

**GUIDE DES BONNES PRATIQUES DE
L'ANALYSE CHROMOSOMIQUE SUR PUCE A ADN (ACPA)
EN PERIODE PRENATALE**

Version 1.0 Septembre 2013

**Version rédigée par le groupe ACPA et DPN et le groupe qualité du
réseau Achropuce**

**Et discuté le 26 juin 2013 avec l'ensemble des membres du réseau
présent à la 7^e réunion nationale du réseau AChroPuce**

Ce guide de bonnes pratiques complète le guide des bonnes pratiques de l'Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA), initialement rédigé par le réseau Achropuce en novembre 2010. Il s'appuie sur le document sus cité, en suit le plan et précise les particularités de cette analyse en prénatal.

INTRODUCTION

Ce guide des bonnes pratiques est exclusivement centré sur l'application de l'ACPA en période prénatale. En effet depuis 2010, de nombreuses publications internationales ont montré l'intérêt de l'ACPA en période prénatale. La dernière publication de synthèse des résultats et des références a été publiée dans la revue *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013 ; 41 610-620 par l'équipe de Pr Kilby: « use of prenatal chromosomal microarray: prospective cohort study and systematic review and meta-analysis ».

Il est rappelé que l'objectif essentiel de l'utilisation de l'ACPA en période prénatale est de permettre de faire un diagnostic et il est donc recommandé de limiter au maximum la mise en évidence de CNV de prédisposition ou de signification inconnue. L'objectif principal est de mettre en évidence un déséquilibre chromosomique qui pourrait expliquer ce pour quoi l'ACPA a été prescrite, par exemple la présence de signes d'appel échographiques (SAE). Nous insisterons sur les particularités de l'application de l'ACPA en diagnostic prénatal.

Ces sections sont communes avec le Guide des Bonnes Pratiques de l'ACPA en Postnatal

1.DOCUMENTATION

2.LOIS ET DECRETS DE REFERENCE

3.DIPLOMES DE CYTOGENETIQUE ou DE GENETIQUE MOLECULAIRE

8.STOCKAGE ET ARCHIVAGE

9.CONTROLES QUALITE INTERNE ET EXTERNE

Les sections suivantes sont valides mais sont complétées par les particularités de la pratique de l'ACPA en période prénatale

4. ECHANTILLONS BIOLOGIQUES pour l'ACPA: PHASE PRE-ANALYTIQUE :

4.1 : INDICATIONS : Suite aux différentes réunions du groupe de travail ACPA et DPN, les indications suivantes font l'objet d'un consensus :

✓ INDICATIONS CHROMOSOMIQUES

Caractérisation d'un remaniement chromosomique (identifier sur le caryotype) :

- marqueur chromosomique
- remaniement chromosomique apparemment équilibré (translocation ou inversion) avec signe d'appel échographique et/ou si *de novo*
- remaniement chromosomique déséquilibré pour lequel il est nécessaire de préciser par exemple la taille du déséquilibre ou de mieux caractériser un remaniement déséquilibré complexe sur le caryotype.

Sont exclus les remaniements chromosomiques apparemment équilibrés, hérités et sans SAE.

✓ SIGNES D'APPEL ECHOGRAPHIQUES

- les CN $\geq 3,5$ mm
- les RCIU $< 3^{\text{ème}}$ percentile sans étiologie
- les syndromes malformatifs
- les « petits » signes isolés ne peuvent être l'objet d'une liste et doivent être discutés au cas par cas au sein des CPDPN. L'étude peut être envisagée dès qu'il y a indication d'un prélèvement fœtal.

✓ Sont exclus des indications :

- le dépistage combiné (avec CN $< 3,5$ mm)
- le dépistage par marqueurs sériques du 2^{ème} trimestre seuls
- l'âge maternel
- l'anxiété maternelle

4.2 : INFORMATION

L'examen doit être expliqué à la patiente (au couple) et une notice d'information doit lui (leur) être remise au terme de la consultation avant la réalisation de l'ACPA. Un exemple de notice d'information est disponible en annexe.

L'information doit être donnée par un membre avisé et formé de l'équipe du Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal (CPDPN). Il fournira la notice d'information et répondra aux questions de la femme ou du couple.

La patiente (le couple) devra signer sur le consentement la formule suivante : « J'ai reçu et lu la notice d'information » ou au moins il devra être mentionné sur le consentement que le couple a lu et / ou pris connaissance du contenu la notice d'information.

4.3 LA PRESCRIPTION :

Les règles de bonnes pratiques applicables à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales parues dans l'arrêté du 7 juin 2013 du Journal Officiel précisent que le prescripteur d'un examen de génétique peut être :

- un médecin généticien ;
- un médecin non généticien connaissant la situation clinique (maladie, prise en charge thérapeutique) et les conséquences familiales et capable d'en interpréter le résultat. Ce médecin doit travailler en relation avec une équipe de génétique clinique.

Ainsi dans un contexte de diagnostic prénatal, la prescription doit être réalisée par un médecin, une sage-femme ou une personne paramédicale (par exemple un conseiller en génétique) sous la responsabilité d'un médecin intégré dans un CPDPN. L'indication sera discutée au CPDPN au sein desquels il devra y avoir au minimum un généticien (clinicien ou cytogénéticien).

4.4 LE PRELEVEMENT :

En fonction des pratiques du laboratoire, tout prélèvement (villosités chorales, liquide amniotique, sang fœtal) peut faire l'objet d'une ACPA.

4.5 CULTURE DE SECURITE

Le laboratoire effectuant l'ACPA devra mettre en œuvre au minimum une culture de sécurité (secours).

Cette culture permettra

- ✓ de pallier à un éventuel échec de l'ACPA
- ✓ de réaliser une vérification si nécessaire
- ✓ de déterminer la mécanique chromosomique en cas de remaniement déséquilibré
- ✓ de détecter éventuellement une mosaïque

4.6 RECHERCHE D'UNE CONTAMINATION PAR DES CELLULES MATERNELLES

Il peut être envisagé, pour certains types de prélèvements, une recherche de contamination du prélèvement par des cellules maternelles.

Si il existe une contamination sur le LA en direct, l'ACPA pourra être réalisée sur LA cultivé.

NB : En cas de prélèvement de liquide amniotique hémorragique, l'ACPA ne sera pas réalisée sur le prélèvement direct, mais sur la culture. Un commentaire devra y faire référence dans le compte-rendu du résultat final.

4.7 REALISATION D'UN CARYOTYPE « A MINIMA »

Avant la mise en œuvre d'une ACPA à partir d'un prélèvement de villosités chorales, une analyse préalable (caryotype en étude directe, technique BOBs ou toute autre technique quantitative) permettra de détecter les principales aneuploïdies, éliminer les triploïdies et déterminer le sexe fœtal, sera réalisée.

Pour les prélèvements de liquide amniotique, seule la culture est imposée. Le laboratoire pourra envisager de réaliser un caryotype, sans caractère systématique. Il pourra également rechercher sur le LA en direct les principales aneuploïdies, sans caractère obligatoire.

Dans la mesure du possible, le laboratoire conservera du matériel (culture, lame,.. au choix du laboratoire), au minimum jusqu'à la naissance, idéalement jusqu'à 6 mois après la naissance de l'enfant.

5. REALISATION DE L'EXAMEN d'ACPA: PHASE ANALYTIQUE :

5.1 TYPE DE LAMES

Il est recommandé d'adapter au maximum la résolution afin de limiter le nombre de VOUS. Cette adaptation peut être physique (sur la puce) ou informatique (seuil lors de l'analyse) ou les deux.

5.2 TECHNIQUE

Les laboratoires réalisant l'ACPA devront suivre les recommandations techniques préconisées dans le guide des bonnes pratiques édité en 2010 (chapitre 5). Chaque laboratoire adaptera ses techniques d'extraction sur les prélèvements réalisés en période prénatale afin d'obtenir un ADN de qualité suffisante pour réaliser une ACPA interprétable.

6. PHASE POST ANALYTIQUE :

CLASSIFICATION DES CNV

En cas d'anomalie, il est nécessaire de la vérifier par une technique complémentaire et de faire une recherche chez les parents avec les outils dont dispose le laboratoire. Il est préconisé de réaliser une étude FISH chez les parents afin de déterminer la mécanique chromosomique responsable du déséquilibre en vue du conseil génétique

Le compte-rendu doit indiquer clairement :

- ✓ les CNV pathogènes, à l'origine de syndromes récurrents et rapportés dans plusieurs publications
- ✓ les VOUS, variants dont la conséquence clinique est inconnue. Nous rappelons que L'HAS et l'ABM ont publié un guide de bonnes pratiques pour le diagnostic postnatal précisant que les VOUS doivent être rendus mais qu'ils ne peuvent faire l'objet d'un éventuel diagnostic prénatal. Aussi, en période prénatale, il est préconisé de faire état du VOUS si des investigations génétiques chez les parents sont proposées. Dans le cas contraire le VOUS sera indiqué en fonction du contexte clinique et de l'avis du CPDPN

Les polymorphismes répertoriés dans des bases de données comme DGV ne doivent pas être rendus ni dans la formule, ni dans les commentaires.

Préconisation concernant certains CNV, en particulier les « incidental findings ».

Il est rappelé que ce qui doit être pris en compte lors de la réalisation du compte rendu est l'intérêt clinique du CNV et son impact potentiel pour la grossesse en cours.

- ✓ les CNV concernant des gènes tumoraux sont signalés s'ils présentent un intérêt dans la prise en charge future de l'enfant et/ou des apparentés;
- ✓ Les CNV en relation avec des maladies liées à l'X sont signalés ;
- ✓ Les CNV en perte contenant des gènes responsables de maladies autosomiques récessives ne sont pas signalés, sauf si la fréquence des hétérozygotes pour la maladie récessive est supérieur à 1/50 et qu'il est possible de rechercher une mutation sur l'autre allèle (test diagnostique disponible en France). Les délétions homozygotes contenant des gènes responsables de maladies récessives doivent être signalées.
- ✓ Les CNV impliqués dans des maladies de révélation tardives, facteurs de prédisposition (ex : autisme) : devront être discuté au CPDPN. S'il existe un bénéfice direct pour le fœtus ou sa famille, selon les connaissances actuelles, le CNV pourra être signalé.

LE COMPTE-RENDU

Il doit suivre les recommandations faites dans le guide des bonnes pratiques de l'ACPA v1.0 de 2010. En plus, l'indication de l'examen doit être notée comme cela est spécifié dans l'arrêté paru le 7 juin 2013. Il est par ailleurs rappelé que le niveau de résolution et au moins un paramètre qualité doivent être indiqués et qu'une interprétation claire des résultats doit être donnée.

7.DELAI DE REPONSE:

Le compte rendu doit être adressé au médecin prescripteur dans un délai raisonnable pour une activité de diagnostic prénatal. Il est préconisé de rendre, dans la mesure du possible, plus de 90 % des résultats dans les 6 semaines suivant la réception du prélèvement si un caryotype est réalisée de façon concomitante ou dans les 2 semaines si le caryotype n'est pas réalisé.

ANNEXE : exemple de notice d'information

Notice d'information concernant l'ACPA

Il nous semble important, qu'avant toute prescription d'une ACPA, ces informations vous soient transmises et expliquées par le conseiller en génétique ou par le médecin qui propose l'analyse afin de vous aider à mieux comprendre les résultats obtenus.

Qu'est-ce que l'ACPA ?

Cet acronyme signifie Analyse Chromosomique sur Puce à ADN, appelé array CGH en anglais : Hybridation Génomique Comparative sur micro réseau d'ADN. Vous pouvez trouver d'autres termes pour cette technique, comme Étude Génomique sur puces à ADN ou caryotype moléculaire. C'est une nouvelle technique d'étude des chromosomes qui permet de détecter des anomalies chromosomiques non visibles sur le caryotype. Dans une ACPA, c'est le génome, c'est à dire l'ADN de tous les chromosomes, qui est étudié. Cette notice a pour objectif de vous expliquer le bénéfice et les limites de l'examen de l'ACPA.

Quelles sont les avantages d'une CGH array par rapport au caryotype ?

L'ACPA permet de rechercher des anomalies chromosomiques de petite taille, difficiles ou impossibles à voir sur un caryotype. Il s'agit donc d'une analyse de l'ensemble du génome de votre fœtus, comme le caryotype, mais avec un zoom 10 à 100 fois plus important, c'est-à-dire que cet examen permet de voir des anomalies 10 à 100 fois plus petites que les anomalies visibles sur un caryotype. Dans le cadre de la recherche d'une étiologie aux anomalies du développement embryonnaire d'un fœtus, l'ACPA permet donc d'augmenter la détection d'anomalies chromosomiques. Cette technique offre deux fois plus de chances de trouver la cause des anomalies décelées à l'échographie fœtale que la réalisation d'un caryotype.

Comment fait-on une ACPA ?

À partir d'un prélèvement de liquide amniotique, l'ADN de votre fœtus va être extrait. Grâce à l'ACPA, le contenu du génome (c'est-à-dire l'ensemble des chromosomes) de votre fœtus va être comparé à celui d'un témoin. L'objectif est de déterminer s'il existe ou non des régions du génome en excès ou perdues chez votre fœtus.

Ces gains ou ces pertes de matériel chromosomique sont appelés CNV pour Variations du Nombre de Copies (d'ADN). En pratique, on étudie des milliers voire des dizaines de milliers de régions sur l'ensemble du génome.

N'est-il pas parfois normal d'avoir des gains ou des pertes de matériel chromosomique ?

Effectivement, il existe chez toutes les personnes des pertes ou des gains de matériel chromosomique dans certaines régions du génome. Ce sont des CNV bénins ou polymorphiques qui n'ont pas de conséquence délétère pour l'individu porteur.

Comment interpréter une variation du nombre de copies (CNV) ?

Lorsque le médecin analyse les CNV détectés par la CGH array, trois possibilités peuvent se présenter :

- 1) Soit le CNV est responsable des anomalies observées chez votre fœtus et on parle alors de CNV pathogène ou causal. Dans cette situation, il est nécessaire d'étudier les chromosomes des parents pour un conseil génétique pour les futures grossesses.
- 2) Soit le CNV est connu pour être un polymorphisme et il n'est généralement pas mentionné dans le compte rendu car il n'explique pas les anomalies observées chez votre fœtus.
- 3) Soit il s'agit d'un CNV pour lequel il est difficile de conclure : CNV pathogène ou bénin ? Il s'agit alors d'un résultat incertain. En effet, il arrive que les connaissances scientifiques au moment de l'analyse ne soient pas suffisantes pour que le biologiste puisse dire avec certitude qu'une variation détectée est responsable des anomalies observées chez votre fœtus. Dans cette situation, il est nécessaire d'étudier les chromosomes des parents. Le médecin peut proposer de refaire une échographie fœtale ultérieurement. A cette occasion, les résultats de CGH array pourront éventuellement être réanalysés. Ce cas arrive rarement mais il peut être parfois difficile, voire impossible, de conclure.

Quelles sont les limites de l'ACPA ?

La technique d'ACPA ne permet pas de voir les remaniements équilibrés c'est-à-dire sans gain ou perte de matériel chromosomique. En cas de remaniement équilibré, les segments chromosomiques ne sont pas à la « bonne place » : par exemple un morceau de chromosome 3 est sur le chromosome 8 et un morceau de chromosome 8 est sur le chromosome 3 : il y a juste un « échange de matériel chromosomique ». Ce type de remaniements n'est pratiquement jamais à l'origine d'anomalies du développement.

L'ACPA ne permet pas de détecter une anomalie en faible mosaïque (c'est à dire la présence d'une anomalie chromosomique dans moins de 10-20% des cellules).

L'ACPA ne détecte pas les mutations dans les gènes. Les mutations ne sont mises en évidence que par des techniques de biologie moléculaire.

En raison des difficultés d'interprétation, la résolution de la puce utilisée est faite pour trouver des anomalies pouvant expliquer les anomalies présentées chez votre fœtus.

Est-ce qu'il arrive que l'on trouve des anomalies dans le génome sans rapport avec la pathologie motivant la demande d'analyse ?

Oui, cela peut arriver. L'ensemble du génome est analysé et il est donc possible de trouver une anomalie sans rapport avec les signes échographiques observés chez votre fœtus. Dans ce cas le médecin vous en expliquera les conséquences possibles.

Est-ce qu'un traitement est possible lorsqu'une anomalie chromosomique pathogène est identifiée par ACPA ?

On ne sait pas actuellement corriger une anomalie génétique dans toutes les cellules de l'organisme.

Combien de temps faudra-t-il pour avoir le résultat ?

La discussion des dossiers par les généticiens cliniciens et biologistes est systématique pour en interpréter les résultats. De plus, cette analyse est complexe et demande du temps au laboratoire qui l'effectue. Le délai d'obtention des résultats peut atteindre plusieurs semaines.

En conclusion

L'ACPA va peut-être permettre de connaître l'origine des anomalies identifiées chez votre fœtus. Le dépistage d'une anomalie va nécessiter des vérifications complémentaires avec les prélèvements sanguins des deux parents. Une consultation de génétique vous sera proposée pour que le résultat vous soit expliqué et que les analyses complémentaires soient réalisées. Le conseil génétique ne sera possible que lorsque l'on aura la certitude d'une relation entre la variation détectée et les signes présentés par votre fœtus.

Si vous avez des interrogations sur cette analyse, les médecins généticiens sont à votre disposition pour répondre à vos questions.