

Recommandations pour le dépistage des anomalies chromosomiques fœtales par l'étude de l'ADN libre circulant (ADNlc)

Version 4– 2019
ACLF, ANPGM, CNGOF, ABA

Rédacteurs :

Jean-Michel Dupont

Vincent Gatinois

Pascale Kleinfinger

Gilles Renom

Véronique Satre

Sylvie Tapia

Philippe Vago

Table des matières

Résumé	4
1- Introduction.....	6
2- Les particularités techniques des tests ADNlc	6
3- Conditions d'exercice	8
3-1 Conditions d'autorisation du laboratoire.....	8
3-2 Conditions d'autorisation du biologiste.....	8
3-3 Conditions d'autorisation des dispositifs utilisés.....	8
4- Anomalies chromosomiques recherchées	9
4-1 Dépistage de la trisomie 21.....	9
4-2 Dépistage des trisomies 13 et 18	9
4-3 Le dépistage des anomalies des chromosomes sexuels et détermination du sexe foetal.....	9
4-4 Le dépistage des autres anomalies chromosomiques déséquilibrées (rares aneuploïdies ou anomalies de structure déséquilibrées)	10
5- Indications et contre-indications.....	10
5-1 Situations où le dépistage par ADNlc n'est pas indiqué	11
5-1-1 Signes d'appel échographiques (SAE) dont l'hyperclarté nucale \geq 3,5m lors de l'échographie de 1 ^{er} trimestre.....	11
5-1-2 Dépistage par ADNlc et signe(s) d'appel échographique(s) mineur(s) ou « soft signs »	11
5-2 Indications recevables.....	12
5-2-1 Recommandations selon l'arrêté de 14 décembre 2018.....	12
5-2-2 Le test ADNlc en première intention (dépistage primaire).....	12
5-3 Conseil génétique chez les couples porteurs d'une translocation robertsonienne	13
5-4 Conclusion : Indications recommandées	13
6- ADNlc : un Test de dépistage	14
7- Le test ADNlc au sein d'un parcours de soin.....	14
7-1 Date de prélèvement	14
7-2 Consultation avant et après le test ADNlc T21	14
7-3 Documents à fournir pour la réalisation du test.....	15
7-4 Délais de rendu du résultat.....	16
7-5 Confirmation d'un test positif.....	16
7-6 Transmission des résultats.....	17
8- Compte-rendu des résultats.....	17
9- Documents et échantillons biologiques à conserver	18

10-	Particularité des grossesses multiples.....	18
10-1	Grossesses triples et plus.....	18
10-2	Chorionicité.....	18
10-3	Jumeaux évanescents.....	18
11-	Suivi qualité.....	19
11-1	Indicateurs qualité interne.....	19
11-2	Evaluation externe de la qualité.....	19
12-	Ethique.....	19
13-	Textes législatifs.....	20
14-	Bibliographie.....	21
	Annexe 1 Dépistage par séquençage de l'ADNlc.....	24
	Annexe 2 Sensibilité ou taux de détection, Spécificité, VPP, VPN.....	25

Résumé

Le **dépistage** des aneuploïdies fœtales par l'étude de l'ADN libre circulant (ADNlc) dans le sang maternel (anciennement appelé DPNI pour Dépistage Prénatal Non Invasif) est techniquement réalisable depuis le début des années 2010.

Le **test ADNlc** est préconisé pour le **dépistage de la trisomie 21** fœtale. Il peut également dépister les trisomies 13 et 18 fœtales. Il n'est pas recommandé pour le dépistage des anomalies gonosomiques. En ce qui concerne le dépistage des autres anomalies chromosomiques déséquilibrées, l'établissement des performances et la démonstration du bénéfice pour les femmes enceintes est nécessaire avant sa réalisation.

Le test ADNlc est **contre-indiqué** en présence de **signe(s) d'appel échographique(s)** ou en cas de **clarté nucale (CN) supérieure ou égale à 3,5 mm** lors de l'échographie du 1^{er} trimestre en raison du risque résiduel important que le fœtus soit porteur d'une anomalie chromosomique autre que la trisomie 21. Certains signes échographiques dit mineurs, lorsqu'ils sont isolés, ne sont pas une contre-indication à un test ADNlc : artère ombilicale unique, artère sous-clavière droite rétro-œsophagienne, kystes des plexus choroïdes, dilatation pyélocalicielle uni ou bilatérale, focus cardiaque hyperéchogène, intestin hyperéchogène.

Depuis janvier 2019, le dépistage de la trisomie 21 par ADNlc est pris en charge par l'assurance maladie dans les indications suivantes :

- risque évalué par les MSM compris entre 1/51 et 1/1000
- risque évalué par les MSM \geq 1/50 si la femme enceinte ne souhaite pas de prélèvement invasif
- grossesse multiple
- antécédent de grossesse avec trisomie 21 fœtale
- parent porteur d'une translocation robertsonienne impliquant un chromosome 21, après conseil génétique.

Les sociétés savantes qui ont rédigés ce guide préconisent également la réalisation d'un dépistage des anomalies chromosomiques par ADNlc (non pris en charge par l'assurance maladie) sur les indications suivantes :

- en cas d'antécédent de grossesse avec trisomie 13 ou 18 fœtale
- parent porteur d'une translocation robertsonienne impliquant un chromosome 13 après conseil génétique
- si le dépistage par les marqueurs sériques maternels n'a pas pu être réalisés (des MSM dits tardifs sont toujours possibles)
- en cas de profil de MSM évocateurs de trisomie 18 (ou après réévaluation du risque avec les MSM hors bornage).

Le dépistage des anomalies chromosomiques par ADNlc peut également être réalisé en dépistage primaire, en absence de contre-indication à cet examen, si la femme enceinte le désire.

Le prélèvement sanguin doit être réalisé après la mesure de la clarté nucale lors de l'échographie du 1^{er} trimestre. Il doit être prescrit au cours d'une consultation. Il doit faire l'objet d'une attestation de consultation par le professionnel de santé et d'un consentement éclairé de la femme enceinte. Si le résultat est négatif, la femme enceinte doit être informée que le risque résiduel est faible et il n'est pas préconisé de réaliser un prélèvement invasif. En revanche, devant un résultat positif, le diagnostic d'aneuploïdie ne pourra être posé

que par la réalisation d'un caryotype après prélèvement invasif, de préférence sur liquide amniotique (une éventuelle interruption de grossesse ne pourra pas être réalisée en absence de ce test diagnostic).

Le compte-rendu des résultats doit être simple, clair, explicite et donner les modalités techniques. Il doit préciser, si le résultat est positif, la nécessité d'un prélèvement invasif de diagnostic avec caryotype pour affirmer la trisomie et en définir le mécanisme chromosomique afin de proposer un conseil génétique adapté.

L'autonomie des personnes doit être respectée afin que la meilleure option pour la femme enceinte puisse être choisie : la réalisation d'un dépistage de la trisomie 21 doit rester un choix personnel et constituer une démarche proposée et non imposée aux femmes enceintes.

1- Introduction

La trisomie 21 est la première cause de déficience intellectuelle d'origine génétique.

Elle fait l'objet d'un dépistage national anténatal depuis 1997. Depuis 2019, celui-ci tient compte :

- de l'échographie de dépistage entre 11SA et 13SA+6 jours
- des marqueurs sériques maternels (MSM) du 1^{er} trimestre ou à défaut du 2^{ème} trimestre sans intégrer la mesure de la clarté nucale mesurée lors de l'échographie du 1^{er} trimestre
- du dépistage par ADNlc basé sur la présence dans le sang maternel d'ADN d'origine placentaire. La découverte de la présence d'ADN placentaire libre circulant [Lo et al. 1997] couplée à la mise au point des nouvelles techniques de séquençage haut débit (séquençage massif en parallèle ou MPS) a permis de proposer ce nouveau test de dépistage prénatal non invasif, ayant une spécificité et une sensibilité très élevées.

Le diagnostic est assuré par une étude chromosomique fœtale après prélèvement invasif. Les prélèvements invasifs présentent un risque de fausses couches évalués à 0,14 % par la Haute Autorité de Santé (HAS, recommandations 2017). Seul le caryotype conventionnel permet d'établir le mécanisme de la trisomie 21 et donc de rendre un conseil génétique.

Depuis janvier 2019, le dépistage par ADNlc figure à la NABM sur les indications suivantes :

- risque évalué par les MSM compris entre 1/51 et 1/1000
- risque évalué par les MSM \geq 1/50 si la femme enceinte ne souhaite pas de prélèvement invasif
- grossesse multiple
- antécédent de grossesse avec trisomie 21 fœtale
- parent porteur d'une translocation robertsonienne impliquant un chromosome 21 après conseil génétique.

Les sociétés savantes préconisent l'élargissement à d'autres indications, non prises en charge par l'assurance maladie.

L'objet de ce document est de définir les caractéristiques de l'examen de dépistage par ADNlc, à savoir les anomalies chromosomiques pouvant être recherchées, ses indications et ses contre-indications, le parcours de soin dans lequel il doit s'inscrire, les modalités du compte-rendu des résultats, les échantillons et les documents à conserver ainsi que ses aspects éthiques et législatifs.

2- Les particularités techniques des tests ADNlc

Le dépistage non invasif des aneuploïdies a représenté pendant plusieurs décennies un défi médical et technique. La combinaison de la découverte de l'ADN fœtal circulant en 1997 et les progrès fulgurants des technologies de séquençage de l'ADN ont permis de développer et d'intégrer les tests ADNlc dans la pratique clinique en moins de 15 ans. La validité clinique du dépistage par ADNlc a été initialement établie dans une population de femmes à risque chez laquelle la valeur prédictive positive (VPP) du test est comprise entre 80% et 99% [Skrzypek and Hui, 2017].

L'ADN fœtal circulant

Depuis 1997, l'utilisation des cellules fœtales circulantes a donc rapidement été supplantée par des stratégies d'analyse de l'ADN fœtal circulant, présent dans le plasma maternel sous forme libre, non cellulaire (cffDNA pour *cell free fetal DNA*) [Lo et al. 1997]. Cet ADN fragmenté, de petite taille (<300pb), est essentiellement d'origine trophoblastique (cellules en apoptose du cytotrophoblaste) [Flori et al. 2004; Chan et al. 2004; Alberry et al. 2007]. Il apparaît de façon très précoce durant la grossesse et est détectable à partir de la 6^{ème} semaine d'aménorrhée (SA) et jusqu'à la fin de la grossesse. Son taux plasmatique augmente régulièrement durant la grossesse [Lo et al. 1999] et disparaît rapidement quelques heures après l'accouchement [Benachi et al. 2003].

Application au dépistage des déséquilibres chromosomiques

Le principe général du test ADNlc de dépistage des déséquilibres chromosomiques repose sur la capacité de mettre en évidence une sous ou une surreprésentation statistiquement significative de fragments d'ADN dérivés d'une région chromosomique (bin) dans le plasma maternel comparativement à d'autres régions chromosomiques « contrôles ». Il s'agit donc d'un test de quantification relative. L'approche technologique la plus utilisée en 2019 est le MPS (Annexe 1). Une très large méta-analyse réalisée en 2017 sur l'ensemble des données publiées dans la littérature depuis 2007 montre une sensibilité globale de ces 3 approches de 99.3% pour la trisomie 21, 97.7% pour la trisomie 18 et 97,5% pour la trisomie 13 [Iwarsson et al, 2017]. D'autres approches sont possibles. Les performances de sensibilité, spécificité et taux de rendu doivent être un élément majeur dans le choix de la technique.

Pour le dépistage de la trisomie 21 la technique utilisée doit respecter les textes réglementaires [[Arrêté du 14 décembre 2018 modifiant l'arrêté du 23 juin 2009 modifié fixant les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de trisomie 21](#)] à savoir :

- marquage CE-IVD
- mention claire des performances diagnostiques garanties par le fabricant.

L'analyse n'étant pas spécifique de l'ADN fœtal qui ne peut pas être isolé de celui de la mère ni analysé spécifiquement, l'évaluation de la proportion d'ADN fœtal (fraction fœtale) est habituellement une mesure utile et/ou indispensable à l'interprétation des résultats.

L'ADN fœtal circulant ne représente qu'une petite fraction de l'ADN circulant total composé essentiellement d'ADN maternel : il représente de 5 à 10% (durant les deux premiers trimestres) à près de 20 % (lors du troisième trimestre de la grossesse) de l'ADN libre circulant total [Lun et al. 2008 ; Lo et al. 2010]. Le poids maternel influence considérablement la fraction d'ADN fœtal circulant : une faible fraction fœtale (<4%) est retrouvée chez 7% des femmes de 100 kg et jusqu'à 50% chez les femmes de plus de 160kg [Ashoor et al. 2013].

3- Conditions d'exercice

3-1 Conditions d'autorisation du laboratoire

[Décret n° 2018-1046 du 28 novembre 2018 relatif au régime d'autorisation des établissements de santé et des laboratoires de biologie médicale pour la pratique du diagnostic prénatal](#) : L'autorisation de pratiquer les examens d'ADNc ne peut être accordée que si l'établissement de santé ou le laboratoire de biologie médicale est titulaire des autorisations pour réaliser les examens de cytogénétique et génétique moléculaire prénatales.

Le laboratoire doit se rapprocher de son ARS responsable pour autorisation de structure. Il est à noter que des dérogations à ce décrets ont été accordée.

[Arrêté du 14 décembre 2018 modifiant l'arrêté du 23 juin 2009 modifié fixant les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de trisomie 21](#) : Les laboratoires autorisés sont tenus de transmettre un rapport annuel d'activité à l'Agence de la biomédecine ainsi qu'à l'ARS territorialement compétente.

3-2 Conditions d'autorisation du biologiste

[Arrêté du 5 mars 2018 fixant les conditions de formation et d'expérience des biologistes médicaux exerçant les activités de diagnostic prénatal mentionnées à l'article L. 2131-1 du code de la santé publique](#) : Le biologiste doit :

- 1° posséder un diplôme en cytogénétique ou en génétique moléculaire ou en génétique biologique délivré par une université ou disposer de la reconnaissance prévue à l'article L. 6213-2, dans le domaine de spécialisation correspondant
- 2° disposer d'une expérience minimale de 24 mois en prénatal et 12 mois supplémentaire comme suit :
 - a) soit 6 mois dans une structure autorisée pour la cytogénétique prénatale et postnatale et 6 mois dans une structure autorisée pour la génétique moléculaire prénatale et post natale)
 - b) soit 12 mois dans une structure autorisée pour l'ADNc.

Un courrier informatif doit être transmis à l'ARS responsable.

[Arrêté du 14 décembre 2018 modifiant l'arrêté du 23 juin 2009 modifié fixant les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de trisomie 21](#) : Le biologiste qui signe le compte-rendu de résultat doit être en mesure de prouver sa compétence et de justifier d'une activité régulière. Il travaille en relation avec au moins un CPDPN.

3-3 Conditions d'autorisation des dispositifs utilisés

Les dispositifs utilisés doivent être marqués CE-IVD.

4- Anomalies chromosomiques recherchées

Les recommandations suivantes sont en accord avec celles d'autres sociétés savantes telles que l'American College of Medical Genetics and Genomics et la Society for Maternal-Fetal Medicine [Gregg et al. 2016; Society for Maternal-Fetal Medicine 2017]

4-1 Dépistage de la trisomie 21

La trisomie 21 est la seule anomalie chromosomique dont la fréquence dans la population est suffisamment élevée pour justifier d'un dépistage national faisant l'objet d'une réglementation (Arrêté du 14 décembre 2018 qui prévoit un dépistage pour la trisomie 21 et non pour les autres anomalies chromosomiques).

La méta-analyse faite par l'HAS (2017) a montré que « la sensibilité et la spécificité des tests ADNlcT21 étaient élevées, que ce soit chez les femmes enceintes à haut risque de trisomie 21 fœtale ou en population générale, avec un taux de détection >99 % et un taux de faux positifs <1%» [HAS 2017].

4-2 Dépistage des trisomies 13 et 18

Les trisomies 13 et 18 sont les seules trisomies autosomiques qui, avec la trisomie 21, sont viables sous une forme homogène dans l'espèce humaine. Elles peuvent également être détectées par ADNlc. Néanmoins, leur dépistage est de moindre intérêt. D'une part, ces anomalies sont plus rares et d'autre part, leur diagnostic est facilité par la présence de signes d'appel échographiques plus sévères et plus fréquents que dans la trisomie 21. Cependant, leur détection par le test ADNlc de dépistage de la trisomie 21 peut permettre un diagnostic précoce dans certains cas et leur phénotype très sévère n'engendre pas de difficulté éthique particulière de conseil génétique au regard de leur pronostic extrêmement péjoratif.

Les valeurs prédictives positives sont plus faibles que pour la trisomie 21, respectivement de 44 à 59% et 64 à 77% pour les trisomies 13 et 18 [Wang JC et al, 2015 ; Poon et al,2017], probablement en raison de leur faible prévalence.

4-3 Le dépistage des anomalies des chromosomes sexuels et détermination du sexe fœtal

Il n'entre pas dans le champ du dépistage par ADNlc pour des raisons de performances du test et d'éthique. D'un point de vue technique, la valeur prédictive positive est de 38% [Wang JC, 2015] essentiellement en raison (1) de la perte physiologique du chromosome X avec l'âge maternel pouvant mimer une monosomie X fœtale et (2) du fait que les gonosomes sont les chromosomes les plus souvent impliqués dans les mosaïques confinées au placenta. Par ailleurs, les anomalies gonosomiques sont fréquemment en mosaïque ou impliquent des remaniements de structure rendant le dépistage des seules anomalies de nombre homogènes très incomplet.

D'un point de vue éthique, la découverte des anomalies gonosomiques (en dehors des polysomies supérieures à 3) modifie rarement la prise en charge de la grossesse en l'absence de signes d'appel échographiques. L'annonce du résultat d'une pathologie des gonosomes rend le conseil génétique compliqué.

La détermination du sexe fœtal ne peut être faite en France que pour une indication médicale. La HAS rappelle dans son rapport sur « la détermination prénatale du sexe fœtal à partir du sang maternel » de juillet 2009 que « Le diagnostic prénatal s'entend des pratiques médicales ayant pour but de détecter in utero chez l'embryon ou le fœtus une affection d'une particulière gravité » (article L. 2131-1 du Code de la santé publique) et que le diagnostic de sexe n'est indiqué que dans le cadre de l'hyperplasie congénitale des surrénales et les pathologies liées à l'X avec une technique de PCR sur sang maternel. Il n'est donc pas licite de rendre le sexe fœtal par ADNlc.

4-4 Le dépistage des autres anomalies chromosomiques déséquilibrées (rares aneuploïdies ou anomalies de structure déséquilibrées)

A l'heure actuelle, leur détection est techniquement possible [Valderramos et al 2016, Gross et al 2016, Ehrich et al 2017 ; Helgeson J et al 2015 ; Lo et al 2016 ; Valderramos et al 2016 ; Zhao et al 2015]. Cependant, il s'agit d'anomalies dont la prévalence individuelle est faible en absence de signes d'appel échographiques. Le risque d'inclure cette recherche dans la stratégie de dépistage actuelle est donc de générer un nombre important de prélèvement invasif en raison d'une VPP faible.

La mise en place d'un tel dépistage devra donc s'appuyer soit sur une bibliographie soit sur des études cliniques permettant de prouver le bien-fondé de la stratégie : augmentation du taux de diagnostic d'anomalie d'une particulière gravité ou amélioration du suivi des grossesses.

A ce jour, la réglementation n'encadre pas les dépistages chromosomiques autres que celui de la trisomie 21 (arrêté du 14 décembre 2018).

Dans le cadre du dépistage par séquençage du génome complet (whole genome sequencing), le profil obtenu peut être évocateur de la possibilité d'un processus tumoral maternel. La conduite à tenir n'est pas codifiée à ce jour. En absence de consensus, la communication d'un tel résultat à la femme enceinte ne pourra se faire qu'en s'appuyant sur une bibliographie permettant de définir la conduite à tenir [Ben P et al. 2019] et/ou sur des études cliniques permettant de définir les performances du test et de prouver le bien-fondé de la stratégie. Elle devra alors s'appuyer sur un réseau de prise en charge organisé. A ce jour, les logiciels doivent donc être programmés pour ne pas mettre en évidence de tels profils.

5- Indications et contre-indications

Objectif(s)

Les objectifs du dépistage par ADNlc, tout en respectant l'autonomie des femmes enceintes et sans détériorer la qualité du diagnostic des autres anomalies chromosomiques déséquilibrée sont :

- **d'améliorer la sensibilité et la spécificité du dépistage de la trisomie 21, voire des trisomies 13 et 18**
- **de diminuer le recours aux gestes invasifs et ainsi potentiellement diminuer leur morbidité secondaire.**

5-1 Situations où le dépistage par ADNlc n'est pas indiqué

5-1-1 Signes d'appel échographiques (SAE) dont l'hyperclarté nucale $\geq 3,5$ m lors de l'échographie de 1^{er} trimestre

La réalisation du test de dépistage par ADNlc, s'il est réalisable à partir de 10SA, ne doit être fait qu'après la mesure de la clarté nucale lors de l'échographie du 1^{er} trimestre, donc en pratique seulement à partir de 11SA ([arrêté du 14 décembre 2018](#)). Si l'échographie du 1^{er} trimestre n'a pas pu être réalisée, le dépistage par ADNlc ne sera fait qu'après une échographie avec étude de la morphologie du fœtus.

Le risque d'anomalies chromosomiques déséquilibrées autres que les trisomies 13, 18 et 21, les anomalies gonosomiques et les triploïdies, en présence de SAE varie de 2,5% (330/13407, tableau n°6, rapport Agence de la biomédecine, diagnostic prénatal 2015) à 8% [Benachi et al 2015].

De plus, le recours aux analyses chromosomiques sur puce à ADN (ACPA) est très largement recommandé, notamment par l'ACLF, dans ces indications et contribue à détecter 5 à 10% d'anomalies chromosomiques supplémentaires [Oneda et al. 2017].

En théorie, le séquençage de l'ADN fœtal circulant pourrait aussi être utilisé pour détecter ces autres anomalies chromosomiques déséquilibrées chez le fœtus. Néanmoins, à ce jour, cette approche ne peut être recommandée en présence de SAE puisque sa résolution est inférieure à celle des approches invasives [Oneda et al. 2016, Beulen et al 2017]. Les analyses sur ADN fœtal circulant entraîneraient de plus un retard de prise en charge pour une proportion importante de femmes enceintes.

Par conséquent, en présence de signes échographiques, la réalisation d'un test invasif avec la réalisation d'un caryotype conventionnel ou moléculaire est recommandée.

5-1-2 Dépistage par ADNlc et signe(s) d'appel échographique(s) mineur(s) ou « soft signs »

Il s'entend par « signe(s) d'appel échographique(s) mineur(s) » l'ensemble des signes échographiques qui ne constitue pas un signe direct de maladie fœtale, mais dont l'observation est un peu plus fréquente en cas d'anomalie du fœtus par rapport à la population générale. L'observation d'un ou de plusieurs de ces signes, même lorsque le dépistage par les MSM est normal, pose la question de la réalisation d'un prélèvement invasif.

Une revue de la littérature a permis de conclure sur l'absence de contre-indication à la réalisation d'un dépistage par ADNlc (absence d'augmentation du risque d'anomalie chromosomique autre que les principales aneuploïdies) dans les situations suivantes : dilatations pyéliquiques uni ou bilatérales [Carbone et al, 2011 ; Chudleigh et al, 2001], artère ombilicale unique [Dagklis et al, 2010], kyste(s) des plexus choroïdes unique ou multiples [Coco et al, 2004], artère sous-clavière droite rétro-œsophagienne [Svirsky et al, 2017 ; Pico et al, 2016 ; Borenstein et al, 2010], focus cardiaque hyperéchogène [Achiron et al, 1997 ; Ouzounian et al, 2007] et intestin hyperéchogène [Singer et al., 2018; Bleu et al, 2015; Maillet et al, 2014]. Ces signes, lorsqu'ils sont isolés, ne constituent pas une indication à la réalisation d'un test par ADNlc mais n'en sont plus une contre-indication.

Il pourra être utile à l'avenir de mieux déterminer l'impact des autres signes échographiques mineurs sur le risque d'anomalie chromosomique déséquilibrée autre que la trisomie 21, afin d'évaluer la faisabilité du test par ADNlc dans ces situations.

5-2 Indications recevables

5-2-1 Recommandations selon l'arrêté de 14 décembre 2018

Un dépistage par ADNlc doit être proposée dans les conditions suivantes :

- risque évalué par les MSM compris entre 1/51 et 1/1000
- risque évalué par les MSM \geq 1/50 si la femme enceinte ne souhaite pas de prélèvement invasif
- grossesse multiple
- antécédent de grossesse avec trisomie 21 foétale
- parent porteur d'une translocation robertsonienne impliquant un chromosome 21 après conseil génétique.

Le dépistage par ADNlc est pris en charge par l'assurance maladie uniquement dans le cadre de ces indications.

L'arrêté du 14 décembre 2018 stipule que « en cas d'antécédent d'une autre aneuploïdie la femme doit être adressée à un CPDPN » (II-A-2c). Les sociétés savantes rédactrices de ce guide se positionnent en faveur d'un dépistage par ADNlc en cas d'antécédents de trisomies 13 et 18 fœtales plutôt que d'un prélèvement invasif. Elles se positionnent également favorablement en cas de parents porteurs d'une translocation robertsonienne impliquant un chromosome 13 après conseil génétique.

L'arrêté stipule également qu'en cas de MSM atypiques « un suivi orienté est indiqué ». Si le contrôle échographique reste l'investigation première à mettre en œuvre, les sociétés savantes rédactrices de ce guide proposent d'évoquer un risque de trisomie 18 devant une α FP ou une PAPP-A $<$ 0,25 MoM associée à une β HCG $<$ 0,25 MoM et la réalisation d'un dépistage par ADNlc en cas d'absence de signes d'appel échographiques (le risque de T18 lié à l'âge est multiplié par 100 en cas de 2 MSM $<$ 0,25 MoM). En cas de doute, il est toujours possible de se rapprocher du laboratoire ayant réalisé les MSM qui, selon le logiciel disponible, pourra évaluer de façon plus précise le risque de trisomie 18. Une β HCG isolément basse ($<$ 0,25 MoM) n'est pas une indication d'ADNlc mais doit plutôt orienter vers un contrôle échographique.

En cas de valeurs de MSM hors bornage (β HCG $>$ 5 MoM ou PAPP-A $<$ 0,2 MoM), le risque de T21 est sous-estimé et, si le risque est proche de 1/1000, la conduite à tenir est à considérer au cas par cas.

5-2-2 Le test ADNlc en première intention (dépistage primaire)

Il est scientifiquement valide : les performances du dépistage par ADNlc en population à bas risque sont supérieures à celles du dépistage traditionnel par les MSM. Plusieurs études ont montré que la sensibilité du test permet la détection d'un plus grand nombre de fœtus porteur d'une trisomie 21 et, dans le même temps, la spécificité et la valeur prédictive conduisent à une réduction importante du nombre de gestes invasifs induits [Bianchi et al. 2014 ; Norton et al. 2015 ; Zhang et al 2015 ; Guedj et al. 2014 ; Costa et al. 2018].

Il n'y a aucune opposition scientifique et médicale à l'utilisation du test ADNlc en dépistage primaire. L'analyse médico-économique dans le contexte du parcours de soin français a toutefois conduit les autorités à ne pas retenir cette option à cause d'un coût supplémentaire de 152 M€ (rapport HAS 2017).

- 1- Le dépistage de la trisomie 21 sur une grossesse découverte tardivement (après 18SA) peut être fait avec des MSM « tardifs ». Si ces marqueurs montrent un risque \geq à 1/1000, il existe une tolérance pour le remboursement du dépistage par ADNlc. Cependant, selon la préférence de la femme enceinte un dépistage par ADNlc de première intention peut être prescrit (à la charge de la femme enceinte).
- 2- L'utilisation du test ADNlc en dépistage primaire peut également se discuter lorsque la modélisation de la HAS ne prend pas en compte les particularités de la situation. En effet, la modélisation de la HAS est basée sur un taux de 3,3% de femmes enceintes à risques après MSM au 1^{er} T. Dans une population où le risque serait de 10 à 15%, comme par exemple chez les femmes dont la grossesse est issue d'une technique d'assistance médicale à la procréation (AMP), la question de la pertinence d'un dépistage primaire reste ouverte [Costa et al. 2018].

5-3 Conseil génétique chez les couples porteurs d'une translocation robertsonienne

La recherche d'une disomie uniparentale du chromosome 14 n'est plus préconisée. En revanche, si le chromosome partenaire est un chromosome 15, le risque de syndrome de Willi-Prader ou d'Angelman doit orienter vers un prélèvement invasif, sauf choix contraire de la femme enceinte [Moradkhani et al. 2019].

5-4 Conclusion : Indications recommandées

Les indications retenues par les sociétés savantes rédactrices de ce guide sont :

- 1) Indications permettant que l'ADNlc soit pris en charge par l'assurance maladie :
 - en cas de grossesse singleton, si le risque de trisomie 21 fœtale évalué après dépistage par les marqueurs sériques est supérieur à 1/50 si ce dépistage a la préférence de la femme enceinte par rapport au prélèvement invasif recommandé
 - en cas de grossesse singleton, si le risque de trisomie 21 fœtale évalué après dépistage par les marqueurs sériques est compris entre 1/51 et 1/1000
 - en cas d'antécédent de grossesse avec aneuploïdie ou si un des parents est porteur d'une translocation robertsonienne impliquant un chromosome 21, après conseil génétique
 - en cas de grossesse multiple
 - si l'échographie du premier trimestre ou le dépistage par les marqueurs sériques n'ont pas pu être réalisés, après réalisation des MSM tardifs lorsque le risque \geq 1/1000. Dans ce dernier cas, il ne s'agit que d'une tolérance des caisses d'assurance maladie.
- 2) Indications ne permettant pas que l'ADNlc soit pris en charge par l'assurance maladie :
 - en cas d'antécédent de grossesse avec aneuploïdie ou si un des parents est porteur d'une translocation robertsonienne impliquant un chromosome 13, après conseil génétique
 - si l'échographie du premier trimestre ou le dépistage par les marqueurs sériques n'ont pas pu être réalisés en dépistage primaire
 - en cas de profil avec 2 marqueurs de MSM évocateurs de trisomie 18
 - certaines femmes enceintes, selon le tableau obstétrical, ayant un risque légèrement inférieur à 1/1000 et des MSM bornés.

6- ADNlc : un Test de dépistage

Le test ADNlc constitue une analyse biologique inscrite dans un cadre de dépistage, et non de diagnostic.

En effet, il s'entend que la prescription d'un test à visée diagnostique s'adresse à un sujet présentant des signes de l'affection qui est recherchée. A l'inverse, un test de dépistage est réalisé chez un sujet ne présentant pas de signe. Le test ADNlc s'adresse actuellement aux femmes enceintes considérées à risque par la stratégie actuelle de dépistage de la trisomie 21 ; il doit être considéré comme un élément supplémentaire de stratification du risque et, donc, comme faisant partie d'une démarche de dépistage.

De plus, il est nécessaire de rappeler les limitations d'ordre biologique et technique de ce test, qui ne permettent pas à notre sens de considérer l'ADNlc comme un test diagnostique. L'analyse de l'ADNlc libre circulant correspond à celle d'un mélange d'ADN d'origine maternelle, en proportion très majoritaire, et placentaire. L'ADN placentaire peut présenter des caractéristiques génétiques différentes de celui du fœtus en cas de mosaïque confinée au placenta ou au fœtus, ce qui induit un risque d'erreur de l'analyse dans ces situations. Le fort déséquilibre de proportion entre ADN placentaire et ADN maternel implique aussi que les anomalies propres à l'ADN maternel peuvent masquer le génotype fœtal. Enfin, les limites de sensibilité des technologies actuellement disponibles impliquent, comme pour tout test biologique, un risque de résultat erroné.

Par conséquent, tout résultat positif nécessite d'être confirmé secondairement par un test diagnostique réalisé à partir d'un geste invasif.

7- Le test ADNlc au sein d'un parcours de soin

7-1 Date de prélèvement

Ce dépistage est fait par un prélèvement veineux périphérique chez une femme enceinte. S'il peut être réalisé à partir de 10 SA et sans limite de terme, il doit cependant être réalisé après la mesure de la CN par l'échographie du 1^{er} trimestre soit à partir de 11 SA afin de s'assurer de l'éligibilité de la femme enceinte (absence de contre-indication).

7-2 Consultation avant et après le test ADNlc T21

Le test de dépistage non invasif de la trisomie 21 doit obligatoirement être proposé à la femme enceinte dans le cadre d'une consultation par un professionnel médical formé, médecin ou sage-femme. Le conseiller en génétique peut participer à la délivrance de l'information à la femme enceinte, sous la responsabilité d'un médecin.

Une prescription médicale est obligatoire. Les laboratoires ne doivent donc pas accéder aux demandes des femmes enceintes en direct, demandes interdites dans le système de soin français, que le test soit ou non pris en charge par l'assurance maladie.

En plus des informations sur la trisomie 21 (phénotype, modalités de prise en charge...) et sur le parcours de dépistage de la trisomie 21 en France, la femme enceinte doit être informée lors de sa prescription des avantages et des limites spécifiques du dépistage par ADNlc.

- Ce test offre l'avantage de dépister les fœtus porteurs d'une trisomie 21 avec une excellente sensibilité et spécificité permettant ainsi d'éviter dans plus de 95% des cas la réalisation d'un geste invasif et de ce fait le risque de fausse couche induit, estimé à 0,11 – 0,22% des prélèvements invasifs [HAS 2017].
- Cependant, ce test n'est pas fiable à 100% car il existe de rares cas de faux positifs et de faux négatifs. Seul le caryotype fœtal permet de déterminer avec certitude l'existence ou non d'une trisomie 21 fœtale. Ainsi, un résultat positif doit conduire à proposer la réalisation d'un geste invasif afin d'obtenir le caryotype fœtal.
- D'autres anomalies chromosomiques, qui peuvent également ne pas être dépistée par l'échographie, peuvent être méconnues.
- Il existe des possibilités d'échec pour des raisons techniques ou biologiques. Un nouveau prélèvement sanguin devra être proposé à la femme.
- Les résultats lui seront communiqués et expliqués par le prescripteur.

L'information doit être transmise à la femme enceinte sous forme orale et écrite : voir modèle ([Arrêté du 14 décembre 2018 modifiant l'arrêté du 14 janvier 2014 fixant le modèle des documents mentionnés au III de l'article R. 2131-2 du code de la santé publique](#)). A l'issue de la consultation, celle-ci est libre de demander ou non la prescription de ce test de dépistage par ADNlc. Elle doit consentir à sa réalisation par écrit.

Concernant le rendu du résultat du test, il doit être effectué dans le cadre d'une consultation par le prescripteur.

- Si le résultat du test est négatif, la femme enceinte peut être rassurée car son risque initial diminue. Le suivi habituel de la grossesse continue d'être organisé.
- Lorsque le résultat du test est positif, un geste invasif pour établissement du caryotype fœtal doit être proposé à la femme enceinte. Si celle-ci refuse le geste, le motif de ce refus devra être consigné dans son dossier médical.
- Si le résultat du test est non exploitable, un 2^{ème} test ADNlc est proposé. Les principaux motifs de non-rendu d'un résultat peuvent être une fraction fœtale trop basse, les anomalies de normalisation des séquences, les problèmes techniques de séquençage ou d'amplification. Le délai nécessaire entre les 2 prélèvements dépendra à la fois du terme de la grossesse et du motif de non-rendu. En cas de non-rendu après 2 dépistages, un prélèvement invasif, quel que soit le risque initial, doit être proposé.

7-3 Documents à fournir pour la réalisation du test

- Le formulaire type signé attestant de l'information délivrée à la femme enceinte et de son consentement.
- La prescription médicale qui doit comporter les éléments communs à tout examen de biologie médicale.
- Une feuille de renseignements comprenant les éléments suivants :
 - o date de début de grossesse
 - o nombre de fœtus y compris la notion de jumeau(x) évanescent(s)
 - o résultat du calcul de risque du dépistage avec utilisation des marqueurs sériques maternels
 - o résultat de l'examen cytogénétique en cas d'antécédent de grossesse avec trisomie 21 ou de parent porteur d'une anomalie chromosomique impliquant le chromosome 21
 - o résultat de l'échographie de dépistage si celle-ci a été réalisée ou à défaut d'une échographie ultérieure.

D'autres informations peuvent être utiles, en particulier la notion AMP. Leur demande est laissée au choix des laboratoires.

7-4 Délais de rendu du résultat

Les délais de rendu de résultat devraient idéalement être inférieurs à 10 jours ouvrés pour éviter tout retard à la prise en charge de la femme enceinte.

7-5 Confirmation d'un test positif

Devant tout résultat positif, la réalisation d'un caryotype fœtal doit être proposée. Celui-ci permet d'une part d'établir un diagnostic de certitude et d'autre part de déterminer le mécanisme chromosomique (aneuploïdie ou dérivé de translocation). Cette information est essentielle pour donner un conseil génétique adéquat à la femme enceinte. **Une interruption médicale de grossesse ne pourra être envisagée qu'après confirmation par un test diagnostique.** Le caryotype devra être réalisé de préférence à partir d'une ponction de liquide amniotique, plutôt que d'un prélèvement de villosités chorales. Lorsqu'un prélèvement de cellules amniotiques est effectué, une étude par technique rapide sur cellules non cultivées permettra de déterminer rapidement (<48h) le statut chromosomique du fœtus (trisomique 21 ou non). La FISH est prise en charge par l'assurance maladie. Il est à noter que ce test, s'il permet à la femme enceinte de s'engager vers une interruption de la grossesse, ne dispense pas de la réalisation du caryotype fœtal pour déterminer le mécanisme à l'origine de la trisomie 21. A noter que si la FISH est négative, l'analyse chromosomique pourra être faite soit par un caryotype soit par ACPA.

Une certaine prudence est nécessaire sur le rendu du résultat de l'examen direct sur trophoblaste, qui étudie le même tissu que celui dont est issu l'ADNlc fœtal (cytotrophoblaste). L'étude de Grati [Grati et al. 2014] relève un taux de discordances fœto-placentaires de 1.81% sur 52.673 biopsies de trophoblaste analysées : dans 44,92% des cas, il s'agit de mosaïques confinées au placenta de type 1 (examen direct anormal et culture normale) et type 3 (anomalies à l'examen direct et sur culture). Dans son étude de 2006 [Grati et al. 2006], sur 203 discordances fœto-placentaires, 11 concernaient des trisomies 13, 18 et 21 (type 1 et 3) dont 2 en mosaïque confinées au placenta avec une trisomie 13 homogène sur l'examen direct. C'est pourquoi, en cas d'aneuploïdie, même homogène à l'examen direct, il est fortement recommandé d'attendre la confirmation de ce premier résultat par le caryotype après culture cellulaire avant d'envisager toute interruption médicale de grossesse. En cas de discordance entre l'examen direct et la culture, un contrôle du caryotype fœtal par amniocentèse est impératif. Les précautions habituellement prises au laboratoire pour diminuer au maximum le risque d'interruption de grossesse de fœtus indemne avec une trisomie 21 confinée au placenta seront scrupuleusement suivies.

Le laboratoire ayant réalisé le test ADNlc doit pouvoir proposer un parcours de soin afin que l'analyse cytogénétique soit prise en charge par le système de santé.

7-6 Transmission des résultats

Le laboratoire autorisé pour les examens de génétique portant sur l'ADN fœtal libre circulant dans le sang maternel transmet directement le résultat au prescripteur. Le laboratoire préleveur est informé que le résultat a été envoyé au prescripteur.

Le prescripteur transmet le résultat à la femme enceinte au cours d'une consultation.

Par ailleurs :

- le compte-rendu des tests ADNlc doivent être transmis au laboratoire ayant réalisés les MSM ([Arrêté du 14 décembre 2018 pris en application de l'article R. 2131-2-3 du code de la santé publique](#))
- les comptes-rendus des examens de cytogénétique réalisés suite à des tests ADNlc positifs doivent être transmis le cas échéant au laboratoire (comme autorisé par l'arrêté du 25 janvier 2018) ayant réalisé l'ADNlc pour leur rapport d'activité sur l'ADNlc.

8- Compte-rendu des résultats

En plus des éléments communs à tout compte-rendu de biologie médicale, il mentionne les éléments suivants :

- l'âge gestationnel au moment du prélèvement
- le nombre de fœtus et la présence éventuelle de jumeaux évanescents
- le nom commercial des réactifs et logiciels utilisés ; un commentaire détaillant la technique employée doit figurer au compte-rendu ; Il contiendra les limites de son interprétation selon les recommandations des sociétés savantes
- L'indication médicale.

La conclusion de l'analyse doit être mentionnée clairement, négatif ou positif, accompagnée d'un commentaire explicatif adapté sur la conduite à suivre.

A titre d'exemple :

- En cas de résultat négatif :
Ce résultat n'est pas en faveur d'une trisomie 21 fœtale. Cet examen n'est pas un caryotype fœtal et n'est destiné qu'à dépister la trisomie 21. Ce test ne permet pas de rechercher d'autres anomalies chromosomiques déséquilibrées ni les anomalies chromosomiques en mosaïque. La surveillance de la grossesse doit rester inchangée.
- En cas de résultat positif (exemple d'une trisomie 21) :
Ce résultat est compatible avec une trisomie 21 fœtale. Une consultation adaptée est nécessaire et un contrôle par caryotype fœtal doit être proposé afin de confirmer ce résultat. Un dépistage positif ne signifie pas obligatoirement que le fœtus soit porteur de trisomie 21. Un contrôle par caryotype fœtal doit être réalisé afin de confirmer ce résultat. Nous vous remercions de bien vouloir nous adresser le résultat de ce caryotype et de nous tenir informés de l'issue de cette grossesse.

9- Documents et échantillons biologiques à conserver

Sont conservés pendant cinq ans par le laboratoire :

- l'attestation d'information
- le consentement de la femme enceinte
- la prescription
- le résultat du test ADNlc T21.

Les données brutes permettant une ré-analyse sont conservées pendant 1 an après la date du prélèvement. Les plasmas non utilisés sont conservés pendant 1 an après la date du prélèvement dans des conditions telles que décrites par le fournisseur du test de manière à pouvoir accéder si nécessaire à la réalisation d'un test de contrôle.

10- Particularité des grossesses multiples

Le test par ADNlc est l'examen de référence pour le dépistage des aneuploïdies dans le cadre des grossesses gemellaires [Fosler et al 2017, Le Conte et al 2017].

10-1 Grossesses triples et plus

[L'arrêté du 14 décembre 2018](#) stipule « qu'il s'agisse d'une grossesse gémellaire ou d'une grossesse multiple dont le nombre de fœtus est supérieur à deux, le dispositif doit avoir été validé pour chaque indication dans le cadre de son marquage CE en tenant compte du nombre de fœtus (n=2 ou plus) et sa notice d'utilisation doit mentionner clairement les performances diagnostiques garanties par le fabricant pour chaque cas. »

Or actuellement, de telles données n'existent pas pour les grossesses triples et plus. Aucun autre test de dépistage n'étant réalisable, les sociétés savantes rédactrices de ce guide continuent de préconiser la réalisation du dépistage par ADNlc dans ces indications. Une mention spéciale doit être faite sur le compte-rendu. Les données, via les rapports d'activité à l'ABM seront utilisées pour définir ultérieurement les performances.

10-2 Chorionicité

En toute logique, la chorionicité est plus informative que le nombre de fœtus et devrait être la donnée renseignée pour l'analyse. A défaut, toute grossesse gémellaire sera considérée comme bichoriale.

10-3 Jumeaux évanescents

En cas de jumeaux évanescents, la grossesse doit être considérée comme gémellaire [Grömminger et al., 2014].

Le délai de relargage du placenta du jumeau évanescent est variable d'une grossesse à l'autre [Hochstenbach et al., 2018].

11- Suivi qualité

11-1 Indicateurs qualité interne

Le laboratoire devra définir des critères de qualité interne, technique et biologique. A titre d'exemple :

- nombre de read par run
- délai de rendu ou pourcentage de rendu hors délai
- taux de contrôle sur le même prélèvement
- taux de non-rendu
- taux de faux positifs

11-2 Evaluation externe de la qualité

Il n'existe pas à l'heure actuelle un système unique compatible avec toutes les plateformes.

Deux solutions sont disponibles : soit un EEQ basé sur un échantillon artificiel (EMQN, Cap survey...) soit un comparaisons inter-laboratoire partageant la même plateforme.

12- Ethique

Les sociétés savantes rédactrices de ce guide souhaitent affirmer leur respect pour la vie des enfants porteurs de trisomie 21.

En effet, la majorité des professionnels réalise des consultations de conseil génétique en période prénatale à la suite de l'annonce d'une trisomie 21 chez le fœtus et/ou des consultations de suivi d'enfants ou d'adultes porteurs de trisomie 21. Les enfants porteurs de trisomie 21 présentent une déficience intellectuelle et des malformations dont l'expressivité est très variable. La majorité des personnes porteuses de trisomie 21 arrive à lire, écrire et compter et peuvent devenir autonome grâce à un suivi médical et paramédical adapté.

Le risque de dérive eugénique dû à l'utilisation de test de dépistage de plus en plus performant doit effectivement être évoqué d'autant plus qu'en France 90 à 95 % des couples confrontés à l'annonce d'une trisomie 21 fœtale optent pour une interruption médicale de grossesse (IMG). Il est important de rappeler qu'il est du devoir des professionnels de santé, en particulier des généticiens, d'une part d'informer les parents sur le phénotype de la trisomie 21 et, d'autre part, sur les possibilités de prise en charge : poursuite de la grossesse, accompagnement, prise en charge de l'enfant ou abandon.

L'autonomie des personnes doit être respectée afin que la meilleure option pour la femme enceinte puisse être choisie : la réalisation d'un dépistage de la trisomie 21 doit rester un choix personnel, constituer une démarche proposée et non imposée à la femme enceinte. Le droit de ne pas recourir à ce dépistage doit absolument être conservé et respecté.

Enfin, l'intégration des personnes porteuses de trisomie 21 doit être favorisée afin que le regard de la société change et n'influe pas négativement sur les décisions parentales. La recherche sur cette pathologie doit être favorisée

13- Textes législatifs

L'article [L. 162-16 de la loi du 29 juillet 1994 relative au don et à l'utilisation des éléments et produits du corps humain, à l'assistance médicale à la procréation et au diagnostic prénatal](#) propose : « Le DPN s'entend des pratiques médicales ayant pour but de détecter *in utero* chez l'embryon ou le fœtus une affection d'une particulière gravité. »

Loi n° 2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique (1).

[Décret n° 2006-1661 du 22 décembre 2006 relatif au diagnostic prénatal et au diagnostic biologique effectué à partir de cellules prélevées sur l'embryon *in vitro* et modifiant le code de la santé publique](#) (dispositions réglementaires) / JO 23 décembre 2006

[Arrêté du 26 février 2007 fixant la composition du dossier prévu à l'article R. 2131-7 du code de la santé publique à produire à l'appui d'une demande d'autorisation ou de renouvellement d'autorisation pour pratiquer des analyses de cytogénétique et de biologie pratiquées en vue d'établir un diagnostic prénatal *in utero*](#) / JORF n° 71 du 24 mars 2007 page 5484 texte n° 38

[Arrêté du 23 Juin 2009 fixant les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostics prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21](#)

[Loi n° 2011-814 du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique \(1\) Titre I^{er} : examen des caractéristiques génétiques à des fins médicales et Titre III : diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire et échographie obstétricale et fœtale](#)

[Arrêté du 27 mai 2013 définissant les règles de bonnes pratiques applicables à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales](#) / JORF n°0130 du 7 juin 2013 page 9469 texte n° 14

[Décret n° 2014-32 du 14 janvier 2014 relatif aux diagnostics anténatals](#), JORF n°0013 du 16 janvier 2014 page 738 texte n° 5

[Arrêté du 14 janvier 2014 fixant la liste des examens de diagnostic prénatal mentionnés au V de l'article L. 2131-1 du code de la santé publique](#) / JORF n°0013 du 16 janvier 2014 page 748 texte n° 9

[Arrêté du 14 janvier 2014 fixant le modèle des documents mentionnés au III de l'article R. 2131-2 du code de la santé publique](#) / JORF n°0013 du 16 janvier 2014 page 748 texte n° 11

[Arrêté du 3 mars 2015 fixant les conditions de formation et d'expérience des praticiens biologistes exerçant les activités de diagnostic prénatal mentionnées à l'article L. 2131-1 du code de la santé publique NOR : AFSH1504837A](#)

[HAS septembre 2015 : les performances des tests ADN libre circulant pour le dépistage de la trisomie 21 fœtale](#)

[Arrêté du 1^{er} juin 2015 déterminant les recommandations de bonnes pratiques relatives aux modalités d'accès, de prise en charge des femmes enceintes et des couples, d'organisation et de fonctionnement des centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal en matière de diagnostic prénatal et de diagnostic préimplantatoire](#) / JO du 11 juin 2015

[HAS avril 2017 : Place des tests ADN libre circulant dans le sang maternel dans le dépistage de la T21 fœtale. Recommandation en santé publique.](#)

[Décret n° 2017-808 du 5 mai 2017 relatif à l'introduction dans la liste des examens de diagnostic prénatal des examens de génétique portant sur l'ADN fœtal libre circulant dans le sang maternel](#) / JORF n°0108 du 7 mai 2017, texte n° 53

[Arrêté du 5 mars 2018 fixant les conditions de formation et d'expérience des biologistes médicaux exerçant les activités de diagnostic prénatal mentionnées à l'article L. 2131-1 du code de la santé publique](#)

[Décision du 19 avril 2018 de l'Union nationale des caisses d'assurance maladie relative à la liste des actes et prestations pris en charge par l'assurance maladie](#) / JORF n°0299 du 27 décembre 2018

[Décret no 2018-1046 du 28 novembre 2018 relatif au régime d'autorisation des établissements de santé et des laboratoires de biologie médicale pour la pratique du diagnostic prénatal](#)

[Arrêté du 14 décembre 2018 modifiant l'arrêté du 23 juin 2009 modifié fixant les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de trisomie 21](#) / JORF n°0294 du 20 décembre 2018 texte n° 33

14-Bibliographie

- Achiron R, Lipitz S, Gabbay U, et al. Prenatal ultrasonographic diagnosis of fetal heart echogenic foci: no correlation with Down syndrome. *ObstetGynecol* 1997; 89:945-948
- Alberry M, Maddocks D, Jones M, et al. Free fetal DNA in maternal plasma in an embryonic pregnancy: confirmation that the origin is the trophoblast. *Prenat Diagn* 2007; 27:415-418
- Ashoor G, Syngelaki A, Poon LC, Rezende JC, Nicolaides KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation: relation to maternal and fetal characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 41:26-32
- Benachi A, Steffann J, Gautier E, et al. Fetal DNA in maternal serum: does it persist after pregnancy? *Hum Genet* 2003; 113:76-79
- Benachi A, Letourneau A, Kleinfinger P et al. Cell-Free DNA Analysis in Maternal Plasma in Cases of Fetal Abnormalities Detected on Ultrasound Examination. *ObstetGynecol*, 2015; 125:1330-1337
- Ben P, Plon SE, Bianchi DW. Current controversies in prenatal diagnosis 2 : NIPT results suggesting maternal cancer should always be disclosed. *Prenat Diagn* 2019; 339-343.
- Beulen L, Faas BHW, Feenstra I, et al. Clinical utility of non-invasive prenatal testing in pregnancies with ultrasound anomalies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 49:721-728
- Bianchi DW, Parker RL, Wentworth J, et al.; CARE Study Group. DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening. *N Engl J Med* 2014; 370:799-808
- Bianchi DW, Rava RP, Sehnert AJ. DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening. *N Engl J Med* 2014; 371:578
- Bianchi DW, Wilkins-Haug L. Integration of Noninvasive DNA Testing for Aneuploidy into Prenatal Care: What Has Happened Since the Rubber Met the Road? *Clin Chem* 2014; 60:78-87
- Bleu G, Coulon C, Vaast P, et al. Hyperéchogénicité intestinale foetale : quel bilan proposer et quel pronostic ? À propos d'une série continue de 149 femmes enceintes. *J Gynecol Obstetrique et Bio Reproduction* 2015 ; 44 : 558-564
- Borenstein M, Minekawa R, Zidere V, et al. Aberrant right subclavian artery at 16 to 23 + 6 weeks of gestation: a marker for chromosomal abnormality. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010; 36:548-52
- Carbone JF, Tuuli MG, Dicke JM, et al. Revisiting the risk for aneuploidy in fetuses with isolated pyelectasis. *Prenat Diagn* 2011; 31:566-570
- Chan KC, Zhang J, Hui AB, et al. Size distributions of maternal and fetal DNA in maternal plasma. *Clin Chem* 2004; 50:88-92
- Chudleigh PM, Chitty LS, Pembrey M, et al. The association of aneuploidy and mild fetal pyelectasis in an unselected population: the results of a multicenter study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001; 17:197-202
- Coco C, Jeanty P. Karyotyping of fetuses with isolated choroid plexus cysts not justified in an unselected population. *J Ultrasound Med* 2004; 23:899-906
- Committee Opinion N° 640: cell-free DNA screening for fetal aneuploidy. *Obstet Gynecol* 2015, 126:e31-37.
- Costa JM, Letourneau A, Favre R et al. Cell-free fetal DNA versus maternal serum screening for Trisomy 21 in pregnant women with and without assisted reproduction technology; a prospective interventional study *Genet Med*. 2018; 20:1346-1353
- Dagklis T, Defigueiredo D, Staboulidou I, et al. Isolated single umbilical artery and fetal karyotype. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2010; 36:291-295
- Du E, Feng C, Cao Y, Yao Y, Lu J, Zhang Y. Massively Parallel Sequencing (MPS) of Cell-Free Fetal DNA (cffDNA) for Trisomies 21, 18, and 13 in Twin Pregnancies. *Twin Res Hum Genet* 2017; 20:242-249
- Ehrich M, Tynan J, Mazloom A, Almasri E, McCullough R, Boomer T, Grosu D, Chibuk J. Genome-wide cfDNA screening: clinical laboratory experience with the first 10,000 cases. *Genet Med* 2017; 19:1332-1337
- Fiorentino F, Bono S, Pizzuti F, Mariano M, Polverari A, Duca S, Sessa M, Baldi M, Diano L, Spinella F. The importance of determining the limit of detection of non-invasive prenatal testing methods. *Prenat Diagn* 2016; 36:304-311

Flori E, Doray B, Gautier E, et al. Circulating cell-free fetal DNA in maternal serum appears to originate from cyto- and syncytio-trophoblastic cells. Case report. *Hum Reprod* 2004; 19:723–724

Fosler L, Winters P, Jones KW, Curnow KJ, Sehnert AJ, Bhatt S, Platt LD. Aneuploidy screening by non-invasive prenatal testing in twin pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 49:470-477

Guedj F, Bianchi DW, Delabar JM. Prenatal treatment of Down syndrome: a reality? *Curr Opin Obstet Gynecol* 2014; 26:92–103

Grati FR. Chromosomal Mosaicism in Human Feto-Placental Development: Implications for Prenatal Diagnosis. *J Clin Med* 2014; 3:809-837

Grati FR, Grimi B, Frascoli G, et al. Confirmation of mosaicism and uniparental disomy in amniocytes, after detection of mosaic chromosome abnormalities in chorionic villi. *Eur J Hum Genet* 2006; 14:282-8

Gregg AR, Skotko BG, Benkendorf JL, Monaghan KG, Bajaj K, Best RG, Klugman S, Watson MS. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med*. 2016; 18:1056-65

Grömminger S, Yagmur E, Erkan S et al. Fetal Aneuploidy Detection by Cell-Free DNA Sequencing for Multiple Pregnancies and Quality Issues with Vanishing Twins. *J Clin Med*. 2014; 3(3):679-92

Gross SJ, Stosic M, Mc Donald-McGinn DM et al. Clinical Experience with Single-Nucleotide Polymorphism-Based Noninvasive Prenatal Screening for 22q11.2 Deletion Syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; 47:177-183

HAS. Recommandation en santé publique « Place des tests ADN libre circulant dans le sang maternel dans le dépistage de la trisomie 21 foetale », rapport HAS 2017

Hochstenbach R, Elferink MG, van Zon PHA et al. Discordant NIPT result in a viable trisomy-21 pregnancy due to prolonged contribution to cfDNA by a demised trisomy-14 cotwin. *Clin Case Rep*. 2018 ; 6(5):788-791

Helgeson J, Wardrop J, Boomer T et al. Clinical outcome of subchromosomal events detected by whole-genome noninvasive prenatal testing. *Prenat Diagn* 2015; 35:999-1004

Iwarsson E, Jacobsson B, Dagerhamn J, Davidson T, Bernabé E, HeibertArnlin M. Analysis of cell-free fetal DNA in maternal blood for detection of trisomy 21, 18 and 13 in a general pregnant population and in a high risk population – a systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2017; 96:7-18

Le Conte G, Letourneau A, Jani J, Kleinfinger P, Lohmann L, Costa JM, Benachi A. Cell-free fetal DNA analysis in maternal plasma as a screening test for trisomy 21, 18 and 13 in twin pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017 Aug 18 doi: 10.1002/uog.18838

Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, Wainscoat JS. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997; 350:485–487

Lo YM, Zhang J, Leung TN, et al. Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma. *Am J Hum Genet* 1999; 64:218–24

Lo YM, Chan KC, Sun H, et al. Maternal plasma DNA sequencing reveals the genome-wide genetic and mutational profile of the fetus. *Sci Transl Med* 2010; 2:61ra91

Lo KK, Karampetsou E, Boustred C et al. Limited Clinical Utility of Non-invasive Prenatal Testing for Subchromosomal Abnormalities. *Am J Hum Genet*. 2016; 98:34-44

Lun FM, Chiu RW, Allen CKC, et al. Microfluidics digital PCR reveals a higher than expected fraction of fetal DNA in maternal plasma. *Clin Chem* 2008; 54:1664–1672

Maillet L, Rudigoz RC, Buffin R et al. Devenir neonatal des foetus pré-sentant un intestin hyperechogene. *Gynecol Obs & Fertilité*. 2014; 42:383–386

Moradkhani K, Cuisset L, Boisseau P et al. Risk estimation of uniparental disomy of chromosome 14 or 15 in a fetus with a parent carrying a non - homologous Robertsonian translocation. Should we still perform prenatal diagnosis? *Prenatal Diagnosis*. 2019; 39:986–992

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

Oneda B, Rauch A. Microarrays in prenatal diagnosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2017; 42:53-63

Oneda B, Steindl K, Masood R, et al. Noninvasive prenatal testing: more caution in counseling is needed in high risk pregnancies with ultrasound abnormalities. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2016; 200:72-75

Ouzounian JG, Ludington C, Chan S. Isolated choroid plexus cyst or echogenic cardiac focus on prenatal ultrasound: is genetic amniocentesis indicated? *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196:595.e1-3; discussion 595.e3.

Pico H, Mancini J, Lafouge A, et al. Prenatal Associated Features in Fetuses Diagnosed with an Aberrant Right Subclavian Artery. *Fetal Diagn Ther* 2016; 40:187-194

Poon LC, Dumidrascu-Diris D, Francisoc C et al. IONA test for first-trimester detection of trisomies 21, 18 and 13. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; 47: 184–187

Singer A, Maya I, Koifman A, et al. Microarray analysis in pregnancies with isolated echogenic bowel. *Early Human Development* 2018; 119:25–28

Skrzypek H, Hui L. Noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy and single gene disorders. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2017; 42:26-38

Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM). Norton ME, Biggio JR, Kuller JA, Blackwell SC. The role of ultrasound in women who undergo cell-free DNA screening. *Am J Obstet Gynecol*. 2017; 216:B2-B7

Svirsky R, Reches A, Brabbing-Goldstein D, et al. Association of aberrant right subclavian artery with abnormal karyotype and microarray results. *Prenat Diagn* 2017; 37:808-811

Taylor-Phillips S, Freeman K, Geppert J, Agbebiyi A, Uthman OA, Madan J, Clarke A, Quenby S, Clarke A. 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 18;6(1):e010002

Valderramos SG, Rao RR, Scibetta EW et al. Cell-free DNA screening in clinical practice: abnormal autosomal aneuploidy and microdeletion results *Am J Obstet Gynecol* 2016; 215:626

Wang JC, Sahoo T, Schonberg S, Kopita KA, Ross L, Patek K, Strom CM. Discordant noninvasive prenatal testing and cytogenetic results: a study of 109 consecutive cases. *Genet Med* 2015; 17:234-236

Yaron Y. The implications of non-invasive prenatal testing failures: a review of an under-discussed phenomenon. *Prenat Diagn* 2016; 36:391-396

Zhao C, Tynan J, Ehrich M, et al. Detection of fetal subchromosomal abnormalities by sequencing circulating cell-free DNA from maternal plasma. *Clin Chem* 2015; 61:4-11

Zhang H, Gao Y, Jiang F, et al. Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146,958 pregnancies. *Ultrasound ObstetGynecol* 2015; 45:530–538

Annexe 1 Dépistage par séquençage de l'ADNlc

Schématiquement, on peut distinguer aujourd'hui trois approches différentes. L'une dite « whole-genome » analyse sans a priori la totalité des fragments d'ADN présents dans le plasma maternel ; les autres dites « ciblées » analysent spécifiquement les fragments dérivant du ou des chromosomes d'intérêt, soit à travers des régions non polymorphes, soit à travers des régions contenant des SNP (single-nucleotide polymorphism) [Skrzypek and Hui, 2017]. Une très large méta-analyse réalisée en 2017 sur l'ensemble des données publiées dans la littérature depuis 2007 montre une sensibilité globale de ces 3 approches de 99.3% pour la trisomie 21, 97.7% pour la trisomie 18 et 97,5% pour la trisomie 13 [Iwarsson et al, 2017]. La spécificité est également très élevée atteignant 99,9% pour la trisomie 21. Il ne semble pas exister de différences significatives entre les différentes approches [Taylor-Philips et al. 2016]. Néanmoins, le taux d'échec du test est variable selon les plateformes : les plus importants étant rapportés pour les approches ciblées, notamment celles basées sur le génotypage des SNP [Yaron 2016]. La cause la plus fréquente reste une fraction fœtale insuffisante [Fiorentino et al. 2016]. La récente méta-analyse de Taylor-Philips [Taylor-Philips et al. 2016] estime un taux d'échec variable entre 0 et 12,87% et rapporte qu'environ 14% des femmes avec un test ADNlc initial en échec ont un second échec sur un prélèvement ultérieur.

Plus récemment, une méthode d'analyse basée sur l'utilisation d'une technologie de puces à ADN selon une approche similaire à une CGH-array a permis de montrer des performances équivalentes au séquençage MPS tout en évitant le recours à des plateformes complexes et coûteuses. De nouvelles approches fondées sur des PCR quantitatives ou des amplifications isothermes des molécules d'ADN sont en cours d'évaluation, l'objectif étant d'aboutir à un test peu coûteux et entièrement automatisé.

Spécificités des analyses ADNlc

Le processus analytique est complexe et comprend schématiquement 3 étapes : la préparation de l'échantillon avec extraction des acides nucléiques, la modification des molécules ADN en vue de leur séquençage, l'analyse bio-informatique des données selon des algorithmes qui varient selon les différents tests et approches mais dont la finalité est toujours d'évaluer une quantité relative sur la base d'un test statistique.

Annexe 2 Sensibilité ou taux de détection, Spécificité, VPP, VPN

- ▶ Sensibilité : probabilité que le test soit + quand le fœtus est atteint ($VP/(VP+FN)$)
- ▶ Spécificité : probabilité que le test soit - quand le fœtus est non atteint ($VN/(VN+FP)$)
- ▶ Valeur prédictive positive : probabilité que fœtus soit atteint quand le test est + ($VP/(VP+FP)$)
- ▶ Valeur prédictive négative : probabilité que fœtus soit non atteint quand le test est - ($VN/(VN+FN)$)

Tableau de contingence :

	Test positif	Test négatif
Fœtus atteint	Vrais positifs (VP)	Faux négatifs (FN)
Fœtus non atteint	Faux positifs (FP)	Vrais négatifs (VN)

La sensibilité et la spécificité sont des performances intrinsèques au test. Les VPP et VPN sont les valeurs cliniques les plus importantes et répondent aux questions : quel est le risque que le fœtus soit atteint lorsque le test rendu est positif ou quel est le risque résiduel que le fœtus soit atteint lorsque le test est négatif ? Elles dépendent de la prévalence de la pathologie. Lors de la restitution d'un résultat positif par ADNc, il faudra sensibiliser le prescripteur sur la notion de VPP, souvent confondue avec la spécificité. La VPP pour le dépistage de la trisomie 21 est comprise selon les études entre 80 et 90%.