

Intérêt du Dépistage Prénatal Non Invasif dans le diagnostic des aneuploïdies 13, 18 et 21



M. BECKER⁽¹⁾, G. EGEA⁽¹⁾, M. TAOUDI⁽¹⁾, D. AHMED CHAOUCH⁽¹⁾, S. EL MOUATASSIM⁽¹⁾
 (1) Département de Génétique, Biomnis Lyon

OBJECTIFS

Etude de la performance du dépistage prénatal non invasif des trisomies 13,18,21 et chromosomes sexuels dans le cadre d'une étude clinique prospective. Le dépistage prénatal non invasif (DPNI) des aneuploïdies 13,18 et 21 combinant la détection de l'ADN circulant fœtal et une technique de séquençage massif en parallèle pourrait permettre le dépistage des trisomie 13,18 et 21 avec une sensibilité et une spécificité très élevée. Cette analyse proposée dans un premier temps pour des femmes enceintes placées dans un groupe à haut risque d'atteinte chromosomique fœtale diminuerait de façon significative le nombre de pertes fœtales. C'est ainsi qu'au laboratoire Biomnis nous avons réalisé une étude clinique comparant les résultats du DPNI aux caryotypes fœtaux avec l'objectif d'étudier la performance de ce nouveau test.

SÉLECTION DES PATIENTS

Etude prospective de 168 patientes

Age maternel : 34,7 ans [17-46]

Semaine d'aménorrhée : 13,57 SA [12-34]

Poids de la mère : 64 kg [49-111]

Indice de masse corporel : 24 [17,93-35,83]

Les indications du DPNI :

- Marqueurs sériques combinés du premier ou du deuxième trimestre ou marqueurs sériques du deuxième



trimestre seul (MS) : 93

■ Signes échographiques (SAE) : 55

■ Antécédents d'aneuploïdies 13,18 ou 21 (ATCDS) : 5

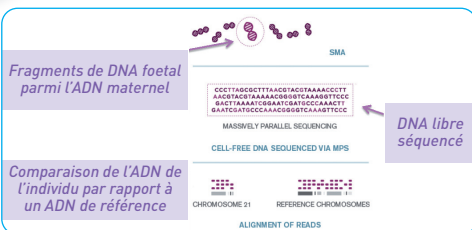
■ Convenance personnelle (CP) : 3 / Non connu : 12

Pour toutes ces indications, il a été proposé à la patiente un geste invasif type ponction villosité chorale ou amniocentèse et dans le même temps un prélèvement DPNI après avoir recueilli le consentement de la patiente.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

- Les prélèvements ont été collectés dans des tubes Streck
- Technique : Illumina /verinata avec un HiSeq 2500 (NGS)
- L'interprétation des résultats : évalué en NCV (normal chromosome value) correspondant à la normalisation du nombre de copies des cibles chromosomiques par rapport au nombre de copie d'un génome euploïde
- Les caryotypes fœtaux ont été réalisés dans les laboratoires de cytogénétiques de Lyon, Bordeaux et Paris.

Principe du séquençage MPS >>>
 D'après C Coffeen, Illumina/verinata



RÉSULTATS COMPARATIFS DU DPNI ET DES CARYOTYPES FŒTAUX

1. Taux d'échec du DPNI : 2 / 168 (0,6 %)

Pour une patiente, le taux d'ADN a été insuffisant pour réaliser la technique et pour la seconde, une anomalie a été détectée sur un autre chromosome que les 13,18 et 21.

2. Dépistage des aneuploïdies 13,18 et 21

Pour les 168 prélèvements, nous avons retrouvé une concordance de 100 % entre les résultats du DPNI et les résultats des caryotypes fœtaux des trisomies 13 et 21.

Pour la trisomie 18, nous avons retrouvé un résultat positif de T18 en culture de villosité chorale et une monosomie X [45,X0] au DPNI et à l'étude directe de la villosité chorale.

Ce résultat peut correspondre soit à une soit à mosaïque confinée au placenta (MCP3) ou à une vraie trisomie 18 fœtal (TMF5)(1). Le statut du fœtus n'est pas connu compte tenu d'une interruption médicale précoce pour d'importants signes échographiques.

Trisomies 21 : 15 (9,4 %)

Trisomies 13 : 4 (2,3 %)

Trisomies 18 : 3 (1,7 %)



Résultats du DPNI

	Nombre	SA	Type de prélèvements
T21	15	14,3 [12,5-26]	10 PVC/5 LA
T13	4	17,1 [12,5-25]	3 PVC/1LA
T18	3	13,3 [12-15]	2PVC/1LA

Présence du chromosome Y dans 82 cas soit 48 % des fœtus.

Dans notre série, la présence du chromosome Y a été détectée pour les caractéristiques suivantes :

Dans 1 cas, nous avons retrouvé une trisomie 18 en culture de villosité chorale et une monosomie X [45,X0] au résultat du DPNI et à l'étude directe de la villosité chorale.

Ce résultat peut correspondre à une soit à mosaïque confinée au placenta (MCP3) ou à une vraie trisomie 18 (TMF5)(1) l'issue de cette grossesse n'est pas connue compte tenu de l'interruption de grossesse pour d'importants signes échographiques.

3. Dépistage des aneuploïdies des chromosomes sexuels

Les résultats du DPNI des chromosomes sexuels ont été concordants avec le caryotype fœtal dans 163 cas.

La présence de Y dans 82 cas a été confirmée par le caryotype.

Dans 1 cas, notre étude bioinformatique n'a pas détecté la del(Yq11.2).

Dans 2 cas, nous avons trouvé un résultat du DPNI et une étude directe des villosités chorales discordants avec la culture.

Indications	Prélèvements	Caryotype Etude directe	Caryotype culture	DPNI
MS	PVC	45,X0	46,XX	45,X0
MS	PVC	46,XY	45,XX	46,XY
MS	PVC	45,X	46,X,del(Y)(q11.2)	46,XX

Ces résultats confirment la corrélation des résultats du DPNI avec le cytotrophoblaste étudié à l'examen direct des villosités chorales.

4. Limites du DPNI

Le DPNI ne détecte pas les triploïdies

Indications	Prélèvements	Caryotype Etude directe	Caryotype culture	DPNI
SAE	PVC	69,XXX	69,XXX	46,XX
SAE	LA	ND	69,XXX	46,XX
SAE	PVC	45,X0	69,XXX	46,XX

DISCUSSION

Dans 95 % des cas, les résultats du DPNI ont été confirmés par le caryotype fœtal.

Dans 5 % des cas, on observe des résultats concordants avec les limites bien connues du DPNI. L'absence de diagnostic des triploïdies. L'examen indirect du statut chromosomique fœtal puisque l'ADN provient du cytotrophoblaste dont la complexité de l'interprétation est liée aux

mosaïques avec un risque de :

- Faux négatifs pour les mosaïques confinées au placenta de type 2 (MCP2) et les vraies mosaïques fœtales (TMF5)
- Faux positifs pour le MCP de type 1. Le taux d'échec de ce test est très faible avec la perspective d'une diminution des gestes invasifs.

CONCLUSION

Le DPNI est un dépistage très performant notamment pour les aneuploïdies 13,18 et 21 avec une sensibilité et une spécificité très élevée. Le taux d'échec reste faible.

Les limites sont essentiellement liées à :

- La détection de mosaïque confinée au placenta
- Les faibles mosaïques fœtales non détectées par le DPNI
- Les variations du nombre de copies maternelles pouvant influencer sur le résultat du sexe chromosomique fœtal.

La technique utilisée au laboratoire est peu dépendante de la fraction fœtale compte tenu de la stratégie technique de séquençage « whole genome » associée à une bioinformatique très performante.

Nous remercions particulièrement Luc Druart (Laboratoire de Paris Biomnis) et Alain Liquier (Laboratoire de Bioffice, Bordeaux), médecins cytogénéticiens pour leur contribution ainsi que toutes les équipes de médecine fœtale qui ont participé très activement à ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

1. Fetoplascental mosaicism: potential implications for false-positive and false-negative prenatal screening results. F R Grati R, Malvestri P, Ferreira JC, Bajaj K, Gostan E, Agrati C, Grim B, Quicetti P, Pugger AM, BCSJ, De Toffi S, Moggi F, Wagner R, Gessis and Simon. 2. Analysis of Cell free DNA in screening for foetal aneuploidy: Updated and metaanalysis Gil MM, Guzzada MS, Ravello R, Alolcar R, Nicolaides NM. Ultrasound Obstet Gynecol 2015; vol 45 Issue 3: 269-76