

■ Revues générales

Dépistage prénatal non invasif des anomalies chromosomiques dans le sang maternel : quelles indications ?

RÉSUMÉ : Le dépistage de la trisomie 21 a considérablement évolué depuis quelques années. L'arrêté de 2009 a permis l'accès à un dépistage combiné au 1^{er} trimestre pour toutes les patientes qui le souhaitent. Néanmoins, cette technique présente un taux de faux positifs non négligeable, avec pour conséquence des fausses couches pour des fœtus exempts de trisomie 21.

Le développement des méthodes de dépistage prénatal non invasif modifie les pratiques actuelles du dépistage, en permettant de réduire de façon drastique le nombre de prélèvements invasifs chez les patientes à risque à l'issue du dépistage conventionnel. Toutefois, il ne s'agit pas d'un caryotype et ses indications sont donc à l'heure actuelle limitées. Par ailleurs, ses performances en population générale restent encore à préciser et ne permettent pas, pour le moment, de le proposer à l'ensemble des patientes en dépistage primaire.



**A. LETOURNEAU¹, J.-M. COSTA²,
A. BENACHI¹**

¹ Service de Gynécologie-Obstétrique,
Hôpital Antoine-Béclère, AP-HP, Université
Paris-Sud, CLAMART,

² Laboratoire CERBA, Département de
Biologie Spécialisée et de Génétique,
SAINT-OUEN L'AUMÔNE.

La trisomie 21 est l'anomalie génétique la plus fréquente et constitue la première cause génétique de retard mental [1]. Elle est dans 95 % des cas libre et homogène. En France, depuis 2009 [2], le dépistage de la trisomie 21 repose sur un calcul de risque dit "combiné au 1^{er} trimestre" associant l'âge maternel, la mesure échographique de la clarté nucale fœtale selon la longueur crano-caudale et le dosage des marqueurs sériques maternels (β -hCG libre et PAPP-A) entre 11 et 13+6 SA (semaines d'aménorrhée). Si le risque calculé est supérieur ou égal à 1/250, un prélèvement invasif (biopsie de trophoblaste ou amniocentèse) est proposé afin d'établir le caryotype fœtal, moyennant cependant un risque de fausse couche dans 0,5 à 1 % des cas.

Le rapport de l'Agence de la biomédecine publié en 2012 [3] a montré que 679 491 patientes au moins ont bénéficié d'un dépistage en 2011 et que 30 343 présentaient un risque supérieur ou égal à 1/250, soit 4,5 % de cette population (tous

modes de dépistage confondus). Dans ce groupe à risque, 25 % des patientes n'ont pas souhaité de prélèvement invasif. Au total, 22 175 prélèvements (biopsie de trophoblaste ou amniocentèse) ont été réalisés dans cette indication, pour détecter 1 101 anomalies chromosomiques déséquilibrées (5 %). Dans ces conditions, le taux de faux positifs de ce test est de 3,1 % et sa valeur prédictive positive de 1/20.

Ce test de dépistage combiné au 1^{er} trimestre était jusqu'à maintenant le meilleur test à la disposition des patientes et des soignants, avec néanmoins pour inconvénient l'existence de faux positifs et d'un risque de fausse couche induit par les prélèvements invasifs.

■ Principe du dépistage prénatal non invasif (DPNI)

Lo *et al.* ont démontré pour la première fois en 1997 qu'environ 5 à 10 % de l'ADN libre circulant dans le sang maternel était

I Revues générales

d'origine fœtale, plus précisément trophoblastique [4]. Cet ADN fœtal libre peut être détecté dans la circulation maternelle dès 5 à 6 SA. La quantité d'ADN fœtal circulant augmente avec le terme de la grossesse et celui-ci disparaît rapidement après l'accouchement (moins de 48 h). Il ne persiste donc pas dans le sang maternel d'une grossesse à l'autre [5].

L'analyse de l'ADN fœtal libre circulant a, dans un premier temps, été utilisée pour la recherche de séquences ADN absentes ou différentes du génome maternel, par exemple pour la détermination du sexe fœtal en cas d'antécédent de pathologie liée au sexe du fœtus [6], pour le génotypage rhésus en cas d'allo-immunisation maternelle anti-D [7] ou encore en cas d'antécédent de pathologie fœtale dominante *de novo* comme l'achondroplasie.

Depuis 2008, le dépistage de la trisomie 21 sur l'ADN fœtal circulant librement dans le sang maternel est possible. De nombreuses techniques ont été décrites dans la littérature, mais le principe de base reste le même : quantifier l'ADN fœtal circulant pour mettre en évidence la fraction d'ADN en excès provenant du chromosome impliqué lorsque le fœtus est porteur d'une aneuploïdie. Cet ADN fœtal est amplifié et séquencé selon différentes méthodes dont la plus fréquemment utilisée en France est le séquençage massif parallèle (SMP) dit "à haut débit" ou *Next-generation sequencing* (NGS).

La quantification de l'ADN peut être globale et aléatoire, portant sur l'ensemble du génome, ou être limitée à certains chromosomes (*Targeted NGS*). Ces tests ont été imaginés et développés par des laboratoires de recherche universitaires comme celui de Lo à Hong Kong [8] ou Quake à Stanford [9], puis des entreprises de biotechnologies ont rapidement pris le relais. Il existe actuellement à travers le monde une dizaine d'entreprises spécialisées dans le développement de ce test, dont certaines ont pu le commercialiser à grande échelle dès 2011.

Performances du DPNI en population à haut risque d'aneuploïdie

De nombreuses publications rapportent des résultats très encourageants du DPNI avec une sensibilité et une spécificité du test supérieures à 99 % [10]. Néanmoins, les tests n'ont, pour la plupart, été étudiés que dans des populations dites "à risque" d'aneuploïdie et donc dans lesquelles la prévalence de la trisomie 21 est élevée.

L'étude SEHDA menée en France et portant sur 900 patientes "à haut risque" d'aneuploïdie a permis de valider et de réaliser le test sur le territoire français [11]. Elle a aussi démontré que le DPNI ne devait pas être proposé en cas d'anomalie morphologique fœtale, car le risque de méconnaître une anomalie chromosomique autre qu'une trisomie 13, 18 ou 21 était alors multiplié par 20 par rapport au groupe des fœtus ne présentant pas d'anomalie morphologique visible. Dans ce dernier groupe, la sensibilité et la spécificité du DPNI avoisinent les 100 % avec un taux de non-rendus de 0,67 %.

Le DPNI en population générale

Une question se pose à l'heure actuelle : pourrait-on envisager de remplacer le dépistage actuel de la trisomie 21 par le DPNI ? Des publications récentes [12, 13] retrouvent des performances comparables du test en population générale, mais au prix parfois d'une augmentation du taux de non-rendus.

En France, l'étude DEPOSA est en cours et vise à comparer les performances du DPNI dans une population de patientes "à bas risque" présentant une grossesse singleton spontanée ou après une aide médicale à la procréation, en documentant toutes les issues de grossesse afin de calculer la valeur prédictive positive du test dans cette population.

Les résultats du DPNI en population générale nécessitent encore d'être confirmés. Par ailleurs, cette généralisation du DPNI poserait pour le moment un problème d'accessibilité au test, car le nombre de laboratoires le proposant sur le sol français est encore limité.

Le DPNI : un test de dépistage ou de diagnostic ?

Avec l'utilisation de plus en plus fréquente de ce test, des cas de faux positifs ou de faux négatifs sont apparus. Des anomalies cytogénétiques somatiques ou tumorales maternelles, un jumeau évanescent porteur d'une anomalie chromosomique ou encore une anomalie chromosomique confinée au placenta sont autant d'exemples décrits comme pouvant générer des résultats faussement positifs.

Par ailleurs, ces tests se limitant pour l'instant à la détection des trisomies 13, 18 et 21, il existe une perte d'information par rapport à un caryotype fœtal et les anomalies chromosomiques sans anomalie échographique ne seront pas diagnostiquées en l'absence de prélèvement invasif.

C'est pour ces raisons que tout résultat positif du DPNI doit à l'heure actuelle être confirmé par un prélèvement invasif (biopsie de trophoblaste ou amniocentèse) et que ce DPNI ne doit pas être proposé en cas d'anomalie morphologique visible à l'échographie. De ce fait, le DPNI reste un test de dépistage et non de diagnostic.

Le DPNI : quelles indications ?

Un des grands écueils annoncés comme un facteur limitant l'accès au DPNI pour toutes les patientes à haut risque d'aneuploïdie reste son coût. Deux études [14,15] ont comparé le coût de l'application de ce test dans la population à risque de trisomie 21 fœtale au coût du dépistage actuel. Elles montrent que l'uti-

lisation du DPNI ne serait pas plus coûteuse que le dépistage par les marqueurs sériques si sont pris en compte les coûts des prélèvements invasifs induits par les faux négatifs du dépistage actuel, le coût du caryotype et la prise en charge des fausses couches potentielles. Les calculs varient évidemment en fonction du prix du test qui reste pour l'instant élevé du fait de la complexité des techniques.

Au-delà du prix, le bénéfice pour les patientes devrait primer. Le DPNI proposé aux patientes à risque d'aneuploïdie permet d'éviter 95 % des prélèvements invasifs et donc les pertes fœtales inhérentes à ces gestes (de 0,5 à 1 % des cas). La détection de la trisomie 21 est possible, tout comme celle des trisomies 13 et 18, et il sera bientôt possible en routine de dépister d'autres anomalies chromosomiques. La diminution du risque liée à l'absence de geste invasif est majeure, mais au prix d'une perte d'information par rapport à un caryotype. Les patientes sont maintenant informées de l'existence de ces tests et il existe un vrai problème d'inégalité d'accès aux soins puisque le DPNI n'est actuellement pas pris en charge par l'Assurance Maladie.

Par ailleurs, ce test doit faire l'objet d'une consultation spécialisée préalable à sa réalisation, afin d'informer les couples sur les bénéfices et limites de la technique et recueillir le consentement de la patiente. Il apparaît donc indispensable de définir les situations où le DPNI pourra être proposé afin d'homogénéiser les pratiques.

Le Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français (CNGOF) a publié un communiqué le 17 juin 2016 [16] afin de préciser les indications du DPNI. Ce communiqué reprend également les recommandations éditées par l'Association Française des Cytogénéticiens de Langue Française (ACLF). Les tests de dépistage prénatal non invasif pourront être proposés, après information de la patiente et uniquement si la clarté nucale est inférieure à 3,5 mm chez un

fœtus ne présentant pas d'anomalie morphologique visible :

- si la patiente est considérée comme à risque ($> 1/1\,000$) après le dépistage par les marqueurs sériques, quelle que soit la stratégie utilisée ;
- si la patiente a 38 ans ou plus et n'a pas bénéficié du dépistage par les marqueurs sériques ;
- si un des parents est porteur d'une translocation robertsonienne impliquant un chromosome 21 ;
- si les marqueurs sériques ne sont pas fiables (hors bornes ou grossesse gémellaire) ;
- si la patiente présente un antécédent de grossesse avec un fœtus porteur d'une trisomie 21.

Ces recommandations permettent de poser un cadre qui pourrait ouvrir à terme sur une prise en charge de ce test par l'Assurance Maladie dans ces indications, assurant ainsi à toutes les patientes une égalité d'accès aux soins.

■ Conclusion

Le DPNI représente une avancée majeure dans le dépistage des aneuploïdies. Il convient de retenir qu'il ne s'agit pas d'un caryotype fœtal et que, conformément aux recommandations du CNGOF, il ne doit pas être prescrit en cas d'hyperclarté nucale ou de malformation fœtale. En effet, dans ces conditions,

POINTS FORTS

- En population à haut risque d'aneuploïdie, les sensibilité et spécificité du DPNI sont supérieures à 99 % pour le dépistage de la trisomie 21.
- Le DPNI permet de diminuer de 95 % les gestes invasifs chez les patientes à risque à l'issue du dépistage au 1^{er} trimestre.
- Le DPNI n'est pas l'équivalent d'un caryotype fœtal.
- Le DPNI ne doit pas être prescrit en cas d'anomalie morphologique fœtale, y compris une hyperclarté nucale.

la recherche d'anomalies ne doit pas se limiter aux trisomies 13, 18 et 21 et requiert la réalisation d'un prélèvement invasif pour l'établissement du caryotype fœtal, voire d'une CGH.

Au vu des performances de ce test, les recommandations du CNGOF devraient aujourd'hui être la règle. Néanmoins, le fait de proposer le DPNI en seconde intention après un dépistage par les marqueurs sériques, dont on sait qu'il présente de nombreux faux négatifs, est tout à fait discutable et pourrait être considéré comme une perte de chance pour les patientes qui ne sont pas dans un groupe à risque et dont le fœtus est pourtant porteur de la trisomie 21. C'est la raison pour laquelle ces recommandations devraient évoluer dans les années à venir, une fois les performances du test confirmées en population générale.

BIBLIOGRAPHIE

1. CANFIELD MA, HONEIN MA, YUSKIV N *et al.* National estimates and race/ethnic-specific variation of selected birth defects in the United States, 1999-2001. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2006;76:747-756.
2. Arrêté du 23 juin 2009 fixant les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatal avec utilisation des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21. <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000020814373>

Revue générale

3. <http://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2012/accueil.htm>
4. LO YM, CORBETTA N, CHAMBERLAIN PF *et al.* Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet*, 1997;350:485-487.
5. BODURTHA J, STRAUSS JF 3rd. Genomics and perinatal care. *N Engl J Med*, 2012;366:64-73.
6. HONDA H, MIHARU N, OHASHI Y *et al.* Fetal gender determination in early pregnancy through qualitative and quantitative analysis of fetal DNA in maternal serum. *Hum Genet*, 2002;110:75-79.
7. LO YM, HJELM NM, FIDLER C *et al.* Prenatal diagnosis of fetal RhD status by molecular analysis of maternal plasma. *N Engl J Med*, 1998;339:1734-1738.
8. FAN HC, BLUMENFELD YJ, CHITKARA U *et al.* Non invasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008;105:16266-16271.
9. CHIU RW, SUN H, AKOLEKAR R *et al.* Maternal plasma DNA analysis with massively parallel sequencing by ligation for non invasive prenatal diagnosis of trisomy 21. *Clin Chem*, 2010;56:459-463.
10. PALOMAKI GE, DECIU C, KLOZA EM *et al.* DNA sequencing of maternal plasma reliably identifies trisomy 18 and 13 as well as Down syndrome: an international collaborative study. *Genet Med*, 2012;14:296-305.
11. 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;125:1330-1337.
12. 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.
13. TAYLOR-PHILLIPS S, FREEMAN K, GEPPERT J *et al.* 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;6:e010002.
14. CHITTY LS, HILL M, WHITE H *et al.* Noninvasive prenatal testing for aneuploidy-ready for prime time? *Am J Obstet Gynecol*, 2012;206:269-275.
15. SONG K, MUSCI TJ, CAUGHEY AB. Clinical utility and cost of non-invasive prenatal testing with cfDNA analysis in high risk women based on a US population. *J Mater Fetal Neonatal Med*, 2013;26:1180-1185.
16. <http://www.cngof.fr/patientes/presse/474-communiqués-du-cngof>

Les auteurs ont déclaré ne pas avoir de conflits d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.