

REVUES GÉNÉRALES

Diagnostic prénatal

Quel avenir pour le diagnostic prénatal ?

RÉSUMÉ : Le formidable essor des techniques de diagnostic prénatal a permis sans cesse des progrès depuis les années 80, dans la qualité du dépistage et du diagnostic des malformations congénitales et des maladies du fœtus. De nouvelles techniques ont régulièrement supplanté les anciennes, considérées plus risquées, avec des résultats toujours plus rapides, plus fiables, plus complets.

Actuellement, des nouvelles techniques sont développées pour la médecine fœtale : hybridation *in situ*, hybridation comparative et hybridation génomique, d'une part, et l'arrivée depuis quelques années du dépistage non invasif de la trisomie 21 dans le sang maternel, d'autre part.

Ces nouvelles techniques non seulement modifient le paysage de la médecine fœtale, mais préfigurent déjà les possibilités diagnostiques qui seront à notre disposition dans la quinzaine d'années, soulevant dans le même temps de nouveaux problèmes éthiques dans la réflexion autour de la médecine fœtale.



→ J. ROSENBLATT
CPDPN Robert-Debré, PARIS.

La médecine fœtale est une discipline récente, en perpétuelle évolution depuis l'avènement de l'échographie. Bien que la première amniocentèse pour diagnostic prénatal date des années 50 – pour un diagnostic de sexe fœtal par la recherche de corpuscule de Barr sur les amniocytes – c'est avec la cytogénétique conventionnelle et l'échographie qu'est véritablement née la médecine du fœtus et le concept de diagnostic prénatal. Outre la possibilité de déterminer le caryotype fœtal avant la naissance, les années 80 ont vu se multiplier les possibilités de diagnostic pour des maladies génétiques à partir de prélèvements tissulaires échoguidés ou sous contrôle fœtoscopique.

L'avènement de la génétique moléculaire depuis la fin des années 90 et ses applications à la médecine fœtale ont sonné le glas de ces techniques de prélèvements de peau, muscle, foie, et ont considérablement ouvert le champ diagnostique de la médecine fœtale. Pour autant, la nécessité d'un prélèvement

ovulaire (liquide amniotique, trophoblaste) ou fœtal (sang fœtal) était toujours de mise, s'accompagnant d'un risque de perte fœtale ou d'accouchement prématuré. Depuis quelques années, les progrès considérables réalisés en biologie moléculaire ont permis de proposer un diagnostic non invasif par un prélèvement de sang maternel, d'abord pour le sexe fœtal par la recherche de SRY dans le sang maternel, puis le rhésus fœtal, puis certaines maladies génétiques, pour voir arriver récemment la possibilité d'un dépistage non invasif de la trisomie 21, voire d'autres aneuploïdies et de certaines anomalies cytogénétiques.

La fin de l'amniocentèse ?

Ce serait réducteur de penser que le dépistage non invasif augure la fin des prélèvements ovulaires, en particulier de l'amniocentèse. Certes, le nombre de prélèvements a diminué depuis la généralisation des marqueurs sériques

combinés, et avec eux le nombre de pertes fœtales liées au geste. Cependant, il faut bien garder à l'esprit que le diagnostic prénatal ne se résume pas au dépistage de la trisomie 21. La stratégie actuelle est la proposition d'un test de dépistage reposant sur les marqueurs sériques combinés du premier trimestre. En cas de situation à risque, le prélèvement ovulaire pourrait être remplacé par un dépistage non invasif sur sang maternel des trisomies 13, 18 et 21 par séquençage haut débit de nouvelle génération.

Ce dépistage est actuellement disponible en France, hors convention, et des études sont en cours pour évaluer l'organisation d'un dépistage pris en charge par la Sécurité sociale, devenant donc une norme pour les années à venir. Si le risque de perte fœtale annoncé est de l'ordre de 0,5 à 1 % pour une amniocentèse, le bénéfice attendu serait donc évident. Une récente méta-analyse de la littérature a cependant mis en évidence une vraisemblable surestimation de ce risque lié aux prélèvements fœtaux, le surrisque se situerait plutôt aux alentours de 0,11 % pour les amniocentèses et 0,22 % pour les biopsies de villosités choriales [1].

Actuellement, le DPNI présente un certain taux de faux positifs et surtout de situations où le résultat ne peut pas être rendu (jusqu'à plus de 10 %), en particulier chez les patientes en surpoids. **Il n'est envisagé que dans une population à risque de trisomie 21**, sélectionnée sur les marqueurs sériques, ou dans les familles où un des parents présente une translocation équilibrée, impliquant le chromosome 21, 18 ou 13. Le DPNI pose également le problème de situations de faux positifs, par exemple pour un jumeau évanescent, une mosaïque confinée au placenta; aussi, les tests positifs sont donc confirmés par une amniocentèse systématique [2, 3]. Actuellement, les laboratoires rendent un résultat pour les chromosomes 21,

18, et 13, et dans certains cas pour des microdélétions dont l'analyse a été validée, comme la microédition responsable du syndrome de DiGeorge en 22q11 (laboratoires américains). Il faut bien noter que le résultat du DPNI n'est ni celui d'un caryotype définitif ni celui d'une analyse chromosomique sur puce à ADN: l'information rendue n'est pas la même, et il est important de préciser que certaines pathologies qui pourraient être détectées par un caryotype standard, ne seront pas reconnues par le DPNI.

Les autres indications de diagnostic cytogénétique ne sont, pour l'heure, pas encore validées en France, bien que certaines études parues sur la possibilité de DPNI de syndromes microdélétionnels ou de maladies génétiques [4] permettent d'imaginer que les indications du DPNI pourraient s'étendre à l'étude de nombreux syndromes microdélétionnels en pratique courante.

À l'heure actuelle, bien que le DPNI ne soit pas pris en charge par la Sécurité sociale, les praticiens se trouvent confrontés à des patientes qui se sont informées – soit par voie de presse, soit sur Internet – sur ces nouvelles techniques. Le conseil prénatal peut donc intégrer cette possibilité, et le couple pourra être amené à choisir de réaliser ou non ce dépistage à ses frais. L'information donnée repose alors sur plusieurs points: outre la dimension pécuniaire, les indications devraient être restreintes aux patientes à risque, c'est-à-dire après la réalisation des marqueurs sériques maternels (MSM) combinés; le caractère faillible du test doit être expliqué, en particulier le risque de résultat non rendu ainsi que la restriction des résultats aux chromosomes étudiés. À titre informatif, un résultat inattendu sur un caryotype définitif est une situation relativement fréquente, concernant un peu plus de 1 % des caryotypes réalisés pour marqueurs sériques. Un résultat positif du DPNI

fera pratiquer une amniocentèse, de même qu'un résultat non rendu.

Les résultats rassurants sont rendus avec une spécificité de plus 99 % [2], ce qui permet de rassurer la majorité des patientes et de surseoir à une amniocentèse pour risque. Sur un plan empirique, la généralisation du test pourrait aboutir à une diminution drastique du taux d'amniocentèses: en 2012, l'Agence de la biomédecine (ABM) établit dans son rapport [5] que 27 864 MSM (1^{er} trimestre combiné, 2^e trimestre intégré et 2^e trimestre non intégré) étaient considérés à risque, soit 2,8 % pour les marqueurs combinés ou intégrés et 9,7 % pour les marqueurs non intégrés (moyenne de 4,1 %). 12 362 prélèvements ovulaires pour caryotype fœtal ont été réalisés dans cette indication: 735 trisomies 21 ont été mises en évidence. En imaginant que ces patientes aient bénéficié d'un DPNI systématiquement et en supposant que 10 % des patientes à risque seraient prélevées pour résultat non contributif, la réduction du nombre d'amniocentèse dans l'indication des marqueurs sériques pourrait correspondre à un nombre avoisinant les 9 000 amniocentèses par an. En se basant sur un taux de fausses couches annoncé de 0,5 %, 180 fausses couches attribuables au geste pourraient théoriquement être évitées. Ce résultat est à pondérer avec la récente méta-analyse d'Akolekar [1], pour laquelle ce chiffre ne correspondrait qu'à un surrisque d'une dizaine à une vingtaine de cas en fonction de la technique de prélèvement.

Un autre chiffre à prendre en compte est celui des anomalies du caryotype autres que les trisomies 21, 18 et 13 retrouvées après un caryotype fœtal pour marqueurs > 1/250: en 2012, le rapport de l'ABM fait état de 243 anomalies déséquilibrées et 137 anomalies équilibrées découvertes sur un total de 20 002 caryotypes effectués dans cette indication. La réalisation d'un

REVUES GÉNÉRALES

Diagnostic prénatal

caryotype fœtal aboutit donc à la découverte d'anomalies non recherchées dans 1 à 2 % des cas.

Au-delà des considérations financières et des enjeux commerciaux pour les laboratoires qui proposent la technique, il faut donc bien garder à l'esprit les avantages réels du DPNI par séquençage haut débit, en particulier en matière de réduction des risques de fausse couche attribuable aux prélèvements annexiels, mais également les inconvénients au premier rang desquels la perte de l'information que représente l'obtention d'un caryotype fœtal complet, lorsque la proposition est faite à une patiente d'entrer dans ce mode de dépistage.

Au-delà du risque de trisomie 21

Le dépistage de la trisomie 21 est proposé à toutes les femmes enceintes en France, mais il ne constitue qu'une partie du champ de la médecine fœtale. Le dépistage des malformations congénitales repose sur la pratique de l'échographie dès le premier trimestre de la grossesse. Les progrès techniques en imagerie et de la formation des échographistes ont permis à la fois d'augmenter le diagnostic des malformations congénitales [6] et de réaliser un diagnostic de plus en plus précoce [7].

>>> L'échographie est le premier pilier de la médecine fœtale : elle offre la possibilité de diagnostiquer un grand nombre de malformations fœtales. Une fois l'échographie de référence réalisée, un bilan morphologique permet d'établir les premières hypothèses étiologiques. En dehors de malformations connues telles que la transposition simple des gros vaisseaux ou le laparoschisis, la plupart des anomalies morphologiques peuvent s'associer à des anomalies cytogénétiques, et également à des anomalies syndromiques

POINTS FORTS

- ↳ Le DPNI n'est envisagé que dans une population à risque de trisomie 21.
- ↳ Les résultats rassurants de dépistage prénatal non invasif sont rendus avec une spécificité de plus 99 %, ce qui permet de rassurer la majorité des patientes et de surseoir à une amniocentèse pour risque.
- ↳ La puce à ADN ou analyse chromosomique sur puce (ACPA) commence à être utilisée en période prénatale dans des indications de plus en plus larges.
- ↳ Les prélèvements ovulaires, au premier rang desquels l'amniocentèse, demeurent encore le seul moyen d'appréhender un certain nombre de pathologies fœtales et restent actuellement irremplaçables dans ces indications.

dont le substrat cytogénétique ou génétique est parfois connu. L'exemple des cardiopathies conotruncales est tout à fait illustratif de ce raisonnement : un bilan échographique met en évidence une malformation cardiaque de type Fallot et l'absence de visualisation d'un thymus fœtal. La recherche d'une microdélétion de la région 22q11 permet de faire le diagnostic de l'atteinte syndromique, grevant le pronostic de la tétralogie de Fallot [8]. Le diagnostic ne peut pas être réalisé par caryotype standard, il doit faire l'objet d'une technique complémentaire, habituellement par FISH (*fluorescent in situ hybridization*). Cette technique commence à être remplacée par une technique d'hybridation comparative sur billes (BoBs pour *BACs-on-Beads*) qui permet de rechercher des microdélétions sur une dizaine de loci – connus pour donner des pathologies à expression prénatale – avec un rendu du nombre d'allèles pour les chromosomes 13, 18, et 21 [9]. Le résultat est rendu sous 48 heures pour les régions d'intérêt, permettant d'apporter une aide au diagnostic prénatal dans un nombre de cas croissant.

>>> Les puces à ADN représentent également un outil supplémentaire. Jusque là très utilisées en médecine

pédiatrique pour la recherche de délétions/duplications lors du diagnostic d'une association syndromique inconnue ou non caractérisée, la **puce à ADN ou analyse chromosomique sur puce (ACPA) commence à être utilisée en période prénatale dans des indications de plus en plus larges** : hyperclartés nucales à caryotype normal, associations malformatives, malformations apparemment isolées mais connues pour pouvoir s'intégrer dans des syndromes variés, recherche de micro-remaniements dans les translocations apparemment équilibrées mais non héritées d'un des parents, RCIU non vasculaires, etc. Le principe est encore celui d'une hybridation comparative, mais dans ce cas concernant tout le génome fœtal.

Les puces comportent des fragments d'ADN qui sont hybridées avec l'ADN du patient (ADN fœtal issu d'un prélèvement ovulaire) et de l'ADN témoin [10]. Chacun des ADN est marqué en fluorescence. Les régions présentant une duplication ou une délétion sont mises en évidence par lecture optique informatisée dans la mesure de 1 500 kbases (**fig 1**). La région anormale, délétée ou dupliquée, est ensuite confirmée par un examen de référence (FISH ciblée), et l'anomalie est recherchée dans une

banque de données génétique afin de déterminer s'il s'agit d'un variant pathogène ou non. Dans certains cas, le variant est de signification indéterminée, c'est-à-dire qu'il ne correspond à aucune anomalie clinique répertoriée dans la base. Ces cas correspondent aux limites de l'examen par puce à ADN.

La proposition de ces examens de seconde ligne se fait au sein d'un CPDPN. Elle ne peut s'envisager, comme pour les autres examens, que si le couple a bien compris les enjeux, en particulier le risque de résultat indéterminé. La complexité des données manipulées et l'ampleur de l'étude sur tout le génome sont à la fois des outils extrêmement puissants pour le diagnostic prénatal, mais qui nécessitent une expertise cytogénétique et clinique avancée. Actuellement, le recours à l'ACPA a lieu dans le cadre d'études dans les CPDPN, mais il est assez vraisemblable que cet outil se généralise à une pratique plus courante, à l'instar de la technique de BoBs. Elle est cependant plus longue, et une réponse est apportée en environ 2 semaines. Ce délai pourrait se voir raccourci dans les années à venir à quelques jours, au point que l'ACPA pourrait progressivement remplacer le caryotype fœtal. Il est à noter de nouveau que la technique utilisée pour l'ACPA ne permet pas d'obtenir les mêmes informations que le caryotype, en particulier le diagnostic des triploïdies n'est pas réalisé: encore une fois, le remplacement d'une technique par une autre pose le problème de sous-diagnostiquer certaines pathologies.

Les techniques pérennes

À côté de ce développement extraordinaire de nouvelles techniques basées sur la bioinformatique, les prélèvements ovulaires et les examens biologiques standard resteront le seul moyen d'appréhender un certain nombre de pathologies fœtales: les pathologies

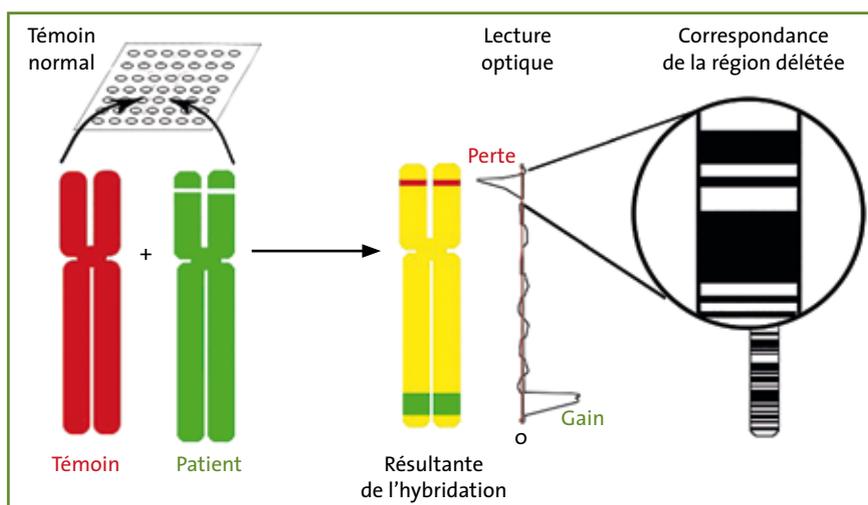


FIG. 1 : Représentation schématique du principe d'une hybridation pangénomique (CGH array) : l'ADN du patient et un ADN témoin normal sont marqués à l'aide de fluorochromes de couleurs différentes. Ces ADN sont ensuite découpés en fragments de 1 500 kb et hybridés avec un ADN normal. La résultante de l'hybridation fait l'objet d'une lecture optique assistée par ordinateur qui met en évidence les régions délétées (perte de matériel s'exprimant par une zone où la couleur dominante est celle du témoin marqué, ici rouge) et les régions dupliquées (le gain s'exprime par une surpression de la couleur du fluorochrome utilisé pour l'ADN du patient, ici vert). La région délétée est comparée à des cartes des chromosomes. Les gènes situés dans ces régions sont répertoriés dans les bases de cartographie du génome, leur perte ou leur duplication étant connues pour donner des signes d'une maladie précédemment décrite, ou bien pouvant correspondre à un polymorphisme sans conséquence phénotypique. Dans certains cas, le gain ou la perte de matériel est de signification indéterminée (acronyme anglais VOUS).

infectieuses, pour lesquelles le diagnostic de l'atteinte fœtale continuera à être rendu par une PCR sur liquide amniotique; la pathologie urinaire obstructive, pour laquelle le pronostic est difficilement établi sans évaluation de la fonction rénale du fœtus, par ponction de sang et/ou d'urines fœtales; enfin, toutes les pathologies, malformatives ou non, pour lesquelles un résultat de caryotype complet ou d'ACPA restera informatif car, dans ces situations, le seul DPNI – même dans le cas où il porte sur plusieurs syndromes microdélétionnels – s'avère encore insuffisant.

Néanmoins, la rapidité phénoménale à laquelle progresse la bioinformatique va permettre d'ici peu de proposer **en routine** pour les patientes à risque, et avec une fiabilité excellente, le diagnostic non seulement des trisomies les plus fréquentes mais également d'un grand nombre de syndromes microdélétionnels sur sang maternel. Cette

stratégie va donc en toute logique être amenée à remplacer la réalisation de caryotypes standard qui seront réservés aux patientes pour lesquelles une indication d'ACPA ou de caryotype définitif seront posés. À moyen terme, il est assez vraisemblable qu'un séquençage complet du génome fœtal soit réalisable sur sang maternel, ouvrant la voie à des possibilités de diagnostic prénatal jusqu'alors non réalisables, mais également à des problèmes éthiques évidents, tels que le diagnostic d'anomalies présymptomatiques (par exemple un gène de prédisposition de cancers). Ces perspectives rendent d'autant plus urgentes les discussions d'amont pour la communauté médicale, alors que nous entrons dans un champ où la technique a devancé le raisonnement éthique et l'abord médical des patients, où seule la fiction avait pressenti à l'aube du XXI^e siècle [11], que les avancées de la technique risqueraient de nous emmener sur les dangereuses voies de l'eugénisme.

REVUES GÉNÉRALES

Diagnostic prénatal

Bibliographie

1. AKOLEKAR R *et al.* Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 2014.
2. BIANCHI DW, WILKINS-HAUG L. Integration of noninvasive DNA testing for aneuploidy into prenatal care: what has happened since the rubber met the road? *Clinical Chemistry*, 2014;60:78-87.
3. McCULLOUGH RM *et al.* Non-invasive prenatal chromosomal aneuploidy testing--clinical experience: 100,000 clinical samples. *PLoS ONE*, 2014;9:e109173.
4. JENSEN TJ *et al.* Detection of microdeletion 22q11.2 in a fetus by next-generation sequencing of maternal plasma. *Clinical Chemistry*, 2012;58:1148-1151.
5. ABM. Rapport médical et scientifique de l'agence de la biomédecine/Diagnostic prénatal. 2013; Available from: <http://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2013/donnees/diag-prenat/01-diag-prenat/synthese.htm>.
6. KHOSHNOOD B *et al.* Trends in antenatal diagnosis, pregnancy termination and perinatal mortality in infants with congenital heart disease: evaluation in the general population of Paris 1983-2000. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*, 2006;35:455-464.
7. ROSENBLATT J *et al.* First trimester fetal cardiac scanning for fetuses at higher risk for congenital heart disease. *Gynecol Obstet Fertil*, 2010;38:173-178.
8. GOLDMUNTZ E *et al.* Frequency of 22q11 deletions in patients with conotruncal defects. *J Am Coll Cardiol*, 1998;32:492-498.
9. VIALARD F *et al.* Prenatal BACs-on-Beads: a new technology for rapid detection of aneuploidies and microdeletions in prenatal diagnosis. *Prenat Diagn*, 2011;31:500-508.
10. ROORYCK C *et al.* Prenatal diagnosis using array-CGH: a French experience. *Eur J Med Genet*, 2013;56:341-345.
11. NICCOL A. Bienvenue à Gattaca. 1997, Columbia Pictures.

L'auteur a déclaré ne pas avoir de conflits d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.