



LE DPNI EN 2022 : OÙ EN EST-ON ?

Dr Erika Launay
Service de Cytogénétique et Biologie cellulaire
CHU de Rennes
Journée du CPDPN Rennes 14.10.2022

DÉPISTAGE PRÉNATAL DE LA T21

1997 : dépistage national anténatal (fréquence T21 élevée)

1997-2009

- Développement de l'échographie anténatale
- Mise en place des marqueurs sériques maternels du 2nd trimestre (**MSM T2** entre 14 SA et 17 SA + 6 jours) : hCG ou βhCG, AFP, œstriol non conjugué → **sensibilité = 70%, > 5% FP**

Depuis 2009

- **MSM T1** (entre 11 SA et 13 SA + 6 jours) : βhCG et PAPP-A
- MSM + CN + âge maternel → **sensibilité = 90%, 5% FP**
 - Dépistage combiné : MSM T1 + CN + âge maternel
 - Dépistage séquentiel intégré : MSM T2 + CN + âge maternel (si pas de MSM T1)
- Si pas de dépistage : âge maternel > 38 ans devient une indication prise en charge par la CPAM

Si risque > 1/250 → vérification du caryotype fœtal proposée

NB : Facteurs influençant les MSM = âge gestationnel, grossesse évolutive ou non, grossesse gémellaire, insuffisance rénale maternelle, pathologie placentaire



2016 : Dépistage des aneuploïdies fœtales par l'étude de l'ADN libre circulant (ADNlc) ou Tests ADNlc ou Dépistage prénatal non-invasif (DPNI) de la T21 sur sang maternel ou NIPT Non-Invasive Prenatal Testing

Avis favorable HAS pour introduction tests ADNlc en 2017
car sensibilité > 99% et FP < 1%



En l'absence de SAE



Janvier 2019 : remboursement CPAM (décision de l'UNCAM du 19.04.18 - JO 27.12.18)



ADN FŒTAL LIBRE CIRCULANT

THE LANCET

Early report

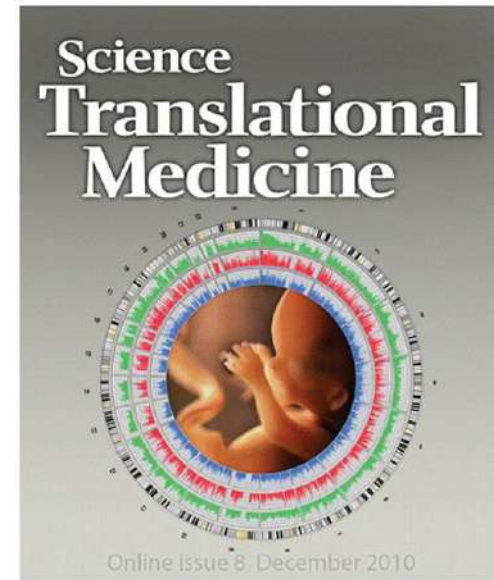
1997

Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum

Y M Dennis Lo, Noemi Corbetta, Paul F Chamberlain, Vik Rai, Ian L Sargent, Christopher W G Redman, James S Wainscoat



Implication dans diagnostic prénatal +++



L'utilisation de l'ADN foetal libre circulant à des fins diagnostiques et de dépistage a été brevetée par Lo

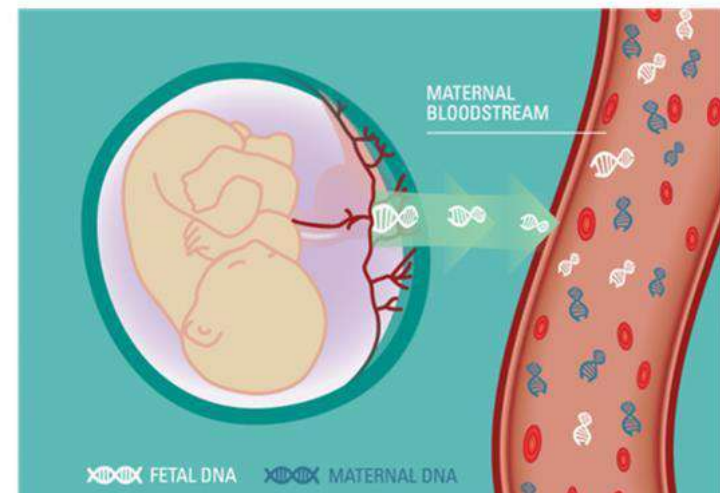
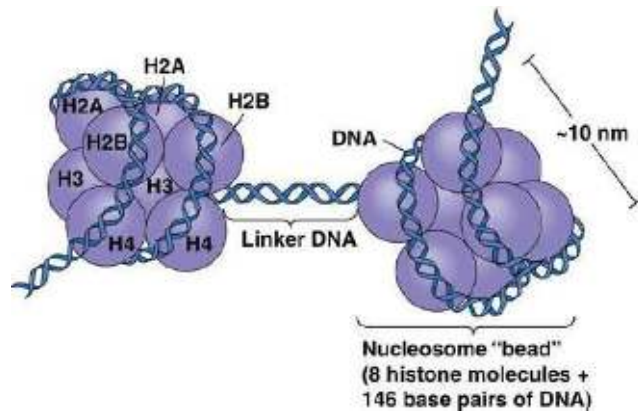
A fetal genome in the maternal circulation



ADN FŒTAL LIBRE CIRCULANT

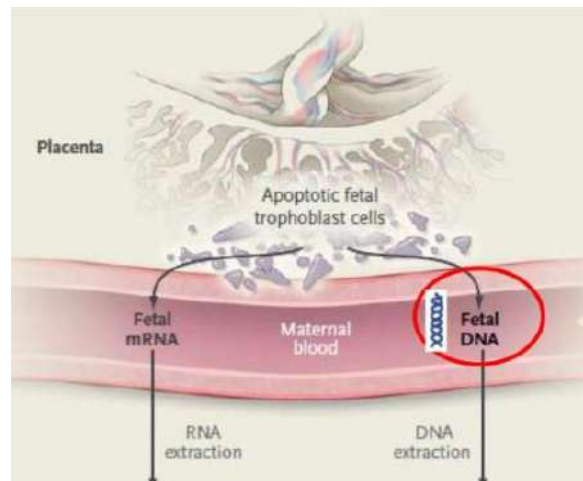
ADN libre circulant

- Provient des cellules en apoptose
- Fragmentation de l'ADN autour des nucléosomes
- Fragments d'ADN d'environ 146 ou multiples de 146
 - ADN foetal libre circulant : majoritairement 146 pb
 - ADN maternel libre circulant : majoritairement 146 x2, x3, x4...



ADN FŒTAL LIBRE CIRCULANT

- Origine trophoblastique
- Détectable dès 6 SA → fin grossesse, augmente avec le terme, disparaît quelques heures après l'accouchement
- Généralement 5-10% de l'ADN libre circulant durant les 2 premiers trimestres
- Variations de concentration :
 - ↘ : obésité, petit placenta, activité sportive, T13 et T18
 - ↗ : âge gestationnel, pré-éclampsie, tabagisme, grossesse gémellaire, T21



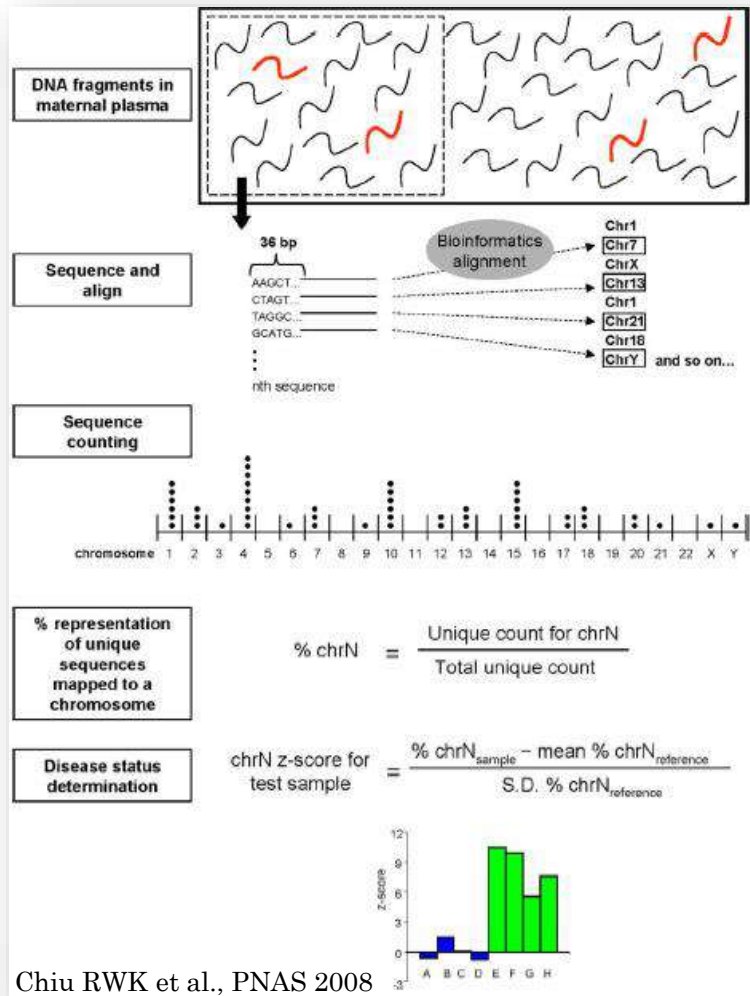
TESTS ADN LIBRE CIRCULANT

- Utilisation du séquençage massif en parallèle (MPS)
- Techniques actuelles (CE-IVD - arrêté du 14 décembre 2018) :
 - Approche pan-génomique :
 - Séquençage génome entier en faible profondeur
 - ↳ Solution VeriSeq™ NIPT (Illumina) >90% des tests DPNI réalisés en France en 2021
 - ↳ Iona® (YourGene)
 - Approche ciblée :
 - Séquençage en forte profondeur de SNPs ciblés (Panorama®, Natera)
 - Amplification après circularisation (Vanadis®, PerkinElmer)



TEST ADN LIBRE CIRCULANT

- Prélèvement sur tube Cell Free DNA BCT® (Streck) à partir de 11 SA
- Principe



Chiu RWK et al., PNAS 2008

Extraction ADNlc total (foetal + maternel)

Préparation des fragments → librairies

Pool de librairies

Séquençage de tous les fragments de manière aléatoire

Analyse bioinformatique :

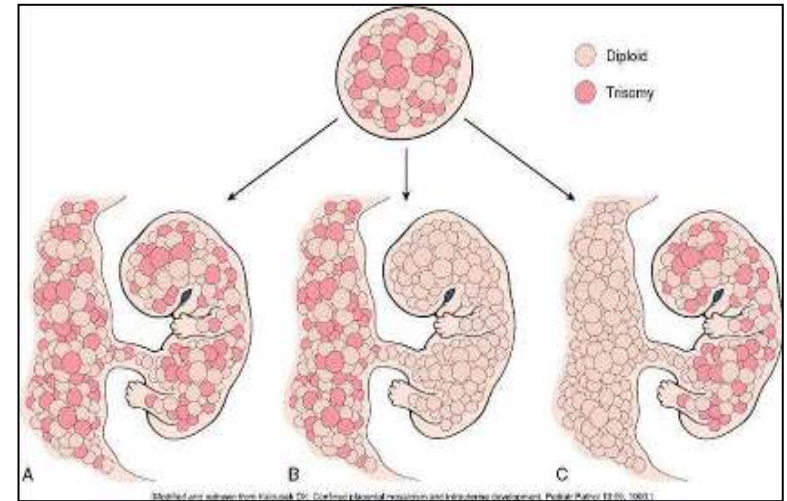
- alignement des séquences sur génome de référence
- dénombrement des fragments séquencés et calcul de représentativité de chaque chromosome
- test statistique → probabilité d'une surreprésentation des séquences dérivées d'un chromosome / population euploïde
- Estimation de la fraction foétale (FF)



TESTS ADNLC : LIMITES

○ Faux positifs

- Discordance fœto-placentaire
- Mosaïque maternelle
- Cancer
- Jumeau évanescent
- Fluctuation d'échantillonnage statistique



○ Faux négatifs

- Mosaïque très faible
- Discordance fœto-placentaire

○ Echecs

- Causes pré-analytiques, techniques
- Fraction fœtale basse ++



TESTS ADNLC : INTERPRÉTATION

○ Résultat négatif

- Risque de faux négatif très faible ($< 0,1\%$)
- Poursuite suivi de grossesse habituel
- Possibilité geste invasif si patiente non rassurée (indications habituelles)

○ Résultat positif

- Risque de faux positifs (1 %)
- Un prélèvement invasif **doit** être proposé (test diagnostique)
 - Aucune IMG ne doit être validée sans confirmation du résultat
 - Préférer amniocentèse

○ Résultat non contributif

- A discuter (allongement durée phase de dépistage)
- 2 échecs → proposer un prélèvement invasif



INDICATIONS

o **Recommandations selon l'arrêté du 14 décembre 2018 :**

- **Patientes dont le niveau de risque de trisomie 21 est compris entre 1/51 et 1/1000** à l'issue du dépistage par dosage des marqueurs sériques
- **Patientes dont le niveau de risque de trisomie 21 est $\geq 1/50$** à l'issue du dépistage par dosage des marqueurs sériques si refus du caryotype foetal en 1^{ère} intention
- ATCD de grossesse avec trisomie 21
- Parent porteur d'une translocation robertsonienne impliquant le chromosome 21
- Grossesses multiples

➔ remboursement par l'assurance maladie



INDICATIONS

○ Autres indications recevables :

- ATCD de grossesse avec trisomie 13 ou 18
- Couples dont l'un des conjoints est porteur d'une translocation robertsonienne impliquant un chromosome 13
- Patientes avec marqueurs sériques atypiques :
 - β hCG et PAPP-A < 0.25 MoM
 - PAPP-A < 0.2 MoM
 - β hCG > 5 MoM
- Age maternel ≥ 38 ans pour les patientes n'ayant pu bénéficier du dépistage par les marqueurs sériques



CONTRE-INDICATIONS

- CN $\geq 3,5$ mm ou $\geq 99^{\text{ème}}$ percentile
 - Risque majoré d'anomalies chromosomiques autres que T13, 18 et 21 (notamment CNV < 7 Mb) et de malformations congénitales
→ prélèvement invasif pour caryotype foetal +/- ACPA
 - 99^{ème} percentile de la CN selon LCC d'après Chung et al., 2004

LCC (mm)	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58
99 ^{ème} p (mm)	2.7	2.7	2.7	2.7	2.8	2.8	2.8	2.8	2.8	2.9	2.9	2.9	2.9	2.9
LCC (mm)	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	
99 ^{ème} p (mm)	2.9	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.1	3.1	3.1	3.1	3.1	3.2	3.2	
LCC (mm)	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	
99 ^{ème} p (mm)	3.2	3.2	3.2	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	

CPDPN CHU Montpellier, Pr FUCHS

Site perinatology.com :

<https://www.perinatology.com/calculators/Crown%20Rump%20and%20Nuchal%20Translucency.htm>



CONTRE-INDICATIONS

- Autres SAE
- A l'exception des SAE mineurs (GBP ADNlc ACLF v4 - 2019) :
 - AOU (Dagklis et al., 2010)
 - Kyste(s) des plexus choroïdes (Coco et al., 2014)
 - Artère sous-clavière droite rétro-œsophagienne (Svirsky et al., 2017 ; Pico et al., 2016 ; Borenstein et al., 2010)
 - Dilatation pyélocalicielle uni ou bilatérale (Carbone et al., 2011 ; Chudleigh et al., 2001)
 - Focus cardiaque hyperéchogène (Ouzounian et al., 2007 ; Achiron et al. 1997)
 - Intestins hyperéchogènes (D'Amico et al., 2019; Singer al al. 2018 ; Maillet et al. 2014)
- ➔ SAE mineur présent de façon isolée ne constitue pas une CI au DPNI si celui-ci est indiqué



EVOLUTION VERS LE DPNI ÉLARGI (OU WHOLE-GENOME)

- Jusqu'en 2020 : dépistage limité à la T21 + extension aux T13 et T18

Solution VeriSeq™ NIPT v1 (Illumina) → problème d'invalidation du résultat si anomalie autre

	Sensibilité	Spécificité
T21	98,9 %	99,9 %
T13	100 %	99,9 %
T18	90%	99,9 %

- Fin 2019-2020 : déploiement progressif de la v2 de la solution VeriSeq™ NIPT (Illumina) → détection des aneuploïdies de tous les chromosomes et anomalies de structure déséquilibrées ≥ 7 Mb

	Sensibilité	Spécificité
T21	>99,9 % (96,4%)	99,9 %
T13	>99,9 % (93,6%)	99,9 %
T18	>99,9 % (95,7%)	99,9 %



EVOLUTION VERS LE DPNI ÉLARGI : CONTEXTE

- Seul le dépistage de la trisomie 21 fait l'objet d'un encadrement législatif
- Problématique de la détection des anomalies autres que T13, 18 et 21 : que faut-il en faire ?
- Discussions avec l'ABM depuis 18 mois
- Demande de la DGS pour une évaluation par la HAS
- Travail de l'ACLF depuis 2 ans pour établir des recommandations sur la conduite à tenir devant l'identification d'anomalies chromosomiques autres que T13, 18 et 21 (v1 : novembre 2020 / v2 : septembre 2022)



DONNÉES DE LA LITTÉRATURE

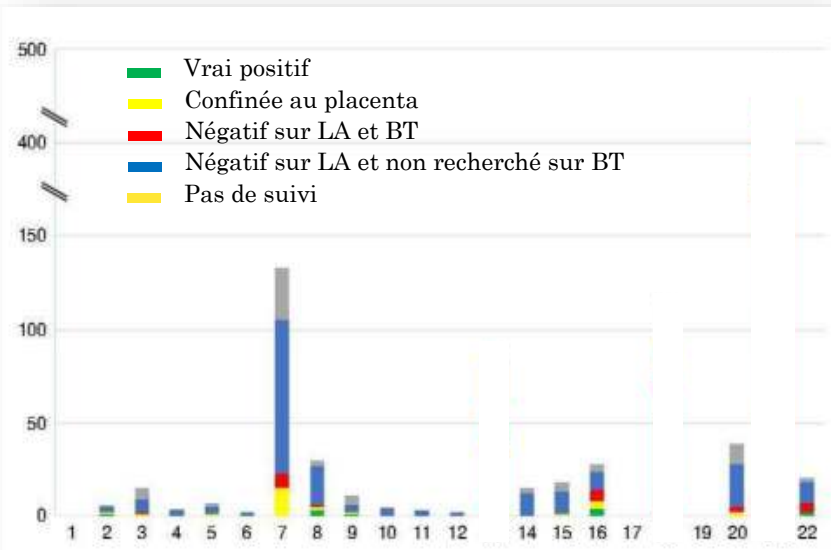
Etude belge : Van Den Bogaert et al. 2021

153575 patientes

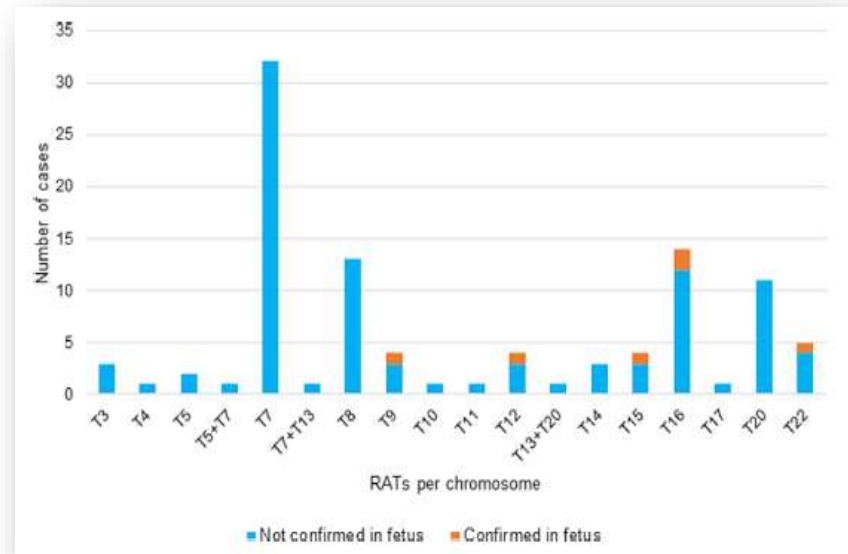
Etude TRIDENT-2 : van der Meij et al. 2019

56818 patientes

RAT : Rare Autosomal Trisomies



VPP = 4,1% (11/266)



VPP = 6% (6/101)

Anomalies de structure

109 anomalies de structure
43 / 92 présentes chez le fœtus

VPP = 47 %

95 anomalies de structure
29 / 91 confirmées

VPP = 32 %



DONNÉES NATIONALES ISSUES DE 11 LABORATOIRES



○ 41304 patientes

- 420 anomalies hors T13, 18 et 21 classiques (1,01%) :
 - 205 trisomies / monosomies autosomiques rares (RAT) dont 88 rapportables selon recommandations ACLF (0,21%)
 - 164 anomalies de structure (0,39%)
 - 51 avec ≥ 2 anomalies
 - ↳ 9 incluant une T18 ou T21 (0,02%)
 - ↳ 17 pouvant évoquer une anomalie tumorale (0,04%)



DONNÉES NATIONALES ISSUES DE 11 LABORATOIRES

- Recommandation d'un contrôle par caryotype / ACPA :

- 164 anomalies de structure
- 26 T16
- 62 RAT isolées
- 9 anomalies multiples incluant T21 ou T18

→ 0,63% de prélèvements invasifs induits

- Pas de contrôle recommandé :

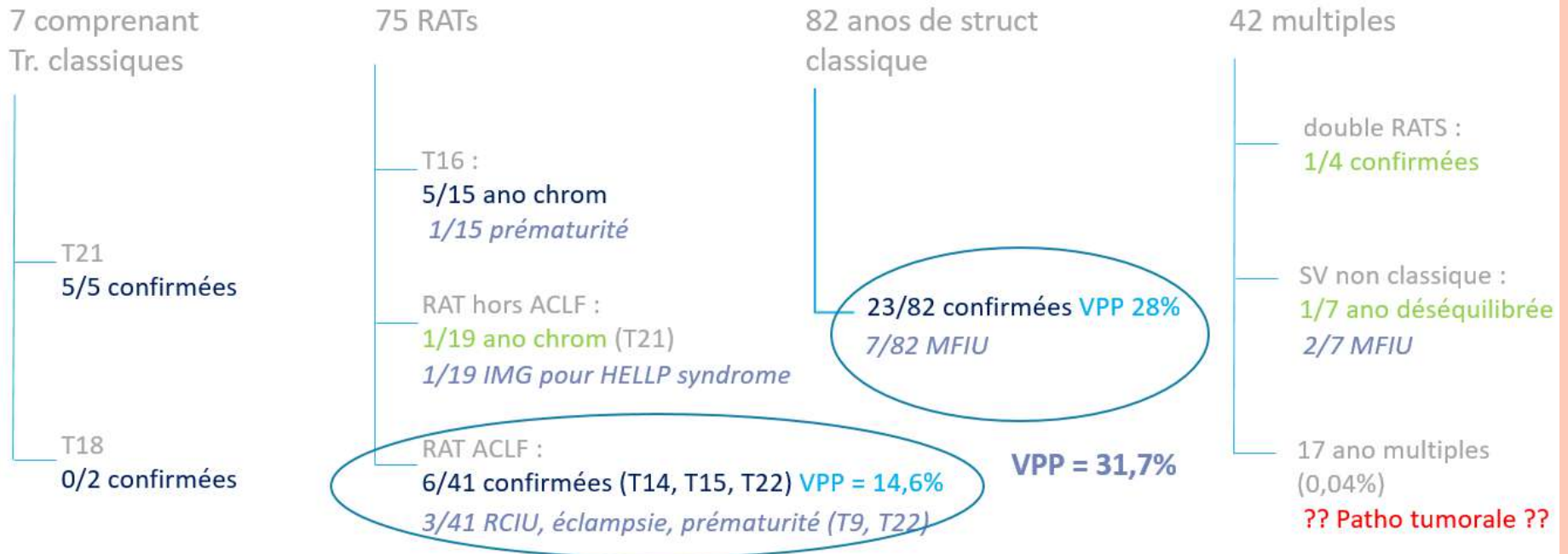
- 42 anomalies multiples (dont 17 avec >2 anomalies)
- 117 RATs hors liste

Terme moyen du DPNI : 14 SA + 6 J



DONNÉES NATIONALES ISSUES DE 11 LABORATOIRES

Dépistage positif avec caryotypes et/ou issues de grossesses connues (206)



8% (17) des anomalies non confirmées ont des complications obstétricales



RECOMMANDATIONS ACLF v2 SEPTEMBRE 2022



- Anomalies rapportables :
 - RAT : 2, 8, 9, 14, 15, 16, 22, 12 (42% des RAT observées en DPNI / < 0,3% des tests réalisés selon indications officiellement retenues)
 - Anomalies de structure
 - compatible avec un remaniement chromosomique classique : oui
 - autres : possible

- Parcours de soin
 - Information en amont du prélèvement +++
 - Consentement / attestation
 - Compte-rendu doit mentionner le périmètre du test et son résultat
 - Résultat anormal doit être expliqué lors d'une consultation de conseil génétique



CONCLUSIONS

- Performances du DPNI WG cohérentes d'une étude à l'autre
- Risque iatrogène quasi nul (ACLF 0,6% vs 0,3% selon littérature)
- Harmonisation des pratiques des laboratoires
- Importance de l'information délivrée à la patiente
- Ne modifie pas les indications et contre-indications du DPNI

- Questions en suspens :
 - Grossesses multiples
 - Pathologie tumorale maternelle

- Etape suivante : syndromes microdélétionnels ?



REMERCIEMENTS

- Service de Cytogénétique et Biologie cellulaire
- Services de Génétique clinique (CHU Rennes et CHBA)
- Ensemble des médecins et sage-femmes prescripteurs (CHU Rennes, Clinique La Sagesse, CHBA, CHBS, CHCB, CHU Montpellier, CH Dinan, CH St-Malo, CH Fougères)
- Groupe de travail DPNI - ACLF

