

# TEST PRÉNATAL NON INVASIF : MODE D'EMPLOI

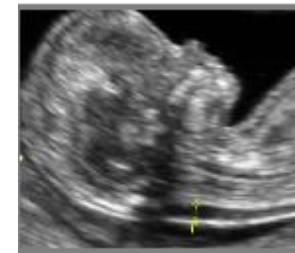
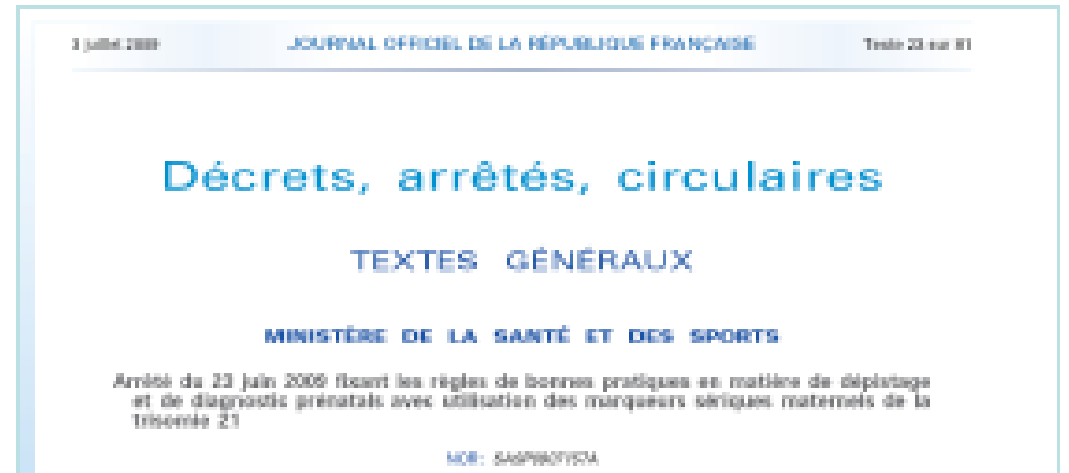
DR PAYET FRÉDÉRIQUE

6<sup>E</sup> JOURNÉES RÉUNIONNAISES OBSTÉTRICO-PÉDIATRIQUES – 12 AVRIL 2018



# CONTEXTE

- Juillet 2009 : Mise en place du **dépistage combiné de la Trisomie 21** foetale prenant en compte :
  - Age maternel
  - Mesure de la clarté nucale entre 11SA et 13SA+6j
  - Dosage de la bHCG et PAPP-A dans le sang maternel
  
- **Seuil = 1/250**
- **Détection de 86% des trisomies 21 pour un taux de 5% de faux-positif**



# CONTEXTE

**Bilan national 2009-2011**

agence de la  
Diomédecine

**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
<b>TOTAL</b>	<b>57513</b>	<b>823</b>	<b>24814</b>	<b>825</b>	<b>23038</b>	<b>858</b>

→ - 50% de gestes invasif

3,72% !!!!

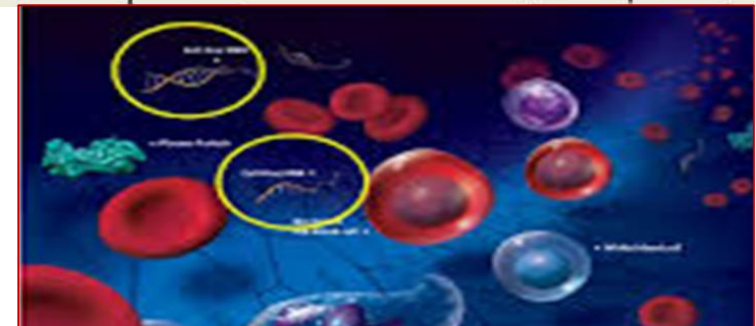
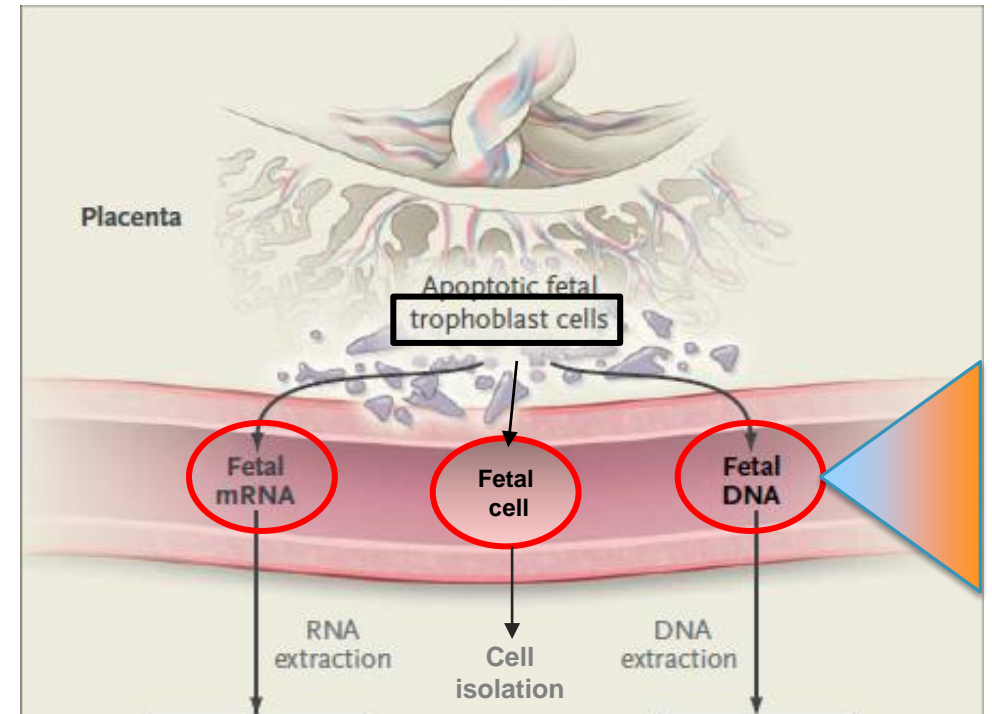
- 96% de gestes invasif pour des fœtus non porteurs de Trisomie 21
- **Nécessité d'un dépistage PLUS FIABLE et NON INVASIF**

# OBJECTIFS DU TPNI

- Améliorer le dépistage des aneuploïdies, en particulier de la trisomie 21
- Diminuer le risque de perte fœtale due aux gestes invasifs
- Ne pas détériorer le diagnostic des autres anomalies chromosomiques déséquilibrées

# CONCEPT

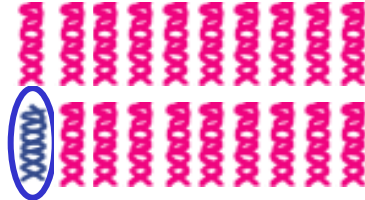
- ADN issu des cellules cyto/syncytiotrophoblastiques
- Apparition précoce dans le sang maternel 5-6SA (probable relargage dès l'implantation)
- Quantité augmentant avec le terme de la grossesse (10%)
- Stable dans la circulation maternel (protégé par association avec microparticules placentaires)
- Disparition rapide après l'accouchement (<48h)
- Pas de persistance après la grossesse



# COMMENT CA MARCHE ?

## ■ ANALYSE QUALITATIVE

- Recherche de **marqueurs fœtaux absents du sang maternel**



- Détermination du sexe fœtal
- Génotypage Rhésus
- Recherche de mutation DE NOVO



PCR temps réel

## ■ ANALYSE QUANTITATIVE

- Recherche d'une **surreprésentation chromosomique fœtale**



- Aneuploïdies

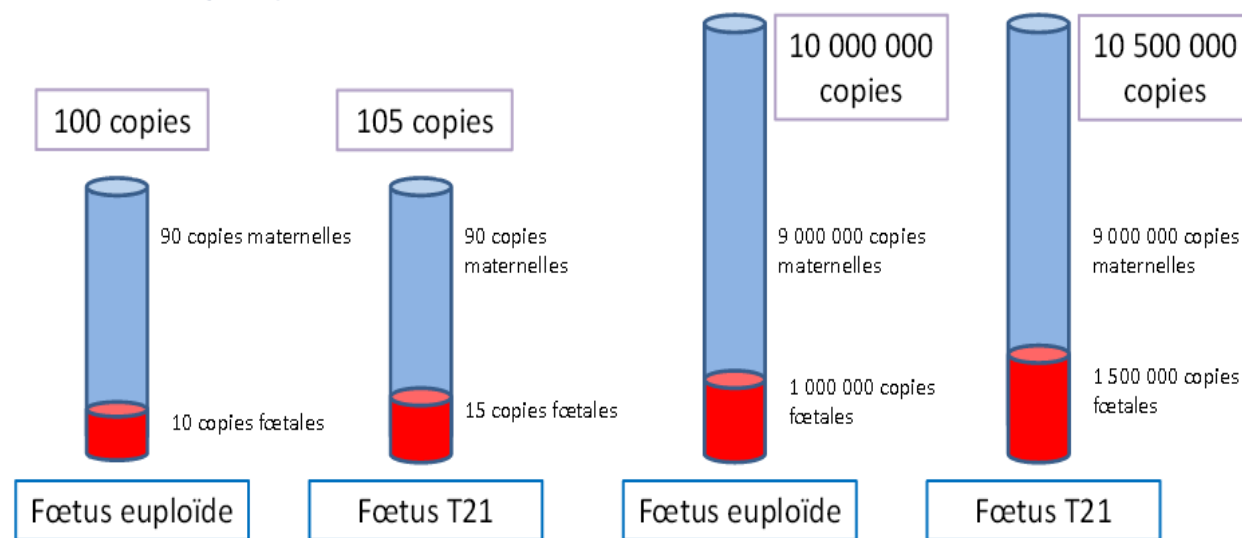
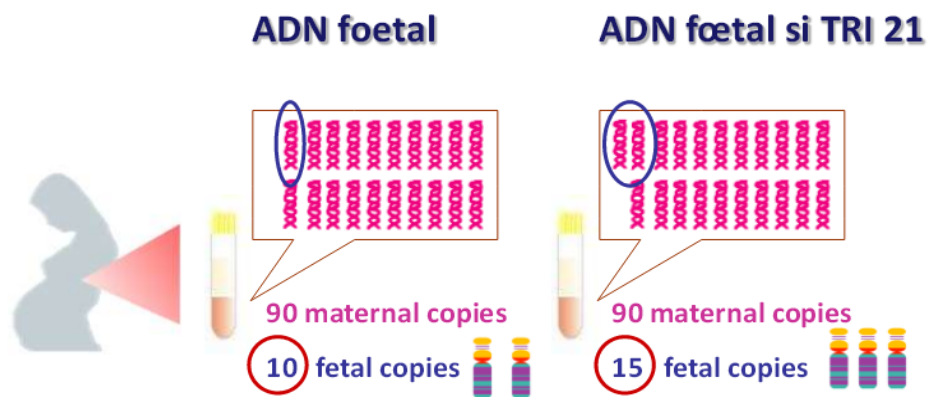


Séquençage haut-débit (depuis 2013 en France)

# COMMENT CA MARCHE ?

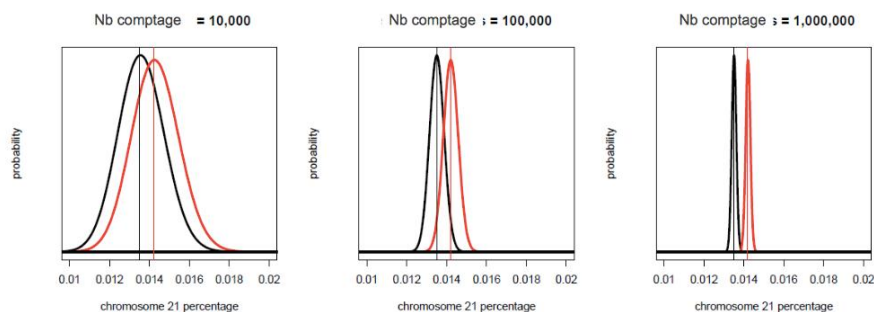
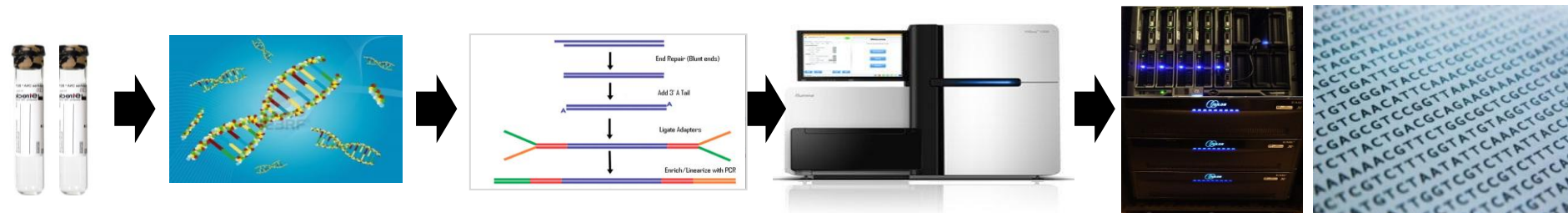
- Le génome fœtal est présent en entier dans la circulation maternelle **mais il n'existe pas de différence entre l'ADN libre circulant fœtal et l'ADN libre circulant maternel = dosage chromosomique relatif**

Ex : Chromosome 21, 100 copies



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

# COMMENT CA MARCHE ?



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

## Calcul de la fraction chromosomique

=%21 séquences de l'échantillon par rapport au total des chromosomes

## Calcul du Z-score

distance entre le score brut et la moyenne de la population  
 =%21sample-mean%21référence/SD médiane%21référence

**Interprétation : comparaison statistique par rapport à une valeur attendue**





ET EN PRATIQUE ...

QUE FAIRE ET QUE DIRE ??

# LÉGISLATION



- HAS 2017 : Place des test ADN libre circulant dans le sang maternel dans le dépistage de la trisomie 21 foetale
- ACLF : Recommandations pour le dépistage des anomalies chromosomiques foetales par l'étude de l'ADN libre circulant (ADNlc) \_version 3.2017

# QUI PEUT PRESCRIRE UN DPNI ?

- **Loi n° 2011-814 (7 juillet 2011 relative à la bioéthique)**
- **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**

## QUE DIRE ?

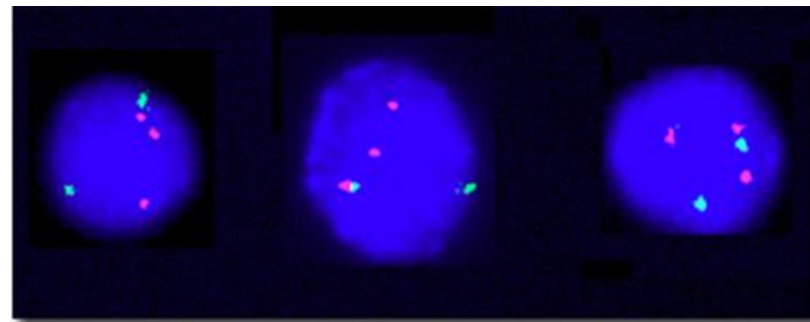
- Le TPNI **ne se substitue pas** au dépistage par marqueurs sériques.
- Le TPNI peut être réalisé **à partir de IISA:**
  - **après Echographie TI ++++** : datation de la grossesse, identification des grossesses multiples, mesure de la clarté nucale, identification de malformations fœtales

# QUE DIRE ?

- Il ne s'agit pas d'un caryotype fœtal :

NON RECHERCHE	NON DIAGNOSTIQUE
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Anomalies des chromosomes sexuels (monosomie X,...)</li><li>➤ Syndromes micro-délétionnels (Di-George, ...)</li><li>➤ Anomalies de structures déséquilibrés</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Triploïdies</li><li>➤ Aneuploïdies en mosaïque</li><li>➤ Mutations géniques (le caryotype non plus)</li></ul>

- Il faut plutôt le comparer à une FISH interphasique sans comptage des chromosomes X et Y:



Probable  
trisomie 21

# QUE DIRE ?

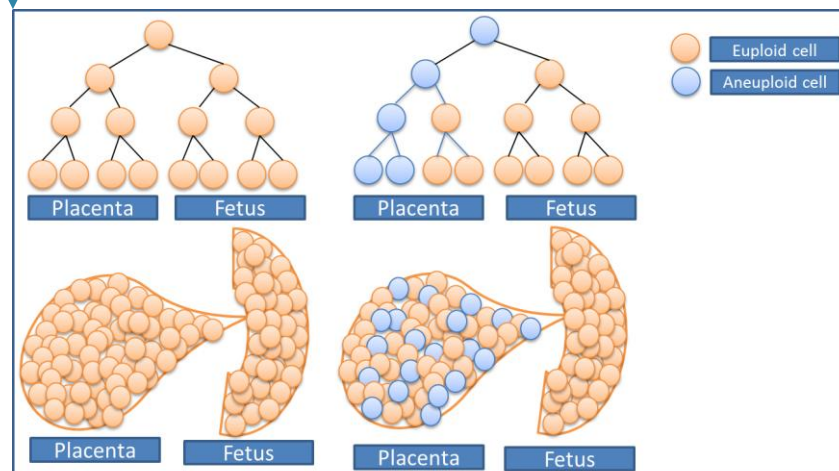
- **Sensibilité < 100% : un test négatif n'exclut pas une aneuploïdie**
  - Mosaique
  - IMC maternel élevé
- **Suivi échographie indispensable**

	<b>DPNI T21</b>
Sensibilité	<b>98,4%</b> [IC 95 % : 97,6 %-98,9 %]
Faux-Positifs	<b>0,2%</b> [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.

# QUE DIRE ?

- **Spécificité < 100% : un test POSITIF devra être confirmé par un caryotype foetal parès geste invasif !!!!!**
- Mosaique confiné au placenta
- Jumeau évanescent (FIV++)
- Cause maternelle (cancer)



	DPNI T21
Sensibilité	<b>98,4%</b> [IC 95 % : 97,6 %-98,9 %]
Faux-Positifs	<b>0,2%</b> [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.

## QUE DIRE ?

- **Risque d'échec (Résultat ininterprétable) : 0,2 -0,6%**
- Fraction fœtale faible (prélèvement trop précoce, IMC maternel élevé)
- Pathologie placentaire
- 2<sup>e</sup> prélèvement à quelques semaines d'intervalle, si 2 échec consécutifs: amniocentèse possible



## QUE DIRE ?

- Signes d'appel échographique y compris Clarté nucale  $>$  ou  $=$  3,5 mm : CONTRE-INDICATION

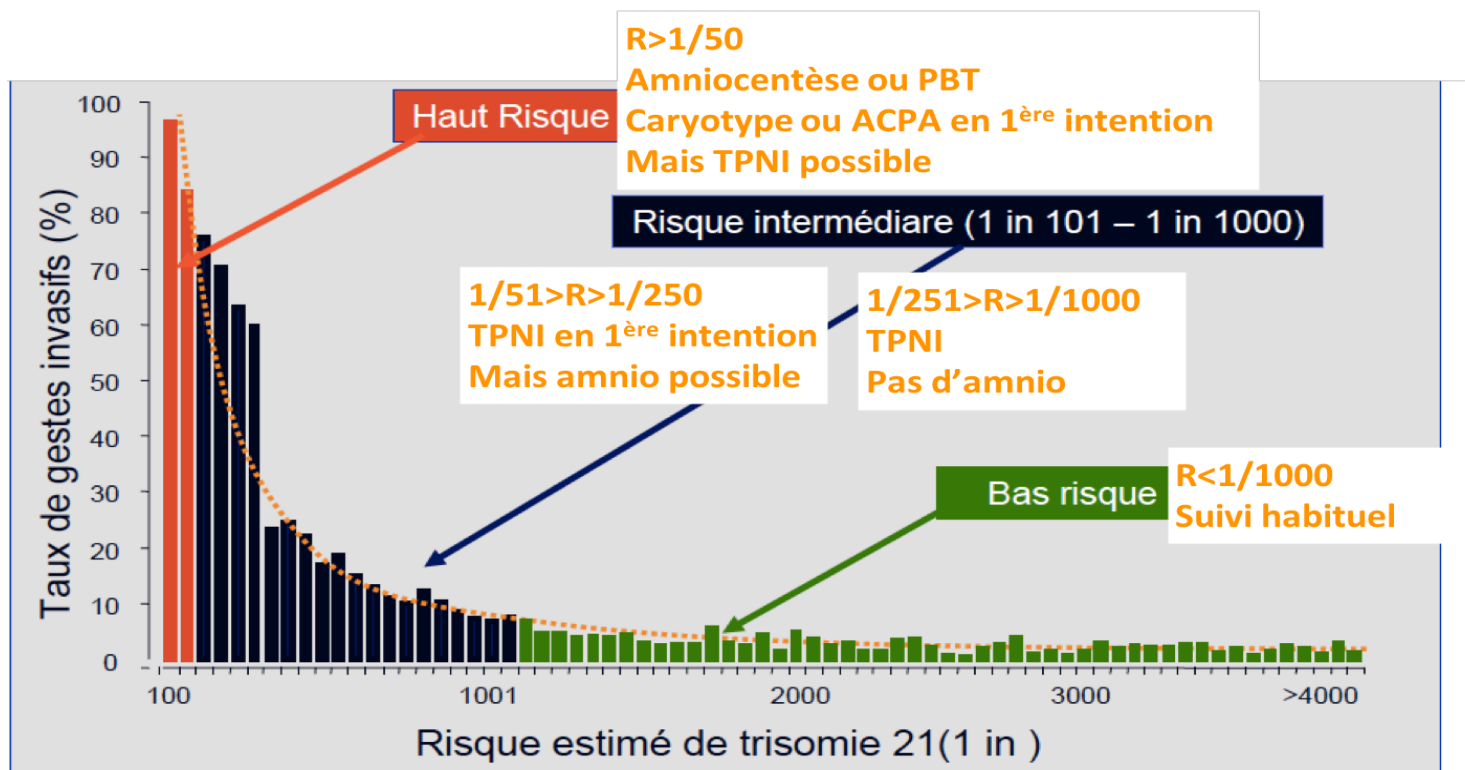
	marqueurs sériques, âge maternel, ATCD d'aneuploïdie, sans signe écho ↓	signes d'appel écho ↓
Anomalies chromosomiques	8,4%	30,6%
T21, T18 ou T13	5,3%	23,1%
Autres anomalies non recherchées	3,1%	7,5%
Pathologiques	0,5%	5,4%
non pathologiques	2,6%	2,1%

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

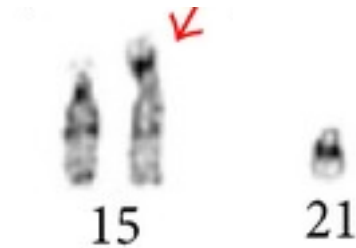
# INDICATIONS : A QUI PRESCRIRE LE TPNI ?

- Femmes ayant bénéficié d'un dépistage de la trisomie 21 par les marqueurs sériques (1<sup>er</sup> ou 2<sup>e</sup> trimestre) les plaçant dans un groupe à risque intermédiaire (1/50-1/1000) ou élevé (1-1/50) si elle ne souhaite pas de geste invasif:



# INDICATIONS : A QUI PRESCRIRE LE TPNI ?

- Femmes ayant un risque accru d'aneuploïdie fœtale :
  - Antécédent personnel de grossesse avec trisomie 21, 13 ou 18
  - Couple dont l'un des membres est porteur d'une translocation robertsonienne impliquant les chromosomes 13 ou 21



- Age maternel >38 ans **UNIQUEMENT SI PAS DE DEPISTAGE** par les marqueurs sériques

## INDICATIONS : A QUI PRESCRIRE LE TPNI ?

- **Grossesse gémellaire en 1<sup>re</sup> intention** (marqueurs sériques non fiables)
- **Profil de marqueurs sériques atypiques : sous-estimation du risque d'aneuploïdie fœtale**



**CONTRE-INDICATION ABSOLUE :**

**Présence d'un SIGNE D'APPEL  
ECHOGRAPHIQUE,**

**y compris Clarté Nucale  $>$  ou  $=$  3,5**

# COMMENT PRESCRIRE UN TPNI ? DELAI ?

- **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 »**
- **Feuille de demande spécifique du labo (BIOMNIS...)**
  
- **Joindre les justifications :**
  - Echographie T1 ++, si non disponible CR échographique normal
  - attestation d'information et consentement (1 copie pour le labo et 1 copie pour la patiente )
  
- **Résultat en 10 jours environ** par courrier au prescripteur
  - Positif (Surreprésentation)
  - Négatif (Absence de surreprésentation)

■ <https://www.biomnis.com/services/referentiel-des-examens/page/DPNI/>



**Bon de demande**  
**Dépistage des trisomies 21, 18 et 13**  
 par analyse de l'ADN libre circulant (ADNlc ou DPNI)

**PRESCRIPTEUR**  
 N° RPPS : \_\_\_\_\_  
 Nom : \_\_\_\_\_ Prénom : \_\_\_\_\_  
 Adresse : \_\_\_\_\_  
 CP : \_\_\_\_\_ Ville : \_\_\_\_\_  
 Tél. : \_\_\_\_\_ Fax : \_\_\_\_\_  
 Email : \_\_\_\_\_

Réservé  
 Laboratoire Eurofins Biomnis  
 Etiquette code-barre

**PATIENTE**  
 Nom : \_\_\_\_\_ Adresse : \_\_\_\_\_  
 Nom de naissance : \_\_\_\_\_  
 Prénom : \_\_\_\_\_ CP : \_\_\_\_\_ Ville : \_\_\_\_\_  
 Date de naissance : \_\_\_\_\_

**RENSEIGNEMENTS CLINIQUES**  
 Taille \_\_\_\_\_ cm Poids de la patiente \_\_\_\_\_ kg  
 Prise de médicaments : \_\_\_\_\_  
 Date de début de grossesse : \_\_\_\_\_  
 Fécondation in vitro :  Oui  Non Date d'implantation : \_\_\_\_\_

**RECOMMANDATIONS**  
 Marqueurs sériques maternels (risque supérieur ou égal à 1/1000) sans hyperclarté nucale (clarté nucale inférieure à 3,5 mm) ou autre anomalie échographique. *Joindre la copie du résultat des marqueurs sériques maternels*  
 Antécédent de grossesse avec trisomie 21, 18 ou 13 - *Joindre la copie du résultat*  
 Couple dont l'un des membres est porteur d'une translocation robertsonienne impliquant un chromosome 13 ou 21 - *Joindre la copie du résultat*  
 Age maternel supérieur ou égal à 38 ans pour les patientes n'ayant pas bénéficié du dosage des marqueurs sériques  
 Grossesse gémellaire sans hyperclarté nucale (clarté nucale inférieure à 3,5 mm) ou autre anomalie échographique.  
 Autre : \_\_\_\_\_ - *Contactez les biologistes en charge de l'examen au 04 72 80 25 99.*

**Important**  
 Avant d'envoyer le prélèvement au laboratoire Eurofins Biomnis, merci de bien vérifier que vous transmettez les documents ci-joints :  
 • La prescription médicale  
 • Le bon de demande d'examen dûment renseigné  
 • L'attestation spécifique d'information et consentement éclairé, signée par la patiente et le prescripteur  
 • Une copie du compte-rendu de l'échographie du 1<sup>er</sup> trimestre  
 • Les documents indiqués dans le bon de demande, selon l'indication

**LABORATOIRE**  
 Ce test nécessite un matériel de prélèvement spécifique. Nous mettons à votre disposition un kit de prélèvement dédié disponible sur la boutique en ligne Biomnis Connect > commande en ligne > Kit de prélèvement à l'unité > Référence K17.  
 Prélèvement réalisé le : \_\_\_\_\_ à \_\_\_\_\_ h \_\_\_\_\_ min  
 Facturation Laboratoire  Facturation Patiente  
 \*Joindre impérativement le chèque de règlement de 390€ à l'ordre du Laboratoire Biomnis.



**Attestation d'information et consentement**  
**Dépistage des trisomies 21, 18 et 13**  
 par analyse de l'ADN libre circulant (ADNlc ou DPNI)

Ce document doit être réalisé en 3 exemplaires (patiente, prescripteur, Laboratoire Eurofins Biomnis).

Ce test génétique de dépistage des trisomies 21, 18 et 13 est fondé sur l'étude de l'ADN foetal circulant dans le sang maternel. Il est notamment proposé aux femmes enceintes situées dans un groupe à risque d'avoir un fœtus atteint de trisomie 21, 18 ou 13. Réalisé grâce à la technologie de séquençage nouvelle génération, ce test de dépistage non invasif par analyse de l'ADN libre circulant ne nécessite qu'une simple prise de sang sans aucun risque pour le fœtus. Il peut être réalisé dès la 12<sup>e</sup> semaine d'aménorrhée (= 10 semaines de grossesse).  
 Tout résultat positif doit impérativement être confirmé par un test invasif fiable sensible et précis (amniocentèse ou biopsie de villosités chorionales). Ce test rentrant dans le cadre du dépistage prénatal, la femme enceinte doit recevoir une information précise et complète (L2131-1 du code de la santé publique).

- RECOMMANDATIONS DU TEST**  
 Ce test génétique est proposé aux patientes situées dans un groupe à risque selon les recommandations suivantes :
- **Patientes situées dans un groupe à risque après évaluation des marqueurs sériques maternels : risque supérieur ou égal à 1/1000 sans hyperclarté nucale ou autre anomalie échographique (arrêté du 23 juin 2009).**
    - Dépistage combiné au 1<sup>er</sup> trimestre - *Joindre la copie du résultat*
    - Dépistage séquentiel intégré au 2<sup>e</sup> trimestre - *Joindre la copie du résultat*
    - Dépistage au 2<sup>e</sup> trimestre par les marqueurs sériques seuls - *Joindre la copie du résultat*
  - **Antécédent de grossesse avec trisomie 21, 18 ou 13 - *Joindre la copie du résultat***
  - **Couple dont l'un des membres est porteur d'une translocation robertsonienne impliquant un chromosome 21 ou 13 - *Joindre la copie du résultat***
  - **Grossesse gémellaire sans hyperclarté nucale (clarté nucale inférieure à 3,5 mm) ou autre anomalie échographique - *Joindre la copie-rendu échographique***
  - **Age maternel supérieur ou égal à 38 ans pour les patientes n'ayant pas pu bénéficier du dosage des marqueurs sériques**

**Contre-indications :**  
 Selon les recommandations de la Haute Autorité de Santé (HAS) et du comité national d'éthique, ce test n'est pas recommandé en présence de signe(s) d'appel échographique(s) ni en cas de clarté nucale supérieure ou égale à 3,5 mm.

- Remarques :**
- L'échographie du premier trimestre reste indispensable pour :
    - la datation de la grossesse ;
    - la mesure de la clarté nucale ;
    - la détection des grossesses multiples ;
    - la détection des anomalies congénitales autres que les clartés de nuque.

**INTERPRÉTATION**

- D'après une cohorte de 3107 patientes (données fournisseur Illumina, fév. 2017):  
 Pour la trisomie 21, la sensibilité de ce test est de 98,9 % et la spécificité est de 99,9 %  
 Pour la trisomie 18, la sensibilité de ce test est de 90 % et la spécificité est de 99,9 %  
 Pour la trisomie 13, la sensibilité de ce test est > 99 % et la spécificité est de 99,9 %  
 Néanmoins un résultat négatif n'exclut pas complètement la présence des anomalies recherchées ou autres.  
 Par conséquent, il est primordial de maintenir un suivi échographique rigoureux à travers les échographies morphologiques du 2<sup>e</sup> et du 3<sup>e</sup> trimestre.
- Un résultat positif ne signifie pas obligatoirement que le fœtus est porteur d'une trisomie 21, 18 ou 13. Tout résultat positif doit impérativement être confirmé par un test invasif indispensable pour affirmer le diagnostic définitif, le caryotype foetal est le seul examen permettant de confirmer le diagnostic de trisomie 21, 18 ou 13.

**Remarque :**  
 Le taux d'échec de ce test est limité : une absence de résultat est essentiellement observée chez des femmes ayant un indice de masse corporelle très élevé, ce qui limite la détection de la fraction foetale.

- LIMITES**  
 Ce test ne détecte pas :  
 • les translocations déséquilibrées, les microdélétions, les microduplications ;  
 • les mutations à l'origine d'autres maladies ;  
 • les anomalies du tube neural ;  
 • les triploïdies.



**Attestation d'information et consentement**  
**Dépistage des trisomies 21, 18 et 13**  
 par analyse de l'ADN libre circulant (ADNlc ou DPNI)

**EN PRATIQUE**  
**Coût :**  
 Le prix de ce test est de 390 €, hors nomenclature, non remboursé par la Caisse Nationale d'Assurance Maladie. Il est donc à la charge de la patiente. Toutefois, certaines mutuelles privées peuvent prendre en charge une partie du coût du test. N'hésitez pas à vous renseigner auprès de votre mutuelle.

**INFORMATION ET CONSENTEMENT DE LA PATIENTE**

Je soussignée \_\_\_\_\_  
 atteste avoir reçu, du prescripteur (nom, prénom) \_\_\_\_\_ conformément à l'article L2131-1 du Code de la Santé Publique, et au cours d'une consultation médicale en date du \_\_\_\_\_

**1. Des informations relatives :**

- au risque pour l'enfant à naître d'être atteint d'une affection d'une particulière gravité notamment une trisomie 13, 18 ou 21 ;
- à la possibilité d'avoir recours à ma demande soit à un geste invasif (amniocentèse ou biopsie de villosités chorionales) en vue d'établir un caryotype foetal, soit au test de dépistage d'ADN libre circulant (ADNlc ou DPNI) ;

**2. Par ailleurs, j'ai reçu les informations suivantes concernant le test de dépistage d'ADN libre circulant des trisomies 13, 18 et 21 dont je souhaite bénéficier :**

- Une prise de sang est réalisée à partir de la 12<sup>e</sup> semaine d'aménorrhée (= 10 semaines de grossesse), sans aucun risque pour mon fœtus.
- Ce test détecte uniquement les trisomies 21, 18 et 13.
- Le résultat me sera rendu et expliqué par le prescripteur ou autre praticien ayant l'expérience du dépistage prénatal.
- Ce test est un dépistage et ne permet pas à lui seul d'établir un diagnostic.
- Un résultat négatif n'exclut pas complètement la présence des anomalies recherchées ou autres. Par conséquent, il est primordial de maintenir un suivi échographique rigoureux à travers les échographies morphologiques du 2<sup>e</sup> et du 3<sup>e</sup> trimestre.
- Un résultat positif ne signifie pas obligatoirement que le fœtus est porteur d'une trisomie 21, 18 ou 13. En raison du risque de faux positifs, tout résultat positif doit être suivi d'une amniocentèse dans le but de réaliser un caryotype foetal, seul examen permettant de confirmer le diagnostic de trisomie 21, 18 ou 13. Les risques, les contraintes et les éventuelles conséquences de chaque technique de prélèvement me seront expliquées.
- D'éventuelles autres affections que celles recherchées initialement pourraient être révélées par l'examen.

**Je consens à la réalisation du dépistage des trisomies 21, 18 et 13 par analyse de l'ADN libre circulant.** Conformément aux textes en vigueur, mon prélèvement sera éliminé à l'issue du délai légal de conservation ou utilisé par le Laboratoire Eurofins Biomnis, de manière anonyme et respectant le secret médical, à des fins scientifiques ou de contrôle qualité. Je peux m'opposer à cette utilisation par simple courrier adressé au Laboratoire Eurofins Biomnis à l'attention du secrétariat médical.  
 Ce dépistage sera effectué par le Laboratoire Eurofins Biomnis, laboratoire de biologie médicale autorisé par l'Agence Régionale de Santé à pratiquer le diagnostic prénatal.  
 L'original du présent document est conservé dans mon dossier médical par le prescripteur.  
 Une copie de ce document m'est remise.  
 La deuxième copie est remise au Laboratoire Eurofins Biomnis qui effectuera le test. Il conservera ce document dans les mêmes conditions que le compte rendu de l'examen.

Date : \_\_\_\_\_

Signature du prescripteur \_\_\_\_\_ Signature de l'intéressée \_\_\_\_\_

Ce document a été établi sur la base des recommandations :  
 - de la HAS (Haute Autorité de Santé), mai 2017,  
 - du CNGOF (Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français), juin 2016,  
 - du décret 2014-32 du 14 janvier 2014.



D17\_A02 2017

# PRÉLÈVEMENT

- Prélèvement APRES IISA
- Tubes spécifiques
  
- **Prise en charge :**
  - Non remboursé CNAM (390 euros). RIHN

En pratique :

**Prélèvement réalisé au CHU**

*Consultation de Génétique uniquement si cas complexe*





# CONSIDÉRATIONS ÉTHIQUES

## 1. Multiple step versus single test

- Le dépistage actuel définit des **groupes à risque** alors que l'ADN fœtal pourrait être considéré comme un **diagnostic définitif**

## 2. To test versus to terminate

- Le dépistage met la patiente face à la décision **d'aller ou non vers un test diagnostic**, alors que l'ADN la confronte au choix **d'IMG ou non**

## 3. Procédure plus précoce

- Un nombre considérable de trisomie seront diagnostiqués avant une FCS. **Un plus grand nombre de femmes seront confrontées au choix d'IMG ou non**

# FUTUR ?

- Étude du génome foetal sur sang maternel : Dérives ?

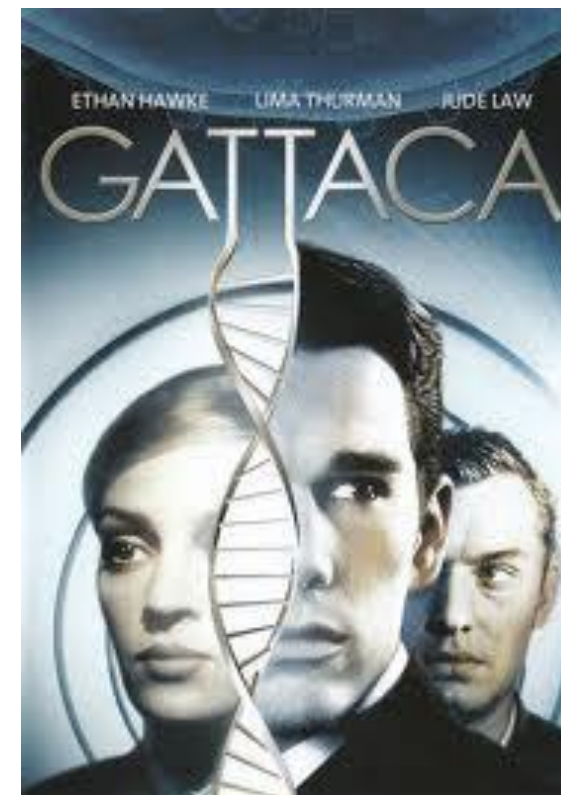
The collage features several advertisements for non-invasive prenatal DNA testing:

- homeDNA**: A website header with the text "Apprenez-nous en confiance - 030-303-9124".
- m/s**: A logo for a service provider.
- Chroniques génomiques**: A red banner with the text "On n'arrête pas le progrès... Un test de paternité prénatal et non invasif" by Bertrand Jordan.
- IntelliGender**: A box labeled "BOY GIRL Gender Prediction Test" with the slogan "Girl or Boy? Share the joy!".
- PRENATAL GENETICS**: A website header for "NON-INVASIVE PRENATAL DNA TESTING" with sub-headers for "PATERNITY TEST" and "GENO TEST".
- Euro Paternité**: A website header with the slogan "La preuve que vous attendiez" and the phone number "N° Vert 0805 69 00 66".

A central flowchart illustrates the process in four steps:

1. Commandez votre Test Prénatal Non Invasif (Order your Non-Invasive Prenatal Test)
2. Réalisez une prise de sang dans la clinique la plus proche (Get a blood sample at the nearest clinic)
3. Envoyez vos échantillons (Send your samples)
4. Recevez vos résultats 5 jours ouvrables (Receive your results in 5 business days)

A red button labeled "Passer votre Commande" (Place your order) is positioned below the flowchart.



MERCI DE VOTRE ATTENTION

