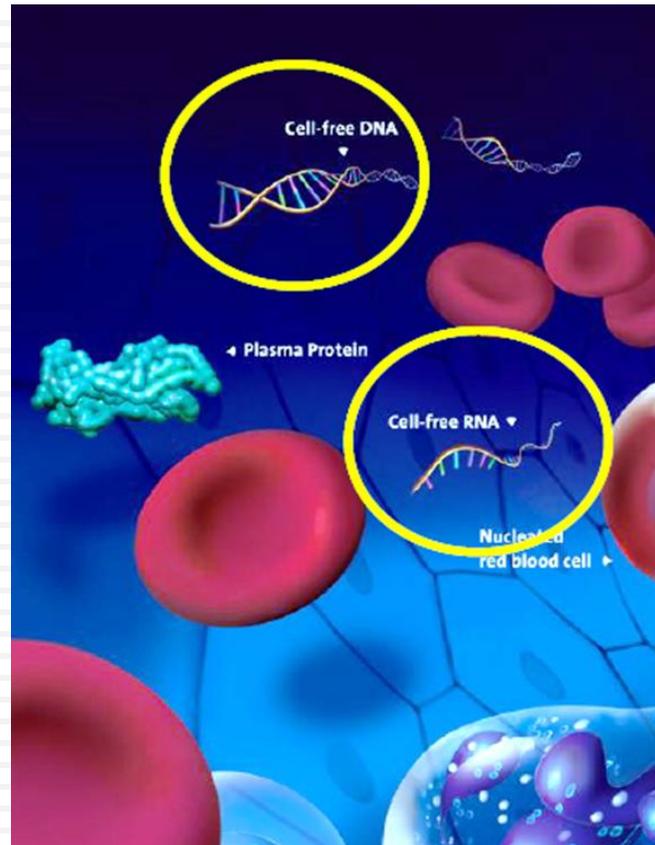


Dépistage de la Trisomie 21 : quoi de neuf en 2019?

Pr Bérénice DORAY

CPDPN de La Réunion

Formation avril 2019



LES DPC DU **Repère** RÉSEAU PÉRINATAL RÉUNION

SATISFAIRE À VOS OBLIGATIONS DE DPC FACILEMENT AVEC LE REPÈRE

Tous les professionnels de santé sont soumis à une obligation triennale de DPC

FORMATION DPC 36101900004
Formation validante DPC pour les gynécologues obstétriciens, les radiologues, les médecins généralistes et les sages-femmes selon les orientations nationales 2019-2020

LE DÉPISTAGE DE LA TRISOMIE 21 EN 2019

Lundi 29 avril 2019
19h30-22h30

Hôtel Le Saint-Alexis
Boucan Canot

Inscription obligatoire
Prise en charge du coût de la formation et indemnité pour les professionnels libéraux (sous réserve de votre enveloppe ANDPC)

RESPONSABLES et FORMATRICES :

Dr Coralie DUMONT : Gynécologue obstétricienne, vice coordinatrice du CPDPN Océan Indien

Pr Bérénice DORAY : PUPH, Généticienne, coordinatrice du CPDPN Océan Indien

PUBLIC : Gynécologue obstétricien, radiologue, médecin généraliste Sage-femme

version du 15/04/19

ars odpc Repère



Contexte

- **Dépistage de la T21 depuis 1997**
- **Juillet 2009 : dépistage combiné**
 - **Mesure de la CN entre 11+0 et 13+6 SA**
 - **Bêta HCG + PAPP-A**

- **Seuil 1/250**
- **Détection environ 85% de diagnostic de T21 pour un taux de FP de 5%**
- **Moins de gestes invasifs → moins de perte fœtale**
- **IMG + précoce**



Maternal age with:	Detection rate for 5% false positive rate (%)*	Biomarker (see glossary for biomarker acronyms)
<i>FIRST TRIMESTER (11-13 weeks)</i>		
Ultrasound scan	60	NT
Serum test	74	β -hCG, PAPP-A
Combined test	83	NT, β -hCG, PAPP-A



Contexte

Bilan national 2009-2011

agence de la
Biomédecine

De moins en moins de gestes invasifs pour
détecter autant de cas de Tri 21

	2009		2010		2011	
	Caryo	T21	Caryo	T21		
Age maternel	24378	421	6615	114	3385	58
MSM	33135	403	28199	711	19653	800
TOTAL	57513	823	24814	825	23038	858



3,7 % !

→ 96 % de gestes invasifs pour des fœtus non porteurs de T21

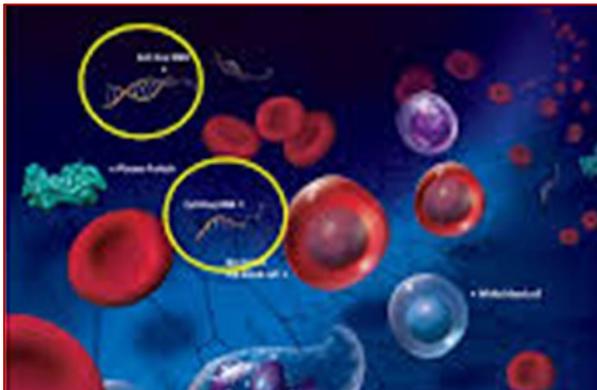
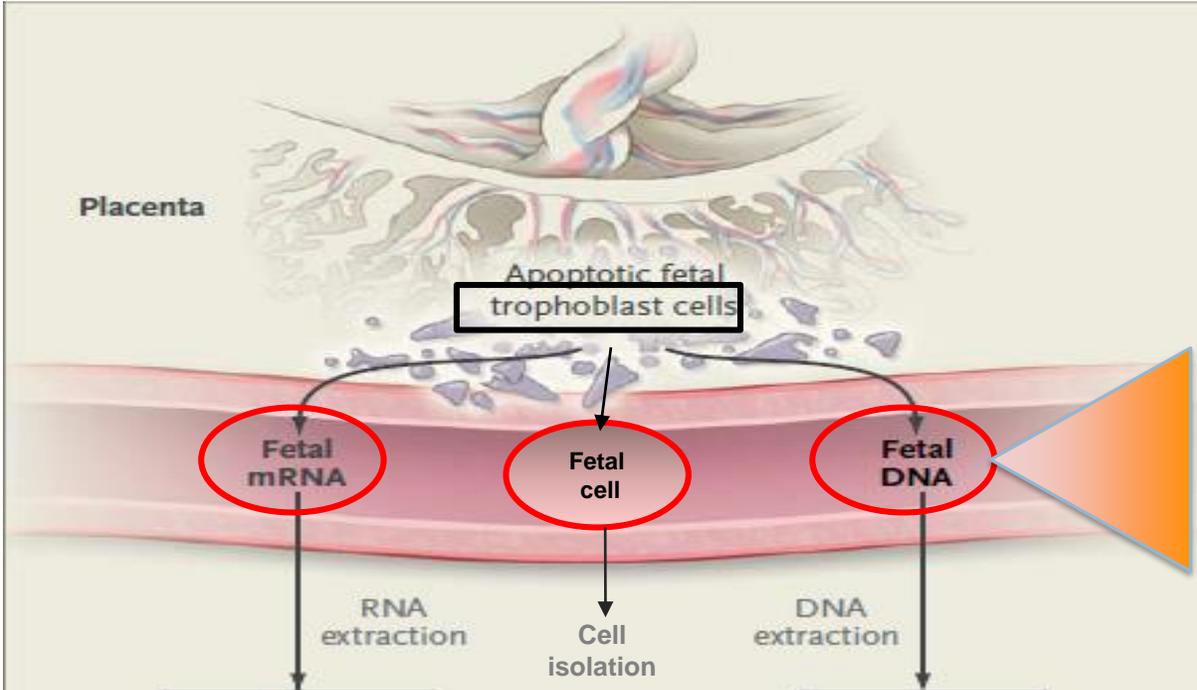
→ Nécessité d'un dépistage plus fiable et non invasif **DPNI**

Pourquoi faire du DPNI ?



- 1. Améliorer le dépistage des aneuploïdies et en particulier de la T21**
- 2. Diminuer le risque de pertes fœtales en diminuant le nombre de gestes invasifs**
- 3. Ne pas dégrader le diagnostic des autres anomalies chromosomiques déséquilibrées**

Concept du DPNI

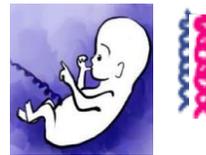
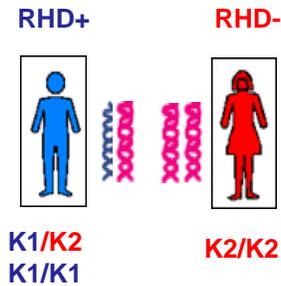
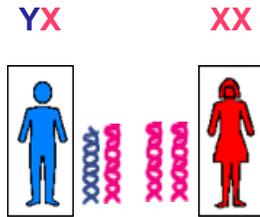
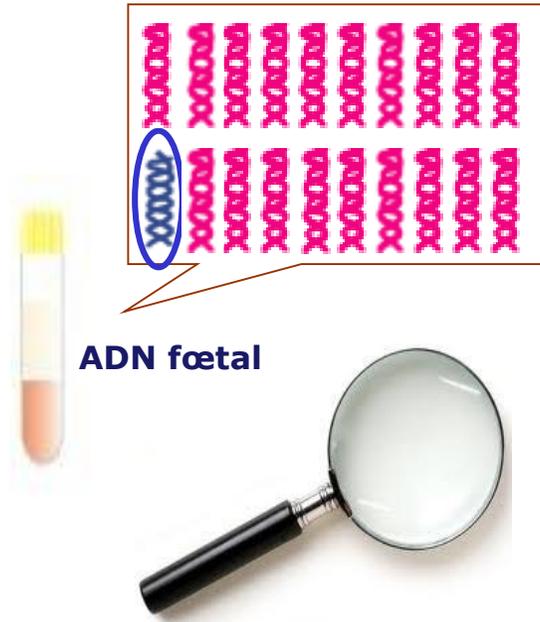


- Origine : ADN issu des cellules cyto/syncytiotrophoblastiques
- Apparition (détection) précoce dans la circulation maternelle avec détection vers 5-6 SA mais vraisemblablement relargage dès l'implantation de l'embryon
- Quantité augmente avec le terme de la grossesse → 10%
- Stable dans la circulation maternelle malgré une forte concentration en nucléases du plasma : association à des microparticules dérivées du placenta qui ont un rôle protecteur vis-à-vis de la dégradation
- Disparition rapide (<48h) après accouchement (1/2 vie 16 min)
- Pas de persistance après grossesse

TEST ADN libre circulant ADNlc

Comment ça marche ? Historique

Analyse qualitative : recherche de marqueurs fœtaux absents du génome maternel



■ Détermination du sexe Fœtal

- Maladies génétiques liées à l'X : DPN uniquement chez fœtus masculin
- Hyperplasie congénitales des surrénales (déficit en 21-hydroxylase)
- Ambiguïtés sexuelles échographiques, discordances caryotype/échographie

■ Génotypage RHD et Kell

- Allo-immunisation
- Intérêt: environ 35% des fœtus sont RhD-

■ Mutations géniques

- Achondroplasie, mucoviscidose...

Comment ça marche ? Historique

Et pour aller plus loin...



Analyse qualitative

Marqueurs fœtaux absents du génome maternel

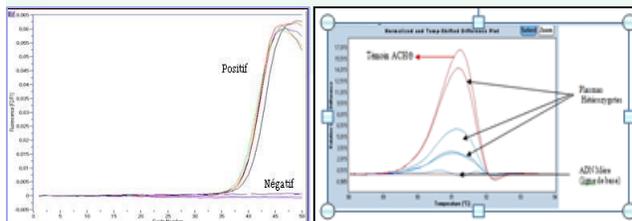


Analyse quantitative

Sur-représentation chromosomique fœtale

Aneuploïdies

PCR temps réel (Fret,HRM) et SNaPshot

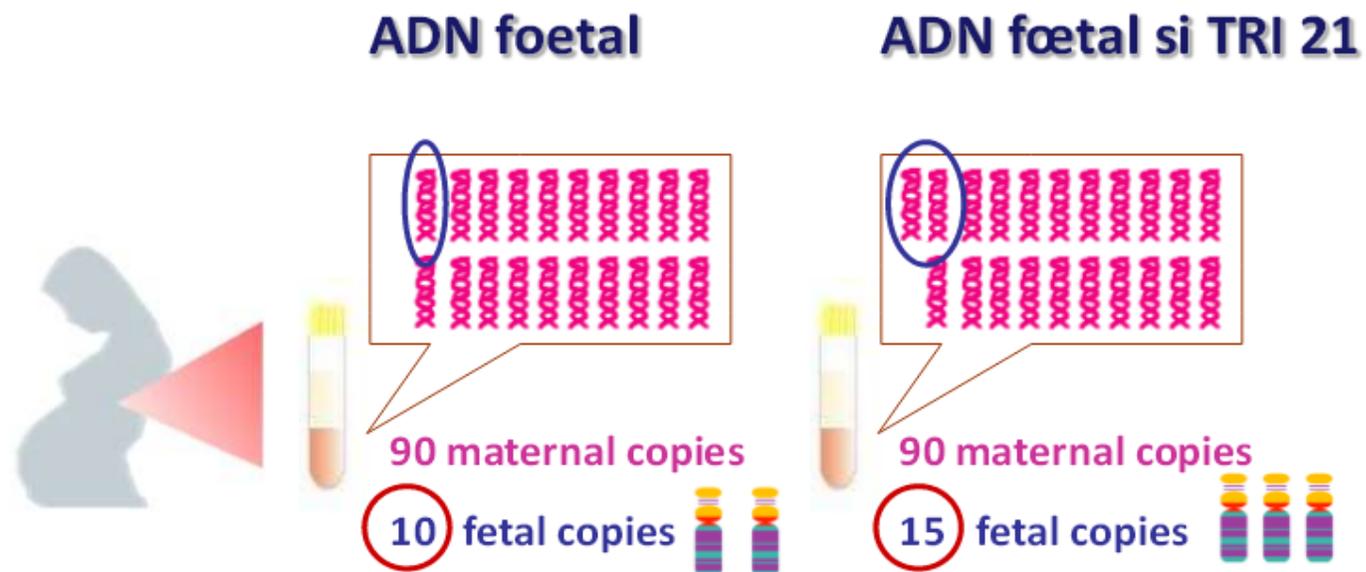


Comment ça marche ? Historique

Et pour aller plus loin...

Le génome foetal entier est représenté dans la circulation maternelle
MAIS pas de différence entre ADN foetal libre et ADN maternel libre

Ex : Chromosome 21, 100 copies



Chromosome 21 1,35% versus 1,45% de ADN

Comment ça marche ? Historique

Et pour aller plus loin...



1997 Découverte ADN fœtal plasmatique



ET BIEN MOI J'APPELLE ÇA
UNE GRANDE TRAVERSEE
DU DÉSERT!!



2011 Diagnostic non invasif de la trisomie 21 (USA)

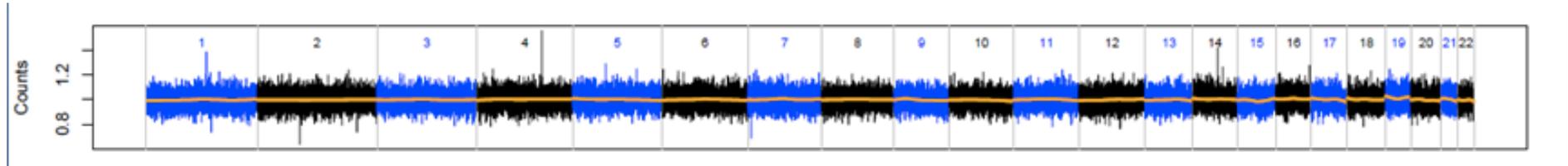
2013 NIPS (non invasif prenatal sequencing-CERBA)

DPNI : Dépistage Prénatal Non Invasif

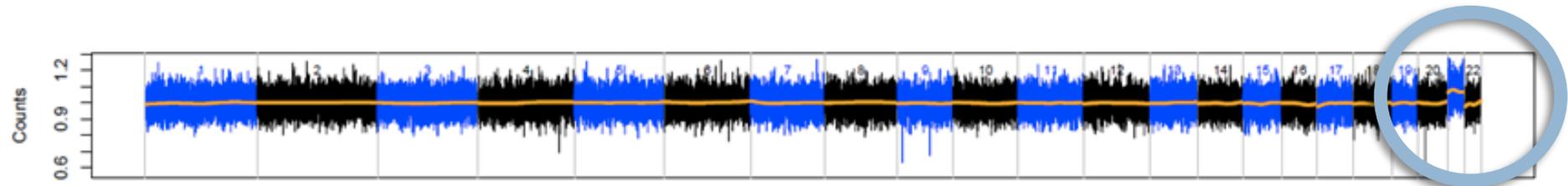
NIPT : Non Invasive Prenatal Testing

NIPD : Non Invasive Prenatal Diagnosis

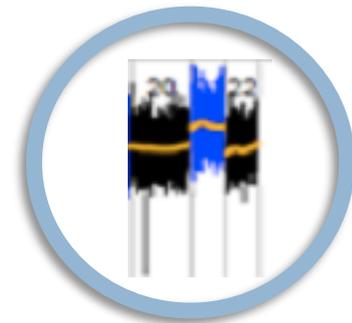
Comment ça marche ? *Une rupture technologique*



Témoin



Patiente positive pour T21



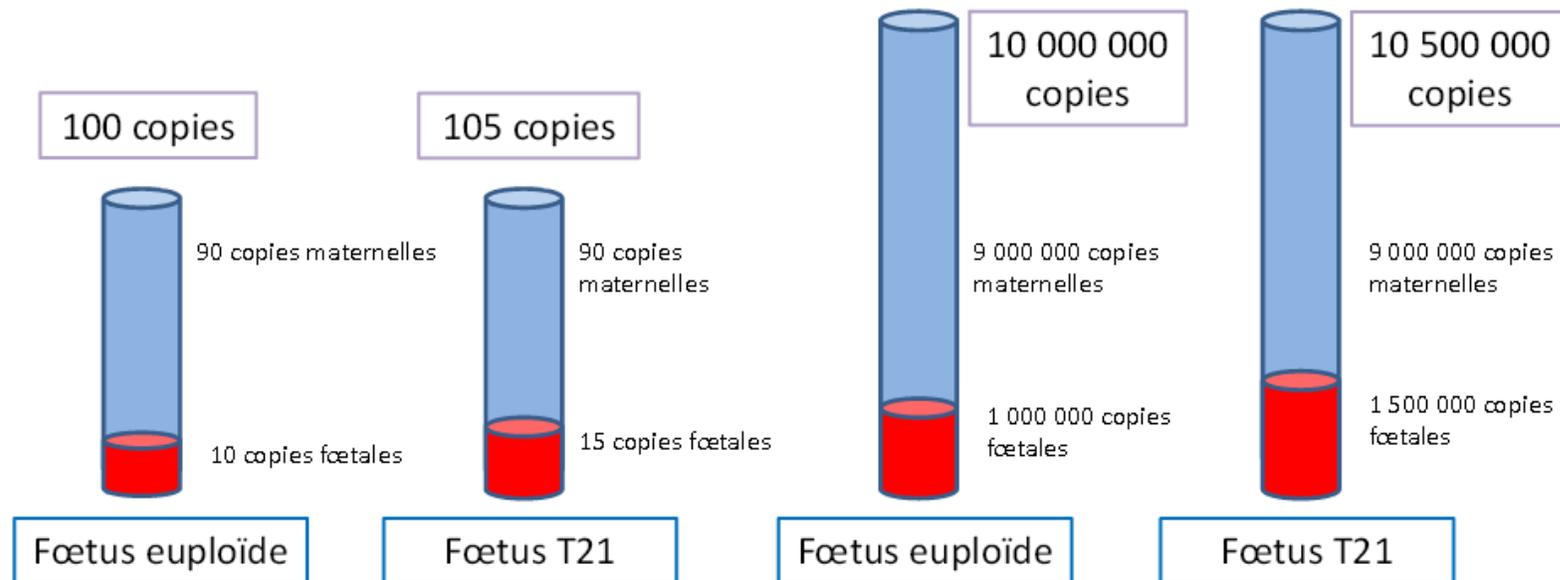
Comment ça marche ? *Une rupture technologique*

Séquençage Haut Débit NGS

Dosage chromosomique relatif :

Fœtus euploïde : 2 chromosomes 21

Fœtus T21: 3 copies par rapport à 2 copies → augmentation de 1,5 fois



Comment ça marche ? *Une rupture technologique*

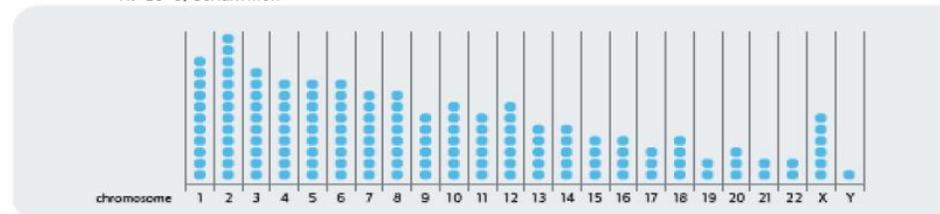
Séquençage Haut Débit NGS

Par run	Séquençage SANGER	Séquençage NGS Petit débit	Séquençage NGS Haut débit
Instrument	ABI3130XL	Illimuna MiSeq	Illimuna 1500
Taille des fragments	500bp	27bp	27bp
Nombre de reads	96	25 millions (single reads 36bp)	1.5 milliards (single reads 27bp)

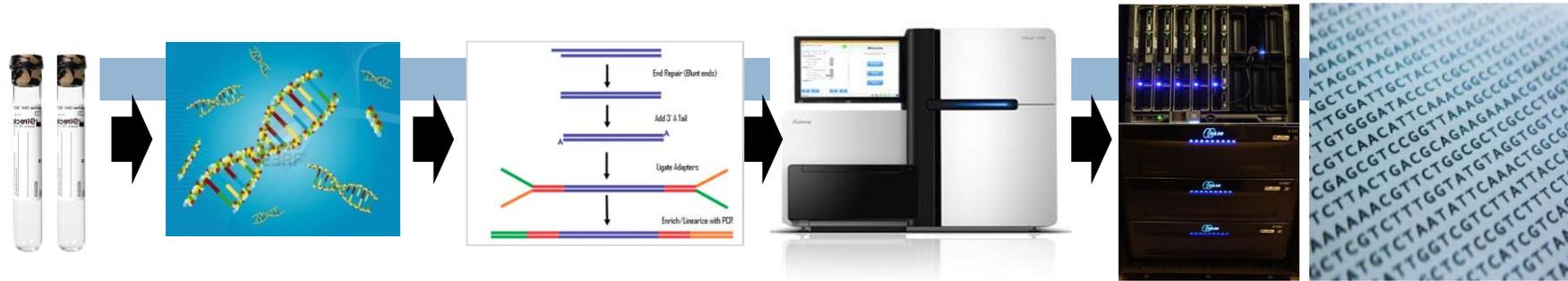


TCCGCCCAGGCCATGAGGGGACCTGGAAATGGCTGAT

x9 10⁺⁶/échantillon



Comment ça marche ? *Une rupture technologique*



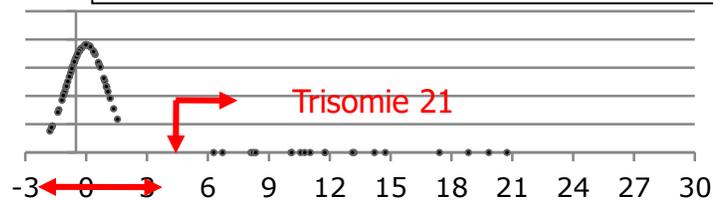
Calcul de la fraction chromosomique

=% séquences issues du chromosome 21 par rapport au total des chromosomes

Calcul du Z-score

distance entre le score brut et la moyenne de la population
= $\frac{\%21_{\text{sample}} - \text{mean}\%21_{\text{référence}}}{\text{SD médiane}\%21_{\text{référence}}}$

Interprétation

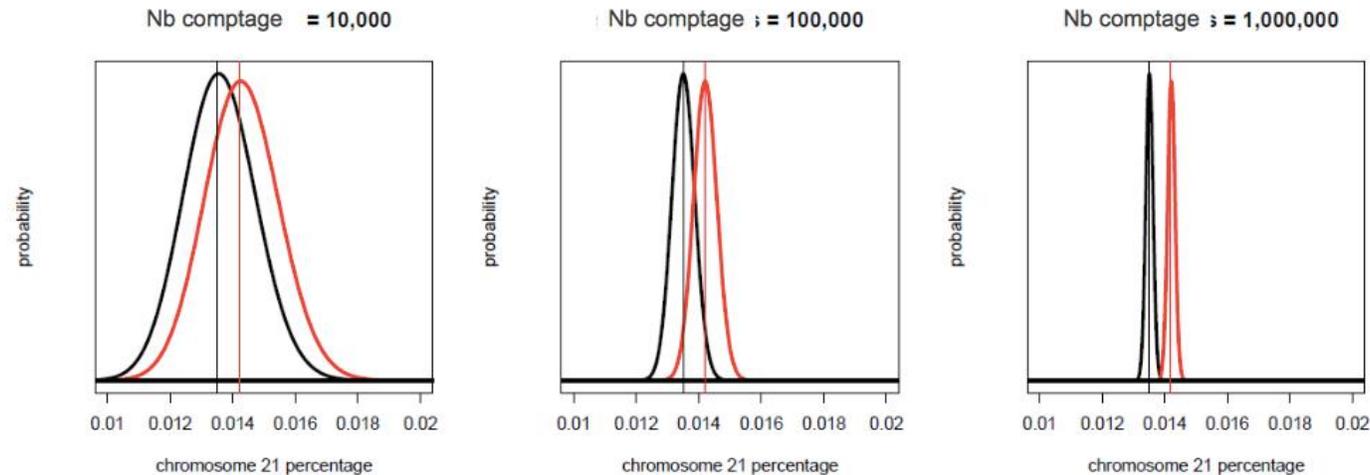


Comment ça marche ? *Une rupture technologique*

Séquençage Haut Débit NGS

CONCEPT DU TEST : DOSAGE CHROMOSOMIQUE RELATIF PAR MPS

- Mesure de Fraction chromosomique
- Comparaison statistique par rapport à une valeur attendue



Population "euploïde": quantité attendue ADN chromosome 21
Population "trisomique": quantité excessive ADN chromosome 21

Comment ça marche ? *Une rupture technologique*

Séquençage Haut Débit NGS

Validation clinique

Sensibilité et spécificité dans des «populations à risque accru de T21»

	DPNI T21
Sensibilité	98,4% [IC 95 % : 97,6 %-98,9 %]
Faux-Positifs	0,2% [IC 95% : 0,1 %-0,4 %]

HAS volet 1 : Les performances des tests de dépistage de la trisomie 21 foetale par analyse de l'ADN libre circulant. Métaanalyse sur 20 études. Septembre 2015.

Comment ça marche ? *Une rupture technologique*

Séquençage Haut Débit NGS

Validation clinique

Sensibilité et spécificité en «population générale»

	DPNI T21	Dépistage combiné T21
Sensibilité	96,9 % [IC 95 % : 94,1 %-98,4 %]	84,7 %
Faux-Positifs	0,1 % [IC 95% : 0 %- 0,1 %]	4,2 %

HAS volet 1 : Les performances des tests de dépistage de la trisomie 21 foetale par analyse de l'ADN libre circulant. Métaanalyse sur 20 études. Septembre 2015.

Comment ça marche ? *Une rupture technologique*

Séquençage Haut Débit NGS

Validation clinique
Sensibilité et spécificité en «population générale»

	Trisomie 18	Trisomie 13
Sensibilité	96,3% [IC 95 % : 94,3 %-97,9 %]	91 % [IC 95% CI, 85.0–95.6%]
Faux-Positifs	< 0,3 %	< 0,4 %

En pratique...

Comment faire et que dire ?



1. Le test ADN libre circulant de la T21 ne se substitue pas au dépistage par les marqueurs sériques...(pour l'instant)

2. Le test ADN libre circulant de la T21 peut être effectué à partir de 11 SA

APRES l'écho T1



vérification de l'évolutivité de la grossesse

datation précise de la grossesse

mesure de la clarté nucale

identification des grossesses multiples et des malformations fœtales

En pratique...

Comment faire et que dire ?

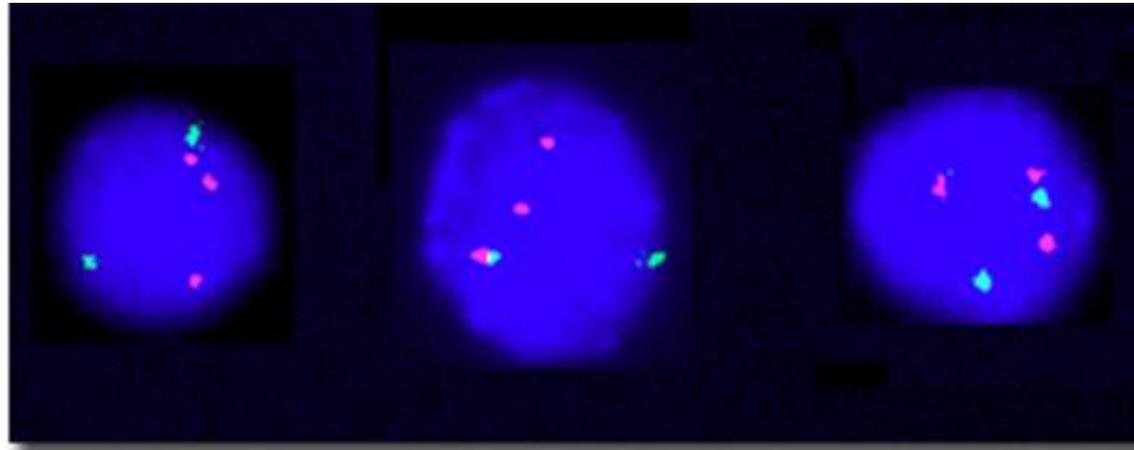
3. Il ne s'agit pas d'un caryotype

- ***Sont recherchées :***
 - ***Une augmentation de la représentation des chromosomes 21,13 et 18***
- ***Ne sont pas recherchés***
 - les anomalies de nombre des chromosomes sexuels (monosomie X, 47,XXY...)
 - les syndromes microdélétionnels : syndrome de Wolf-Hirschhorn, syndrome de Di George, syndrome de Williams...
 - les autres anomalies de structure déséquilibrées
- ***Ne sont pas diagnostiquées***
 - les triploïdies
 - certains cas de trisomie en mosaïque
 - les mutations géniques (le caryotype non plus !)

En pratique...

Comment faire et que dire ?

3. Il ne s'agit pas d'un caryotype, c'est plutôt à comparer à une FISH interphasique sans le comptage X et Y



En pratique...

Comment faire et que dire ?

4. SAE y compris CN \geq 3,5 mm : CONTRE-INDICATION

marqueurs sériques,
âge maternel,
ATCD d'aneuploïdie,
sans signe écho

**signes
d'appel
écho**

Anomalies chromosomiques	8,4%	30,6%
T21, T18 ou T13	5,3%	23,1%
Autres anomalies non recherchées	3,1%	7,5%
Pathologiques	0,5%	5,4%
non pathologiques	2,6%	2,1%

Cell-free DNA analysis in maternal plasma in cases of fetal abnormalities detected on ultrasound examination.

Obstet Gynecol. 2015 Jun;125(6):1330-7. Benachi A et al . Collaborative SEquençage a Haut Debit et Aneuploidies (SEHDA) Study Group

En pratique...

Comment faire et que dire ?

5. Sensibilité < 100% : un test négatif n'exclut pas totalement une T21

- Trisomie 21 en mosaïque
- IMC maternel élevé



Suivi échographique indispensable

Si indication de geste invasif



caryotype

En pratique...

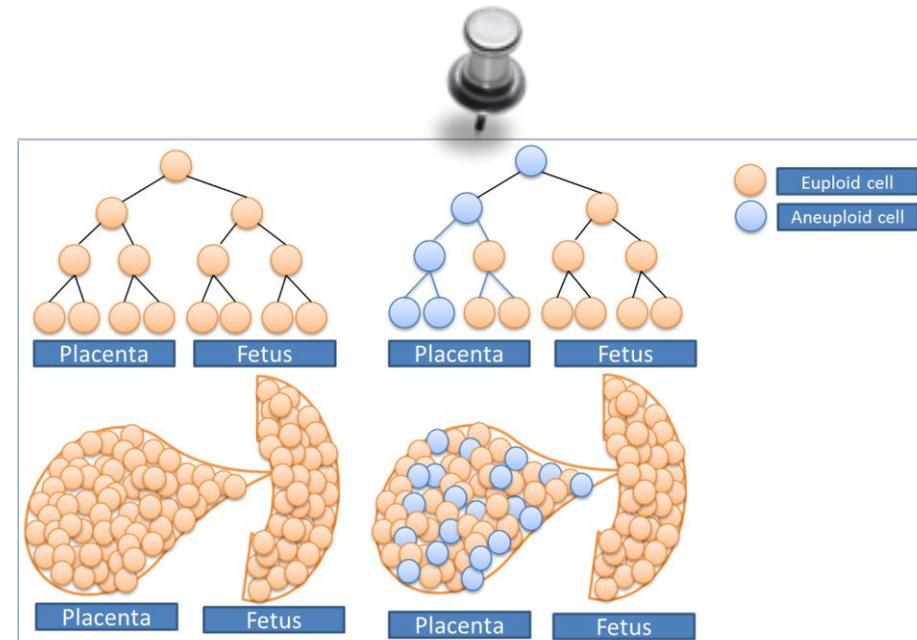
Comment faire et que dire ?

6. Spécificité < 100%

TOUT RESULTAT POSITIF DEVRA ETRE CONFIRME PAR LA REALISATION D'UN CARYOTYPE APRES GESTE INVASIF !!! LIQUIDE AMNIOTIQUE

Faux positifs 0,1 à 0,2 %

- Mosaïques confinées au placenta
- Jumeaux évanescents
- Cause maternelle (cancer)



En pratique...

Comment faire et que dire ?

7 - Il existe des possibilités d'échec (Résultat ininterprétable) Amniocentèse proposée après 2 résultats ininterprétables

- **0,2 à 0,6%**
- **Origines possibles**
 - **fraction ADNf < 4% (notamment si IMC très élevé)**
 - **Pathologie placentaire**

En pratique...

Comment faire et que remplir ?

- ✦ **Sous prescription durant une consultation appropriée avec un médecin/SF/conseiller en génétique**
 - ✦ **Ayant l'expérience du dépistage prénatal et du suivi**
 - ✦ **Information sur les indications, contre-indications et limites du test**
- ✦ **Ordonnance précisant : « test génétique non invasif de la trisomie 21 foetale » ou « Demande de test génétique non invasif de la trisomie 21 et des autres aneuploïdies foetales » ou « Demande de dépistage de la trisomie 21 par ADN libre circulant » ADNlc**
- ✦ **Feuille de demande spécifique du labo (CERBA, BIOMNIS...)**
- ✦ **Joindre les justifications, TOUJOURS l'échoT1, attestation d'information et consentement**

En pratique...

Comment faire et que remplir ?

Prélèvements

- ◆ **Après 11 SA**
- ◆ **Tubes spécifiques**

Prise en charge

- ◆ **Test faisant partie depuis le 14 décembre 2018 du parcours de soin de la femme enceinte**
- ◆ **Remboursé par la CNAM dans des indications précises**

En pratique...

Comment faire et que remplir ?

Résultat rendu au prescripteur qui est le seul habilité à le rendre à la patiente

✦ **Délai de 7 jours environ**

✦ **Résultat (13,18,21) : Positif : surreprésentation**

Négatif : absence de surreprésentation

Pour qui ?

Dépistage Marqueurs sériques plaçant dans un groupe à risque

- **Dépistage de référence : risque combiné du 1^{er} trimestre**
Mesure de la CN1T+ MS1T entre 11 SA et 13 SA + 6 J
- **A défaut, en l'absence de dépistage du 1^{er} trimestre,**
MS2T seuls entre de préférence 15 SA (possible dès 14) et 17 SA + 6 J
- **Possibilité de MS tardifs (Hôpital Robert Debré) jusqu'à 35 SA**
- **Risque séquentiel (CN1T + MS2T)**
Ne peut plus être prescrit (sensibilité faible)

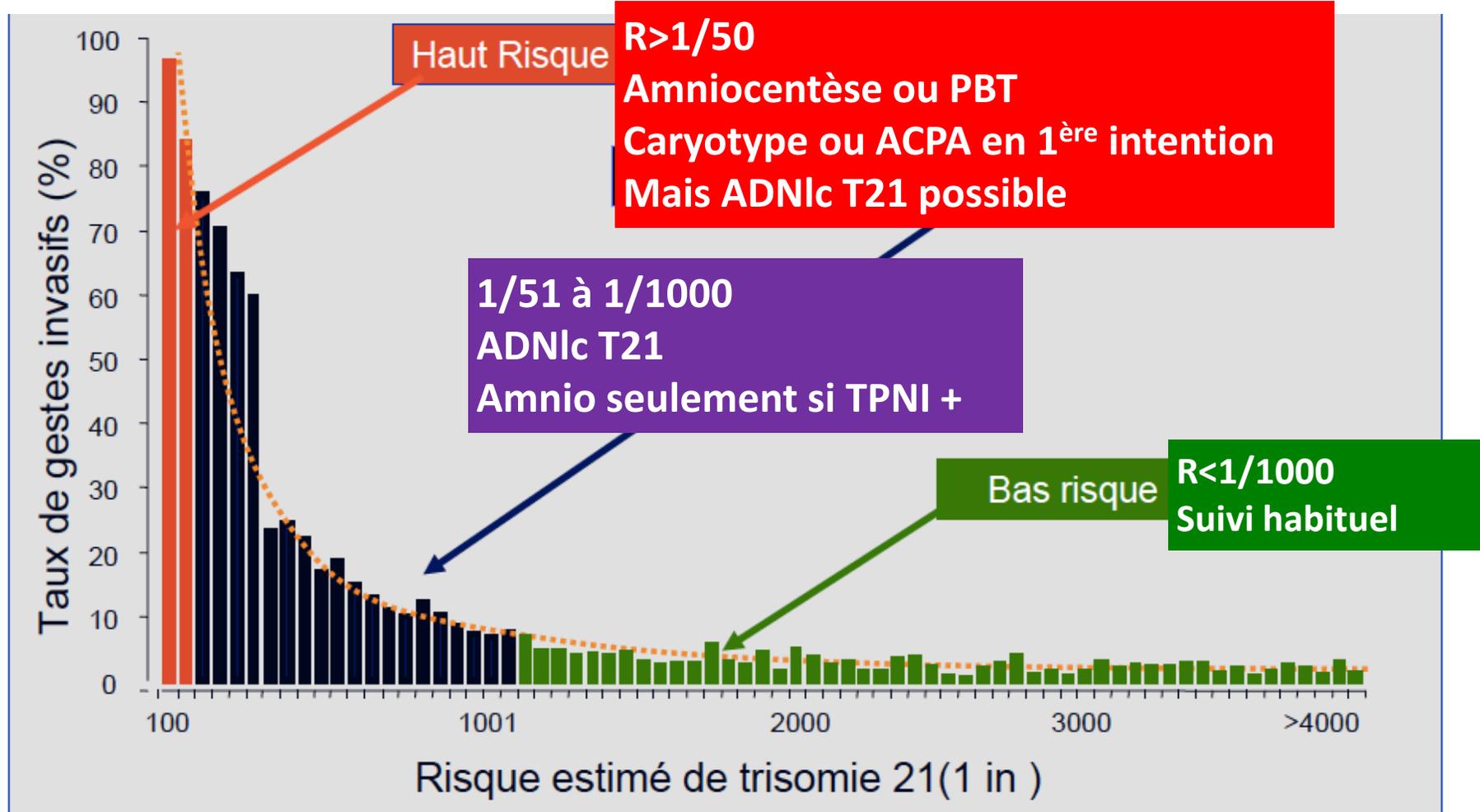
Pour qui ?

Dépistage de la Trisomie 21 sur ADN libre circulant ADNlcT21 pris en charge pour les indications suivantes

B1344 (soit 362,88 euros)

- Patiente avec MSM compris entre **1/51 et 1/1000** (*Risque intermédiaire*)
- Patiente avec $MSM > \text{ ou } = 1/50$ (\rightarrow *Haut risque*) préférant un ADNlc à un prélèvement invasif
- Grossesse gémellaire
- Antécédent de grossesse avec trisomie 21
- Parent porteur d'une translocation robertsonienne impliquant un chromosome 21

Pour qui ?



Pour qui ?

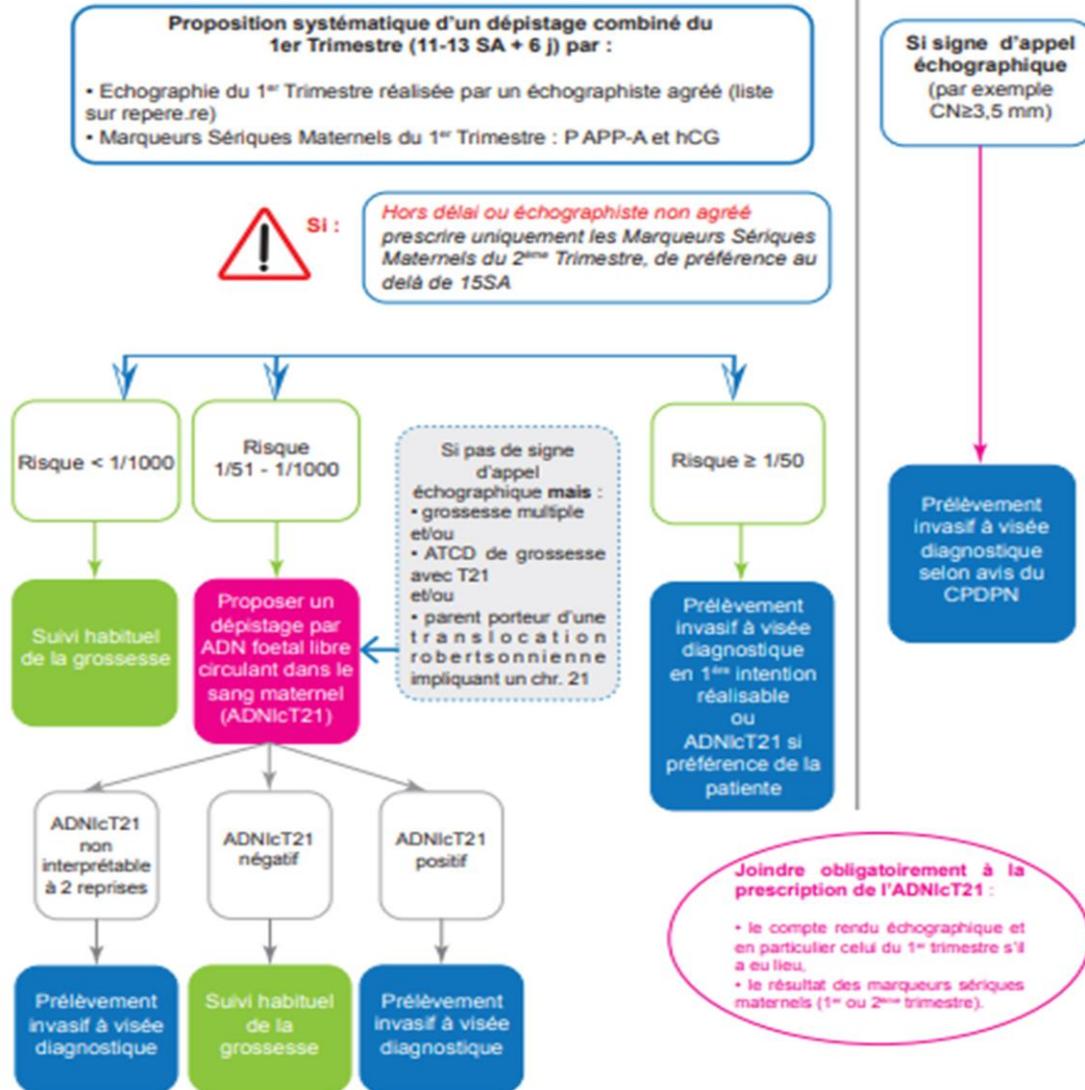
Dépistage de la Trisomie 21 sur ADN libre circulant ADNlc pris en charge pour les indications suivantes

B1344 (soit 362,88 euros)

- Patiente avec MSM compris entre 1/51 et 1/1000
- Patiente avec MSM > ou = 1/50 préférant un ADNlc à un prélèvement invasif
- **Grossesse gémellaire**
- **Antécédent de grossesse avec trisomie 21**
- **Parent porteur d'une translocation robertsonienne impliquant un chromosome 21**

Dépistage de la Trisomie 21

depuis l'arrêté du 14 décembre 2018



- Le dépistage séquentiel intégré au 2^{ème} trimestre ne doit plus être réalisé.
- Un dépistage tardif seul (18-35 SA) peut être réalisé et donner lieu à un ADNcT21 pris en charge si risque >1/1000.

Pour qui ?

Dépistage de la Trisomie 21 sur ADN libre circulant ADNlc prescrit APRES

ACCORD DU CPDPN

MAIS non pris en charge

RIHN – Accord CHU

- **MSM atypiques PAPP-A < 0,3 MoM**

Pour qui ?

Autres aneuploïdies (Trisomies 13 et 18)

Indication de l'ADNlc T21 après accord du CPDPN

...mais non pris en charge par la CPAM (RIHN Accords locaux)

- ATCD de grossesse avec Trisomie 13 ou trisomie 18
- Parent porteur d'une translocation robertsonienne impliquant le chromosome 13

Prise en charge du caryotype prénatal

B1250 soit 392 euros soumis à entente préalable avec le ou les compte-rendus d'examen(s) antérieurs(s)

- **ADNlc positif pour la trisomie 21**
- **ADNlc non exploitable (2 examens consécutifs)**
- **MSM T1 ou T2 $>$ ou $= 1/50$**
- **Anomalie chromosomique parentale**
- **ATCD pour le couple de grossesse avec caryotype anormal**
- **Signe d'appel échographique, y compris CN $>$ ou $= 3,5$ mm**
- **Age de la patiente $>$ ou $= 38$ ans sans dépistage, à titre exceptionnel**

Prise en charge de la FISH interphasique

B500 soit 135 euros

- **Signe d'appel échographique, y compris CN $>$ ou $=$ 3,5 mm**
- **MSM T1 ou T2 $>$ ou $=$ 1/50**
- **ADNlcT21 positif pour la trisomie 21**
- **ADNlcT21 non exploitable (2 examens consécutifs)**