

Dépistage prénatal non invasif : jusqu'où peut-on aller ?

NIPT: how far can we go?

P. Kleinfinger*, L. Lohmann*, J.M. Costa*

Le nombre de prélèvements invasifs (ponction de liquide amniotique [PLA] ou biopsie du trophoblaste [BT]) a été réduit de moitié grâce à la mise en place du dépistage combiné au premier trimestre. D'après le rapport de l'Agence de la biomédecine de 2015, ce nombre est d'environ 40 000 pour l'année 2014. Même si ce chiffre est actuellement débattu, le taux de fausses couches à la suite d'un prélèvement invasif étant estimé à 0,5 % (1), il en résulte en théorie 200 fausses couches par an. Un peu plus de la moitié des prélèvements invasifs sont réalisés après un dépistage par les marqueurs sériques maternels (MSM), et le taux d'anomalies chromosomiques retrouvées est seulement de 5,6 %. C'est dans ce contexte qu'émerge le dépistage prénatal de la trisomie 21 par analyse de l'ADN fœtal circulant, souvent appelé "dépistage prénatal non invasif de la trisomie 21" ou DPNI. L'objectif initial du DPNI était de réduire le nombre de prélèvements invasifs en raison d'une meilleure spécificité, mais rapidement d'autres objectifs sont apparus tels que la possibilité de dépistage d'un plus grand nombre de fœtus atteints (meilleure sensibilité du dépistage), un parcours de soins facilité, donc donnant un accès au plus grand nombre, sans détériorer le diagnostic des autres anomalies chromosomiques.

Il existe de nombreuses recommandations internationales et nationales, et la Haute Autorité de santé (HAS) est actuellement en train de statuer sur les recommandations pour l'utilisation du test. Néanmoins, il existe depuis 2015 un guide de bonnes pratiques élaboré conjointement par l'ACLIF (Association des cytogénéticiens de langue française) et le CNGOF (Collège national des gynécologues et obstétriciens français). Ce guide de bonnes pratiques est voué à évoluer en fonction des avancées techniques et des recommandations de la HAS.

Quelques mots de la technique

L'ADN circulant (ADNc) chez les femmes enceintes est composé essentiellement d'ADN maternel et seulement d'environ 5 à 10 % d'ADN "fœtal" (cffADN).

Son taux, encore appelé fraction fœtale (FF), augmente avec le terme de la grossesse pour disparaître dans les 48 heures qui suivent l'accouchement.

Ce cffADN est en réalité un ADN d'origine placentaire qu'on ne peut pas isoler de celui de la mère. Le principe du DPNI est le plus souvent fondé sur l'identification de l'origine chromosomique par séquençage (global ou ciblé) de plusieurs millions de fragments d'ADN circulant et sur une augmentation ou une baisse significatives (test du Z-score) du nombre de fragments appartenant au chromosome ou à la région chromosomique que l'on souhaite étudier, comparativement aux autres chromosomes. Plus le nombre de fragments étudiés (profondeur de séquençage) est important et/ou plus la FF est élevée, plus la technique sera résolutive (2-4). D'autres techniques employant des puces à ADN sont également utilisées selon le même concept.

Les performances du test varient selon les études. D'après le guide de bonnes pratiques, pour la trisomie 21, la sensibilité est de 99,64 %, la spécificité de 99,96 % et la valeur prédictive positive (VPP) de 99,44 % en population à risque accru d'aneuploïdie fœtale. La sensibilité et la spécificité sont légèrement inférieures pour la trisomie 18 (98,1 et 99,92 %, respectivement) et la trisomie 13 (93,33 et 99,54 %, respectivement).

Quelles anomalies chromosomiques rechercher ?

Ce test a été mis en place pour le dépistage de la trisomie 21 fœtale. En effet, la trisomie 21 étant l'anomalie chromosomique la plus fréquente, ce test s'intègre au sein d'une politique nationale de dépistage déjà existante.

La recherche des trisomies 13 et 18 présente un intérêt moindre. En effet, leur prévalence est plus faible, leur dépistage reste principalement échographique et les performances du DPNI sont légèrement moins bonnes en termes de sensibilité et

* Laboratoire Cerba, Saint-Ouen-l'Aumône.

Points forts⁺⁺

- » Le dépistage prénatal par l'ADN fœtal circulant est actuellement le test le plus sensible, le plus spécifique et avec la meilleure valeur prédictive positive pour le dépistage de la trisomie 21. Il peut également être utilisé pour le dépistage des trisomies 13 et 18.
- » Il est indiqué pour un risque de trisomie 21 fœtale supérieur à 1/1 000, mais son utilisation en dépistage primaire est possible. La Haute Autorité de santé redéfinira le cadre de ses indications cette année.
- » En cas d'hyperclarté nucale entre le 95^e percentile et 3,4 mm, un avis du centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal est recommandé.
- » Il est soumis à la législation des tests génétiques.
- » Le dépistage de la trisomie 21 doit rester au libre choix de la patiente.

de spécificité. En revanche, le test permet, dans un nombre non négligeable de cas, un diagnostic plus précoce, et la prise en charge de ces grossesses ne pose aucun problème éthique. Leur recherche peut donc être associée à celle de la trisomie 21.

La recherche des anomalies des chromosomes X et Y n'est recommandée ni dans le guide de bonnes pratiques ni par les sociétés européennes et américaines de génétique humaine. En effet, la sensibilité du test est moindre car il s'agit le plus souvent d'anomalies en mosaïque ou de structure. La spécificité est également moins bonne, et ce, essentiellement pour 2 raisons :

► premièrement, dans 1 à 2 % des cas, il existe une discordance entre le caryotype placentaire et le caryotype fœtal. Cette discordance se présente surtout sous la forme d'une mosaïque confinée au placenta et non présente chez le fœtus (MCP) et est responsable de la majorité des faux positifs du DPNI. Or, parmi les anomalies chromosomiques rencontrées dans les MCP, les anomalies gonosomiques sont les plus fréquentes ;

► deuxièmement, il existe une perte physiologique du chromosome X avec l'âge maternel, et la présence d'environ 3 % de cellules 45, X chez les femmes normales de plus de 38 ans (5) peut tout à fait mimer une monosomie X fœtale. Cependant, la principale raison de ne pas rechercher les anomalies gonosomiques reste que la prise en charge de ces grossesses n'est pas modifiée par leur diagnostic. Comme on peut le voir dans l'étude de H. Yao et al. (6), leur découverte est source d'anxiété maternelle, de prélèvements invasifs ou d'interruptions de grossesse abusives (sur 33 anomalies gonosomiques dépistées, 7 patientes ont interrompu leur grossesse alors qu'il n'y avait pas de pathologie fœtale "d'une particulière gravité").

La recherche des syndromes microdélétionnels fait également débat. Les études restent à l'heure actuelle très largement incomplètes. Le syndrome microdélétionnel le plus fréquent est la microdélétion 22q11.2, responsable du syndrome de DiGeorge. Dans la plupart des études, les sensibilités et spécificités avancées sont faussées car :

- premièrement, il n'y a pas l'exhaustivité des issues de grossesse des dépistages négatifs ;
- deuxièmement, les cohortes comprennent un nombre non négligeable de microdélétions d'origine maternelle ;

► troisièmement, les microdélétions dépistées ne sont pas toujours vérifiées par les méthodes traditionnelles.

Par ailleurs, les cohortes incluent des fœtus avec des anomalies cardiaques très évocatrices de syndrome de DiGeorge, ce qui modifie la prévalence de la pathologie et, par conséquent, la VPP (risque que le fœtus soit atteint en cas de test positif). Enfin, la taille de la microdélétion 22q11.2 est dans 80 % des cas de 3 Mb, mais inférieure, donc plus difficile à mettre en évidence, dans 20 % des cas. Les auteurs eux-mêmes admettent les mauvaises performances de leur test pour dépister ces plus petites microdélétions. C'est pourquoi en pratique, quelle que soit la situation, le DPNI de la microdélétion 22q11.2 ne trouve pas sa place : si l'échographie retrouve des signes évocateurs, un diagnostic de certitude après un geste invasif est nécessaire puisque la sensibilité du DPNI n'est pas suffisante et que d'autres anomalies devront également être recherchées (caryotype/FISH/puce à ADN). S'il n'y a pas de signe échographique évocateur d'une microdélétion, un résultat positif par DPNI sera extrêmement difficile à interpréter car, d'une part, les données sur la spécificité et la VPP du test sont manquantes et, d'autre part, le pronostic de la microdélétion 22q11.2 sans anomalie échographique est mal défini. Par ailleurs, l'utilisation de ce dépistage fait courir le risque de découvrir une anomalie uniquement maternelle chez une patiente pauci- ou asymptomatique, de conseil génétique délicat.

La prévalence des autres syndromes microdélétionnels rend leur dépistage encore moins utile et les données publiées encore moins informatives du fait de la petite taille des cohortes.

La recherche d'anomalies chromosomiques autres (ACA) que les principales aneuploïdies, anomalies gonosomiques, triploïdies ou syndromes microdélétionnels récurrents peut également se discuter. Différentes études portant sur un DPNI "whole genome" ont montré une sensibilité de 61,0 à 94,5 % (par rapport au caryotype conventionnel), selon la profondeur du séquençage et la taille des remaniements recherchés (7, 8). Là encore, en pratique, 2 situations peuvent se présenter modifiant la prévalence des ACA et donc la stratégie diagnostique :

Mots-clés

DPNI

ADN fœtal circulant

Dépistage prénatal

Trisomie 21

Highlights

» The NIPT is being considered as the most sensitive and specific test, with the best positive predictive value to detect trisomy 21 in fetuses. It can be also useful to detect trisomies 13 and 18.

» It is indicated for a risk of trisomy 21 over 1/1000, but it can be performed in primary screening. The french Haute autorité de santé will determine this year the indications.

» It should not be performed with abnormal ultrasound, included nuchal translucency over 3,5 mm.

» It is submitted to the legislation of genetic tests.

» The screening of Down syndrome should stay a free choice of patients.

Keywords

NIPT

Free cell DNA

Prenatal Screening

Trisomy 21

- ▶ en cas de signes échographiques, le risque d'ACA est de 2,2 à 8 % en cytogénétique conventionnelle (9, 10). Devant une telle prévalence, il n'est donc pas raisonnable de proposer un test avec une sensibilité si inférieure à celle de la stratégie actuelle. Une analyse chromosomique par caryotype/FISH/puce à ADN après geste invasif reste donc préconisée ;
- ▶ en l'absence d'anomalies échographiques fœtales, la prévalence est plus faible, bien que non négligeable (de 1/800 à 1/1000). Le DPNI "whole genome" permettrait de réaliser un dépistage systématique des ACA en population générale et pourrait donc trouver sa place à condition que cette recherche ait une spécificité et une VPP suffisantes pour ne pas générer un taux de prélèvements invasifs trop important. À l'heure actuelle, les données sont insuffisantes, même si les premiers résultats sont extrêmement encourageants.

Contre-indications du DPNI

Elles sont liées à la volonté de ne pas dégrader le diagnostic concomitant des ACA, par conséquent, dans des situations où leur prévalence est élevée, le DPNI de la trisomie 21 ne peut être considéré comme suffisant, et un caryotype et/ou une puce à ADN sont nécessaires. Le DPNI est donc contre-indiqué devant des signes échographiques, y compris une hyperclarté nucale. Le taux d'ACA en cas de clarté nucale supérieure au 95^e percentile est globalement de 1/116 (11). Par conséquent, le guide de bonnes pratiques recommande de ne pas avoir recours à un DPNI en cas de clarté nucale supérieure ou égale à 3,5 mm, mais de proposer d'emblée une analyse chromosomique par puce à ADN après geste invasif. En cas de clarté nucale entre le 95^e percentile et 3,4 mm, une discussion en centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal (CPDPN) est recommandée, et le recours à un DPNI doit être d'autant plus discuté que la clarté nucale est épaisse. En cas de signes échographiques dits "mineurs" (*soft signs*), il est très probable que la prévalence des ACA soit inférieure à 2,2 %, voire, pour certains d'entre eux, non augmentée. Une réflexion est actuellement en cours par le groupe de travail DPNI de l'ACLF.

DPNI en dépistage primaire ou secondaire ?

La stratégie du dépistage primaire par DPNI présente de nombreux avantages. Ce test est plus sensible et plus spécifique que les MSM. La VPP, même en popu-

lation à bas risque, est largement supérieure à celle des MSM : 45,5 versus 4,7 % (12). Par conséquent, sa prescription en première intention permettrait premièrement le diagnostic de plus de 99 % des fœtus porteurs d'une trisomie 21 versus 80 % par la stratégie actuelle, deuxièmement un diagnostic plus précoce au cours de la grossesse, et troisièmement une diminution d'au moins la moitié du nombre de prélèvements invasifs, donc du nombre de fausses couches. Cependant, cela impliquerait un surcoût du dépistage pouvant aller jusqu'à 150 à 200 millions par an.

La stratégie en dépistage secondaire consiste à prescrire un DPNI après évaluation du risque de trisomie 21 fœtale par les MSM. Dans ce cadre, on peut distinguer les patientes à risque accru de trisomie 21 fœtale (risque > 1/250), à risque intermédiaire (risque entre 1/250 et 1/1000) et à risque faible (risque < 1/1000). L'avantage de cette stratégie est de permettre de limiter le surcoût du dépistage. Reste alors à déterminer le seuil de risque pour lequel un DPNI serait recommandé.

Indications du DPNI d'après le guide de bonnes pratiques

Le guide de bonnes pratiques, dans sa version 2 (13), conscient des contingences économiques, préconise l'utilisation du DPNI en dépistage secondaire pour un seuil de risque par les MSM de 1/1000 (12 % des femmes enceintes), permettant de dépister 50 % des fœtus atteints d'une trisomie 21 non dépistés par la stratégie actuelle. C'est cette option qui a été retenue par les autorités suisses dans le cadre du remboursement du DPNI.

Le guide de bonnes pratiques préconise également le DPNI chez des femmes âgées de plus de 38 ans n'ayant pas pu bénéficier du dépistage par les MSM, chez celles ayant des antécédents d'aneuploïdie fœtale ou chez des patientes dont l'un des membres du couple est porteur d'une translocation robertsonienne impliquant un chromosome 21. Dans ce dernier cas, si le chromosome partenaire de la translocation robertsonienne est un chromosome 14 ou 15, le risque de disomie uniparentale doit alors être discuté en conseil génétique avant la prescription.

Le guide de bonnes pratiques recommande également le DPNI dans les grossesses multiples. En effet, l'évaluation du risque par les MSM n'est pas validée pour ces patientes, notamment concernant le dépistage combiné au premier trimestre. Cependant, le taux de DPNI non exploitables est légèrement supérieur pour

les grossesses gémellaires par rapport aux grossesses singletons (1 versus 0,2 % respectivement, données Cerba), le plus souvent en raison d'une fraction fœtale insuffisante. En cas de jumeaux évanescents, le DPNI peut être réalisé contrairement aux MSM. Il devra être réalisé si possible à distance de l'arrêt de grossesse afin de limiter au minimum l'impact du cffADN relargué par le jumeau évanescant, augmentant le risque de résultat faussement positif.

Les MSM dits "atypiques" ou "hors bornes" constituent également une situation complexe dans l'évaluation du risque de la femme enceinte d'avoir un fœtus porteur de la trisomie 21. Un DPNI peut alors être proposé.

Le guide de bonnes pratiques propose aussi la prescription d'un DPNI au cas d'augmentation du risque de trisomie 13 ou 18 fœtale sans anomalie échographique (parents porteurs d'une translocation robertsonienne impliquant un chromosome 13 avec les mêmes précautions que celles citées ci-dessus si le chromosome partenaire est un chromosome 14 ou 15, MSM évoquant une augmentation du risque de trisomie 18 avec les multiples de la médiane [MoM] de bêta-hCG et de PaPPA basses).

Le DPNI au sein d'un parcours de soins

Le DPNI est possible dès 10 semaines d'aménorrhée (SA), mais n'est recommandé qu'après l'échographie du premier trimestre afin d'exclure une anomalie échographique, dont une hyperclarté nucale. Le guide de bonnes pratiques présente le parcours de soins dans lequel le DPNI doit s'inscrire, à savoir : une prescription par un professionnel de la santé (médecin, sage-femme) habitué à manipuler les concepts du dépistage de la trisomie 21. Il s'agit ici d'un test génétique qui nécessite donc une attestation d'information de la patiente signée par le prescripteur et un consentement signé par la patiente. Au cours de cette consultation, il devra avant tout être déterminé si la patiente souhaite ou non participer à un dépistage de la trisomie 21 fœtale. Le guide de bonnes pratiques rappelle que "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". Les concepts de faux négatifs et de faux positifs possibles, de non-dépistage des ACA et des anomalies gonosomiques et la possibilité d'un DPNI non exploitable devront également être abordés.

Les résultats seront communiqués à la patiente oralement et par écrit lors d'une consultation. Il sera alors rappelé qu'en cas de résultat négatif, si la patiente présente une indication habituelle de prélèvement invasif, elle a la possibilité de changer d'avis et d'avoir recours à ce dernier. En cas de résultat positif, il existe un risque de faux positif, principalement lié à l'existence d'une MCP : les VPP sont respectivement de 95, 68 et 50 % pour les trisomies 21, 18 et 13 (données Cerba). Un caryotype de confirmation est donc indispensable. Histologiquement, l'examen direct des BT étudie le même tissu placentaire que le DPNI, ce qui n'est pas le cas de la culture de ces BT. Le caryotype sur liquide amniotique est réalisé à partir de cellules à la fois fœtales et placentaires. Par conséquent, puisque l'on redoute un faux positif en lien avec une MCP, une PLA sera privilégiée à chaque fois que cela est possible. Cependant, en cas de DPNI positif aux alentours de 12 à 14 SA et en raison de la très forte VPP, il ne semble pas licite d'attendre 15 ou 16 SA et de perdre le bénéfice d'une interruption médicale de grossesse (IMG) par curetage. Une BT pourra donc être réalisée, avec une très grande prudence sur l'interprétation de l'examen direct. Une discussion avec le laboratoire de cytogénétique est alors indispensable pour apprécier le bénéfice (IMG au premier trimestre/risque [risque de faux positifs]).

Conclusion

Le DPNI reste pour le moment réservé au dépistage des trisomies 21, 18 et 13. Il pourrait s'étendre au dépistage des ACA lorsque leur prévalence n'implique pas un test invasif. Les anomalies gonosomiques et les syndromes microdélétionnels ne sont pas à rechercher. Ce test ne doit pas se substituer au suivi normal de la grossesse et n'est indiqué qu'en l'absence d'anomalie échographique fœtale. Même s'il a fait ses preuves en dépistage primaire, une réflexion est en cours afin de déterminer en termes de santé publique la population à laquelle il devra s'adresser. Néanmoins, il est le meilleur test à l'heure actuelle en cas de grossesse multiple. La relative facilité de réalisation du DPNI ne doit pas faire oublier les principes fondamentaux du respect du libre choix de la patiente de recourir ou non à un dépistage de la trisomie 21. Ce choix devra impérativement être discuté avant toute prescription. ■

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références bibliographiques

1. Tabor A, Vestergaard CH, Lidegaard O. Fetal loss rate after chorionic villus sampling and amniocentesis: an 11-year national registry study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009;34(1):19-24.
2. Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, Hudgins L, Quake SR. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing of DNA in maternal blood. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105(42):16266-71.
3. 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 U S A* 2008;105(42):20458-63.
4. Fan HC, Quake SR. Sensitivity of noninvasive prenatal detection of fetal aneuploidy from maternal plasma using shotgun sequencing is limited only by counting statistics. *PLoS One* 2010;5(5):e10439.
5. Guttenbach M, Koschorz B, Bernthaler U, Grimm T, Schmid M. Sex chromosome loss and aging: in situ hybridization studies on human interphase nuclei. *Am J Hum Genet* 1995;57(5):1143-50.
6. Yao H, Jiang F, Hu H et al. Detection of fetal sex chromosome aneuploidy by massively parallel sequencing of maternal plasma DNA: initial experience in Chinese hospital. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014;44(1):17-24.
7. Yin AH, Peng CF, Zhao X et al. Noninvasive detection of fetal subchromosomal abnormalities by semiconductor sequencing of maternal plasma DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015;112(47):14670-5.
8. Lo KK, Karampetsou E, Boustred C et al. Limited clinical utility of non-invasive prenatal testing of subchromosomal abnormalities. *Am J Hum Genet* 2016;98(1):34-44.
9. Agence de la biomédecine. Rapport 2015. www.agence-bio-medecine.fr/Rapports-annuels-d-activite-2015

 Retrouvez l'intégralité des références bibliographiques sur www.edimark.fr

Références bibliographiques (suite de la page15)

10. 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):1330-7.

11. Snijders RJ, Noble P, Sebire N, Souka A, Nicolaides KH.

UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. Lancet 1998;352(9125):343-6.

12. Bianchi DW, Parker RL, Wentworth J et al. DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening. *N Engl*

J Med 2014;370(9):799-808.

13. ACLF. Recommandations pour le dépistage non invasif des anomalies chromosomiques foetales (DPNI). Version 2. 2015 http://eaclf.org/docs/recommandation-ACLF_DPNI-V2.pdf