

# Chroniques génomiques

## Du bon usage d'un test non invasif

Bertrand Jordan



Les tests non invasifs ont le vent en poupe [1] : ils apportent des informations à partir de l'analyse de fluides biologiques (sang, mais aussi urines, sueur ou larmes), évitant ainsi les prélèvements et les biopsies toujours désagréables et qui comportent parfois des risques non négligeables. Dans certains cas il s'agit de biomarqueurs protéiques, mais souvent aussi d'ADN. C'est le cas du dépistage non invasif de la trisomie 21, introduit en pratique clinique à partir de 2011 et qui rencontre actuellement un grand succès, notamment aux États-Unis [2]. L'objectif de cette chronique est de faire le point sur les performances de ces analyses et sur les questions actuellement posées par leur rapide généralisation.

### Dépistage, ancien et nouveau

Rappelons la procédure classique de dépistage prénatal de la trisomie 21 : elle repose sur l'échographie (évaluation de la clarté nucale) et la mesure de marqueurs sériques dans un prélèvement sanguin. Depuis 2009, « toute femme enceinte, quel que soit son âge, est informée de la possibilité de recourir à un dépistage combiné permettant d'évaluer le risque de trisomie 21 pour l'enfant à naître<sup>1</sup> », et ce dès le premier trimestre. Il s'agit bien d'un dépistage, qui présente une bonne sensibilité (plus de 90 %) mais ne constitue en aucun cas un diagnostic de trisomie : il indique seulement, en cas de résultat positif, un risque de l'ordre de 5 %. Le véritable diagnostic est alors pratiqué grâce au caryotype de cellules fœtales obtenues par amniocentèse ou par prélèvement de villosités chorales. Comme le dépistage comporte 95 % de faux positifs, il induit un nombre relativement élevé de ces procédures invasives, qui comportent un risque de fausse couche allant de 0,5 à 1 %.



Avec les progrès des techniques de séquençage d'ADN, et la mise en évidence de la présence d'un peu d'ADN fœtal dans le sang maternel, il est devenu possible de détecter directement la trisomie 21 (ainsi que les trisomies 13 et 18) par analyse de cet ADN. L'ADN fœtal représente en général de 10 à 20 % de l'ADN libre présent dans un prélèvement sanguin de la mère ; le séquençage est pratiqué sur l'ensemble de l'ADN, et non sur l'ADN fœtal seul, dont l'isolement n'est d'ailleurs guère possible. Une trisomie 21 va donc se manifester par une légère augmentation de la quantité d'ADN détectée pour ce chromosome<sup>2</sup>, qui est mesurable grâce au séquençage de l'ensemble de l'ADN à une redondance de 20 à 30 fois, et à une exploitation informatique adaptée. Diverses variantes sont possibles et sont proposées par différentes entreprises (Sequenom, Illumina, Integrated Genetics, Ariosa, Natera et, en Europe, Cerba<sup>3</sup>), elles sont décrites dans une revue récente [3]. De multiples essais ont été pratiqués pour évaluer l'efficacité de cette technique, d'abord dans des populations à risque en raison de l'âge maternel puis, plus récemment, dans la population générale [4] ; elles ont conclu à une bien meilleure efficacité par rapport au dépistage standard, avec des valeurs de sensibilité et de spécificité toutes deux supérieures à 99 %. Ce test est autorisé en France et

UMR 7268 ADÉS, Aix-Marseille, Université/EFS/CNRS, Espace éthique méditerranéen, hôpital d'adultes la Timone, 264, rue Saint-Pierre, 13385 Marseille Cedex 05, France ;  
CoReBio PACA, case 901, parc scientifique de Luminy, 13288 Marseille Cedex 09, France.  
[bertrand.jordan@univ-amu.fr](mailto:bertrand.jordan@univ-amu.fr)  
[brjordan@orange.fr](mailto:brjordan@orange.fr)

<sup>1</sup> Arrêté du 23 juin 2009 fixant les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21.

<sup>2</sup> Si l'ADN fœtal représente 10 % du total, la quantité de chromosome 21 sera augmentée de 5 % en cas de trisomie pour ce chromosome.

<sup>3</sup> <http://www.trisomie21-foetale.com/fr/>

A



• À PROPOS • CONTACTS • PRESSE • ACTUALITÉS • LABORATOIRES PRÉLEVEURS • VOS ESPACES



Rechercher

OK

## Test génétique **NON INVASIF** de la **trisomie 21 foetale** et autres aneuploïdies



Espace Patientes

Espace Professionnels  
de Santé

Accueil ▶ Actualités Patients ▶ Plus de 3 000 tests de la trisomie 21 foetale réalisés

### Plus de 3 000 tests de la trisomie 21 foetale réalisés

A ce jour, plus de **3 000 femmes enceintes**, originaires de la France entière, ont pu bénéficier d'un test génétique non invasif de la **trisomie 21 foetale** réalisé au sein du laboratoire CERBA.

B

### Que se passe-t-il en cas de résultat positif ?



Un résultat positif indique que le fœtus est très certainement porteur de la trisomie concernée.

**Votre médecin confirmera ce test** par une amniocentèse ou une biopsie de villosités chorales afin de faire réaliser le caryotype du fœtus.

Le caryotype posera définitivement le diagnostic.

**Figure 1. A. Présentation du test sur le site de l'entreprise CERBA. B. Nécessité d'une confirmation.** Il faut aller dans l'« Espace Patientes » et télécharger la brochure d'information pour découvrir, tout à la fin, que ce test devra être confirmé par un caryotype s'il est positif (alors pourtant qu'il est affirmé que dans ce cas « le fœtus est très certainement porteur de la trisomie concernée ») (extrait du site spécifique CERBA <http://www.trisomie21-foetale.com/fr/> consulté le 17/01/2015).

disponible sur prescription médicale, son coût (650 € environ) restant à la charge de la patiente<sup>4</sup>.

### Un grand succès commercial - qui repose sur une confusion ?

Dès leur introduction, ces tests (désignés par l'acronyme NIPT pour *non-invasive prenatal test*) ont rencontré un grand succès en dépit de leur coût. Il s'en pratique actuellement plusieurs centaines de milliers par an aux États-Unis, et l'entreprise européenne Cerba en revendique déjà plusieurs milliers (Figure 1A). Mais il semble que cette réussite repose en partie sur l'idée que le NIPT permettrait d'éviter toute procédure invasive, et sur une compréhension biaisée de la notion de spécificité. Lorsqu'une entreprise affirme que son test a une spécificité de 99,7 %, cela indique pour beaucoup de patientes (et pour quelques médecins) qu'un résultat positif est certain à 99,7 %... En réalité, et selon la prévalence de la trisomie 21 dans la population considérée, la « valeur prédictive positive » (PPV, *positive predictive value*) peut n'être que de 50 %, c'est-à-dire qu'une patiente dont le test est positif a une chance sur deux de porter un fœtus normal. Cela

tient au fait que les fœtus normaux sont beaucoup plus nombreux que les trisomiques, et que la spécificité indique la proportion de normaux dont le test est négatif, et non la proportion de vrais positifs (trisomiques) parmi les résultats positifs (*voir encadré*). On a oublié qu'il s'agit d'un test de dépistage et non d'un diagnostic, et que tout résultat positif doit être suivi d'une analyse chromosomique. Il faut dire que les sites des entreprises proposant les tests NIPT n'insistent pas beaucoup sur ce point, et laissent planer l'illusion que ces tests évitent tout processus invasif - ce qui va bien sûr dans le sens de leurs intérêts commerciaux (Figure 1B).

Pour illustrer cela concrètement, l'étude citée plus haut [4] portait sur près de 2 000 femmes sans risque particulier (âge moyen 30 ans) et a comparé les résultats du dépistage classique avec ceux du test NIPT proposé par Illumina. Les deux tests ont une sensibilité proche de 100 % et donc une valeur prédictive négative (NPV) de 100 % : on n'a « raté » aucun fœtus atteint. Mais le test classique a détecté 75 positifs, le test NIPT 9 alors que le

<sup>4</sup> <http://expertadn.fr/le-test-genetique-non-invasif-de-la-trisomie-13-18-et-21-foetale/>



nombre réel (vu par caryotype ultérieur) est de 4. Le test classique a donc une valeur prédictive positive (PPV) de 5 % seulement (4/75) alors que celle du test NIPT est de 45 % (4/9). L'utilisation correcte de ce dernier, dans un but de dépistage, va réduire considérablement le nombre de procédures invasives, 9 au lieu de 75 ; mais celles-ci restent indispensables pour confirmer (ou infirmer) son résultat. En bref, le test NIPT est effectivement très intéressant en tant que test de dépistage, mais il n'a pas valeur de diagnostic et n'élimine pas totalement le recours à l'amniocentèse ou au prélèvement de villosités chorales. C'est pourtant bien ainsi qu'il est souvent compris, et une étude récente [5] mentionne d'assez nombreux cas de femmes décidant une interruption de grossesse sur sa seule base.

### Pour un usage approprié et un contrôle de qualité

S'il est bien employé, en tant que dépistage, le test NIPT constitue certainement un progrès puisqu'il réduit fortement le nombre d'amniocentèses sans perte d'efficacité de la détection des fœtus trisomiques. Il reste à être certain qu'il est parfaitement contrôlé du point de vue technique, et un récent essai en aveugle jette un certain doute à cet égard. En effet, des échantillons sanguins provenant de femmes non enceintes ont été envoyés à cinq laboratoires commerciaux pratiquant les tests NIPT. Deux d'entre eux ont indiqué que la proportion d'ADN fœtal était trop faible pour pratiquer le test (conclusion correcte puisqu'il n'y avait pas de grossesse), mais les trois autres ont conclu à un fœtus normal [6], l'un d'eux estimant même la proportion d'ADN fœtal dans le prélèvement à 4,3 %. On peut certes discuter le bien-fondé de cet essai (le NIPT n'est pas censé être un test de grossesse), d'autant plus qu'il ne portait que sur deux échantillons, mais il est tout de même inquiétant. Il indique notamment le risque de faux négatifs en cas de grossesse anormale mais comportant très peu d'ADN fœtal dans le sang maternel. Cet essai suggère donc la définition de normes de qualité pour s'assurer que les performances des tests NIPT correspondent bien aux valeurs annoncées.

### Les bémols de l'approche non invasive

Les tests non invasifs constituent sans nul doute un progrès considérable. Ils facilitent ou rendent plus sûrs des analyses déjà pratiquées par d'autres moyens, comme on le voit dans cette chronique. Ils peuvent aussi rendre possibles des approches nouvelles, comme par exemple le suivi de l'évolution d'un cancer par l'analyse de cel-

### Sensibilité, spécificité et valeurs prédictives

**La sensibilité** d'un test est le nombre de cas positifs détectés par le test divisé par le nombre total de cas positifs dans l'échantillon.

**La spécificité** est le nombre de cas négatifs détectés divisé par le nombre total de cas négatifs. Ces deux valeurs sont caractéristiques du test et indépendantes de la prévalence de la condition testée, elles peuvent donner une fausse idée de la valeur du test dans certains cas.

**La valeur prédictive positive** est la probabilité que l'affection soit présente lorsque le test est positif, c'est donc le nombre de vrais positifs divisé par le nombre total de positifs (vrais et faux). C'est elle qui indique réellement la valeur du test. Si la prévalence de l'affection est faible, le nombre de faux positifs peut être important alors même que la spécificité est élevée. Par exemple, si la prévalence de la trisomie 21 est de 0,4 % (âge maternel 38 ans), le nombre de vrais positifs après un test ayant une sensibilité de 99,9 % sera de 4 pour 1 000 femmes de cet âge enceintes ; si sa spécificité est de 99,7 % le nombre de faux positifs sera de  $(1-0,997) \times 995$  soit 3 (arrondi). On observera donc au total 7 résultats positifs dont 4 sont des vrais positifs, la valeur prédictive positive (PPV) est alors de 4/7 soit 57 %. Noter que si la prévalence est plus faible (femmes plus jeunes), la proportion de vrais positifs diminue : pour des femmes de 30 ans (prévalence 0,1 %) on aura un seul vrai positif et toujours quatre faux positifs, donc une valeur prédictive positive de 20 % seulement.

**La valeur prédictive négative** est la probabilité que l'affection ne soit pas présente lorsque le test est négatif, dans le même cas elle sera de 100 % (nombre de faux négatifs  $0,001 \times 5$  soit 0 [arrondi]).

lules tumorales circulantes (CTC, *circulating tumour cells*) ou d'ADN tumoral présent dans le plasma, comme le décrit un récent article publié dans *m/s* [7]. Mais il ne faut pas oublier que ces tests reposent souvent sur des prouesses techniques, la détection d'un léger excès d'ADN du chromosome 21 pour le NIPT, l'analyse de quelques cellules tumorales pour le suivi des cancers : cela limite leurs performances et implique de les employer selon des règles bien précises. Comme ces tests émanent souvent d'entreprises dont ils sont la raison d'être, la tentation est forte d'insister beaucoup plus sur leurs avantages que sur leurs limites : il est d'autant plus nécessaire que leur présentation et leurs spécifications techniques soient précisément encadrées. ♦

### SUMMARY

#### Proper use of non-invasive prenatal tests

Non-Invasive Prenatal Tests (NIPT) can avoid many unnecessary invasive procedures, and as such are a welcome addition. They remain, however, screening tests without absolute diagnostic value, and positive results must be confirmed by amniocentesis or chorionic villus sampling. This must not be overlooked in the general enthusiasm for these new approaches whose technical difficulty is sometimes underappreciated. ♦

### LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

## RÉFÉRENCES

1. Jordan B. L'invasion des tests non-invasifs. *Med sci (Paris)* 2014 ; 30 : 107-8.
2. Morain S, Greene MF, Mello MM. A new era in noninvasive prenatal testing. *N Engl J Med* 2013 ; 369 : 499-501.
3. Gregg AR, Van den Veyver IB, Gross SJ, et al. Noninvasive prenatal screening by next-generation sequencing. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2014 ; 15 : 327-47.
4. Bianchi DW, Parker RL, Wentworth J, et al. DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening. *N Engl J Med* 2014 ; 370 : 799-808.
5. Dar P, Curnow KJ, Gross SJ, et al. Clinical experience and follow-up with large scale single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal aneuploidy testing. *Am J Obstet Gynecol* 2014 ; 211 : 527.e1-527.e17.
6. Takoudes T, Hamar B. Performance of non-invasive prenatal testing when fetal cell-free DNA is absent. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015 ; 45 : 112.
7. Caen O, Nizard P, Garrigou S, et al. PCR digitale en microcompartiments. II. Apport pour la détection quantitative d'ADN tumoral circulant. *Med Sci (Paris)* 2015 ; 31 : 180-6.

### TIRÉS À PART

B. Jordan



# Questions de santé publique

## Un nouveau bulletin

pour une meilleure  
visibilité des résultats  
de la recherche  
en santé publique

**L**es résultats de la recherche en santé publique souffrent en France d'un réel manque de visibilité. Ceci concerne aussi bien le monde académique (hors santé publique) que le grand public et les décideurs. Pour pallier ce déficit, l'IRSP a créé un bulletin à large diffusion intitulé « *Questions de santé publique* », largement inspiré du bulletin mensuel d'information de l'INED « *Populations et sociétés* ». L'objectif éditorial est de porter à la connaissance d'un large public (enseignants, étudiants, journalistes, décideurs, milieux de la recherche, asso-

ciations, public concerné) les informations les plus récentes concernant des questions importantes de santé publique, rédigées de façon facilement lisible et compréhensible pour des non spécialistes, en garantissant que les informations publiées sont validées scientifiquement. La publication concerne des faits et non des positions. Au-delà de la présentation de résultats, les qualités pédagogiques de *Questions de santé publique* permettent au lecteur de mieux comprendre comment sont formulées et abordées les questions de santé publique et quelles sont les limites de ces études.



Nom .....

Prénom .....

Institution ..... Fonction .....

Spécialité ..... Service .....

Adresse .....

Ville .....

Code postal .....

Pays .....

Adresse électronique .....

à nous retourner par la poste ou par fax au 01 43 29 32 62

Questions de santé publique  
Les Éditions EDK EDP Sciences  
109, avenue Aristide Briand  
92541 Montrouge Cedex  
France

Réservé aux abonnés de M/S  
Recevez gratuitement et régulièrement  
**Questions de santé publique**  
en renvoyant ce document soigneusement rempli.

**Questions de santé publique** est une publication de l'Institut de Recherche en Santé Publique. ■ **Directeur de la publication** : Geneviève Chêne.

■ **Rédacteur en chef** : Claire-Isabelle Coquin. ■ Une réalisation des Éditions EDK.