

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

**Version 2.2 nov 2020**

*Version rédigée par le groupe ACPA- DPN du réseau Achropuce  
Et discuté le 19 juin 2019 avec l'ensemble des membres du réseau présent à la 13<sup>ème</sup> réunion nationale  
du réseau AChroPuce*

**Groupe de travail** : Valérie Malan, Agnès Guichet, Laure Raymond, Pascale Kleinfinger, Stephan Kemeny, Brigitte Simon-Bouy, Caroline Rooryck-Thambo, Sylvie Jaillard, Céline Dupont, Aurélie Coussement.

## TABLE DES MATIERES

|  |    |
|--|----|
| INTRODUCTION .....   | 2  |
| 1. DOCUMENTATION .....   | 2  |
| 2. LOIS ET DECRETS DE REFERENCE .....                          | 2  |
| 3. DIPLOMES DE CYTOGENETIQUE ou DE GENETIQUE MOLECULAIRE ..... | 3  |
| 4. PHASE PRE-ANALYTIQUE .....                                  | 3  |
| 5. PHASE ANALYTIQUE .....                                      | 5  |
| 6. PHASE POST ANALYTIQUE .....                                 | 6  |
| 7. STOCKAGE ET ARCHIVAGE .....                                 | 8  |
| 8. CONTROLES QUALITE INTERNES ET EXTERNES .....                | 8  |
| BIBLIOGRAPHIE .....  | 9  |
| ANNEXE : exemple de notice d'information .....                 | 10 |

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 décembre 2018. 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.

Il est rappelé que l'objectif essentiel de l'utilisation de l'ACPA en prénatal est de mettre en évidence un déséquilibre chromosomique qui pourrait expliquer le motif de la prescription et la pathologie du fœtus.

### 1. DOCUMENTATION

Cf Guide Bonnes pratiques de l'ACPA en postnatal

### 2. LOIS ET DECRETS DE REFERENCE

Cf Guide Bonnes pratiques de l'ACPA en postnatal

### **3. DIPLOMES DE CYTOGENETIQUE ou DE GENETIQUE MOLECULAIRE**

Cf Guide Bonnes pratiques de l'ACPA en postnatal

#### **4. PHASE PRE-ANALYTIQUE**

##### **4.1. Indications**

Les indications suivantes font l'objet d'un consensus mais il est admis que tout fœtus (avec ou sans signe d'appel échographique) ayant bénéficié d'un prélèvement invasif peut bénéficier d'une ACPA après accord du Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal (CPDPN).

##### **4.1.1. Signes d'appel échographiques**

Il est **fortement** recommandé de réaliser une ACPA dans les indications suivantes :

- clartés nucales  $\geq 3,5$  mm
- retard de croissance intra-utérin  $\leq 3^{\text{ème}}$  percentile
- syndromes polymalformatifs

Cependant, tout signe d'appel échographique ayant justifié un prélèvement invasif peut faire l'objet d'une ACPA.

##### **4.1.2. Indications chromosomiques**

Caractérisation d'un remaniement chromosomique identifié sur le caryotype :

- marqueur chromosomique (sauf marqueur chromosomique connu : ex marqueur isodicentrique du chromosome 15, SNRPN négatif et marqueur hérité d'un parent sain)
- remaniement chromosomique apparemment équilibré (translocation ou inversion) avec signe d'appel échographique et/ou si *de novo*
- remaniement chromosomique déséquilibré ou remaniement complexe

##### **4.2. Information**

**Arrêté du 25 janvier 2018** fixant les recommandations de bonnes pratiques relatives aux modalités de prescription, de réalisation et de communication des résultats des examens de biologie médicale concourant au diagnostic biologique prénatal (Cf. Points 3.1 et 3.2 de l'arrêté, information et consentement)

L'examen doit être expliqué à la patiente et si possible aux deux membres du couple et une notice d'information doit lui être remise au terme de la consultation avant la réalisation de l'ACPA. Un modèle de notice d'information est disponible en annexe.

L'information doit être donnée par un professionnel de santé avisé et formé, travaillant en relation avec un Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal (CPDPN).

### **4.3. La prescription**

L'arrêté **du 25 janvier 2018** stipule **que seul un médecin peut prescrire un examen en vue d'un diagnostic prénatal.**

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.

### **4.4. Le prélèvement**

En fonction des pratiques du laboratoire, tout prélèvement fœtal ou placentaire peut faire l'objet d'une ACPA dans le respect des indications. Il est souhaitable de réaliser l'ACPA sur le prélèvement natif (liquide amniotique non cultivé, villosités chorales non cultivées...) afin de réduire le délai de rendu du résultat et d'éviter un biais de culture cellulaire en cas de mosaïque chromosomique.

### **4.5. Diagnostic rapide d'aneuploïdie**

Avant la mise en œuvre d'une ACPA, la réalisation d'un diagnostic rapide d'aneuploïdies peut être discutée en fonction du contexte échographique (caryotype en étude directe, FISH, technique BOBs ou toute autre technique quantitative).

## **5. PHASE ANALYTIQUE**

### **5.1. Type de lames**

Il est recommandé d'utiliser une lame et un logiciel d'analyse permettant un seuil de détection d'un CNV (*Copy Number Variant*) d'une taille minimale de **1 Mb**.

### **5.2. Technique**

Les laboratoires réalisant l'ACPA devront suivre les recommandations techniques préconisées dans le guide des bonnes pratiques édité en 2018 (chapitre 5). Chaque laboratoire adaptera ses techniques d'extraction sur les prélèvements réalisés en prénatal afin d'obtenir un ADN de qualité suffisante pour réaliser une ACPA interprétable.

### **5.3. Matériel de secours**

Il est nécessaire de conserver du matériel biologique (culture cellulaire) afin de :

- pallier à un éventuel échec
- procéder à des compléments d'analyse pour l'étude de la mécanique chromosomique

### **5.4. Recherche d'une contamination par des cellules maternelles**

Chaque laboratoire doit se poser la question du risque de contamination maternelle propre à son centre et prendre les mesures adéquates.

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

S'il existe une contamination sur le liquide amniotique non cultivé, l'ACPA pourra être réalisée sur le liquide amniotique cultivé.

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

## 5.5. Réalisation du caryotype

Il n'est pas nécessaire de réaliser un caryotype après ou avant la réalisation de l'ACPA sauf en cas de CNV non récurrent comme aide potentielle au diagnostic du mécanisme chromosomique.

## 6. PHASE POST ANALYTIQUE

### 6.1. Vérifications des CNV

En cas de déséquilibre génomique identifié, il est recommandé d'effectuer une vérification par une technique complémentaire disponible dans le laboratoire afin de :

- 1) éliminer un défaut d'identité-vigilance
- 2) déterminer le mécanisme chromosomique. Il est préconisé de réaliser une étude FISH à partir du prélèvement fœtal et des prélèvements sanguins parentaux. L'analyse FISH doit être effectuée sur chromosomes métaphasiques afin de déterminer le mécanisme en cause en vue du conseil génétique.

### 6.2. Classification des CNV

La classification des CNV a été définie dans le guide « Recommandations pour l'interprétation clinique des CNV » (Juin 2019).

| Type de CNV  | Compte-rendu                                |
|--|---|
| <b>CNV probablement bénin et bénin (classes 1 et 2)</b>        | Non mentionné                               |
| <b>CNV probablement pathogène et pathogène (classe 4 et 5)</b> | Rendu dans le résultat                      |
| <b>VOUS (classe 3)</b>   | Non mentionné                               |
| <b>PIEV*</b>   | Rendu ou non au cas par cas, selon le CPDPN |

\*PIEV : CNV de susceptibilité aux troubles neuro-développementaux, à pénétrance incomplète et/ou expressivité variable

L'Arrêté du 25 janvier 2018 autorise les laboratoires à rendre les données incidentes :

### « 3.2. Le consentement

Préalablement à tout prélèvement en vue de la réalisation des examens de DPN et après délivrance de l'information mentionnée au point 3.1, le consentement de la femme enceinte est recueilli par écrit selon le formulaire type prévu par arrêté du ministre chargé de la santé. Dans certaines circonstances, il est souhaitable que le consentement précise notamment si la femme enceinte souhaite être informée de la découverte de variations génétiques sans lien avec l'indication initiale d'autres affections que celle (s) initialement recherchée (s) qui pourraient influencer la prise en charge de la grossesse et le cas échéant avoir des conséquences sur l'information de la parentèle. »

Nb : Cela n'est pas autorisé à ce jour en postnatal mais la Loi de Bioéthique est en cours de révision.

### **6.3. Le résultat**

Il doit suivre les recommandations du guide des bonnes pratiques de l'ACPA v3.1 de 2018.

L'indication de l'examen doit être notée comme cela est spécifié dans **l'arrêté du 27 mai 2013**.

Le niveau de résolution et au moins un paramètre qualité doivent être indiqués. Une interprétation claire des résultats doit être donnée ainsi que la formule chromosomique selon la nomenclature de l'ISCN.

Le résultat doit indiquer les CNV pathogènes et probablement pathogènes.

Les CNV bénins ou probablement bénins ne doivent pas figurer sur le résultat.

Les VOUS ne doivent pas être rendus selon **l'arrêté du 25 janvier 2018** fixant les recommandations de bonnes pratiques relatives aux modalités de prescription, de réalisation et de communication des résultats des examens de biologie médicale concourant au diagnostic biologique prénatal.

#### **6.4. Délai de rendu du résultat**

Le résultat 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 3 semaines** suivant la réception du prélèvement.

#### **7. STOCKAGE ET ARCHIVAGE**

Cf Guide Bonnes pratiques de l'ACPA en postnatal

#### **8. CONTROLES QUALITE INTERNES ET EXTERNES**

Cf Guide Bonnes pratiques de l'ACPA en postnatal

## BIBLIOGRAPHIE

- 1- Stosic M, Levy B, Wapner R. The Use of Chromosomal Microarray Analysis in Prenatal Diagnosis. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2018 Mar;45(1):55-68.
- 2- Chong HP, Hamilton S, Mone F, Cheung KW, Togneri FS, Morris RK, Quinlan-Jones E, Williams D, Allen S, McMullan DJ, Kilby MD. Prenatal chromosomal microarray testing of fetuses with ultrasound structural anomalies: A prospective cohort study of over 1000 consecutive cases. *Prenat Diagn.* 2019 Aug 8.
- 3- Robson SC, Chitty LS, Morris S, Verhoef T, Ambler G, Wellesley DG, Graham R, Leader C, Fisher J, Crolla JA. Evaluation of Array Comparative genomic Hybridisation in prenatal diagnosis of fetal anomalies: a multicentre cohort study with cost analysis and assessment of patient, health professional and commissioner preferences for array comparative genomic hybridisation. Southampton (UK): NIHR Journals Library; 2017 Feb.
- 4- Muys J, Blaumeiser B, Janssens K, Loobuyck P, Jacquemyn Y. Chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis: ethical considerations of the Belgian approach. *J Med Ethics.* 2019 Sep 16.
- 5- Malan V, Lapierre JM, Egloff M, Goidin D, Beaujard MP, Maurin ML, Attié-Bitach T, Bessières B, Bernard JP, Roth P, Stirnemann J, Salomon L, Romana S, Vekemans M, Ville Y, Turleau C. A French Approach to Test Fetuses with Ultrasound Abnormalities Using a Customized Microarray as First-Tier Genetic Test. *Cytogenet Genome Res.* 2015;147(2-3):103-10.
- 6- Hillman SC, Pretlove S, Coomarasamy A, McMullan DJ, Davison EV, Maher ER, Kilby MD. Additional information from array comparative genomic hybridization technology over conventional karyotyping in prenatal diagnosis: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011 Jan;37(1):6-14

## ANNEXE : exemple de notice d'information

### NOTICE D'INFORMATION ACPA

Il nous semble important, qu'avant toute prescription d'une ACPA, des informations sur cet examen vous soient transmises et expliquées par le conseiller en génétique ou par le médecin/sage femme qui propose l'analyse afin de vous aider à mieux comprendre le bénéfice et les limites de l'examen de l'ACPA ainsi que les résultats qui peuvent être obtenus.

#### Qu'est-ce que l'ACPA ?

Cet acronyme signifie Analyse Chromosomique sur Puce à ADN, appelé aussi CGH-array ou Hybridation Génomique comparative sur micro réseau d'ADN, étude génomique sur puce à ADN ou encore 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.

#### Comment fait-on une ACPA ? Objectifs

A partir d'un prélèvement fœtal (liquide amniotique ou placenta ou sang fœtal), 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 Variation du Nombre de Copies (d'ADN). Ils peuvent être de taille et de localisation variés.

#### Quelles sont les limites de l'ACPA ?

L'ACPA ne permet pas de détecter :

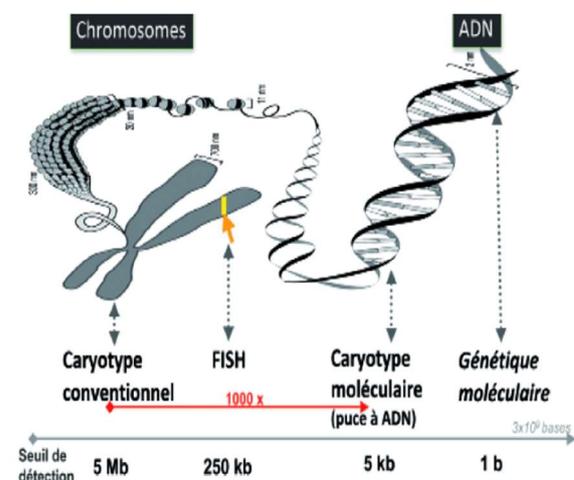
- (1) Les remaniements équilibrés c'est-à-dire sans gain ou perte de matériel chromosomique mais ce type de remaniements est rarement à l'origine d'anomalies du développement.
- (2) Une anomalie en faible mosaïque (c'est-à-dire la présence d'une anomalie chromosomique dans moins de 10-20% des cellules.)
- (3) 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 de taille relativement grande à

l'échelle du génome pouvant expliquer les anomalies présentées par votre fœtus.

#### Quels sont les avantages de l'ACPA par rapport au caryotype ?

L'ACPA permet de rechercher des anomalies chromosomiques de petite taille, difficiles ou impossibles à voir sur le 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 le caryotype (cf schéma). Dans le cadre de la recherche d'une étiologie aux anomalies du développement embryonnaire présentes chez votre 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.



#### 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 **polymorphismes** qui n'ont pas de conséquence délétère pour l'individu porteur.

#### Comment interprète-t-on la signification d'un CNV ?

Lors de l'interprétation quatre situations peuvent se présenter :

- 1) Le CNV **est connu pour être sans conséquence** (c'est ce que l'on appelle un variant de la normale ou polymorphisme) et il n'est pas mentionné dans le compte rendu car il n'explique pas les anomalies observées chez votre fœtus.
- 2) Le CNV **est pathogène ou causal** ce qui signifie qu'il est responsable des anomalies observées chez votre fœtus. Dans cette situation, il sera nécessaire indispensable d'étudier vos chromosomes et ceux de votre conjoint pour assurer le conseil génétique.
- 3) Le CNV **est de signification incertaine**. Cette situation est rare car la puce à ADN utilisée a été prévue pour limiter au maximum ce cas. Là encore, il sera nécessaire indispensable d'étudier vos chromosomes et ceux de votre conjoint. En effet, un faisceau d'arguments cliniques et biologiques peut permettre au généticien de trancher quant à la signification du CNV. Malgré tout, il existe de rares cas où il est difficile de conclure sur les conséquences associées au CNV trouvé.
- 4) Le CNV est **sans rapport avec les anomalies observées chez votre fœtus**. Dans ce cas, les conséquences possibles vous seront expliquées lors d'une consultation de conseil génétique ultérieure.

**médecins généticiens sont à votre disposition pour répondre à vos questions.**

Je reconnais avoir pris connaissance de la notice d'information.

Nom :

Date :

Signature

### **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 : la technique dure 5j incompressibles. Le Laboratoire traite les prélèvements de prénatal en priorité mais selon le type, la qualité et les éventuels CNVs retrouvés, le délai d'obtention des résultats définitifs **peut atteindre plusieurs semaines**.

### **En conclusion**

L'ACPA va peut-être permettre de connaître l'origine des anomalies identifiées chez votre fœtus.

En cas de découverte d'une anomalie, il est souvent indispensable d'effectuer des vérifications complémentaires nécessitant un prélèvement sanguin de vous et de votre conjoint. **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 le CNV et les signes présentés par votre fœtus. Si vous avez des interrogations sur cette analyse, les**