

Dépistage Prénatal Non Invasif par étude de l'ADN foetal circulant

Actualités et mise en pratique



Dr Mélanie JIMENEZ POCQUET
Biologiste médical
Cytogénétique

Site Léonard de Vinci
Tél: 02.47.74.35.90
mjimenez@laboplus.fr



Dépistage de la trisomie 21 en France

■ Avant 2009 :

- Age maternel, SAE, MSM₂T, antécédent T₂₁
- > 80 000 prélèvements invasifs

■ 2010 :

- Age maternel, MSM₁T, antécédent T₂₁
- 55 600 prélèvements invasifs

■ 2012 :

- MSM₁T, antécédent T₂₁
- 41700 prélèvements invasifs

Dépistage de la trisomie 21 en France

- 2013 :
 - 4.6% de T21 diagnostiquée chez les femmes à risque
 - soit 95.4% de caryotypes fœtaux sans T21
- Trop de prélèvements invasifs pour le diagnostic de la T21 pour un risque de perte fœtal de 0,5 à 1%

DPNI : pourquoi

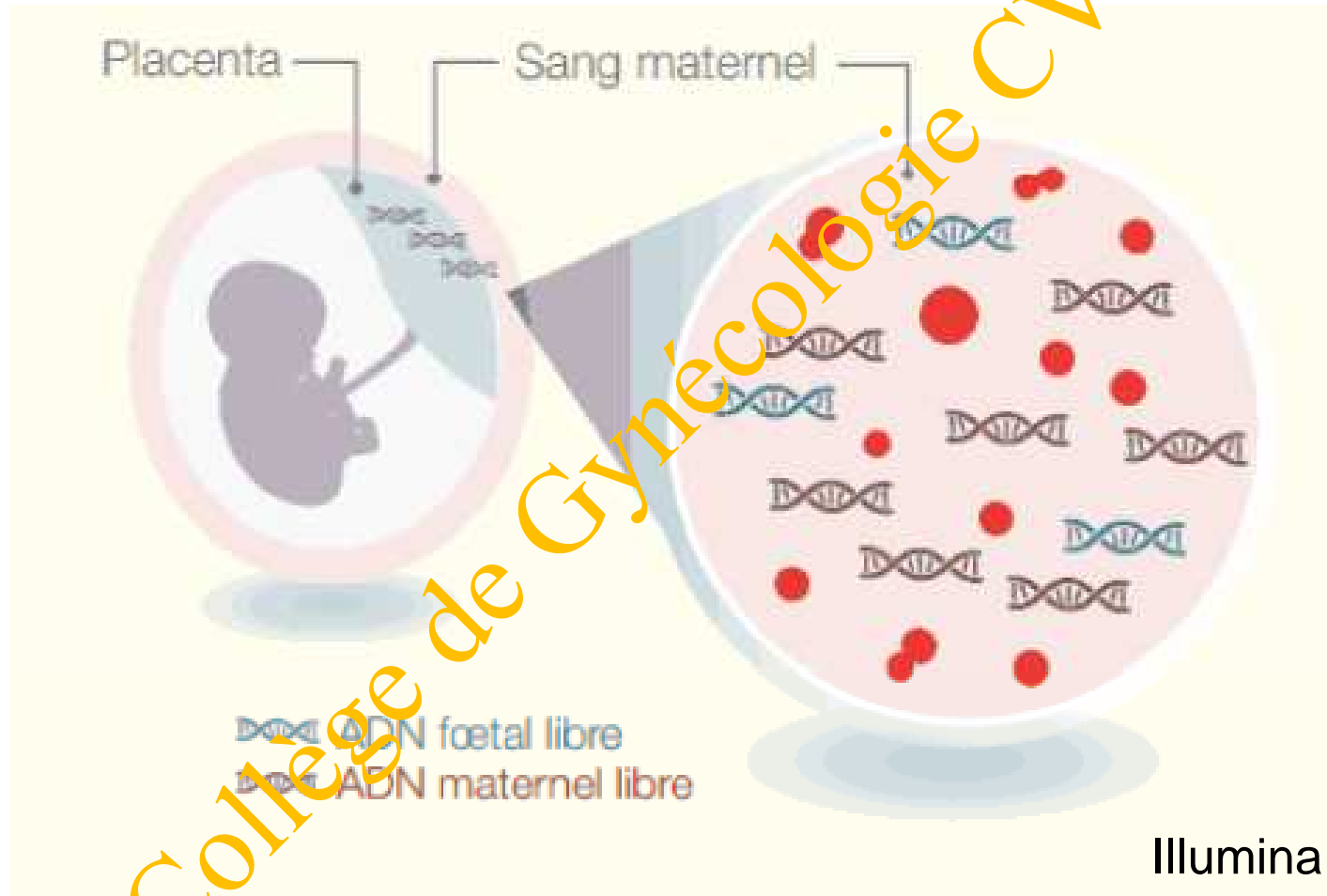
- Améliorer les performances diagnostic de la T 21 :
 - diminuer le nombre de gestes invasifs en ciblant mieux le groupe de femmes à risque
- **Performances du DPNI**
 - Taux de détection $>99\%$
 - Taux de faux positifs $<1\%$

ADN foetal circulant

- Identifié en 1997
- 5-10% de l'ADN libre
- Fragments 200pb
- Clairance très rapide (1/2 vie : 16min)

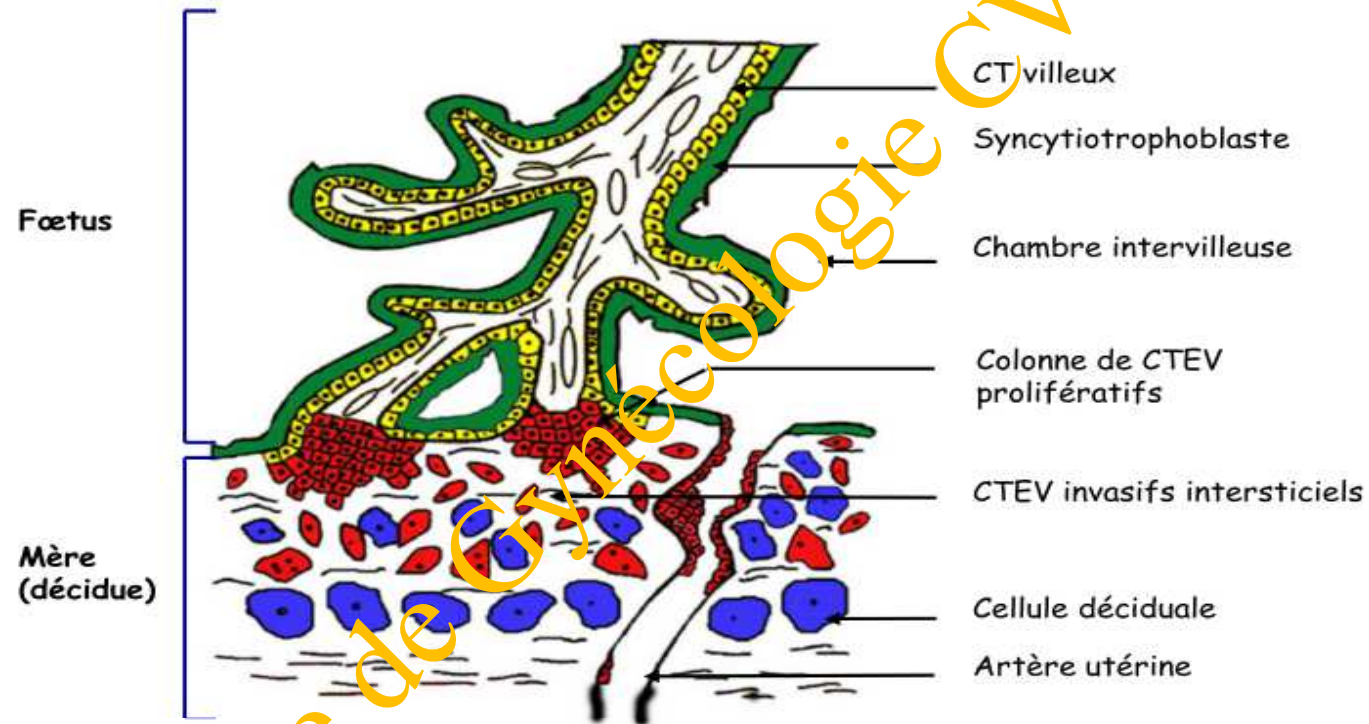
Collège de Gynécologie CVL

Source de l'ADN foetal



syncytiotrophoblaste = examen direct des VC

La placentation



- Invasion trophoblastique
- Turn over cellulaire +++
- Elimination des déchets cellulaires dans la circulation sanguine maternelle

Applications

- Identification de l'allèle paternel :
 - Sexe foetal (SRY)
 - Rhésus foetal
 - Maladie monogénique
- Applications courantes : **Test QUALITATIF**

Collège de Gynécologie CVL

DPNI :

Techniques mises en œuvre

- Différentes technologies
- **QUANTITATIVES**

Collège de Gynécologie CML

Problématique de la quantification

■ Le génome humain

- Organisme diploïde, 23 paires de chromosomes
- 3,3 milliards de paires de bases
- 20 687 gènes et présences isoformes

■ Par individu, en moyenne :

- 3 à 4 millions de variations ponctuelles

Analyse informatique

- Alignement de séquences
- Dénombrement de séquences (plusieurs millions de lecture à aligner et compter), analyse de signal, de polymorphisme
- Normalisation des données :
 - Recherche d'un ratio différent de 1 (normalisation) :
 - **Pour le chromosome 21 : ratio 1.05 : suspicion T21**

Performances

- Caryotype foetal confirmant le résultat DPNI (13,18 et 21) : **99%**
- 1% avec discordance:
 - Faux positifs : Triploïdies, Mosaique placentaire
 - Faux négatifs : mosaique placentaire et taux faible ADN foetal

Les limites

- Etude ciblée (13,18,21) \neq caryotype
- C'est l'étude du syncytiotrophoblaste : donc problématique des mosaïques : Faux +/-
- Faux positifs en détail :
 - jumeau évanescent
 - mosaïque maternelle et fœtale
 - néoplasie
 - CNV (Copy Number Variant) maternel

Indications DPNI (recommandations ACLF)

- Patientes à risque accru de T21:
 - MSM :
 - > 1/1 000
 - non fiable (hors bornes, gémellaire)
 - Non réalisés avec Age Mat >38 ans
 - Antécédent de grossesse avec aneuploïdie
 - Translocation Robertsonnienne parentale (13 et 21)

Contre indications au DPNI (recommandations ACLF)

- SAE dont CN > 3,5 mm isolée
- Jumeau évanescent

Prélevement **INVASIF**

Comment prescrire le DPNI

- A intégrer dans le parcours de soins classique du suivi de grossesse
- Libellé clairement distinct d'un dépistage par MSM :

DPNI par analyse d'ADN foetal circulant

Comment prescrire le DPNI

- À partir de 10 SA
- Au décours d'une consultation médicale :
 - Informations sur le test :
 - **DEPISTAGE**
 - Ses limites
 - **Recueillir le consentement éclairé**
 - Informer du coût : **390€ (non remboursé)**

Collège de Gynécologie CVL

Prélèvements

- Pré analytique indispensable :
 - Bon de demande
 - Consentement/attestation
 - CR Echo T1 et MSM
- Tube Streck quelque soit le prestataire
- Privilégier le début de semaine

Résultats

- Communiqués **uniquement** au médecin prescripteur
- Délais : 15 jours

Collège de Gynécologie CVL

Echec

- Problème technique
- Taux d'ADN fœtal circulant trop faible : BMI de la patiente >35
- Selon les techniques et laboratoires de 1 à 8%

Collège de Gynécologie CVL

Et ensuite : c'est un test de dépistage

- Pas de risque mis en évidence . suivi de grossesse classique
- Risque accru d'aneuploïdie :
 - doit être confirmé par un caryotype foetal
 - Liquide amniotique
 - VC, Sang foetal

Problématiques sous jacentes

- Remboursement
- Interrogation sur petits signes d'appels échographiques sans caryotype
- Conséquences sur les ponctions :
 - Diminution du nombre de prélèvements :
 - Formation ?
 - Maintient des compétences

Au total, le DPNI

- test de **dépistage**, sensibilité/spécificité > 99%
- Analyse génétique : **législation ++**
- Ne pas proposer si SAE, jumeau évanescent
- Non pris en charge par l'assurance maladie

Pour toutes questions

Dr Mélanie JIMENEZ POCQUET

Biologiste médical

Cytogénétique

mjimenez@laboplus.fr

Dr Agathe RAUBEL

Médecin Généticien

Cytogénétique et Génétique Moléculaire

apaubel@laboplus.fr

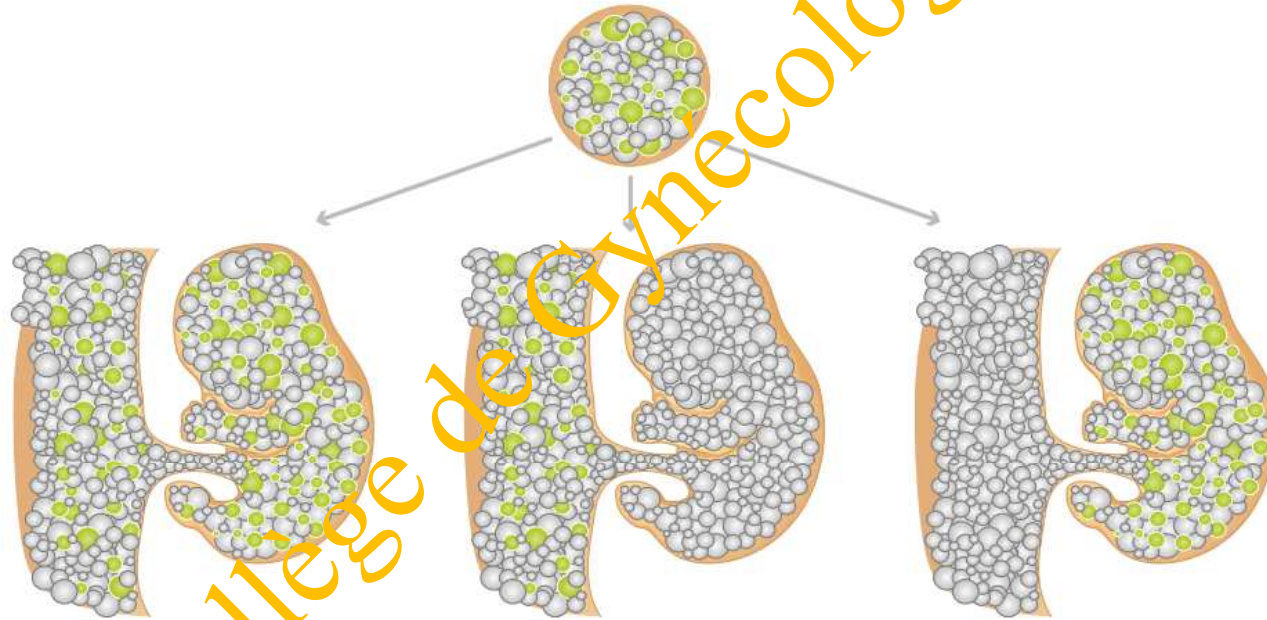


Site Léonard de Vinci

Tél: 02.47.74.35.90

Les faux positifs / négatifs

- Toute la problématique de villosités choriales et les possibilités de mosaïques



- Jumeaux évanescents

DPNI :

Techniques mises en œuvre

- Étude des SNP (Single Nucléotide Polymorphism)
- Séquençage massif parallèle
- PCR digitale
- Ce sont des techniques **QUANTITATIVES**

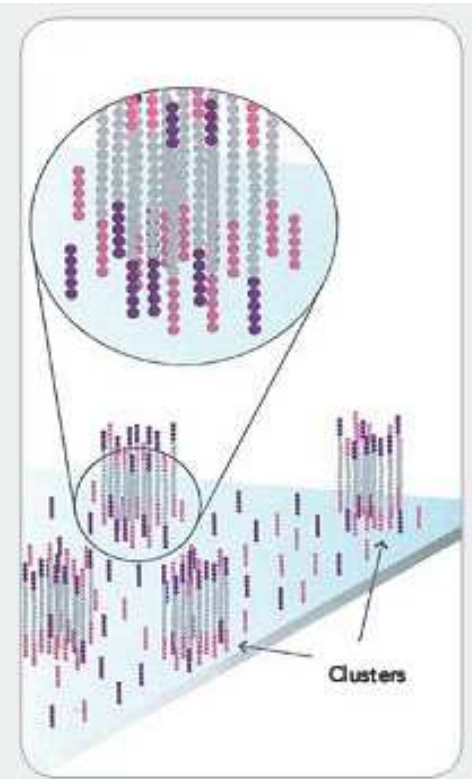
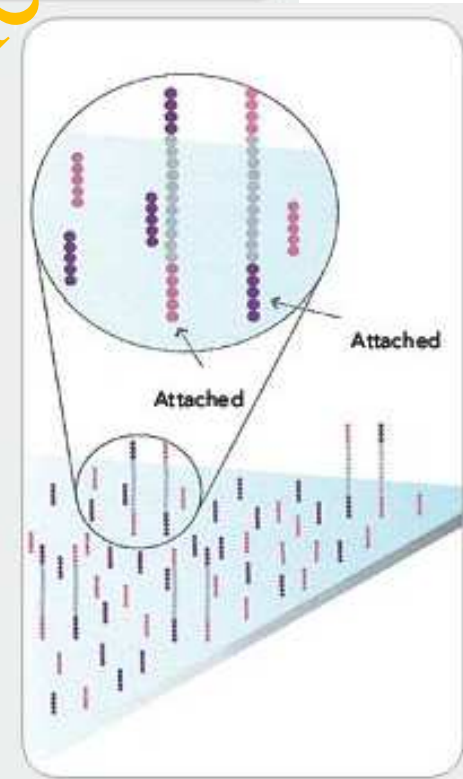
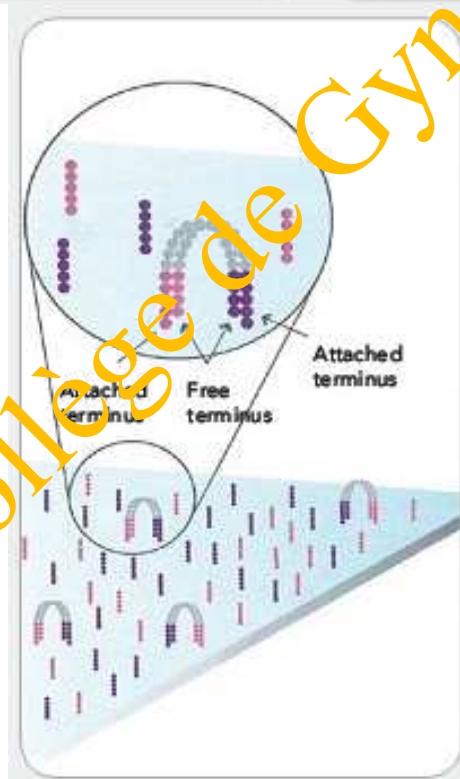
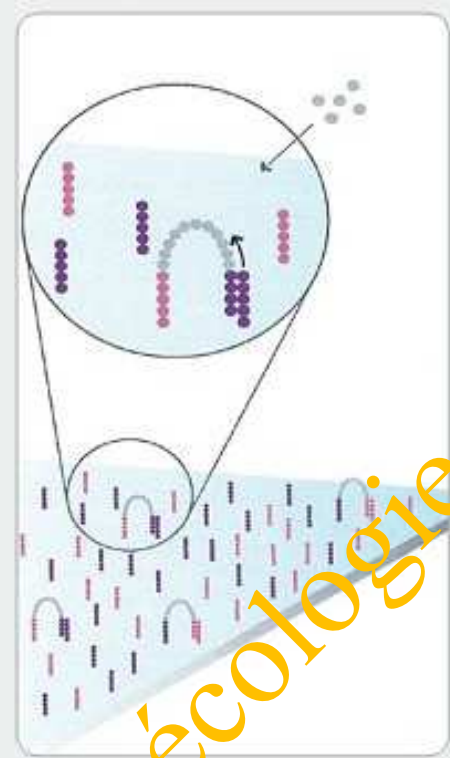
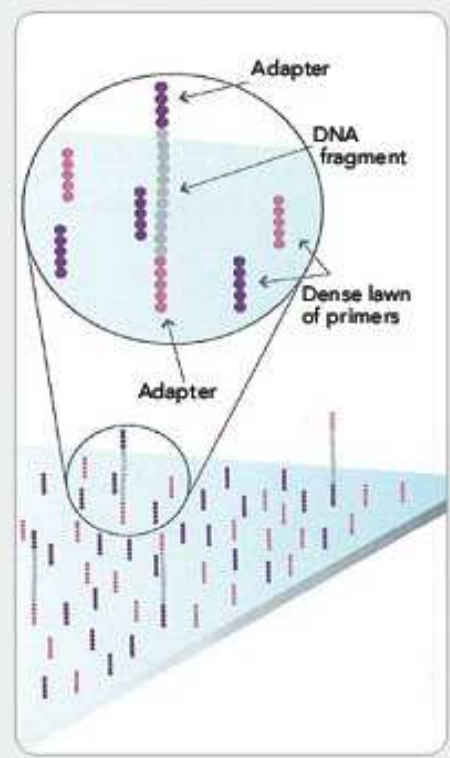
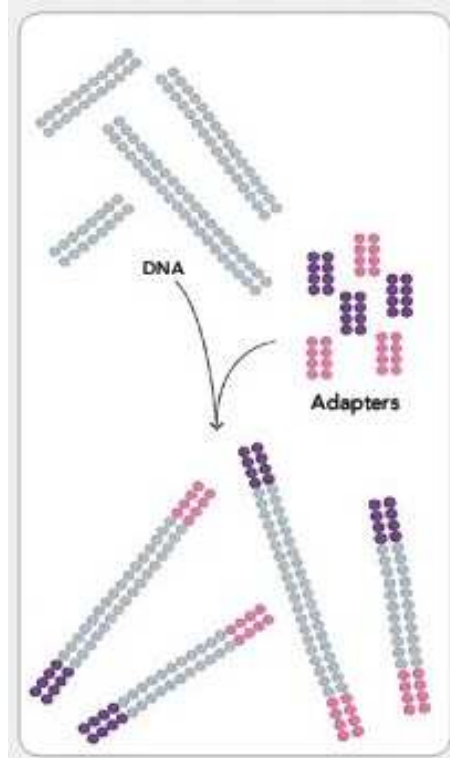
Séquençage massif parallèle

Amplification de millions de fragments
d'ADN

Alignement de séquences (fragments courts)

Dénombrement / ratio

OUTIL INFORMATIQUE PUISSANT



Collège de Gynécologie CVL

Collège de Gynécologie CVI

