fœtal d'emblée au lieu d'un test ADNlcT21 aux femmes :

- augmentait le nombre de pertes fœtales induites par les examens invasifs à visée diagnostique de trois ;
- permettait de dépister correctement 42 T21 fœtales supplémentaires en phase prénatale (T21 suspectée au dépistage et confirmée par le caryotype fœtal ou à la naissance) ;
- n'avait quasiment pas d'impact sur le coût moyen par femme enceinte dépistée. »

#### *Test ADNlc en première intention (dépistage primaire)*

Il est maintenant établi que les performances du dépistage par ADNlc en population à bas risque sont supérieures à celles du dépistage traditionnel par les MSM. Plusieurs études ont montré que la sensibilité du test permet la détection d'un plus grand nombre de fœtus porteur d'une trisomie 21 et dans le même temps, la spécificité et la valeur prédictive conduisent à une réduction importante du nombre de gestes invasifs induits [Bianchi et al. 2014 ; Norton et al. 2015 ; Zhang et al 2015 ; Guedj et al. 2014]. Une méta-analyse récente [Iwarsson et al. 2017] rapporte une sensibilité de 0.993 (95% CI 0.955–0.999) et une spécificité de 0.999 (95% CI 0.998–0.999).

Ces résultats ont conduit plusieurs sociétés savantes à reconsidérer leurs positions et à envisager l'ADNlc en dépistage primaire comme une nouvelle option qui peut être offerte à toutes les femmes enceintes. [Committee Opinion N°640 2015 ; SMFM Statement 2015 ; Benn et al. 2013].

En Europe, cette nouvelle politique de dépistage est mise en place depuis le 1<sup>er</sup> juillet 2017 en Belgique et en France, les résultats de l'étude DEPOSA [Costa et al. Soumis] viennent confirmer que la valeur prédictive positive du test ADNlc est significativement supérieure à celle du dépistage combiné du 1<sup>er</sup> trimestre (100% [IC95% 59.0% - 100%] vs 8.8% [IC95% 2.9% - 19.3%]).

Il n'y a donc aucune opposition scientifique et médicale à l'utilisation du test ADNlc en dépistage primaire. L'analyse médico-économique dans le contexte du parcours de soin français, a toutefois conduit les autorités à ne pas retenir cette option à cause d'un coût supplémentaire de 152 M€ (rapport HAS 2017).

Il est cependant des situations particulières, non évaluées par l'HAS, où le test ADNlc devrait être proposé d'emblée :

1- Les grossesses multiples

Contrairement aux pays anglo-saxons, le dépistage combiné du premier trimestre n'est pas utilisé dans le cadre des grossesses multiples. Le dépistage est donc habituellement effectué en tenant compte de l'âge maternel et de la mesure des clartés nucales mais non reconnu officiellement dans le parcours de soin et sa performance est peu évaluée. Ces femmes doivent donc avoir recours à un dépistage au second trimestre qui constitue une vraie perte de chance en raison du caractère tardif de celui-ci, d'une sensibilité inférieure au dépistage combiné du 1<sup>er</sup> trimestre, d'une valeur prédictive positive faible et d'un taux de femmes enceintes à risque important, de l'ordre de 10-15%. De surcroît, les gestes invasifs induits sont de réalisation plus délicate et leur morbidité supérieure à celle d'une grossesse singleton.

Les performances du test ADNlc dans le contexte de grossesses multiples, même si le nombre d'études est encore limité, apparaissent comparables à celles obtenues pour les grossesses singletons, en particulier lorsque la mesure de la fraction fœtale est prise en considération dans l'interprétation finale du résultat [Le Conte et al, 2017 ; Du et al, 2017 ; Fosler et al, 2017].

Il est donc légitime que les femmes enceintes avec grossesse multiple bénéficient du test ADNlc qui pourrait être proposé en première intention au premier trimestre de la grossesse.

La mesure de la fraction fœtale étant un paramètre essentiel pour l'interprétation des résultats en cas de grossesses multiples, cette mesure devrait être intégrée au test.

2- Les femmes enceintes chez lesquelles la mesure de la clarté nucale n'a pas été mesurable lors de l'échographie de 1<sup>er</sup> trimestre

Le fait de ne pas pouvoir recourir à un dépistage échographique peut être considéré comme une perte de chance pour la femme. Par ailleurs, les MSM du 2<sup>ème</sup> trimestre seuls ont une valeur prédictive positive moindre que ceux du 1<sup>er</sup> T (2,1% vs 6,3%) et la probabilité pour la femme enceinte d'être classée dans un groupe à risque accru est nettement supérieure (10,6% vs 3,3%) [Rapport ABM 2016]. La proposition d'un test ADNlc pourrait éviter un retard à la prise en charge de ces femmes et palier en partie, pour le dépistage de la trisomie 21, la perte de chance en lien avec l'absence d'échographie.

3- Aux femmes enceintes chez qui les MSM n'ont pas pu être réalisés en lien avec la découverte tardive de la grossesse.

4- Aux femmes enceintes à risque accru d'aneuploïdie fœtales complètes et homogènes en cas de translocation robertsonienne parentale impliquant un chromosome 13 ou 21 ou lorsqu'il existe un antécédent de grossesse avec aneuploïdie, après conseil génétique,

5- Lorsque les MSM du premier trimestre sont évocateur d'une trisomie 18.

L'utilisation du test ADNlc en dépistage primaire peut également se discuter lorsque la modélisation de la HAS ne prend pas en compte les particularités de la situation. En effet, la modélisation de la HAS est basée sur un taux de 3,3% de patientes à risques après MSM au 1<sup>er</sup> T. Dans une population où le risque serait de 10 à 15%, comme par exemple chez les femmes dont la grossesse est issue d'une technique d'assistance médicale à la procréation (AMP), la question de la pertinence d'un dépistage primaire reste ouverte.

#### *Conclusion : Indications recommandées*

**En tenant compte à la fois des recommandations de la HAS et des limites de son étude, les indications retenues par l'ACLF sont :**

- **en cas de grossesse singleton, si le risque de trisomie 21 fœtale évalué après dépistage par les marqueurs sériques est supérieur à 1/50 si ce dépistage a la préférence de la femme enceinte par rapport au prélèvement invasif recommandé ;**
- **en cas de grossesse singleton, si le risque de trisomie 21 fœtale évalué après dépistage par les marqueurs sériques est compris entre 1/51 et 1/1000 ;**
- **en cas d'antécédent de grossesse avec aneuploïdie ou si un des parents est porteur d'une translocation robertsonienne impliquant un chromosome 13 ou un chromosome 21, sans passer par l'étape des marqueurs sériques maternels et après conseil génétique ;**
- **en cas de grossesse multiple, sans passer par l'étape des marqueurs sériques maternels ;**
- **si l'échographie du premier trimestre ou le dépistage par les marqueurs sériques n'ont pas pu être réalisés ;**
- **en cas de profil de MSM hors bornes, en particulier ceux évocateurs de trisomie 18.**

## **ADNlc : un Test de dépistage**

Le groupe de travail sur l'ADNlc souhaite rappeler que ce test constitue une analyse biologique inscrite dans un cadre de dépistage, et non de diagnostic.

En effet, il s'entend que la prescription d'un test à visée diagnostique s'adresse à un sujet présentant des signes de l'affection qui est recherchée. A l'inverse, un test de dépistage est réalisé chez un sujet ne présentant pas de signe. Le test d'ADNlc s'adressant actuellement aux femmes enceintes considérées à risque par la stratégie actuelle de dépistage de la trisomie 21, il doit être considéré comme un élément supplémentaire de stratification du risque, et donc comme faisant partie d'une démarche de dépistage.

De plus, il est nécessaire de rappeler les limitations d'ordre biologique et technique de ce test, qui ne permettent pas à notre sens de considérer l'ADNlc comme un test diagnostique, mais bien comme un test de dépistage. L'analyse de l'ADN fœtal circulant correspond à celle d'un mélange d'ADN d'origine maternelle, en proportion très majoritaire, et placentaire. L'ADN placentaire peut présenter des caractéristiques génétiques différentes de celui du fœtus en cas de mosaïque confinée au placenta ou au fœtus, ce qui induit un risque d'erreur de l'analyse dans ces situations. Le fort déséquilibre de proportion entre ADN placentaire et maternel implique aussi que les anomalies propres à l'ADN maternel peuvent masquer le génotype fœtal. Enfin, les limites de sensibilité des

technologies actuellement disponibles impliquent, comme pour tout test biologique, un risque de résultat erroné.

Par conséquent, tout résultat positif nécessite d'être confirmé secondairement par un test diagnostique réalisé à partir d'un geste invasif.

## L'ADNIc au sein d'un parcours de soin

### *Date de prélèvement*

Ce dépistage est fait par un prélèvement veineux périphérique chez une femme enceinte. S'il peut être réalisé à partir de 10 SA et sans limite de terme, il doit cependant être réalisé après la mesure de la CN par l'échographie du 1<sup>er</sup> trimestre soit à partir de 11 SA afin de s'assurer de l'éligibilité de la femme enceinte (absence de contre-indications).

### *Consultation avant et après le test de dépistage non invasif de la trisomie 21*

Le test de dépistage non invasif de la trisomie 21 doit obligatoirement être proposé à la femme enceinte dans le cadre d'une consultation par un professionnel médical formé (médecin ou sage-femme). Les laboratoires ne doivent donc pas accéder aux demandes des femmes enceintes en direct, demandes interdites dans le système de soin français, que le test soit ou non pris en charge par la Sécurité Sociale. La femme enceinte doit être informée des avantages et des limites de ce test :

- Ce test offre l'avantage de dépister les fœtus porteurs d'une trisomie 21 avec une excellente sensibilité et spécificité permettant ainsi d'éviter dans plus de 95% des cas la réalisation d'un geste invasif et de ce fait le risque de fausse couche induit (récemment estimé à 0,11 – 0,22% des prélèvements invasifs par la HAS dans son rapport sur l'ADNIc).
- Cependant, ce test n'est pas fiable à 100% car il existe de rares cas de faux positifs et de faux négatifs. Seul le caryotype fœtal permet de déterminer avec certitude l'existence ou non d'une trisomie 21 fœtale. Ainsi, un résultat positif doit conduire à proposer la réalisation d'un geste invasif afin d'obtenir le caryotype fœtal.
- L'ensemble du génome n'est pas exploré et que donc d'autres anomalies chromosomiques, qui peuvent également ne pas être dépistée par l'échographie, peuvent être méconnues.
- Il existe des possibilités d'échec pour des raisons techniques ou autres. Un nouveau prélèvement sanguin ou un geste invasif devra être proposé à la femme enceinte selon le contexte.

L'information doit être transmise à la femme enceinte sous forme orale et écrite. A l'issue de la consultation, celle-ci est libre de demander ou non la prescription de ce test de dépistage non invasif de la trisomie 21 alors prescrit par un médecin ou une sage-femme selon la réglementation en vigueur. Elle doit consentir à sa réalisation par écrit.

Concernant le rendu du résultat du test, il doit aussi être effectué dans le cadre d'une consultation par un professionnel de santé formé.

- Si le résultat du test est négatif, la femme enceinte peut être rassurée car son risque initial diminue. Le suivi habituel de la grossesse continue d'être organisé.

- Lorsque le résultat du test est positif, un geste invasif pour établissement du caryotype foetal doit être proposé à la femme enceinte. Si celle-ci refuse le geste, le motif de ce refus devra être consigné dans son dossier médical.

#### *Documents à fournir pour la réalisation du test*

- Prescription médicale
- Feuille de renseignement clinico-biologique
- Attestation d'information par le prescripteur et consentement de la patiente
- Résultat de l'échographie de dépistage du 1<sup>er</sup> trimestre avec datation, détermination du nombre d'embryons (y compris jumeau évanescent), épaisseur de la clarté nucale. Si cette échographie n'a pu être réalisée, le résultat des échographies ultérieures réalisées.
- Résultat des MSM si réalisés
- En cas d'antécédent de grossesse avec trisomie 13, 18 ou 21 : le résultat du caryotype foetal
- En cas de translocation robertsonienne parentale impliquant le chromosome 13 ou 21, le résultat du caryotype sanguin.

#### *Délais de rendu du résultat*

Les délais de rendu de résultat devraient idéalement être inférieurs à 10 jours ouvrés pour éviter tout retard à la prise en charge de la patiente. Ceci suppose et implique l'utilisation de tests rapides (aujourd'hui disponibles) et/ou une activité suffisante par les laboratoires autorisés.

#### *Confirmation d'un test positif*

- **Devant tout résultat positif, la réalisation d'un caryotype foetal doit être proposée.** Celui-ci permet d'une part d'établir un diagnostic de certitude et d'autre part de déterminer le mécanisme chromosomique à l'origine de la trisomie 21 (trisomie 21 libre ou par translocation). Cette information est essentielle pour donner un conseil génétique adéquat à la femme enceinte. **Une interruption médicale de grossesse ne pourra être envisagée qu'après confirmation par un test diagnostic.** Le caryotype devra être réalisé de préférence à partir d'une ponction de liquide amniotique, plutôt que d'un prélèvement de villosités chorales. Lorsqu'un prélèvement de cellules amniotiques est effectué, une étude par technique rapide sur cellules non cultivées permettra de déterminer rapidement (< 48h) le statut chromosomique du foetus (trisomique 21 ou non). Il est à noter que ce test, s'il permet à la femme enceinte de s'engager vers une interruption de la grossesse, ne dispense pas de la réalisation du caryotype foetal pour déterminer le mécanisme à l'origine de la trisomie 21 afin de pouvoir donner un conseil génétique.
- Une certaine prudence est nécessaire sur le rendu du résultat de l'examen direct sur trophoblaste, qui étudie le même tissu que celui dont est issu l'ADNlc foetal (cyto et syncytiotrophoblaste). L'étude de Grati [Grati et al. 2014] relève un taux de discordances foeto-placentaires de 1.81% sur 52,673 biopsies de trophoblaste analysées : dans 44,92% des cas, il s'agit de mosaïques confinées au placenta de type 1 (examen direct anormal et culture normale) et type 3 (anomalies à l'examen direct et sur culture). Dans son étude de 2006 [Grati et al. 2006], sur 203 discordances foeto-placentaires, 11 concernaient des trisomies 13, 18 et 21 (type 1 et 3) dont 2 en mosaïque confinées au placenta avec une trisomie 13 homogène sur l'examen direct. C'est pourquoi, en cas d'aneuploïdie, même homogène à l'examen direct, il est fortement recommandé d'attendre la confirmation de ce premier résultat par le caryotype après culture cellulaire avant d'envisager toute interruption

médicale de grossesse. En cas de discordance entre l'examen direct et la culture, un contrôle du caryotype fœtal par amniocentèse est impératif. Les précautions habituellement prises au laboratoire pour diminuer au maximum le risque d'interruption de grossesse de fœtus indemne avec une trisomie 21 confinée au placenta seront scrupuleusement suivies.

- Aucune décision médicale concernant la grossesse ne pourra être prise à partir du résultat du dépistage non invasif sans cette confirmation par le caryotype.
- Le laboratoire ayant réalisé le test ADNlc oit pouvoir proposer un parcours de soin afin que l'analyse cytogénétique soit prise en charge par le système de santé.

#### *Conduite à tenir en cas de test non interprétable ou d'un échec*

Après exclusion des causes pré-analytiques d'échecs, la probabilité d'échec selon le rapport de l'HAS (avril 2017) :

- o du premier prélèvement (résultat ininterprétable) est de 0,58%
- o du deuxième prélèvement (résultat ininterprétable) est de 22% (0 à 50%)
- o global est de 0,13%

Les échecs impliquent un allongement de la durée de la phase de dépistage. Considérant le risque d'un retard au diagnostic, l'orientation d'une femme enceinte après un premier échec vers un test invasif diagnostique ou un second test, doit prendre en compte les résultats de l'ensemble des tests de dépistage déjà effectués.

En cas de 2 échecs consécutifs du test d'ADNlc, un caryotype fœtal s'il est désiré par la femme enceinte doit être possible si son risque initial est supérieur à 1/1000.

## **Compte-rendu des résultats**

Le compte-rendu doit comporter au minimum les éléments suivants :

- Identification de l'échantillon : date du prélèvement et de réception par le laboratoire
- Renseignements cliniques : terme de la grossesse, nombre de fœtus (indiquer si jumeau évanescent), indication médicale

**La conclusion de l'analyse doit être mentionnée clairement, négatif ou positif, accompagnée d'un commentaire explicatif adapté sur la conduite à suivre.**

**Un commentaire détaillant la méthodologie employée et précisant la référence de la méthode utilisée doit figurer au compte-rendu. Il peut également contenir un rappel des performances du test (sensibilité et spécificité pour chaque aneuploïdie recherchée, avec référence) ainsi que les limites de son interprétation.**

A titre d'exemple :

- En cas de résultat négatif :

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

*Interprétation : Le résultat ne montre pas de surreprésentation du nombre de séquences d'ADN dérivées des chromosomes 13, 18 et 21. Ce résultat n'est pas en faveur d'une trisomie 21 fœtale*

*Ce test ne remplace pas le caryotype fœtal et ne permet pas de rechercher d'autres anomalies chromosomiques déséquilibrées ni les anomalies chromosomiques en mosaïque. La surveillance notamment échographique de la grossesse doit rester inchangée.*

*Nous vous remercions de bien vouloir nous tenir informés de l'issue de cette grossesse.*

- En cas de résultat positif (exemple d'une trisomie 21) :

*Résultat du test: positif pour la trisomie 21.*

*Interprétation : Le résultat montre une surreprésentation du nombre de séquences d'ADN dérivées du chromosome 21. Ce résultat évoque une trisomie 21 fœtale.*

*La patiente doit être vue en consultation de conseil génétique et un contrôle par caryotype fœtal doit être réalisé afin de confirmer ce résultat. Un résultat positif ne signifie pas obligatoirement que le fœtus 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 informés de l'issue de cette grossesse.*

- Méthodologie :

*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 plasmatique en librairie d'ADN génomique. (Référence de la méthode utilisée)*

*Performance du test : rappeler la sensibilité et la spécificité du test pour chaque trisomie et donner les références.*

*Limites du test : bien que la spécificité de ce test soit élevée, un résultat négatif n'exclut pas formellement la possibilité pour le fœtus d'être atteint de l'affection. De même, un résultat positif ne signifie pas obligatoirement que le fœtus soit atteint de l'affection.*

## **Documents et échantillons biologiques à conserver**

L'attestation d'information et le consentement de la femme enceinte, la prescription et les données relatives à la réalisation du test ADNlc sont conservés pendant cinq ans par le laboratoire. Les données brutes permettant une ré-analyse sont conservées pendant 1 an après la date du prélèvement.

Les plasmas non utilisés sont conservés pendant un an après la date du prélèvement dans des conditions telles que décrites par le fournisseur du test de manière à pouvoir accéder si nécessaire à la réalisation d'un test de contrôle.



## Ethique

Le groupe de travail qui a rédigé ce guide de bonnes pratiques sur l'ADNIc souhaite affirmer son respect pour la vie des enfants porteurs de trisomie 21.

En effet, la majorité des professionnels du groupe de travail réalise des consultations de conseil génétique en période prénatale suite à l'annonce d'une trisomie 21 chez le fœtus et/ou des consultations de suivi d'enfants ou d'adultes porteurs de trisomie 21. Les enfants porteurs de trisomie 21 présentent une déficience intellectuelle et des malformations dont l'expressivité est très variable. La majorité des personnes porteuses de trisomie 21 arrive à lire, écrire et compter, et devient autonome grâce à un suivi médical et paramédical adapté.

Le risque de dérive eugénique dû à l'utilisation de test de dépistage de plus en plus performant doit effectivement être évoqué d'autant plus qu'en France, 90 à 95 % des couples confrontés à l'annonce d'une trisomie 21 fœtale optent pour une interruption médicale de grossesse (IMG). Il est ici important de rappeler que la dernière révision de la loi de bioéthique propose un délai de réflexion d'une semaine suite à cette annonce, ainsi que la transmission des coordonnées d'association de parents. Il est également important de rappeler qu'il est du devoir des professionnels de santé, en particulier des généticiens, d'une part d'informer les parents sur le phénotype de la trisomie 21, et d'autre part sur les possibilités de prise en charge: poursuite de la grossesse, accompagnement, prise en charge de l'enfant, abandon.

L'autonomie des personnes doit être respectée afin que la meilleure option pour le couple puisse être choisie : la réalisation d'un dépistage de la trisomie 21 doit rester un choix personnel, constituer une démarche proposée et non imposée aux couples. Le droit de ne pas recourir à ce dépistage doit absolument être conservé et respecté.

Enfin, l'intégration des personnes porteuses de trisomie 21 doit être favorisée afin que le regard de la société change et n'influe pas négativement sur les décisions parentales.

## Textes législatifs

L'article L. 162-16 de la loi du 29 juillet 1994 relative au don et à l'utilisation des éléments et produits du corps humain, à l'assistance médicale à la procréation et au diagnostic prénatal propose : « Le DPN s'entend des pratiques médicales ayant pour but de détecter *in utero* chez l'embryon ou le fœtus une affection d'une particulière gravité. »

Loi n° 2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique (1).

Décret n° 2006-1661 du 22 décembre 2006 relatif au diagnostic prénatal et au diagnostic biologique effectué à partir de cellules prélevées sur l'embryon *in vitro* et modifiant le code de la santé publique (dispositions réglementaires) ; JO 23 décembre 2006

Arrêté du 26 février 2007 fixant la composition du dossier prévu à l'article R. 2131-7 du code de la santé publique à produire à l'appui d'une demande d'autorisation ou de renouvellement d'autorisation pour pratiquer des analyses de cytogénétique et de biologie pratiquées en vue d'établir un diagnostic prénatal *in utero* ; JORF n° 71 du 24 mars 2007 page 5484 texte n° 38

Arrêté du 23 Juin 2009 fixant les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostics prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21

Projet d'arrêté concernant l'autorisation des structures

LOI n° 2011-814 du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique (1) Titre I<sup>e</sup> : examen des caractéristiques génétiques à des fins médicales et Titre III : diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire et échographie obstétricale et fœtale

Arrêté du 27 mai 2013 définissant les règles de bonnes pratiques applicables à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales, JORF n°0130 du 7 juin 2013 page 9469 texte n° 14

Décret n° 2014-32 du 14 janvier 2014 relatif aux diagnostics anténataux, JORF n°0013 du 16 janvier 2014 page 738 texte n° 5

Arrêté du 14 janvier 2014 fixant la liste des examens de diagnostic prénatal mentionnés au V de l'article L. 2131-1 du code de la santé publique, JORF n°0013 du 16 janvier 2014 page 748 texte n° 9

Arrêté du 14 janvier 2014 fixant le modèle des documents mentionnés au III de l'article R. 2131-2 du code de la santé publique JORF n°0013 du 16 janvier 2014 page 748 texte n° 11

Arrêté du 3 mars 2015 fixant les conditions de formation et d'expérience des praticiens biologistes exerçant les activités de diagnostic prénatal mentionnées à l'article L. 2131-1 du code de la santé publique NOR : AFSH1504837A

HAS septembre 2015 : les performances des tests ADN libre circulant pour le dépistage de la trisomie 21 fœtale

Arrêté du 1<sup>e</sup> juin 2015 déterminant les recommandations de bonnes pratiques relatives aux modalités d'accès, de prise en charge des femmes enceintes et des couples, d'organisation et de fonctionnement des centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal en matière de diagnostic prénatal et de diagnostic préimplantatoire. JO du 11 juin 2015

Décret n° 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 fœtal libre circulant dans le sang maternel, JORF n°0108 du 7 mai 2017, texte n° 53

Place des tests ADN libre circulant dans le sang maternel dans le dépistage de la T21 fœtale. Recommandation en santé publique, HAS. Validation en avril 2017

En cours : 2017 Arrêté du [ ] fixant les conditions de formation et d'expérience des praticiens biologistes réalisant les examens de génétique portant sur l'ADN fœtal libre circulant dans le sang maternel mentionnés à article R. 2131-1 du code de la santé publique

## Bibliographie

- Achiron R, Lipitz S, Gabbay U, et al. Prenatal ultrasonographic diagnosis of fetal heart echogenic foci: no correlation with Down syndrome. *ObstetGynecol* 1997; 89:945-948
- Alberry M, Maddocks D, Jones M, et al. Free fetal DNA in maternal plasma in an embryonic pregnancies: confirmation that the origin is the trophoblast. *Prenat Diagn* 2007; 27:415-418
- Ashoor G, Syngelaki A, Poon LC, Rezende JC, Nicolaides KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation: relation to maternal and fetal characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 41:26-32
- Benachi A, Steffann J, Gautier E, et al. Fetal DNA in maternal serum: does it persist after pregnancy? *Hum Genet* 2003; 113:76-79
- Benachi A, Letourneau A, Kleinfinger P et al. Cell-Free DNA Analysis in Maternal Plasma in Cases of Fetal Abnormalities Detected on Ultrasound Examination. *ObstetGynecol*, 2015; 125:1330-1337
- Benn P, Borell A, Chiu R, et al. Position statement from the Aneuploidy Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis. *PrenatDiagn* 2013; 33:622-629
- Beulen L, Faas BHW, Feenstra I, et al. Clinical utility of non-invasive prenatal testing in pregnancies with ultrasound anomalies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 49:721-728
- Bianchi DW, Parker RL, Wentworth J, et al.; CARE Study Group. DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening. *N Engl J Med* 2014; 370:799-808
- Bianchi DW, Rava RP, Sehnert AJ. DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening. *N Engl J Med* 2014; 371:578
- Bianchi DW, Wilkins-Haug L. Integration of Noninvasive DNA Testing for Aneuploidy into Prenatal Care: What Has Happened Since the Rubber Met the Road? *Clin Chem* 2014; 60:78-87
- Borenstein M, Minekawa R, Zidere V, et al. Aberrant right subclavian artery at 16 to 23 + 6 weeks of gestation: a marker for chromosomal abnormality. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010; 36:548-52
- Carbone JF, Tuuli MG, Dicke JM, et al. Revisiting the risk for aneuploidy in fetuses with isolated pyelectasis. *Prenat Diagn* 2011; 31:566-570
- Chan KC, Zhang J, Hui AB, et al. Size distributions of maternal and fetal DNA in maternal plasma. *Clin Chem* 2004; 50:88-92
- Chudleigh PM, Chitty LS, Pembrey M, et al. The association of aneuploidy and mild fetal pyelectasis in an unselected population: the results of a multicenter study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001; 17:197-202
- Coco C, Jeanty P. Karyotyping of fetuses with isolated choroid plexus cysts not justified in an unselected population. *J Ultrasound Med* 2004; 23:899-906
- Committee Opinion N° 640: cell-free DNA screening for fetal aneuploidy. *Obstet Gynecol* 2015, 126:e31-37.
- Costa JM et al. Cell-free fetal DNA versus maternal serum screening for Trisomy 21 in pregnant women with and without assisted reproduction technology; a prospective interventional study (soumis pour publication)
- Dagklis T, Defigueiredo D, Staboulidou I, et al. Isolated single umbilical artery and fetal karyotype. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2010; 36:291-295
- Du E, Feng C, Cao Y, Yao Y, Lu J, Zhang Y. Massively Parallel Sequencing (MPS) of Cell-Free Fetal DNA (cffDNA) for Trisomies 21, 18, and 13 in Twin Pregnancies. *Twin Res Hum Genet* 2017; 20:242-249
- Ehrich M, Tynan J, Mazloom A, Almasri E, McCullough R, Boomer T, Grosu D, Chibuk J. Genome-wide cfDNA screening: clinical laboratory experience with the first 10,000 cases. *Genet Med* 2017; 15 [sous presse]

- Fiorentino F, Bono S, Pizzuti F, Mariano M, Polverari A, Duca S, Sessa M, Baldi M, Diano L, Spinella F. The importance of determining the limit of detection of non-invasive prenatal testing methods. *Prenat Diagn* 2016; 36:304-311
- Flori E, Doray B, Gautier E, et al. Circulating cell-free fetal DNA in maternal serum appears to originate from cyto- and syncytio-trophoblastic cells. Case report. *Hum Reprod* 2004; 19:723–724
- Fosler L, Winters P, Jones KW, Curnow KJ, Sehnert AJ, Bhatt S, Platt LD. Aneuploidy screening by non-invasive prenatal testing in twin pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 49:470-477
- Guedj F, Bianchi DW, Delabar JM. Prenatal treatment of Down syndrome: a reality? *Curr Opin Obstet Gynecol* 2014; 26:92–103
- Grati FR. Chromosomal Mosaicism in Human Feto-Placental Development: Implications for Prenatal Diagnosis. *J Clin Med* 2014; 3:809-837
- Grati FR, Grimi B, Frascoli G, et al. Confirmation of mosaicism and uniparental disomy in amniocytes, after detection of mosaic chromosome abnormalities in chorionic villi. *Eur J Hum Genet* 2006; 14:282-8
- Gregg AR, Skotko BG, Benkendorf JL, Monaghan KG, Bajaj K, Best RG, Klugman S, Watson MS. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med*. 2016; 18:1056-65
- Gross SJ, Stosic M, Mc Donald-McGinn DM et al. Clinical Experience with Single-Nucleotide Polymorphism-Based Noninvasive Prenatal Screening for 22q11.2 Deletion Syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; 47:177-183
- HAS. Recommandation en santé publique « Place des tests ADN libre circulant dans le sang maternel dans le dépistage de la trisomie 21 foetale », rapport HAS 2017
- Helgeson J, Wardrop J, Boomer T et al. Clinical outcome of subchromosomal events detected by whole-genome noninvasive prenatal testing. *Prenat Diagn* 2015; 35:999-1004
- Iwarsson E, Jacobsson B, Dagerhamn J, Davidson T, Bernabé E, Heibert Arnlin M. Analysis of cell-free fetal DNA in maternal blood for detection of trisomy 21, 18 and 13 in a general pregnant population and in a high risk population – a systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2017; 96:7-18
- Kagan KO, Avgidou K, Molina FS, et al. Relation between increased fetal nuchal translucency thickness and chromosomal defects. *Obstet Gynecol* 2006; 107:6-10.
- Le Conte G, Letourneau A, Jani J, Kleinfinger P, Lohmann L, Costa JM, Benachi A. Cell-free fetal DNA analysis in maternal plasma as a screening test for trisomy 21, 18 and 13 in twin pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017 Aug 18 doi: 10.1002/uog.18838
- Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, Wainscoat JS. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997; 350:485–487
- Lo YM, Zhang J, Leung TN, et al. Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma. *Am J Hum Genet* 1999; 64:218–24
- Lo YM, Chan KC, Sun H, et al. Maternal plasma DNA sequencing reveals the genome-wide genetic and mutational profile of the fetus. *Sci Transl Med* 2010; 2:61ra91
- Lo KK, Karampetsou E, Boustred C et al. Limited Clinical Utility of Non-invasive Prenatal Testing for Subchromosomal Abnormalities. *Am J Hum Genet*. 2016; 98:34-44
- Lun FM, Chiu RW, Allen CKC, et al. Microfluidics digital PCR reveals a higher than expected fraction of fetal DNA in maternal plasma. *Clin Chem* 2008; 54:1664–1672
- Norton ME, Jacobsson B, Swamy GK, et al. Cell-free DNA analysis for noninvasive examination of trisomy. *N Engl J Med* 2015; 372:1589-1597
- Oneda B, Rauch A. Microarrays in prenatal diagnosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2017; 42:53-63

Oneda B, Steindl K, Masood R, et al. Noninvasive prenatal testing: more caution in counseling is needed in high risk pregnancies with ultrasound abnormalities. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2016; 200:72-75

Ouzounian JG, Ludington C, Chan S. Isolated choroid plexus cyst or echogenic cardiac focus on prenatal ultrasound: is genetic amniocentesis indicated? *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196:595.e1-3; discussion 595.e3.

Pico H, Mancini J, Lafouge A, et al. Prenatal Associated Features in Fetuses Diagnosed with an Aberrant Right Subclavian Artery. *Fetal Diagn Ther* 2016; 40:187-194

SMFM Statement: clarification of recommendations regarding cell-free DNA aneuploidy screening. *Am J Obstet Gynecol* 2015; 213:753–754.

Skrzypek H, Hui L. Noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy and single gene disorders. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2017; 42:26-38

Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM). Electronic address: pubs@smfm.org, Norton ME, Biggio JR, Kuller JA, Blackwell SC. The role of ultrasound in women who undergo cell-free DNA screening. *Am J Obstet Gynecol*. 2017; 216:B2-B7

Svirsky R, Reches A, Brabbing-Goldstein D, et al. Association of aberrant right subclavian artery with abnormal karyotype and microarray results. *Prenat Diagn* 2017; 37:808-811

Taylor-Phillips S, Freeman K, Geppert J, Agbebiyi A, Uthman OA, Madan J, Clarke A, Quenby S, Clarke A. Accuracy of non-invasive prenatal testing using cell-free DNA for detection of Down, Edwards and Patau syndromes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open* 2016 18;6(1):e010002

ValderramosSG, Rao RR, Scibetta EW et al. Cell-free DNA screening in clinical practice: abnormal autosomal aneuploidy and microdeletion results *Am J Obstet Gynecol* 2016; 215:626

Wang JC, Sahoo T, Schonberg S, Kopita KA, Ross L, Patek K, Strom CM. Discordant noninvasive prenatal testing and cytogenetic results: a study of 109 consecutive cases. *Genet Med* 2015; 17:234-236

Yaron Y. The implications of non-invasive prenatal testing failures: a review of an under-discussed phenomenon. *Prenat Diagn* 2016; 36:391-396

Yin AH, Peng CF, Zhao X et al. Noninvasive detection of fetal subchromosomal abnormalities by semiconductor sequencing of maternal plasma DNA. *PNAS* 2015; 112:14670-14675

Zhao C, Tynan J, Ehrich M, et al. Detection of fetal subchromosomal abnormalities by sequencing circulating cell-free DNA from maternal plasma. *Clin Chem* 2015; 61:4-11

Zhang H, Gao Y, Jiang F, et al. Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146,958 pregnancies. *Ultrasound ObstetGynecol* 2015; 45:530–538