

# Recommandations pour le dépistage non invasif des anomalies chromosomiques fœtales (DPNI)

---

Version 2 - 2015

## Résumé

Le DPNI est validé par la technique de massively parallel sequencing (MPS) mais d'autres techniques sont en cours de validation. Il s'agit d'un test de dépistage.

Les résultats en termes de sensibilité (99,64 %), de spécificité (99,96 %) et de valeur prédictive positive (99,44 %) en population à risque accru d'aneuploïdie foetale sont excellents pour la trisomie 21. La sensibilité et la spécificité sont légèrement inférieures dans la trisomie 18 (98,1 % et 99,92 %) et la trisomie 13 (93,33 % et 99,54 %)

Parmi les anomalies chromosomiques, le DPNI est préconisé pour le dépistage de la trisomie 21 foetale. Il peut également s'appliquer au dépistage des trisomies 13 et 18 foetales. Il n'est actuellement pas recommandé pour le dépistage des autres anomalies chromosomiques (anomalies gonosomiques, syndromes microdélétionnels, autres anomalies chromosomiques déséquilibrées).

Le test non-invasif de dépistage de la trisomie 21 n'est pas recommandé en présence de signe(s) d'appel échographique(s) ni en cas de clarté nucale (CN) supérieure ou égale à 3,5 mm. Son indication doit être discutée en CPDPN en cas de CN comprise entre le 95<sup>ème</sup> percentile et 3,5 mm. Les indications recevables pour le moment sont les suivantes :

- Patientes à risque accru de trisomie 21
  - o risque  $\geq$  à 1/1000 par les marqueurs sériques maternels (MSM), quelle que soit la stratégie utilisée (combinée du 1<sup>er</sup> trimestre, 2<sup>ème</sup> trimestre intégrant ou non la mesure de la CN au 1<sup>er</sup> trimestre),
  - o âge maternel  $\geq$  38 ans pour les patientes n'ayant pas pu bénéficier du dépistage par les MSM,
  - o parents porteurs d'une translocation robertsonienne impliquant un chromosome 21.
- Patientes chez qui les MSM ne sont pas fiables (grossesses gémellaires, marqueurs sériques hors bornes d'après les logiciels de biochimie)
- Patientes avec antécédent de grossesse avec aneuploïdie foetale.

Chez les patientes ayant un risque accru de trisomie 13 et/ou 18 (translocation robertsonienne impliquant un chromosome 13, MSM évocateurs), le DPNI est également possible.

Le prélèvement peut avoir lieu dès 10 SA mais il n'est recommandé qu'après la mesure de la clarté nucale. 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 patiente. Si le résultat est négatif, la patiente doit être informée que le risque résiduel est faible. Tout résultat positif doit impérativement être confirmé par un test invasif avant une éventuelle interruption médicale de grossesse.

Le compte-rendu des résultats doit être explicite, donner les modalités techniques, la sensibilité et la spécificité de la technique utilisée. Il doit préciser, si le résultat est positif, la nécessité d'un prélèvement invasif.

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.

## Introduction

La trisomie 21 est la première cause de déficience intellectuelle d'origine génétique. La fréquence est d'environ 1/700. En 1997 a été mis en place le dépistage séquentiel de la trisomie 21 en période prénatale basée sur plusieurs critères : l'âge maternel supérieur à 38 ans, la mesure de la clarté de nuque (CN) (supérieure à 3 mm), le risque calculé sur les marqueurs sériques maternels (MSM) du 2<sup>o</sup> trimestre  $\geq 1/250$ .

Le dépistage proposé à toutes les femmes enceintes a généré plus de 10 % de prélèvements invasifs avec un risque de fausse couche induite d'environ 0,5 à 1 % [Tabor et al. 2009]. Afin de limiter le nombre de prélèvements invasifs induits par le dépistage prénatal de la trisomie 21, un dépistage combiné a été mis en place en 2009. Ce dépistage rend une probabilité unique prenant en compte les risques liés à l'âge maternel, la mesure de la CN et le dosage des MSM au 1<sup>er</sup> trimestre. Il a permis de diviser environ par deux le nombre de prélèvements invasifs tout en conservant le niveau de diagnostic de trisomie 21 en période prénatale.

Le dernier bilan de l'Agence de la biomédecine montre d'une part que la valeur prédictive de ce test est d'environ 3-4% (Rapport d'activité Prénatale 2012) et d'autre part que le nombre annuel d'enfants porteurs de trisomie 21 nés vivants est d'environ 500.

La découverte de l'ADN fœtal circulant par D. Lo en 1997 [Lo et al. 1997] couplée à la mise au point des nouvelles techniques de séquençage (séquençage massif parallèle (MPS)) a permis de proposer un nouveau test de dépistage prénatal non invasif basé sur l'analyse de l'ADN fœtal circulant, ci-après nommé DPNI, avec une spécificité et sensibilité très élevées.

L'objectif principal de ce document est de préciser

- les particularités techniques du DPNI avec ses avantages et ses limites (p4),
- les anomalies chromosomiques recherchées (p5),
- les indications du DPNI (p7),
- qu'il s'agit d'un test de dépistage (p9),
- le parcours de soin dans lequel le DPNI devrait s'inscrire (p10),
- les modalités du compte-rendu des résultats (p11),
- les aspects éthiques de ce nouveau dépistage anténatal (p12),
- ainsi que de fournir une bibliographie, base de notre réflexion (p14).

## Les particularités techniques du DPNI

### *Des cellules fœtales circulantes à l'ADN fœtal circulant*

Les premières approches développées pour la réalisation du DPNI ont consisté à isoler et étudier les cellules fœtales circulantes dans le sang maternel. Ces cellules fœtales, d'origine érythroblastiques, trophoblastiques, lymphocytaires ou myéloïdes sont cependant très rares (1 à 2 cellules/mL de sang maternel), et leur isolement nécessite des techniques particulièrement complexes, difficiles à mettre en œuvre [Bianchi et al. 1997]. De plus, la possibilité d'un micro-chimérisme fœtal dû à la persistance de certaines de ces cellules plusieurs années après la grossesse expose à un risque de faux positifs [Bianchi et al. 1996].

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 vers 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].

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 dernier trimestre de la grossesse) de l'ADN circulant total [Lun et al. 2008 ; Lo et al. 2010]. Sa concentration augmente en cas de trisomie 21 [Rava et al. 2014].

### *Premières applications : sexe fœtal et génotypage RHD*

Les premières applications de cette découverte ont concerné la détection de séquences absentes du génome maternel. Elles ont abouti à des tests diagnostiques fiables pour la détermination du sexe fœtal et le génotypage RHD, utilisés depuis en routine [Costa et al. 2001; Bianchi et al. 2005]. Le diagnostic de certaines maladies monogéniques (achondroplasie, maladies récessives avec hétérozygotie composite, maladie dominante paternelle) est également réalisé [Chitty et al 2014].

### *DPNI des aneuploïdies par PCR quantitative*

Ces dernières années, la recherche s'est intensifiée autour du DPNI des aneuploïdies à partir de l'ADN fœtal libre. Les premières études concernant les DPNI de la trisomie 21 ont reposé sur l'utilisation de la PCR quantitative (qPCR). L'objectif était de détecter une augmentation relative de certaines séquences dérivées du chromosome 21 par rapport à une référence autosome, ou de certains transcrits (ARNm) de gènes spécifiques comme le gène de l'hémoglobine B (*HBB*) ou du gène *C21orf105* [Mersy et al. 2013]. Des stratégies d'enrichissement de l'échantillon en ADN fœtal avant qPCR, essentiellement basées sur la méthylation différentielle entre l'ADN fœtal et maternel, ont également été développées [Chim et al. 2005; Papageorgiou et al. 2009, 2011; Tong et al. 2010 a,b; Lim et al. 2011; Zhang et al. 2011; Tsaliki et al. 2012].

D'autres approches consistent à génotyper et quantifier des ratios de SNPs (*single nucleotide polymorphism*) à partir d'ADN [Dhallan et al. 2007; Ghanta et al. 2010] ou d'ARN circulant. Le gène *PLAC4* (situé sur le chromosome 21), exprimé préférentiellement au niveau du placenta, possède un transcrit détectable dans le plasma maternel et utilisable pour une étude de ratio de SNPs [Lo et al. 2007].

#### *PCR digitale (dPCR)*

La dPCR a validé la preuve de concept de son efficacité dans le DPNI de la trisomie 21 à partir d'échantillons artificiels faits d'un mélange d'ADN de patients trisomiques 21 et euploïdes [Lo et al. 2007b ; Fan and Quake 2007 ; Zimmerman et al. 2008; Chiu et al. 2009 ; Evans et al. 2012]. Bien que cette technique ait pu démontrer des résultats préliminaires prometteurs, sa pertinence clinique n'a pas été suffisamment validée à ce jour [Mersy et al. 2013].

#### *Séquençage massif en parallèle (NGS, MPS)*

En 2008, suite à l'émergence des techniques de séquençage de nouvelle génération (NGS), des stratégies permettant de réaliser un dosage chromosomique relatif (DCR) des chromosomes 21 d'origine fœtale et maternelle ont été développées. Elles ont démontré une excellente capacité analytique [Chiu et al. 2008, Fan et al. 2008]. Suite à ces publications pilotes, de très nombreuses études ont confirmé et validé cliniquement l'utilisation du MPS (ciblée ou globale) pour le DPNI des principales aneuploïdies (trisomies 13, 18 et 21) sur de larges cohortes de femmes enceintes (>100) appartenant à un groupe à risque accru de trisomie 21 fœtale : **les résultats en termes de sensibilité (99,64 %), de spécificité (99,96 %) et de valeur prédictive positive (VPP) (99,44 %) sont excellents pour la trisomie 21. La sensibilité et la spécificité sont légèrement inférieures dans la trisomie 18 (98,1 % et 99,92 %) et la trisomie 13 (93,33 % et 99,54 %) [Liao et al. 2014].** Plusieurs études corroborent ces résultats [Gil et al. 2015 ; Zhang et al. 2015]

La validation clinique en population générale du DPNI des aneuploïdies par MPS est actuellement en cours d'évaluation. Les premières études semblent démontrer clairement son intérêt dans ce groupe des femmes à bas risque : sensibilité de 100 %, spécificité de 99,7 % et VPP de 45,5 % à 80,9% [Bianchi et al. 2014, Norton et al. 2015].

A noter que des approches de séquençage dites « de moyen débit » (ex : semi-conducteurs) semblent démontrer une efficacité comparable, mais requièrent encore d'être validées plus largement [Yuan et al. 2013 ; Jeon et al. 2014 ; Liao et al. 2014].

## **Anomalies chromosomiques recherchées**

### *Dépistage de la trisomie 21 :*

Le DPNI des aneuploïdies concerne essentiellement le dépistage de la trisomie 21 qui est la seule anomalie chromosomique dont la fréquence dans la population est suffisamment élevée pour avoir justifié de la mise en place d'un dépistage national dès 1997. Sa fréquence est de l'ordre de 1/700 naissances vivantes, soit une fréquence observée en France d'environ 1/400 (incluant les cas diagnostiqués en prénatal). Il s'agit de la maladie génétique la plus fréquente, *de novo* dans 95 % des cas. En cas de risque supérieur à 1/250, un geste invasif (biopsie de trophoblaste ou prélèvement de

liquide amniotique) et un test diagnostique (caryotype fœtal) sont proposés. Ce geste génère toutefois un risque de fausse couche évalué à 0,5-1 %, soit environ 250 à 500 pertes fœtales théoriques par an en France.

Les progrès technologiques et les performances techniques du DPNI par l'analyse de l'ADN fœtal permettent d'envisager une amélioration du dépistage de la trisomie 21, en améliorant d'une part sa fiabilité, en minimisant d'autre part le risque de perte fœtale par la réduction importante du nombre de gestes invasifs.

Les performances du DPNI organisé dans une population à haut risque sont excellentes, avec une sensibilité et une spécificité, des valeurs prédictives positive (VPP) et négative (VPN) supérieures à 99%, ce qui aboutit à un taux de détection de 99,6%.

#### *Dépistage des autres aneuploïdies des autosomes :*

Les autres trisomies les plus fréquentes, trisomie 18 et 13 (fréquences respectives de 1/6000 et 1/12000) peuvent également être recherchées, mais leur dépistage est néanmoins de moindre intérêt, d'une part car ces anomalies sont plus rares et d'autre part car leur diagnostic est facilité par la présence de signes d'appels échographiques précoces plus importants et plus fréquents que dans la trisomie 21. Bien que de prévalence moindre, leur dépistage associé peut être proposé car leur phénotype très sévère n'implique pas de difficulté éthique particulière de conseil génétique.

Les performances du dépistage en population à haut risque pour ces anomalies sont moindres par rapport à celles pour la trisomie 21 : taux de détection d'environ 98% pour la trisomie 18 et d'environ 87% pour la trisomie 13. En raison de leur faible prévalence, les calculs de sensibilité, de spécificité, de VPP et VPN sont entachés d'une très forte incertitude.

#### *Dépistage des aneuploïdies des gonosomes (dysgonosomies) :*

Le dépistage des anomalies de nombre de chromosomes sexuels (gonosomes) ne paraît pas devoir entrer dans le champ du DPNI pour des raisons techniques et éthiques.

Leur fréquence est estimée à 1/2000 en ce qui concerne la monosomie X, et 1/1000 pour le syndrome de Klinefelter (47,XXY), le double chromosome Y (47,XYY) et la triple chromosome X (47,XXX).

A ce jour, aucune étude n'a démontré l'intérêt médical de l'analyse de l'ADN plasmatique pour identifier les aneuploïdies des gonosomes. Même pour la monosomie X, trop peu de cas ont été analysés pour permettre de calculer correctement les paramètres de sensibilité, spécificité, VPP et VPN. De plus, en raison de l'implication particulière des gonosomes dans les phénomènes de mosaïcisme maternel ou placentaire, ce sont précisément ces anomalies qui sont le plus sujettes à faux positifs ou négatifs comme le montre la récente étude trans-plateforme de Wang T [Wang et al 2015].

*Dépistage des syndromes microdélétionnels et des autres anomalies chromosomiques de structure :*

Le dépistage des syndromes microdélétionnels et des anomalies chromosomiques de structure déséquilibrées n'entrent pas non plus dans ce champ à l'heure actuelle.

Si leur recherche est possible [Zhao et al 2015, Rose et al 2015, Helgeson et al 2015, Gross et al 2015], il n'existe pas pour le moment de preuves scientifiques suffisantes dans la littérature, en particulier 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.

## Indications

### *Objectif(s)*

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

- **d'améliorer la sensibilité et la spécificité du dépistage des aneuploïdies** et en particulier de la trisomie 21. Les données de la littérature et l'accessibilité aux soins n'étant pas encore suffisantes pour le proposer en population générale, une réflexion est en cours.
- **de diminuer le recours aux gestes invasifs et ainsi potentiellement diminuer leur morbidité secondaire** de 0,5 – 1 % de fausses couches.
- **de simplifier le parcours de soin**
- **de ne pas détériorer la qualité du diagnostic des autres anomalies chromosomiques déséquilibrées.**

*Situation où le DPNI n'est pas indiqué*

#### *1) DPNI et hyperclarté nucale, DPNI et autre(s) signe(s) d'appel échographique(s)*

La réalisation du test non invasif de la trisomie 21, s'il est réalisable à partir de 10SA, est recommandée après la mesure de la clarté, donc en pratique seulement à partir de 11SA.

Soixante-sept % des fœtus porteurs d'anomalies chromosomiques autres que les trisomies 13, 18 et 21 ont une CN supérieure au 95<sup>ème</sup> percentile. 2,2% des fœtus présentant une CN supérieures au 95<sup>ème</sup> percentile ont une anomalie chromosomique autre qu'une trisomie 13, 18 ou 21. Si on exclut également le risque de monosomie X et de triploïdie, le risque résiduel d'une anomalie chromosomique déséquilibrée est de 1/116 [Snijders et al 1998]. Par conséquent, en cas de CN supérieure à 3,5 mm, il est recommandé de réaliser un prélèvement invasif pour étude du caryotype fœtal complet et/ou pour analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) selon les recommandations du Guide des Bonnes Pratiques de l'ACPA en prénatal, et déconseille la seule utilisation du test non invasif se limitant aux principales aneuploïdies. En cas de risque >1/1000 et d'hyperclarté nucale comprise entre le 95<sup>ème</sup> percentile et 3,5 mm, l'alternative entre un DPNI et un test invasif devra être discutée en CPDPN.

Le risque d'anomalies chromosomiques déséquilibrées autres que trisomies 13, 18 et 21, anomalies gonosomiques et triploïdies, en présence de signes échographiques est de 2% (299/15032, tableau n°7, rapport Agence de la biomédecine, diagnostic prénatal 2011) à 8% [Benachi et al 2015]. Par conséquent, en leurs présences, nous recommandons l'utilisation d'un test invasif et la réalisation

d'un caryotype conventionnel ou moléculaire. Ceci est d'autant plus vrai que le recours à l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) se généralise en France dans ces indications.

## *2) DPNI 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.

L'augmentation du risque d'anomalie chromosomique autre que les principales aneuploïdies liée à la présence d'un ou de plusieurs de ces signes est difficilement évaluable, et difficile à individualiser pour chaque signe. De plus, les études existantes sont en règle centrées sur le risque de trisomie 21, et par conséquent non informatives sur le risque des autres anomalies chromosomiques, soit qu'elles ne fassent pas de distinction entre anomalies de bon et mauvais pronostic, soit que le nombre de cas ne soit pas significatif pour apprécier une faible augmentation de risque.

Il pourra donc être utile à l'avenir de mieux déterminer l'impact de ces signes échographiques mineurs sur le risque d'anomalie chromosomique déséquilibrée autre que la trisomie 21, afin d'évaluer l'intérêt du test non invasif dans cette situation.

### *Indication du DPNI*

#### *1) Positionnement par rapport au dépistage par les MSM*

Bien que les performances du DPNI en population générale semblent supérieures à celles du dépistage par les MSM [Fairbrother et al, 2013 ; Song et al, 2013 ; Bianchi et al, 2014], le nombre d'études publiées est encore insuffisant pour le recommander en dépistage primaire. Des mises à jour du guide de bonne pratique devront être réalisées en cas de publications ou d'études faisant la preuve d'une efficacité en dépistage primaire.

En revanche, le DPNI a maintenant fait ses preuves chez les femmes à risque accru de trisomie 21 (hors signes d'appel échographiques) ; à ce titre ce test est préconisé chez ces patientes. Le DPNI ne remplace donc pas le dépistage de la trisomie 21 du 1<sup>er</sup> trimestre actuellement en vigueur. Le seuil décisionnel pour l'inclusion dans un groupe « à risque » doit être calculé en fonction du nombre de prélèvements invasifs générés et des possibilités de prise en charge par la collectivité. Nous recommandons un seuil de 1/1000 qui concernerait 12% de la population des femmes ayant des MSM et permettrait le diagnostic de 50% des fœtus trisomique 21 non diagnostiqués actuellement (rapport Agence de Biomédecine).

Le DPNI peut également être proposé

- aux patientes pour lesquelles les MSM n'ont pas fait la preuve de leur efficacité : grossesse gémellaires et marqueurs hors borne.
- en cas de profil des MSM évocateur de trisomie 18 ou 13.



## 2) Parents porteurs d'une anomalie chromosomique

Un conseil génétique adapté à l'anomalie chromosomique parentale est recommandé pour établir la meilleure stratégie de diagnostic d'une éventuelle transmission déséquilibrée.

Si un prélèvement invasif ne se justifie pas d'emblée, la stratégie de dépistage habituelle doit être proposée.

## 3) Indications recevables

Nous recommandons l'utilisation du test non-invasif de dépistage de la trisomie 21 **en l'absence de signe(s) d'appel échographique(s) ou d'hyperclarté nucale supérieure à 3,5 mm** :

- Chez des patientes à risque accru de trisomie 21 pour lesquelles un prélèvement invasif est indiqué
  - o **risque  $\geq$  à 1/1000 par les MSM**, quelle que soit la stratégie utilisée (combinée du 1<sup>er</sup> trimestre, 2<sup>ème</sup> trimestre intégrant ou non la mesure de la CN au 1<sup>er</sup> trimestre),
  - o **âge maternel  $\geq$  38 ans pour les patientes n'ayant pas pu bénéficier du dépistage par les MSM**,
  - o **Chez des parents porteurs** d'une translocation robertsonnienne impliquant un chromosome 21.
- **Chez des patientes chez qui les MSM ne sont pas fiables : grossesses gémellaires, marqueurs sériques hors bornes,**
- **Chez des patientes avec antécédent** de grossesse avec aneuploïdie foetale,

**Chez les patientes ayant un risque accru de trisomie 13 et/ ou 18 (translocation robertsonnienne impliquant un chromosome 13, profil des MSM évocateur), le DPNI est également possible.**

## Test de dépistage

Le groupe de travail sur le DPNI 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 examen à visée diagnostique s'adresse à un sujet présentant des signes de l'affection qui est recherchée. A l'inverse, un examen de dépistage est réalisé chez un sujet ne présentant pas de signe. Le DPNI s'adressant actuellement aux femmes enceintes considérées à risque par le dépistage de la trisomie 21 par la stratégie actuelle, il devrait donc être considéré comme 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'ordres biologiques et techniques de ces tests, qui ne permettent pas à notre sens de considérer le DPNI comme un test diagnostic, mais bien comme un test de dépistage : L'analyse de l'ADN foetal 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 foetus en cas de mosaïque confinée

au placenta, 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. A ce titre, tout résultat positif nécessite d'être confirmé secondairement par un test diagnostic réalisé après un geste invasif.

## Le DPNI au sein d'un parcours de soin

### *Date de prélèvement*

Ce dépistage est fait par un prélèvement veineux périphérique chez une femme enceinte. Il peut être réalisé à partir de 10 SA et sans date limite. Cependant, il est préconisé après la mesure de la CN soit à partir de 11 SA

### *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 patiente dans le cadre d'une consultation par un professionnel de santé formé (médecin, sage-femme, conseiller en génétique). La patiente doit être informée des avantages et des limites de ce test, à savoir :

- Ce test offre l'avantage de dépister les fœtus trisomiques 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 (0,5 - 1% des cas).
- 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 d'autres anomalies chromosomiques peuvent donc être méconnues.
- Il existe des possibilités d'échec pour des raisons techniques ou autres. Un nouveau prélèvement sanguin et/ou un geste invasif devra être proposé à la patiente selon le contexte.

L'information doit être transmise à la patiente sous forme orale et écrite. A l'issue de la consultation, la patiente est libre de demander ou non la réalisation de ce test de dépistage non invasif de la trisomie 21. 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 patiente peut être rassurée car son risque initial diminue. Cependant, elle peut demander la réalisation d'un caryotype fœtal si elle souhaite finalement un diagnostic de certitude, dans le cadre des indications habituellement retenues pour un geste invasif.
- Lorsque le résultat du test est positif, un caryotype fœtal doit être proposé à la patiente.

### Confirmation d'un test positif

- **Devant tout résultat positif, la réalisation d'un caryotype fœtal 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 patiente. **Un résultat positif doit obligatoirement être confirmé par un caryotype fœtal avant d'envisager une interruption médicale de grossesse.**
- 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 fœtus (trisomique 21 ou non). Il est à noter que cet examen ne dispense pas de la réalisation du caryotype fœtal pour déterminer le mécanisme à l'origine de la trisomie 21.
- Une certaine prudence est nécessaire sur le rendu du résultat sur cytotrophoblaste, qui étudie le même tissu que le test non invasif. 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 DPNI doit pouvoir proposer un parcours de soin afin que l'analyse cytogénétique soit prise en charge par le système de santé.

## Compte-rendu des résultats

Le compte-rendu devra 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 ou un facteur de risque très explicite sur la conduite à suivre, accompagné d'un commentaire explicatif adapté.**

**Un commentaire détaillant la méthodologie employée et précisant la référence de la méthode utilisée doit figurer au compte-rendu. Il contiendra également un rappel des performances du test (sensibilité, 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 sur-représentation du nombre de séquences 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 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 sur-représentation du nombre de séquences 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 spécificité du test pour chaque trisomie et référence.*

*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.*

## **Ethique**

Le groupe de travail qui a rédigé ce guide de bonnes pratiques sur le DPNI 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 foetale 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 des 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.

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 les décisions parentales.

## Bibliographie

Alberry M, Maddocks D, Jones M, et al. Free fetal DNA in maternal plasma in anembryonic pregnancies: confirmation that the origin is the trophoblast. *Prenat Diagn* 2007; 27:415–8

Benachi A, Steffann J, Gautier E, et al. Fetal DNA in maternal serum: does it persist after pregnancy? *Hum Genet* 2003; 113:76–9

Benachi A, Letourneau A, Kleinfinger P et al. Cell-Free DNA Analysis in Maternal Plasma in Cases of Fetal Abnormalities Detected on Ultrasound Examination. *Obstet Gynecol*, 2015, 125(6):1330-1337

Bianchi DW, Zickwolf GK, Weil GJ et al. Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years postpartum. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93 :705-8.

Bianchi DW, Williams JM, Sullivan LM, et al. PCR quantitation of fetal cells in maternal blood in normal and aneuploid pregnancies. *Am J Hum Genet* 1997; 61:822–9

Bianchi DW, Avent ND, Costa JM, van der Schoot CE. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal Rhesus D: ready for Prime(r) Time. *Obstet Gynecol* 2005; 106:841-4.

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

Chan KC, Zhang J, Hui AB, et al. Size distributions of maternal and fetal DNA in maternal plasma. *Clin Chem* 2004; 50:88–92

Chim SS, Tong YK, Chiu RW, et al. Detection of the placental epigenetic signature of the maspin gene in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:14753-14758.

Chitty LS, Mason S, Barrett AN, et al. Non-invasive prenatal diagnosis of achondroplasia and thanatophoric dysplasia: next generation sequencing allows for a safer, more accurate and comprehensive approach. *Prenat Diagn*. 2015doi: 10.1002/pd.4583

Chiu RW, Chan KC, Gao Y, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:20458–63.

Chiu RW, Cantor CR, Lo YM. Non-invasive prenatal diagnosis by single molecule counting technologies. *Trends Genet* 2009; 25:324–331.

Costa JM, Benachi A, Gautier E, et al. First trimester fetal sex determination in maternal serum using real-time PCR. *Prenat Diagn* 2001; 21:1070-4.

Dhallan R, Guo X, Emche S, et al. A non-invasive test for prenatal diagnosis based on fetal DNA present in maternal blood: a preliminary study. *Lancet* 2007; 369:474–481.

Evans MI, Wright DA, Pergament E, et al. Digital PCR for Noninvasive Detection of Aneuploidy: Power Analysis Equations for Feasibility. *Fetal Diagn Ther* 2012; 31:244–247

Fairbrother G, Johnson S, Musci TJ, Song K. Clinical experience of noninvasive prenatal testing with cell-free DNA for fetal trisomies 21, 18, and 13, in a general screening population. *Prenat Diagn* 2013 ;33:580-583.

Fan HC, Quake SR. Detection of aneuploidy with digital polymerase chain reaction. *Anal Chem* 2007; 79:7576–7579.

Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, Hudgins L, Quake SR. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:16266–16271.

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

Ghanta S, Mitchell ME, Ames M, et al. Non-invasive prenatal detection of trisomy 21 using tandem single nucleotide polymorphisms. *PLoS One* 2010; 5:e13184.

Gil MM. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015 Mar;45(3):249-66

Gil MM, Quezada MS, Bregant B, Ferraro M, Nicolaides KH. Implementation of maternal blood cell-free DNA testing in early screening for ane-uploidies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 42: 34 - 40.

Gross SJ, Stosic M, McDonald-McGinn DM et al. Clinical Experience with Single-Nucleotide Polymorphism-Based Noninvasive Prenatal Screening for 22q11.2 Deletion Syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015 ; sous presse

Helgeson J, Wardrop J, Boomer T et al. Clinical outcome of subchromosomal events detected by whole-genome noninvasive prenatal testing. *Prenat Diagn.* 2015;35(10):999-1004

Jeon YJ, Zhou Y, Li Y, et al. The feasibility study of non-invasive fetal trisomy 18 and 21 detection with semiconductor sequencing platform. *PLoS One.* 2014;9:e110240.

Liao C, Yin AH, Peng CF, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of common aneuploidies by semiconductor sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111:7415-7420.

Liao GJ, Gronowski AM, Zhao Z. Non-invasive prenatal testing using cell-free fetal DNA in maternal circulation. *Clin Chim Acta.* 2014; 20;428:44-50

Lim JH, Kim SY, Park SY, et al. Non-invasive epigenetic detection of fetal trisomy 21 in first trimester maternal plasma. *PLoS One* 2011;6:e27709.

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, Tsui NB, Chiu RW, et al. Plasma placental RNA allelic ratio permits noninvasive prenatal chromosomal aneuploidy detection. *Nat Med* 2007a; 13:18-23.

Lo YM, Lun FM, Chan KC, et al. Digital PCR for the molecular detection of fetal chromosomal aneuploidy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007b; 104:13116–13121.

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.

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.

Mersy E, Smits LJ, van Winden LA, et al. Noninvasive detection of fetal trisomy 21: systematic review and report of quality and outcomes of diagnostic accuracy studies performed between 1997 and 2012. *Hum Reprod Update* 2013; 19:318-329.

Norton ME, Jacobsson B, Swamy GK, et al. Cell-free DNA analysis for noninvasive examination of trisomy. *N Engl J Med* 2015 ; 372(17):1589-1597.

Papageorgiou EA, Fiegler H, Rakyan V, et al. Sites of differential DNA methylation between placenta and peripheral blood: molecular markers for noninvasive prenatal diagnosis of aneuploidies. *Am J Pathol* 2009; 174:1609–1618.

Papageorgiou EA, Karagrigoriou A, Tsaliki E, et al. PC. Fetal-specific DNA methylation ratio permits noninvasive prenatal diagnosis of trisomy 21. *Nat Med* 2011; 17:510–513.

Rava RP, Srinivasan A, Sehnert AJ, Bianchi DW. Circulating fetal cell-free DNA fractions differ in autosomal aneuploidies and monosomy X. *Clin Chem*. 2014;60:243-250.

Rose NC, Benn P, Milunsky A. Current controversies in prenatal diagnosis: should NIPT routinely include microdeletions/microduplications?. *Prenat Diagn*. 2015 ; en cours d'impression

Snijders RJ, Noble P, Sebire N, et al. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. Fetal Medicine Foundation First Trimester Screening Group. *Lancet*. 1998;352:343-346.

Song Y, Liu C, Qi H, Zhang Y, Bian X, Liu J. Noninvasive prenatal testing of fetal aneuploidies by massively parallel sequencing in a prospective Chinese population. *Prenat Diagn* 2013; 33:700-706.

Tabor A, Vestergaard CH, Lidegaard Ø. Fetal loss rate after chorionic villus sampling and amniocentesis: an 11-year national registry study. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2009;34:19-24

Tong YK, Jin S, Chiu RW, et al. Noninvasive prenatal detection of trisomy 21 by an epigenetic-genetic chromosome-dosage approach. *Clin Chem* 2010a; 56:90–98.

Tong YK, Chiu RW, Akolekar R, et al. Epigenetic-genetic chromosome dosage approach for fetal trisomy 21 detection using an autosomal genetic reference marker. *PLoS One* 2010b; 5:e15244.



Tsaliki E, Papageorgiou EA, Spyrou C, et al. MeDIP real-time qPCR of maternal peripheral blood reliably identifies trisomy 21. *Prenat Diagn* 2012; 32:996–1001.

Wang T, Sahoo S, Schonberg KA et al. Discordant noninvasive prenatal testing and cytogenetic results: a study of 109 consecutive cases. *Genet Med* 2015;17:234-236

Yuan Y, Jiang F, Hua S, et al. Feasibility study of semiconductor sequencing for noninvasive prenatal detection of fetal aneuploidy. *Clin Chem*. 2013;59:846-9.

Zhang H. Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146,958 pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015 May;45(5):530-8.

Zhang M, Li T, Chen J, et al. Non-invasive prenatal diagnosis of trisomy 21 by dosage ratio of fetal chromosome-specific epigenetic markers in maternal plasma. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2011; 31:687–692

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

Zimmermann BG, Grill S, Holzgreve W, et al. Digital PCR: a powerful new tool for noninvasive prenatal diagnosis? *Prenat Diagn* 2008; 28:1087-93.