



Réalisation d'un diagnostic prénatal par génétique moléculaire à partir d'un prélèvement fœtal

Référence : **BP-ANPGM\_001**

Page : 1/29

Numéro de version : 1

Date de Création : **11/12/2007**

Date de la remise à jour : **11/12/2007**

|              | <b>Nom</b>                       | <b>Hôpital</b>  |
|--------------|----------------------------------|---|
| Rédacteur(s) | Bénédicte Gérard                 | Service de Biochimie Génétique<br>Hôpital Robert Debré, APHP    |
|              | Emmanuelle Girodon-<br>Boulandet | Service de Biochimie et Génétique<br>Hôpital Henri Mondor, APHP |

**Groupe de validation ANPGM** : C. Acquaviva, B. Arveiler, J. Bouligand, C. Cazeneuve, M. Claustres, M. Cossée, D. Feldmann, A. Kitzis, F. Leturcq, J. Lunardi, I. Maire, M-C. Malinge, Y. Malthierry, L. Michel-Calemard, Y. Morel, H. Radvanyi, M. Reynaud, C. Rooryck-Thambo, S. Schraen, F. Savagner, J. Steffann, V. Tardy

Ce document décrit les recommandations professionnelles pour la réalisation d'un diagnostic prénatal en génétique moléculaire à partir d'un prélèvement fœtal (trophoblaste, liquide amniotique, sang fœtal ...). Ces recommandations ne concernent pas les diagnostics prénatals réalisés à partir d'un prélèvement de sang maternel et ne s'appliquent pas au diagnostic préimplantatoire.

Toutes ces recommandations nécessitent la mise en place préalable des recommandations du GBEA au sein du laboratoire (arrêté du 11/12/1999). De plus, le laboratoire doit participer aux contrôles de qualité externe existant pour les pathologies concernées.

La prise en charge et la réalisation d'un diagnostic prénatal en génétique moléculaire demandent une attention particulière du fait des contraintes de temps et de matériel, et des conséquences pour le fœtus liées à une erreur de diagnostic.

Les techniques mises en œuvre par le laboratoire de génétique moléculaire doivent donc garantir l'absence d'erreur durant tout le parcours diagnostique de l'échantillon au laboratoire.

De plus, le prélèvement fœtal pouvant être à l'origine de fausse couche dans environ 0,5 à 1,5% des cas, le laboratoire prenant en charge le diagnostic prénatal doit s'assurer qu'une gestion optimisée du prélèvement fœtal a été mise en place afin de limiter les risques liés aux reponctions (qui peuvent être supérieurs à ceux d'une première ponction).

## 1. Législation en vigueur

La pratique du diagnostic prénatal est réglementée par un ensemble de textes relevant de la loi de bioéthique du code de la santé publique (n°94-654 du 29/07/1994, révision n°2004-800 du 6/08/2004) et de ses décrets d'application, notamment les décrets 2000-570 du 23/06/2000 et 2006-1661 du 22/12/2006. Y sont attachées des dispositions pénales, inscrites au code pénal.

- « Le diagnostic prénatal s'entend des pratiques médicales ayant pour but de détecter *in utero* chez l'embryon une affection d'une particulière gravité. Il doit être précédé d'une consultation médicale adaptée à l'affection recherchée. »

- La réalisation d'un diagnostic prénatal doit se faire **dans un laboratoire autorisé** par la commission exécutive de l'agence régionale de l'hospitalisation après avis de l'Agence de la biomédecine (L2131-4). L'autorisation est délivrée pour une période de cinq ans. **Le laboratoire est tenu de présenter à l'agence de la biomédecine un rapport annuel d'activité (L2131-2)** qui indique le nombre d'actes réalisés ainsi que la suite donnée à cet examen (interruption médicale de grossesse, fausse couche, naissance d'un enfant normal, naissance d'un enfant atteint). « Le retrait de l'autorisation est encouru [...] si le volume d'activité ou la qualité des résultats est insuffisant. »

- « Le fait de procéder au diagnostic prénatal sans avoir reçu l'autorisation mentionnée à l'article L2131-1 est puni de deux ans d'emprisonnement et de 30.000 € d'amende. » (art 511-20 du code pénal)
- « Seuls sont habilités à procéder au diagnostic prénatal et au diagnostic biologique effectué à partir de cellules prélevées sur embryon *in vitro* les praticiens ayant été agréés » par l'Agence de la biomédecine (L2131-4-2). L'agrément est délivré pour une période de cinq ans ».
- Le prélèvement doit être accompagné d'un consentement à la réalisation d'un diagnostic prénatal (cf annexe 1).
- Les comptes-rendus d'analyse de diagnostic prénatal ne peuvent être adressés qu'au médecin prescripteur. « Seul le médecin prescripteur des analyses de biologie en vue d'établir un diagnostic prénatal est habilité à en communiquer les résultats à la femme enceinte. » (L2131-4)

Lorsqu'un laboratoire titulaire de l'autorisation donne son accord pour effectuer le diagnostic prénatal d'une maladie rare pour laquelle il n'a pas d'activité postnatale, parce que le laboratoire effectuant les analyses postnatales ou, *a fortiori*, une équipe de recherche, ne dispose pas de l'autorisation, une collaboration étroite est nécessaire entre les équipes. En l'état actuel des textes, l'entière réalisation du diagnostic prénatal incombe au laboratoire titulaire de l'autorisation et aux praticiens titulaires de l'agrément.

## 2. Personnel

### 2.1. Effectif

Les effectifs en terme de personnel médical et technique ainsi que la gestion du planning doivent permettre d'effectuer les analyses de diagnostic prénatal dans les délais définis dans le cadre des réseaux de génétique moléculaire.

### 2.2. Formation du personnel technique

Avant de prendre en charge la réalisation d'un diagnostic prénatal, les techniciens du laboratoire doivent maîtriser parfaitement les différentes techniques de biologie moléculaire nécessaires pour la réalisation de ce diagnostic.

Une formation spécifique du technicien sera de plus nécessaire concernant les techniques suivantes :

- le tri des villosités choriales si le laboratoire prend en charge cette étape
- les extractions des acides nucléiques à partir de prélèvements fœtaux
- la recherche de la contamination materno-foetale
- la spécificité du schéma diagnostique en prénatal pour la pathologie concernée

L'appréciation de la compétence des techniciens pour la réalisation d'un diagnostic prénatal est sous la responsabilité des biologistes agréés pour le diagnostic prénatal.

### **2.3. Formation du personnel médical**

Le biologiste doit avoir une formation théorique et pratique au diagnostic prénatal, attestée par l'obtention de l'agrément à réaliser le diagnostic prénatal délivré par l'Agence de la biomédecine (ou le préfet de région avant 2006).

## **3. Structure du laboratoire**

Les locaux pour le diagnostic prénatal peuvent être communs avec l'activité de diagnostic postnatal. Le laboratoire doit comporter trois zones séparées conformément aux recommandations du GBEA, et disposer de matériel (équipement et consommable) spécifique à chaque zone.

- Une zone d'extraction des acides nucléiques (préparation des culots cellulaires, extraction des ADN, des ARN, ...).
- Une zone préPCR (préparation des réactifs, réalisation des mélanges réactionnels) ; la législation impose la présence d'une hotte à flux laminaire ou d'un matériel équivalent.
- Une zone postPCR (analyse des produits PCR, réaction de séquençage ...).

La circulation entre les zones (personnel, feuilles de manipulation ...) doit être cohérente et monodirectionnelle (préPCR → postPCR). Une procédure doit formaliser de façon précise les modalités de circulation entre ces zones. Une attention particulière doit être portée sur la formation et sur le respect de cette procédure par l'ensemble du personnel du laboratoire (biologistes, techniciens, personnel effectuant l'entretien des locaux).

Deux schémas d'organisation du laboratoire sont envisageables :

- Confinement de la zone préPCR et de la zone d'extraction d'ADN en une ou deux structures indépendantes. Le confinement doit être obtenu au minimum par la fermeture des portes et le changement systématique des blouses entre les zones, au mieux par une sur-pressurisation de la zone confinée avec sas d'accès.
- Confinement de la zone postPCR. Le confinement doit être au minimum obtenu par la fermeture des portes et le changement systématique des blouses entre les zones ; au mieux par une sous-pressurisation de la zone confinée avec sas d'accès.

## **4. Réalisation d'un diagnostic prénatal**

### **4.1. Gestion des prélèvements**

#### **4.1.1. *Programmation des diagnostics***

**Réalisation d'un diagnostic prénatal par génétique moléculaire à partir d'un prélèvement fœtal**Référence : **BP-ANPGM\_001**

Page : 5/29

Numéro de version : 1

La programmation des diagnostics au laboratoire permet d'une part de planifier au mieux le travail des techniciens, et ainsi de rendre des résultats dans les meilleurs délais, d'autre part d'éviter les errements de prélèvements. Cette programmation est essentielle pour tous les diagnostics prénatals réalisés pour antécédent familial. Elle est plus difficile à effectuer lorsque les prélèvements fœtaux sont réalisés dans le cadre d'un dépistage en cours de grossesse (par exemple sur signes d'appel échographiques).

Le généticien moléculaire doit ainsi élaborer une procédure d'information destinée aux cliniciens, portant sur :

- la nécessité de prendre rendez vous avec le laboratoire préalablement à la réalisation de tout diagnostic prénatal et d'avoir un accord du biologiste agréé avant la réalisation du prélèvement
- les renseignements cliniques et administratifs à fournir obligatoirement conjointement aux prélèvements (cf annexe 2)
- les conditions de prélèvement et d'acheminement des prélèvements au laboratoire (cf exemple en annexe 3)
- les conditions de rendu du résultat

Proposition de procédure d'organisation :

1) Au moment du premier contact avec le clinicien organisant le diagnostic anténatal, le personnel du laboratoire (biologiste, technicien ou secrétaire) remplit une **fiche type de renseignements** (annexe 2) où figurent les éléments suivants :

- la date du contact téléphonique
- le nom du médecin en charge de l'organisation du diagnostic anténatal
- les données nominatives de la patiente (Nom, nom patronymique, prénom, DDN)
- la maladie recherchée et les ATCD familiaux (mutations du cas index et laboratoire de diagnostic)
- le terme de la grossesse (DDR ou DDG)
- la date prévue du prélèvement fœtal et le type de prélèvement
- les coordonnées des différents médecins intervenant dans le diagnostic prénatal (médecin qui se charge du rendu du résultat et le médecin préleveur) ;
- les coordonnées du laboratoire réalisant la culture du prélèvement fœtal

2) Avant de donner son accord, le laboratoire doit au préalable vérifier les éléments suivants :

- que l'indication de DPN a été validée par l'équipe médicale (médecin ayant réalisé le conseil génétique, centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal) ;
- qu'il dispose des outils nécessaires ;
- qu'il dispose(ra) des ADN de la famille à analyser conjointement au prélèvement fœtal.

3) À l'issue du contact, le laboratoire adresse si nécessaire au médecin une fiche (exemple en annexe 2bis) à compléter et à renvoyer avec le prélèvement fœtal, auquel devront être joints la lettre de demande de diagnostic prénatal et les résultats des analyses des parents, s'ils ont été étudiés dans un autre laboratoire.

4) Un délai maximum de rendu de résultat sera communiqué au médecin en fonction des analyses à réaliser. En cas de dépassement de ce délai, le laboratoire doit alors prévenir le médecin prescripteur du nouveau délai nécessaire.

#### **4.1.2. Programmation de la conservation des prélèvements fœtaux**

Dans le cas d'un diagnostic prénatal réalisé pour une étude en génétique moléculaire, l'analyse d'un second prélèvement peut se révéler nécessaire dans deux cas de figure :

- 1) Problèmes d'ordre technique sur le premier prélèvement fœtal (par exemple, échec d'extraction ou ADN en quantité insuffisante, contamination materno-fœtale, présence d'inhibiteurs de la PCR).
- 2) Apparition en cours de grossesse d'une nouvelle indication de prélèvement fœtal.

Afin de limiter le nombre de reponctions fœtales, le laboratoire prenant en charge le diagnostic prénatal doit s'assurer qu'une gestion optimisée du prélèvement fœtal a été mise en place. Une discussion doit être engagée au niveau national à ce sujet.

#### **4.1.3. Prélèvements des parents**

L'ADN des parents (au minimum de la mère) est indispensable pour effectuer le contrôle de la bonne identité de l'échantillon fœtal et la recherche de la contamination materno-fœtale. Ils peuvent également être nécessaires à la réalisation de l'analyse prénatale.

Le laboratoire doit s'assurer qu'il dispose de ces ADN, en qualité et quantité suffisantes.

Pour les DPN programmés du fait d'un antécédent familial, le génotype des parents doit avoir préalablement été établi avec certitude, si nécessaire à partir de prélèvements indépendants.

## **4.2. Réception des prélèvements**

Dès réception du prélèvement fœtal au laboratoire, il est nécessaire de vérifier que le prélèvement est intact et que les documents nécessaires sont présents (consentement(s), prescription, ...). Un accusé-réception doit être envoyé au médecin expéditeur (cf annexe 2bis). Si, le jour prévu, le prélèvement n'est pas arrivé, le laboratoire doit contacter la maternité (éventuellement le médecin généticien) pour savoir si le prélèvement a bien été fait et, s'il a été envoyé, tout doit être mis en œuvre pour le retrouver.

A la réception, l'identification du prélèvement fœtal par étiquette interne doit comporter au moins deux items permettant la reconnaissance de l'échantillon (Nom de la mère et N° ADN par exemple).

## **4.3. Extraction des acides nucléiques et contrôle de qualité**

### **4.3.1. Fiche de suivi du prélèvement fœtal**

Une traçabilité du parcours du prélèvement est assurée par une fiche de suivi spécifique (fiche type proposée en annexe 4).

#### **4.3.2. Séparation du prélèvement en deux aliquotes**

Dans la mesure où le prélèvement est en quantité suffisante, une séparation en deux aliquotes est préconisée. Une aliquote peut alors être conservée à  $-20^{\circ}\text{C}$  ou  $-80^{\circ}\text{C}$  sans être extraite : il constitue une aliquote de secours à utiliser en cas d'échec d'extraction de la première aliquote ou en cas de contamination materno-fœtale avérée sur la première aliquote.

#### **4.3.3. Tri des villosités choriales**

Les prélèvements de trophoblaste doivent être triés sous loupe binoculaire avant extraction. Selon les sites, cette étape peut être réalisée dans le laboratoire de cytogénétique ou dans le laboratoire de génétique moléculaire réalisant le DPN. Une photographie du prélèvement peut être archivée dans le dossier du laboratoire ayant effectué le tri.

#### **4.3.4. Choix de la technique d'extraction**

Une attention particulière doit être apportée au prélèvement fœtal de façon à minimiser les risques de contamination ou d'interspersion entre échantillons en séparant les activités d'extraction des prélèvements fœtaux des prélèvements sanguins (pas de série mixte, et au mieux, utilisation de paillasse, consommables et réactifs spécifiques).

Les techniques d'extraction choisies doivent avoir fait l'objet de validation sur des prélèvements fœtaux. Elles doivent assurer une extraction de bonne qualité avec un taux d'échec minimal. Elles doivent de plus, dans la mesure du possible, éliminer les inhibiteurs PCR potentiellement présents dans les prélèvements fœtaux (héparine, hémoglobine ...).

Note : certains extracteurs automatiques utilisant des cartouches réactifs à usage unique pourront être validés pour l'extraction des prélèvements fœtaux.

#### **4.3.5. Etude de la contamination materno-fœtale et de la bonne identité des ADN**

Une étude systématique d'un panel de marqueurs polymorphes doit être effectuée sur l'ADN des parents (au minimum de la mère) et du fœtus. Cette étude aura pour but de contrôler la bonne identité de l'ADN fœtal (contrôle des étapes de prélèvement, de réception et d'extraction) et l'absence de contamination du prélèvement fœtal par du tissu maternel.

En cas d'impossibilité de réaliser cette étude, et en fonction des résultats (génotype identique à celui de la mère par exemple), le compte rendu ne sera délivré qu'en mentionnant de façon très lisible : «résultat rendu sous réserve d'une contamination maternelle non recherchée du fait de l'absence de prélèvement sanguin maternel». Etant donné le risque d'erreur lié à cette absence de contrôle, le biologiste devra mettre tout en œuvre pour obtenir les prélèvements parentaux.

La technique choisie de recherche de la contamination materno-fœtale doit avoir fait l'objet d'une validation. Elle doit en effet montrer une bonne sensibilité de détection d'une contamination potentielle (détection d'une contamination de 5 % sur au minimum deux marqueurs informatifs) et



une bonne performance dans le contrôle de la concordance des ADN extraits (au moins 6 allèles concordants entre le fœtus et ses parents).

Remarque : Dans le cas des diagnostics prénatals utilisant des marqueurs microsatellites (diagnostic indirect, maladie par extension de triplet ...), l'utilisation d'un panel distinct de marqueurs dédiés à l'exploration de la contamination materno-fœtale ne sera pas nécessaire si la réalisation de la technique permet de conclure : 1) à l'absence de contamination materno-fœtale ; 2) au contrôle de la bonne identité du prélèvement fœtal étudié.

En cas de contamination materno-fœtale du prélèvement, la recherche de contamination materno-fœtale pourra être effectuée sur le second aliquote congelé puis sur la culture cellulaire si celle-ci a été réalisée.

- En cas de contamination minime du prélèvement, la poursuite de l'examen peut se faire en fonction des méthodes de détection utilisées, cf. chapitre suivant)
- En cas de contamination notable du prélèvement, rendant impossible l'interprétation du résultat, un nouveau prélèvement fœtal est demandé.

Le laboratoire de cytogénétique en charge du caryotype doit être prévenu de la présence d'une contamination materno-fœtale du prélèvement.

#### **4.4. Schéma de diagnostic en prénatal**

##### **4.4.1. Organisation pratique de la réalisation d'un DPN**

Le schéma de diagnostic prénatal propre à une maladie génétique, pour un gène donné et une indication donnée, doit être validé dans le cadre des réseaux de génétique.

En fonction de l'organisation du laboratoire, il est possible de diviser les étapes du diagnostic et de faire intervenir différents techniciens pour un même diagnostic prénatal :

- Réception
- Extraction des acides nucléiques
- Recherche de la contamination materno-fœtale
- Réalisation du DPN proprement dit. Cette dernière étape doit de préférence être réalisée dans son ensemble par un seul technicien.

Les techniques de PCR utilisant des amorces spécifiques d'allèles (ARMS) ou spécifiques de délétions et non quantitatives ne doivent pas être utilisées seules en DPN. En effet, le tissu fœtal est souvent contaminé par des quantités minimales de tissu maternel. Ces contaminations (< 1%) généralement non détectées par les méthodes usuelles ne justifient pas un nouveau prélèvement de tissu fœtal mais nécessitent d'employer des méthodes de détection des mutations tenant compte de cette donnée. Ainsi, il faut privilégier les méthodes co-amplifiant les allèles normaux et mutés et toujours tenir compte de l'intensité de chaque bande (ou spot) obtenue.



#### 4.4.2. Nombre de techniques à mettre en œuvre :

Les analyses doivent être doublées et les résultats obtenus doivent être cohérents.

Le laboratoire doit avoir mis en place un moyen de contrôle de la bonne correspondance entre les tubes primaires d'ADN et les tubes PCR au cours des différentes étapes du diagnostic (création de points de contrôle interne préPCR et postPCR sur les feuilles de paillasse (cf annexe 5) ou d'un point de contrôle visuel de la bonne concordance des tubes par un second technicien).

Il est recommandé de privilégier les méthodes directes aux méthodes indirectes quand cela est possible ou bien de coupler une méthode directe avec une méthode indirecte (utilisation dans ce cas de plusieurs marqueurs intra-géniques ou marqueurs extra-géniques de part et d'autre du locus).

- *DPN avec cas index et identification préalable des mutations dans la famille*

Les schémas de diagnostic nécessitant l'emploi de méthodes PCR doivent comporter :

- au mieux, deux techniques par mutation avec 2 couples différents d'amorces PCR et deux méthodes de révélation indépendante (par exemple séquençage sur les deux brins et digestion) en deux expériences différées dans le temps ;
- ou bien deux techniques par mutation avec 2 couples différents d'amorces PCR et une même méthode de révélation (par exemple séquençage) en deux expériences différées dans le temps ;
- une technique par mutation plus une technique indirecte informative pour les allèles morbides, en deux expériences différées dans le temps ;
- au pire, la même technique directe ou indirecte mais avec deux expériences différées dans le temps.

Cas particulier des DPN par Southern blot :

La petite quantité d'ADN fœtal et la lourdeur de la technique ne permettent généralement d'effectuer qu'une seule analyse. Il est recommandé dans ce cas de contrôler la bonne identité de l'échantillon de l'ADN fœtal avant dépôt sur gel et, dans la mesure du possible, de confirmer le diagnostic par une analyse indirecte.

- *DPN dans le cadre d'un dépistage d'une anomalie en cours de grossesse, sans identification préalable des mutations dans la famille (hyperéchogénicité intestinale et mucoviscidose, fémur court et achondroplasie, hypomobilité fœtale et Steinert ...)*

Dans le cadre d'un tel dépistage, il n'apparaît pas utile de doubler systématiquement toutes les analyses. Là encore, les schémas de diagnostic à suivre sont ceux validés dans le cadre des réseaux de génétique moléculaire. Le laboratoire doit en revanche s'assurer de l'absence de contamination maternelle du prélèvement fœtal.

#### 4.4.3. Les contrôles

La réalisation technique du DPN comporte les contrôles suivants :

- Un contrôle de l'absence de contamination par les produits PCR préexistants (blanc PCR)
- Un contrôle normal
- Un contrôle positif par mutation recherchée (= cas index ou parent ou sujet porteur de la même mutation) dans le cas où la mutation est préalablement identifiée dans la famille ou bien s'il s'agit d'une mutation récurrente
- Les parents du fœtus testé dans le cas où ils ne l'ont pas été antérieurement dans le laboratoire réalisant le DPN
- Les autres contrôles pouvant être nécessaires à la réalisation de la technique employée

## 5. Compte rendu et archivage des résultats

### 5.1. Compte-rendu (CR type en annexe 6)

Le compte rendu doit être communiqué par tout moyen garantissant sa confidentialité et exclusivement au médecin prescripteur de l'analyse (c'est-à-dire celui qui a signé l'attestation de consultation et/ou le consentement à la réalisation du DPN) (article L2131-3). Le compte rendu doit être rendu à un seul médecin pour éviter toute désorganisation lors du rendu du résultat à la patiente. Lorsque cela semble nécessaire, d'autres personnes potentiellement impliquées dans le conseil génétique (médecin, conseiller génétique, sage femme ...) peuvent être prévenus que le résultat est parvenu au destinataire légal.

Il devra comporter les items suivants :

- Nom, adresse et coordonnées du laboratoire effectuant le DPN
- Noms des généticiens moléculaires signataires
- Date du rendu du résultat
- Nom de la pathologie (et/ou du gène) pour laquelle le DPN a été réalisé
- Nom, prénom et date de naissance de la patiente
- éventuellement, nom et prénom, date de naissance du père
- Date des dernières règles ou de début de grossesse
- Médecin destinataire du résultat (au minimum, Nom, Prénom, service, Hôpital, Ville)
- éventuellement, médecin préleveur
- Date du prélèvement fœtal
- Date de réception du prélèvement fœtal au laboratoire
- Type de prélèvement : préciser s'il s'agit de liquide amniotique (étude directe, culture : dans ce cas, préciser le laboratoire où a été effectuée la culture), trophoblaste ou ADN extrait (dans ce cas, préciser le laboratoire où a été extrait l'ADN)
- N° échantillon interne (+/- numéro de famille)
- Indication de l'analyse
- Méthode et résultat de la recherche de la contamination du tissu fœtal par du tissu maternel
- Mutation(s) recherchée(s) et méthodes employées pour effectuer le DPN proprement dit
- Résultat : Description du génotype obtenu (présence de la mutation X, à l'état homozygote ou hétérozygote ; absence de la mutation Y)

- Conclusion : Ecrire en clair « Le fœtus est atteint de la maladie XX » ou bien « Le fœtus est porteur de la mutation responsable de la maladie XX » ; « Le fœtus n'est pas atteint de la maladie XX » ou bien « Le fœtus n'est pas porteur de la mutation responsable de la maladie XX ».

Dans des situations de dépistage : « Le fœtus n'est pas porteur des mutations recherchées... » (de préférence, assortir le résultat du calcul du risque résiduel).

Dans la mesure du possible, faire signer le compte-rendu par deux biologistes titulaires de l'agrément pour les analyses prénatales. A défaut, si un seul biologiste titulaire de l'agrément signe le compte-rendu, le dossier doit être contrôlé (expériences de laboratoire et compte-rendu), soit par un autre biologiste du laboratoire titulaire de l'agrément pour l'examen des caractéristiques génétiques des personnes, soit par un technicien compétent pour la réalisation de ce diagnostic prénatal.

Le laboratoire en charge de la culture cellulaire doit être prévenu que le résultat du diagnostic prénatal a été rendu au médecin prescripteur.

## 5.2. Archivage du dossier DPN

Il contient :

- La feuille de demande avec les renseignements cliniques
- Le consentement de la femme enceinte à la réalisation du diagnostic prénatal (pour l'étude du prélèvement fœtal)
- Les consentements éclairés signés ou les attestations d'information fournies par le médecin prescripteur des analyses des caractéristiques génétiques accompagnants les prélèvements des parents
- Les résultats des données brutes (extraction d'ADN, résultats d'analyse) ou leurs références
- Une copie du résultat envoyé au médecin prescripteur.

Ces dossiers doivent être conservés dans des conditions de sécurité et de confidentialité. Le délai de conservation **des résultats nominatifs** est fixé à **30 ans** (Article R1131-15 du code de la santé publique concernant les examens génétiques). De plus, il est recommandé de conserver les données brutes au moins pendant une période de 20 ans.

## 6. Suivi de grossesse

Les laboratoires doivent faire mention, dans leur rapport annuel d'activité à adresser à l'Agence de la biomédecine, des informations concernant les suites données aux grossesses. La demande d'information peut être effectuée au travers d'un questionnaire (modèle proposé en annexe 7), à envoyer avec le résultat de diagnostic prénatal au médecin prescripteur qui pourra le transmettre, le cas échéant, au médecin qui suit la grossesse. D'autres mentions spécifiques, en fonction des maladies étudiées, peuvent enrichir le questionnaire.



**Réalisation d'un diagnostic prénatal par génétique moléculaire à partir d'un prélèvement fœtal**

Référence : **BP-ANPGM\_001**

Page : 12/29

Numéro de version : 1



Réalisation d'un diagnostic prénatal par génétique moléculaire à partir d'un prélèvement fœtal

Référence : BP-ANPGM\_001

Page : 13/29

Numéro de version : 1

*Annexe 1 : modèles de consentement pour diagnostic prénatal*

**Consentement de la femme enceinte en vue du diagnostic prénatal in utero d'une des analyses énumérées à l'article R2131-1 du code de santé publique.**

Après la consultation médicale prévue à l'article L2131-1 du Code la santé publique.

Je soussigné Madame .....née le .....

déclare avoir reçu les informations suivantes :

- L'analyse qui m'est proposée en vue d'établir un diagnostic prénatal rend nécessaire un prélèvement de liquide amniotique, de villosités choriales ou de sang fœtal dont il m'a été expliqué le risque.
- Cette analyse sera effectuée dans un laboratoire autorisé à la pratiquer par l'agence de la biomédecine
- Si la technique demande une mise en culture de cellules fœtales, un échec de celle ci est possible, pouvant rendre nécessaire un deuxième prélèvement.
- L'analyse peut révéler d'autres affections que celles recherchées dans mon cas. L'examen ne peut cependant pas identifier toutes les anomalies fœtales.
- Le résultat me sera rendu et expliqué par le médecin qui me l'a prescrit.

Nom du médecin : .....

Service : .....

Hôpital : .....

Je consens au prélèvement ainsi qu'à l'analyse pour laquelle il est effectué :

- de cytogénétique
- de génétique moléculaire.
- de biochimie
- de biologie fœtale en vue d'un diagnostic des maladies infectieuses
- d'hématologie
- d'immunologie

Fait à .....



Réalisation d'un diagnostic prénatal par génétique moléculaire à partir d'un prélèvement fœtal

Référence : **BP-ANPGM\_001**

Page : 14/29

Numéro de version : 1

Signature de la patiente :



Réalisation d'un diagnostic prénatal par génétique moléculaire à partir d'un prélèvement foetal

Référence : BP-ANPGM\_001

Page : 15/29

Numéro de version : 1

EXAMEN DES CARACTERISTIQUES GENETIQUES
Consentement pour un Diagnostic Prénatal

(établi en 3 exemplaires : 1 pour la mère, 1 pour le laboratoire
et 1 à conserver dans le dossier médical)

Je, soussignée (nom, prénom) .....

Née le .....

Certifie avoir reçu du Dr ..... une information compréhensible concernant (nom de la maladie ou du gène)

J'ai compris qu'une analyse génétique m'est proposée, à partir d'un prélèvement foetal. Cette analyse a pour but de déterminer si le foetus est porteur d'une anomalie génétique en rapport avec la maladie citée ci-dessus. Ce prélèvement ne pourra pas être utilisé pour d'autres études sans mon consentement. Les résultats de cette analyse me seront transmis au cours d'une consultation par le médecin prescripteur. Ils resteront confidentiels et ne pourront être communiqués qu'au(x) médecin(s) que je désignerai.

J'ai eu la possibilité de poser toutes les questions que je souhaitais. J'ai bien compris les implications possibles du test génétique et en particulier que ce diagnostic prénatal pourrait conduire à discuter d'une interruption médicale de grossesse. Je pourrai obtenir toute information complémentaire auprès du médecin cité ci-dessus.

Je peux à tout moment décider de ne pas poursuivre cette démarche. Dans ce cas, j'en informerai par écrit le médecin désigné ci-dessus. Les données génétiques et le matériel biologique concernant mon foetus pourront être détruits à ma demande. Cette décision ne modifiera en rien ma prise en charge médicale pendant la grossesse et celle de mon enfant après la naissance.

J'accepte que cette analyse génétique soit effectuée, à partir d'un prélèvement foetal, dans le cadre d'un diagnostic prénatal.

J'accepte que les échantillons biologiques soient conservés et utilisés à des fins de recherche médicale, dans le cadre de la maladie désignée ci-dessus, sans limitation de temps. [ ] OUI [ ] NON

Fait à ..... le .....

Signature de la Mère :

Signature du Médecin :

Signature du Père (facultatif) :





**Réalisation d'un diagnostic prénatal par génétique moléculaire à partir d'un prélèvement fœtal**

Référence : **BP-ANPGM\_001**

Page : 16/29

Numéro de version : 1

---

Dans certains cas, la réalisation du diagnostic prénatal nécessite un prélèvement des deux parents.  
Nous acceptons qu'un prélèvement sanguin soit effectué dans le cadre du diagnostic prénatal ci-dessus.

Signature du Père (*précédée de ses nom et prénom*) :

Signature de la mère :



Réalisation d'un diagnostic prénatal par génétique moléculaire à partir d'un prélèvement fœtal

Référence : BP-ANPGM\_001

Page : 17/29

Numéro de version : 1

Annexe 2 : Exemple de fiche de renseignements « laboratoire »

Fiche de renseignements en vue de l'organisation d'un diagnostic prénatal

Date du contact téléphonique : .....

Médecin prescripteur : .....

Service : .....

Nom de la patiente : .....

Prénom de la patiente : .....

Date de naissance : .....DDR/ DDG : .....

Indications du DPN :

Prélèvement des parents :

Père :  ADN au laboratoire  Nouveau prélèvement  ADN dans un autre laboratoire :

Mère :  ADN au laboratoire  Nouveau prélèvement  ADN dans un autre laboratoire :

Cas index:  ADN au laboratoire  Nouveau prélèvement  ADN dans un autre laboratoire :

Date prévue du prélèvement : ..... Type de prélèvement :  Trophoblaste  Liquide amniotique  Autre

Centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal saisi pour la demande : .....

Lieu de réalisation de la ponction : .....

Médecin préleveur : .....

Médecin ayant trié le trophoblaste : .....

Médecin effectuant le rendu du résultat : .....

Laboratoire de cytogénétique prenant en charge la culture du prélèvement fœtal :

Pièce à joindre : courrier justifiant la demande de diagnostic prénatal, comptes-rendus d'échographies (en fonction du contexte)



Réalisation d'un diagnostic prénatal par génétique moléculaire à partir d'un prélèvement fœtal

Référence : BP-ANPGM\_001

Page : 18/29

Numéro de version : 1

Annexe 2bis : Exemple de fiche de renseignements

Fiche de renseignements en vue de l'organisation d'un diagnostic anténatal
Accusé-réception du prélèvement

En cas de report ou d'annulation de la ponction, merci de bien vouloir prévenir les laboratoires de cytogénétique et de génétique moléculaire

Date du contact téléphonique : .....

Médecin prescripteur : .....

Service : .....

Nom de la patiente : .....

Prénom de la patiente : .....

Date de naissance : .....DDR/ DDG : .....

Indications du DPN :

Prélèvements joints :

[ ] Père :

[ ] Mère :

Date du prélèvement : ..... Type de prélèvement :

[ ] Trophoblaste

[ ] Liquide amniotique

[ ] Autre

Centre pluridisciplinaire de diagnostic anténatal saisi pour la demande : .....

Lieu de réalisation de la ponction : .....

Médecin préleveur : .....

Médecin effectuant le rendu du résultat : .....

Laboratoire de cytogénétique prenant en charge la culture du prélèvement fœtal :

Pièce à joindre : courrier justifiant la demande de diagnostic prénatal, comptes-rendus d'échographies (en fonction du contexte)

Accusé de réception par le laboratoire de Génétique Moléculaire

Prélèvement de :

[ ] Trophoblaste

[ ] Liquide amniotique

[ ] Autre :



Réalisation d'un diagnostic prénatal par génétique moléculaire à partir d'un prélèvement fœtal

Référence : **BP-ANPGM\_001**

Page : 19/29

Numéro de version : 1

pvt de la mère

pvt du père

***Date de réception au laboratoire : .....***

***Cachet du laboratoire :***

*Annexe 3 : conditions de prélèvement et d'acheminement de prélèvements fœtaux***CONDITIONS DE PRELEVEMENT POUR UN DIAGNOSTIC PRENATAL EN  
GENETIQUE MOLECULAIRE : Etude sur liquide amniotique****Conditions de prélèvement :**

- 2 tubes de 10 ml de liquide amniotique recueillis sur tube sec stérile.
- Prélèvements de sang des deux parents (2 tubes de sang de 5 ml prélevés sur EDTA pour chacun des parents).
- Attestations de consultation ou consentements éclairés (consentement parents + consentement prénatal)

Un tube 10 ml de liquide amniotique est à envoyer dans un laboratoire de cytogénétique de votre choix pour y effectuer une mise en culture (+/- réalisation d'un caryotype). *La culture devra être conservée par le laboratoire de cytogénétique jusqu'au rendu de résultat par biologie moléculaire.*

Un tube 10 ml de liquide amniotique et les prélèvements de sang des deux parents sont à envoyer à température ambiante avec les attestations de consultation ou les consentements éclairés à l'adresse ci jointe (arrivée au laboratoire dans un délai de moins de 48h00 après la ponction)

Laboratoire YYY,  
Adresse  
Tel, fax, mail ....

Merci de contacter le laboratoire lors de la programmation de tout diagnostic prénatal et de le prévenir au moment de l'envoi des échantillons.

Dr XXXXX

**CONDITIONS DE PRELEVEMENT POUR UN DIAGNOSTIC PRENATAL EN  
GENETIQUE MOLECULAIRE : Etude sur biopsie de trophoblaste****Conditions de prélèvement :**

- Trophoblaste : deux fragments recueillis dans deux flasques séparées contenant 10 ml de milieu stérile (sérum physiologique ou milieu de culture de cytogénétique)
- Prélèvements de sang des deux parents (2 tubes de sang de 5 ml prélevés sur EDTA pour chacun des parents).
- Attestations de consultation ou consentements éclairés (consentement des parents + consentement au diagnostic prénatal)

Une flasque contenant du trophoblaste est à envoyer dans un laboratoire de cytogénétique de votre choix pour y effectuer une mise en culture (+/- réalisation d'un caryotype). *La culture devra être conservée par le laboratoire de cytogénétique jusqu'au rendu de résultat par biologie moléculaire.*

Une flasque contenant du trophoblaste et les prélèvements de sang des deux parents sont à envoyer à température ambiante avec les attestations de consultation ou les consentements éclairés à l'adresse ci jointe (arrivée au laboratoire dans un délai de moins de 48h00 après la ponction)

Laboratoire YYY,  
Adresse



**Réalisation d'un diagnostic prénatal par génétique moléculaire à partir d'un prélèvement fœtal**

Référence : **BP-ANPGM\_001**

Page : 21/29

Numéro de version : 1

**Tel, fax, mail ....**

**Merci de contacter le laboratoire lors de la programmation de tout diagnostic prénatal et de le prévenir au moment de l'envoi des échantillons.**

**Dr XXXX**



Réalisation d'un diagnostic prénatal par génétique moléculaire à partir d'un prélèvement foetal

Référence : BP-ANPGM\_001

Page : 22/29

Numéro de version : 1

Annexe 4 : modèle de fiche de suivi d'un prélèvement de DPN

SUIVI DU PRELEVEMENT FOETAL

Diagnostic réalisé pour Mme : .....

Indication du diagnostic prénatal .....

Réception N° échantillon .....

- Type d'échantillon :
- ADN extrait dans un autre laboratoire :
- LIQUIDE AMNIOTIQUE DIRECT
Aspect: Normal, Hémorragique, Autre
- TROPHOBLASTE
Aspect: Normal, Hémorragique, Autre
Tri des villosités: Oui, Non
Lieu du tri (si fait ailleurs):
- SANG FŒTAL
- CULTURE LIQUIDE AMNIOTIQUE
Aspect: non confluent, confluent, cellules décollées, autre:
- CULTURE TROPHOBLASTE
- CULOT CELLULAIRE: Sec congelé, Ac acétique/ Methanol

Nb de tubes/flasques/fragments reçus = .....

Culture de secours par la cytogénétique: OUI, NON, INCONNU

Nom du laboratoire de cytogénétique .....

Traitement

Préparation : Technicien : Date :

Nombre de culots effectués : .....

Conservation de culots secs : .....

Extraction : Technicien : Date :





Réalisation d'un diagnostic prénatal par génétique moléculaire à partir d'un prélèvement fœtal

Référence : **BP-ANPGM\_001**

Page : 23/29

Numéro de version : 1

Mode d'extraction :

**Dosage :**

Commentaire :



Réalisation d'un diagnostic prénatal par génétique moléculaire à partir d'un prélèvement fœtal

Référence : BP-ANPGM\_001

Page : 24/29

Numéro de version : 1

Annexe 5 : modèle de fiche PCR avec présence de points de contrôle pré et postPCR

PCR pour le gène XXXX

Date : ..... Par : .....

Echantillons amplifiés :

Table with 8 empty columns and 3 empty rows for sample identification.

Répartir 13 µl de pré mix xx dans les tubes date du premix
Mettre 2 µl d'ADN à 50 ng/µl ou d'eau
Rajouter une goutte d'huile
Rajouter 10 µl du mix2 suivant à 95°C en hot start manuel à 5 minutes

Table with 3 columns: MIX 2, Pour 1 échantillon, N+ 2 échantillons. Rows include Tampon Taq Sigma 10X, Eau, and Taq Sigma lot.

Point de Contrôle PréPCR

Point de Contrôle PostPCR

(Contrôle de la concordance des tubes ADN et PCR après répartition des ADN)

Contrôle de la concordance des tubes PCR par rapport au plan de la microplaque de passage sur séquenceur automatique

Programme 26 Combiblock N°2 ou N° 3

Table of PCR cycle conditions: 95 °C 7 min, 95 °C 30 sec, 60 °C 30 sec, 72 °C 1 min, 72°C 5 min, grouped as 35cycles.

Dépôt sur séquenceur

Dans une micro-plaque, mettre 1 µl du produit PCR dilué au 1/5 + 16 µl Liz/formamide 0,3/20.



Réalisation d'un diagnostic prénatal par génétique moléculaire à partir d'un prélèvement fœtal

Référence : **BP-ANPGM\_001**

Page : 25/29

Numéro de version : 1

Taille normale du produit PCR :

- PCR Yyyy : 69-160 pb (marquage 6-FAM)
- PCR Zzzz: 188-260 pb (marquage VIC)



Réalisation d'un diagnostic prénatal par génétique moléculaire à partir d'un prélèvement fœtal

Référence : **BP-ANPGM\_001**

Page : 26/29

Numéro de version : 1

*Annexe 6 : modèle de compte-rendu de diagnostic prénatal*

Médecins, Téléphone, fax

Logo, Adresse hôpital

Nos réf. : PR/EGB

Ville, date

M. le Dr BB  
adresse

Diagnostic Prénatal de XX (maladie) par étude du gène ABC

Patient(e) (NOM, Nom de jeune fille & Prénom) :

Nature du prélèvement :

Date de naissance :

Nom du préleveur :

Date du prélèvement :

Date de réception :

Aspect, qualité :

Début de grossesse (ou DDR) :

N° d'échantillon :

N° famille de référence :

Indication du diagnostic prénatal :

Analyse moléculaire :

- 1) Recherche de la mutation P pour laquelle M. (Nom, Prénom et date de naissance du père) est hétérozygote, par :
  - Technique 1
  - Technique 2
- 2) Recherche de la mutation M pour laquelle Mme est hétérozygote, par :
  - Technique 3
  - Technique 4
- 3) Vérification de l'absence de contamination maternelle par étude de marqueurs microsatellites de différents chromosomes.

Résultats et interprétation :

- Le foetus est hétérozygote composite pour les mutations P et M. Il est donc atteint de la maladie.
- Le foetus est hétérozygote pour la mutation paternelle P mais ne porte pas la mutation maternelle M. Il n'est donc pas atteint de la maladie.

Pour la bonne tenue de nos dossiers, nous vous serions reconnaissants de bien vouloir nous tenir informés des suites données à cette grossesse.



**Réalisation d'un diagnostic prénatal par génétique moléculaire à partir d'un prélèvement fœtal**

Référence : **BP-ANPGM\_001**

Page : 27/29

Numéro de version : 1

Pour la bonne tenue de nos dossiers, nous vous serions reconnaissants de bien vouloir nous adresser, peu après l'accouchement, le questionnaire ci-joint.

Généticien moléculaire 1

(Généticien moléculaire 2)



*Annexe 7 : Exemple de fiche de suivi de grossesse*

***Fiche de suivi de grossesse après DPN***

***A compléter pour tout diagnostic anténatal réalisée par génétique moléculaire,  
en vue d'établir un rapport d'activité pour l'Agence de la biomédecine (art. L2131-2)***

Nom de la patiente : .....

Prénom de la patiente : .....

Date de naissance de la patiente : .....

Date du DPN : .....

Terme de la grossesse (précisez  DDG ou  DDR) : .....

Type de prélèvement :  Trophoblaste  Liquide amniotique  Autre :

Médecin prescripteur : .....

Service : .....

**Indication du DPN :**

Résultat du DPN :  fœtus sain  fœtus atteint

**Devenir de la grossesse :**

- Poursuite de la grossesse*
- Interruption médicale de grossesse*
  - pour la maladie recherchée*
  - pour une autre affection (précisez) :*
- Fausse couche spontanée*
- Date de naissance, nom et prénom de l'enfant :*
- Autre (précisez) :*



Réalisation d'un diagnostic prénatal par génétique moléculaire à partir d'un prélèvement fœtal

Référence : **BP-ANPGM\_001**

Page : 29/29

Numéro de version : 1

---

**Merci de renvoyer le formulaire au laboratoire suivant :**

*Nom et adresse du laboratoire*

*Tel*

*Fax*