

DÉTECTION DES ANEUPLOÏDIES DES CHROMOSOMES 13, 18, 21, X ET Y PAR QF-PCR (RÉFÉRENCE – 2013.03.004)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 Demandeur :** Hôpital de Montréal pour enfants (HME-CUSM)
- 1.2 Date de transmission de la demande d'examen au MSSS :** 24 septembre 2013
- 1.3 Date de réception de la demande à l'INESSS :** 1^{er} novembre 2013
- 1.4 Date de transmission de l'avis au ministre :** 28 février 2014

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information scientifique et commerciale déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

2 TECHNOLOGIE, SOCIÉTÉ ET LICENCES

2.1 Nom de la technologie

Amplification en chaîne par polymérase fluorescente quantitative (*Quantitative Fluorescence Polymerase Chain Reaction*) (QF-PCR).

2.2 Description brève de la technologie et précisions techniques et cliniques

La PCR est une technique de génétique moléculaire bien établie qui amplifie, de façon sélective, certaines régions d'ADN génomique en fonction de la liaison d'amorces qui sont propres aux régions en question. La QF-PCR amplifie un segment spécifique du chromosome d'intérêt (13, 18, 21, X et Y) d'un échantillon d'ADN extrait à partir du liquide amniotique obtenu par amniocentèse, des villosités choriales ou d'autres échantillons tissulaires ou sanguins de nouveau-nés ou des adultes. Les amorces marquées par fluorescence se lient à chacune des séquences ciblées et permettent à l'ADN polymérase de répliquer le fragment (brin), synthétisant ainsi un ADN à fragment double. Les produits sont soumis à un système d'électrophorèse capillaire et séparés en fonction de leur taille, de façon que chaque pic soit

le produit de l'amplification d'une sonde distincte. La mesure de l'intensité des signaux fluorescents est détectée à l'aide d'un système informatique pour déterminer le nombre de copies de chaque séquence ciblée et, par conséquent, de chaque chromosome [Sparkes *et al.*, 2008]. Les résultats de cette technique sont qualitatifs (changement structural du chromosome) et quantitatifs (nombre de chromosomes).

2.3 Société ou développeur

Le demandeur utilise la trousse Aneufast™ développée par Molgentix SL (Espagne), coentreprise de la compagnie Genomed, pour la détection des aneuploïdies des chromosomes 13, 18, 21, X et Y.

2.4 Licence : ne s'applique pas.

2.5 Brevet, le cas échéant

La trousse Aneufast™ est brevetée aux États-Unis (numéros de brevet 6,008,379; 6,020,481; 6,221,604; et 6,303,775 selon le manuel de l'utilisateur révisé en août 2011).

2.6 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

La trousse Aneufast™ n'est pas homologuée par Santé Canada. Toutefois, selon le requérant, elle est utilisée par plusieurs laboratoires au Canada (Children Hospital of Eastern Ontario [CHEO] à Ottawa, North York General Hospital et Mont Sinai Hospital à Toronto ainsi qu'à London, Halifax et St. John's).

2.7 Valeur pondérée : 178

3 INDICATIONS CLINIQUES, MILIEU DE PRATIQUE ET MODALITÉS D'ADMINISTRATION

3.1 Patients ciblés

Le test cible les fœtus des femmes enceintes qui présentent un risque élevé d'anomalies chromosomiques, soit en raison du résultat de dépistage prénatal, de leur âge ou de leurs antécédents familiaux [Langlois *et al.*, 2011; Dickinson *et al.*, 2009; Conrad *et al.*, 2005]. Le test est aussi utilisé pour le diagnostic postnatal des aneuploïdies chromosomiques [Saadi *et al.*, 2010].

3.2 Description des maladies visées

Selon l'information disponible dans Orphanet¹, la trisomie 13 ou syndrome de Patau (1/10 000 grossesses au Québec) est généralement soupçonnée en cours de grossesse en présence d'anomalies échographiques, et on estime que 95 % des fœtus atteints décèdent avant la naissance. La moitié des enfants nés vivants meurent durant le premier mois et 90 % durant la première année en raison de complications cardiaques, rénales ou neurologiques. Ceux qui survivent jusqu'à l'âge adulte sont généralement atteints d'une trisomie partielle, d'un mosaïcisme ou ils n'ont pas de malformations cérébrales majeures.

La trisomie 18 (1/4000 grossesses au Québec) peut aussi être détectée en cours de grossesse par des signes échographiques ou par des résultats anormaux des marqueurs

1. Verloes A. Trisomie 13 [site Web]. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=3378.0 (consulté le 20 décembre 2013).

sériques utilisés pour le dépistage de la trisomie 21². Il s'agit également d'une maladie grave, et 95 % des fœtus atteints meurent avant la naissance. Comme c'est le cas pour la trisomie 13, la majorité des enfants atteints décèdent avant l'âge de 1 an et les rares cas qui survivent plus longtemps présentent une trisomie partielle ou un mosaïcisme.

Le Programme québécois de dépistage prénatal de la trisomie 21 (PQDPT21) permet la détection des grossesses à risque élevé à l'aide des marqueurs sériques et échographiques. Lorsqu'un risque élevé est décelé, une amniocentèse est offerte dans le but de confirmer le diagnostic à l'aide d'un caryotype fœtal. La trisomie 21 est une aneuploïdie fréquente (1/700 naissances au Québec) et le risque augmente surtout avec l'âge maternel, mais aussi selon l'histoire familiale. Les enfants atteints ont des traits physiques particuliers, un retard de développement et un déficit intellectuel à des degrés variables ainsi que des malformations diverses³.

Le syndrome de Klinefelter chez les hommes regroupe un ensemble d'anomalies chromosomiques caractérisé par la présence d'un ou de plusieurs chromosomes X supplémentaires dans le caryotype masculin (46,XY) (p. ex. 47,XXY; 48,XXXY, etc.). Dans le cas où le diagnostic n'a pas été confirmé pendant la période prénatale par un test cytogénétique, les enfants sont orientés vers un test cytogénétique postnatal en présence de signes cliniques comme un retard de développement, l'hypospadias, le micropénis ou la cryptorchidie. Les signes cliniques varient selon l'âge de l'enfant et, chez les adultes, le syndrome est généralement diagnostiqué en raison d'un problème de stérilité ou d'un cancer du sein. L'importance de l'effet sur le phénotype physique et cognitif est directement proportionnelle au nombre de chromosomes X supplémentaires⁴.

La trisomie X (XXX) est une anomalie due à la présence d'un chromosome X supplémentaire dans le caryotype féminin (46,XX). Il s'agit de l'anomalie chromosomique féminine la plus fréquente. Dans 30 % des cas, l'âge maternel est avancé. Si la trisomie X n'est pas diagnostiquée durant la période prénatale, le diagnostic postnatal est guidé par les signes cliniques comme le retard du développement, l'hypotonie, les troubles d'apprentissage, les troubles comportementaux ou l'insuffisance ovarienne primaire⁵.

Le syndrome de Turner est souvent détecté par échographie durant la grossesse, alors que les formes sans malformations associées sont découvertes à l'occasion d'un caryotype, souvent fait dans le cas d'un âge maternel avancé. Il est caractérisé par l'absence d'un chromosome X (45,X). Toutefois, dans plus de la moitié des cas, il s'agit d'une mosaïque (45,X/46,XX) ou d'une anomalie de l'X. La maladie peut se manifester par une insuffisance ovarienne ou des anomalies osseuses, un lymphœdème, la surdité ou des anomalies cardiovasculaires, thyroïdiennes et digestives⁶.

2. Verloes A. Trisomie 18 [site Web]. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=3380.0 (consulté le 20 décembre 2013).

3. Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). Trisomie 21 [site Web]. Disponible à :

<http://www.msss.gouv.qc.ca/sujets/santepub/depistage-prenatal/professionnels/index.php?Trisomie-21> (consulté le 20 décembre 2013).

4. Graham JM et Visootsak J. Syndrome de Klinefelter [site Web]. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=484 (consulté le 7 janvier 2014).

5. Howell S, Sutherland A, Tartaglia N, Wilson CJ, Wilson L, Wilson R. Trisomie X [site Web]. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/www/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=3375 (consulté le 7 janvier 2014).

6. Cabrol S. Syndrome de Turner [site Web]. Disponible à : http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=881 (consulté le 7 janvier 2014).

3.3 Nombre de patients visés

Selon les prévisions du demandeur, le nombre de tests peut varier selon la modalité d'utilisation :

- environ 300 échantillons par année provenant uniquement du RUIS McGill si l'analyse est pratiquée en cas de grossesse à risque très élevé d'aneuploïdie;
- entre 800 et 900 cas par année pour le RUIS de McGill seulement (3000 et 3500 par année pour toute la province) si cette analyse est pratiquée comme test diagnostique chez les femmes enceintes subissant une amniocentèse aux fins de détection de l'aneuploïdie, avant le caryotype.

3.4 Spécialités médicales et autres professionnels concernés

Tous les professionnels de la santé travaillant en obstétrique (omnipraticiens en périnatalogie, obstétriciens-gynécologues, sages-femmes, infirmières en périnatalogie), la génétique médicale, la génétique moléculaire, le conseil génétique.

3.5 Modalités d'administration du test

L'analyse est réalisée à partir de l'ADN fœtal extrait des cellules fœtales du liquide amniotique obtenu par amniocentèse ou d'un spécimen obtenu par biopsie chorale. Ces deux techniques sont pratiquées de façon stérile sous guidage échographique⁷.

Un échantillon des cellules buccales maternelles doit également être obtenu et analysé dans certains cas.

En postnatal, l'échantillon provient du sang ou des tissus des nouveau-nés ou des adultes.

4 CONTEXTE TECHNOLOGIQUE

4.1 Nature de la technologie diagnostique : substitutive ou complémentaire.

4.2 Brève description de la situation technologique actuelle

Au Québec, le PQDPT21 offre à toutes les femmes enceintes qui le souhaitent le dépistage prénatal par test biochimique intégré, avec ou sans échographie de la clarté nucale (selon la disponibilité). Lorsque le risque d'aneuploïdie est élevé en raison des résultats du dépistage, de l'âge de la femme enceinte ou de l'histoire familiale, l'amniocentèse pour le caryotype fœtal est offerte afin de confirmer le diagnostic. La sensibilité et la spécificité sont de près de 100 % pour ce test; les rares erreurs qui peuvent survenir sont attribuables à la qualité de l'échantillon.

Le caryotype est également indiqué dans le cas du diagnostic postnatal de ces anomalies, ou en prénatal lorsqu'on soupçonne un risque d'autres anomalies chromosomiques non détectables par le PQDPT21.

Des tests rapides sont disponibles afin d'obtenir un diagnostic dans un délai plus court que celui du caryotype (2-3 semaines). Ces tests sont la QF-PCR, l'hybridation *in situ* fluorescente (FISH pour *Fluorescence in situ hybridisation*) et l'amplification multiplex de sonde nucléique dépendant des ligatures (MLPA pour *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*).

7. Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). Test diagnostique [site Web]. Disponible à : <http://www.msss.gouv.qc.ca/sujets/santepub/depistage-prenatal/professionnels/index.php?Test-diagnostique> (consulté le 20 décembre 2013).

La FISH et la QF-PCR auraient une performance diagnostique équivalente à celle du caryotype (étalon-or). Par contre, contrairement au caryotype, elles peuvent détecter seulement quelques aneuploïdies et ne sont pas recommandées pour les femmes qui présentent des facteurs de risque comme des anomalies structurales à l'échographie ou des antécédents familiaux d'autres anomalies chromosomiques. La QF-PCR est moins coûteuse que la FISH, et à la différence de cette dernière, elle peut être automatisée [Sparkes *et al.*, 2008].

4.3 Brève description des avantages évoqués de la nouvelle technologie

Le délai entre l'exécution de la QF-PCR et le résultat est de 48 à 72 heures comparativement à 2 à 3 semaines pour le caryotype [Langlois *et al.*, 2011]. Ce délai plus court permet de réduire l'anxiété parentale [Langlois *et al.*, 2011; Badenas *et al.*, 2010] et d'offrir aux parents une consultation génétique qui leur permettra de prendre une décision en cas de présence d'une anomalie chromosomique [Dickinson *et al.*, 2009]. La QF-PCR est une technique simple, automatisable et moins coûteuse que le caryotype ou la FISH, et elle permet également le traitement simultané d'un plus grand nombre de prélèvements que la FISH [Langlois, *et al.*, 2011; Baig *et al.*, 2010; Conrad *et al.*, 2005].

4.4 Coût de la technologie et des options

Bien que l'analyse économique n'ait pas été réalisée, une étude coût-efficacité a été publiée par une équipe québécoise comparant différentes stratégies de dépistage de la trisomie 21. Parmi les stratégies de dépistage de la trisomie 21, la stratégie la plus avantageuse sur le plan coût-efficacité était celle avec la QF-PCR (24 084 \$ par cas de trisomie 21 détecté) comparativement à la technique du caryotype (27 898 \$ par cas détecté [Gekas *et al.*, 2011].

5 DONNÉES PROBANTES

5.1 Pertinence clinique

5.1.1 Remplacement d'un autre test

Pour la détection ou le diagnostic des aneuploïdies des chromosomes 13, 18, 21, X et Y, la QF-PCR pourrait remplacer la FISH, et elle pourrait ainsi servir comme test de diagnostic avant le caryotype. En cas de résultat négatif, équivoque, incertain ou en cas d'échec de la technique, le caryotype peut confirmer le diagnostic [Papoulidis *et al.*, 2012; Badenas *et al.*, 2010].

5.1.2 Valeur diagnostique

Ce test comporte de grands avantages en raison de la rapidité avec laquelle le résultat indiquant la présence ou non d'aneuploïdie chromosomique peut être connu, soit en moins de 48 à 72 heures plutôt que les 2 à 3 semaines d'attente avec le caryotype. Le diagnostic rapide diminue la durée de l'anxiété de la mère et permet aussi d'avoir un diagnostic à un âge gestationnel beaucoup moins avancé.

Modifications du traitement en raison des résultats du test

Au Québec, les femmes enceintes ou les couples qui reçoivent un résultat confirmant le diagnostic d'une anomalie chromosomique ont la possibilité de recevoir un conseil génétique afin de se préparer adéquatement à la naissance du bébé ou de considérer

l'interruption de la grossesse⁸. En période postnatale, la prise en charge demandera une concertation multidisciplinaire avec les parents.

5.1.3 Effets indésirables

Les effets indésirables liés à la technique de prélèvement de liquide amniotique (amniocentèse) ou de villosités choriales (dans certaines situations) sont présents. Il s'agit d'une technique effractive qui est associée à un risque de perte fœtale. Ce risque varie selon l'expertise du professionnel ou du centre où le test est effectué, mais il est présent, même dans les meilleurs centres d'expertise (1/200 à 1/400 pour l'amniocentèse du deuxième trimestre et il peut s'élever jusqu'à 5 % avec les prélèvements de villosités choriales au premier trimestre).

En période postnatale ou chez les adultes, les inconvénients liés à la prise de sang ou d'une parcelle de tissu sont minimes.

Cependant, étant donné que la méthode de prélèvement de l'échantillon est la même pour le caryotype ou la FISH, le risque est identique pour les trois analyses.

Un résultat faux négatif du test peut causer une fausse réassurance des parents et la naissance inattendue d'un bébé atteint d'une anomalie chromosomique. Par ailleurs, la conséquence d'un résultat faux positif peut mener à l'interruption de la grossesse lorsqu'un fœtus n'est pas atteint [Baig *et al.*, 2010; Nicolini *et al.*, 2004].

5.2 Validité clinique

TERME	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Sensibilité	x		
Spécificité	x		
Valeur prédictive positive (VPP)	x		
Valeur prédictive négative (VPN)	x		
Rapport de vraisemblance (LR)		x	
Courbe ROC		x	
Exactitude	x		

Le tableau 1 présente la validité clinique de la QF-PCR. De façon générale, la sensibilité est excellente (> 90 %), sauf dans une étude qui rapporte 75,3 % [Papoulidis *et al.*, 2012]. La spécificité s'approche de 100 % [Moftah *et al.*, 2013; Papoulidis *et al.*, 2012; Cirigliano *et al.*, 2009; Kagan *et al.*, 2007]. L'exactitude aussi s'approche de 100 % dans les mêmes études. Les valeurs prédictives positives (VPP) et négatives (VPN) affichent aussi d'excellents résultats en général dans ces mêmes études (VPP de 91 % à 100 % et VPN de 86 % à 99,7 %), à l'exception de l'étude de Papoulidis et ses collègues [2012] qui mentionne une VPP à 75,3 % et une VPN à 99 % (tableau 1).

L'étude ontarienne de Speevak et ses collaborateurs [2011] présente les résultats de la QF-PCR sur 4176 échantillons de liquide amniotique obtenus sur une période d'une année. Le caryotype était la méthode de référence. La QF-PCR a détecté 98,5 % des anomalies qui

8. Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). Test diagnostique [site Web]. Disponible à : <http://www.msss.gouv.qc.ca/sujets/santepub/depistage-prenatal/index.php?test-diagnostique> (consulté le 22 janvier 2014).

ont des conséquences cliniques significatives et 94,6 % de l'ensemble des anomalies détectées par le caryotype. Ce taux de détection était similaire à celui indiqué dans d'autres études [Cirigliano *et al.*, 2009; Baig *et al.*, 2010].

Birch et ses collègues [2013] ont publié une affiche sur les résultats de validation clinique de la QF-PCR au Centre universitaire de santé McGill (CUSM). Au total, 142 spécimens de liquide amniotique ont été analysés par QF-PCR et par caryotype. La sensibilité, la spécificité et la valeur prédictive positive sont de 100 %. La valeur prédictive négative est de 98,5 %.

Le guide de pratique clinique de la Société d'obstétriciens-gynécologues du Canada et du Collège canadien de généticiens médicaux (SOGC-CCGM) [Langlois *et al.*, 2011] appuie ses recommandations sur une revue de littérature portant sur la performance de la QF-PCR. Les auteurs indiquent que la QF-PCR a obtenu des résultats concluants dans 98,7 % des prélèvements analysés sans aucun résultat faux positif ou faux négatif de triploïdies ou de trisomie 13, 18 ou 21 non mosaïques. En ce qui concerne le diagnostic des chromosomes sexuels, bien qu'aucun diagnostic faux positif n'ait été établi, certaines études ont signalé des résultats faux négatifs; ces résultats seraient moins probables à l'heure actuelle en raison de la mise en œuvre de marqueurs polymorphes additionnels [Langlois *et al.*, 2011].

La QF-PCR ne détecte pas les anomalies causées par la translocation, l'effacement, l'inversion, les marqueurs surnuméraires et les anomalies rares autres que les trisomies 21, 18 et 13 de même que les anomalies X et Y [Speevak *et al.*, 2011; Leung *et al.*, 2008; Speevak *et al.*, 2008; Kagan *et al.*, 2007; Kozlowski *et al.*, 2006; Caine *et al.*, 2005; Ogilvie *et al.*, 2005].

La QF-PCR peut identifier de 20 à 30 % des cas de mosaïcisme, ce qui est comparable au caryotype et à la FISH [Baig *et al.*, 2010, Cirigliano *et al.*, 2009].

Avec la QF-PCR, aucun faux positif n'a été trouvé [Langlois *et al.*, 2011; Badenas *et al.*, 2010; Baig *et al.*, 2010; Cirigliano *et al.*, 2009; Nicolini *et al.*, 2004]. En ce qui concerne les faux négatifs, ils étaient plus fréquents avant 2001 alors que l'emploi de la technique était à ses débuts. Ainsi, Nicolini et ses collaborateurs [2004], dans une revue de 13 études totalisant 22 504 échantillons, rapportent une fréquence de 9,5 % pour les chromosomes sexuels et de 0,5 %, 0,9 % et 0 % pour les trisomies autosomiques 21, 18 et 13, respectivement. Dans la revue plus récente de Langlois et ses collègues [2011], sur 11 études totalisant 79 556 échantillons, il n'y a eu aucun faux négatif – à l'exception de deux faux négatifs dans une étude n'ayant analysé que deux marqueurs par chromosome [Kozlowski *et al.*, 2006].

Le risque de manquer des diagnostics cliniquement importants varie entre 0,06 et 0,7 % selon les résultats de 6 études [Langlois *et al.*, 2011; Speevak *et al.*, 2011; Badenas *et al.*, 2010; Comas *et al.*, 2010; Hills *et al.*, 2010; Ogilvie *et al.*, 2005].

Tableau 1 Validité clinique de la QF-PCR comparativement à l'analyse cytogénétique

ÉTUDE	CARACTÉRISTIQUES	VALIDITÉ CLINIQUE				
		SE % (n/N)	SP % (n/N)	VPP %	VPN %	EXACTITUDE %
Moftah <i>et al.</i> , 2013 Allemagne	163 échantillons : 115 aneuploïdies 13, 18 et 21 5 remaniements non balancés sur les chromosomes 18 et 21 43 témoins avec caryotype normal Chromosomes 13, 18 et 21	94,2 (113/120)	100 (43/43)	100	86	96
Papoulidis <i>et al.</i> , 2012 Grèce	13 500 échantillons entre 2006 et 2010, dans deux centres Chromosomes 13, 18, 21, X et Y	75,3 (214/284)	99,5 (13180/13250)	75,3	99,5	99
Cirigliano <i>et al.</i> , 2009 Espagne et Italie	43 000 échantillons consécutifs entre 1999 et 2008, dans 2 centres 37 544 LA, 4687 BC; 178 de sang fœtal; 591 de tissu fœtal après avortement Chromosomes 13, 18, 21, X et Y	92,3 (1608/1741)	99,6 (41019/41178)	91	99,7	99,3
Speevak <i>et al.</i> , 2011 Canada	4176 échantillons de LA pendant une année Chromosomes 13, 18, 21, X et Y	94,6 331/350	n.d.	100	n.d.	n.d.
Badenas <i>et al.</i> , 2010 Espagne	7679 échantillons entre 2004 et 2008 de 3 hôpitaux 1243 BC 6436 LA Chromosomes 13, 18, 21, X et Y	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	98,75
Baig <i>et al.</i> , 2010 Singapour	1000 échantillons dans un seul centre 978 LA /14 BC/ 8 de sang fœtal Chromosomes 13, 18, 21, X et Y	100 63/63	100	n.d.	n.d.	n.d.
Kagan <i>et al.</i> , 2007 R.-U.	3854 échantillons entre 1998 et 2005 185 trisomies 13, 18 et 21; 4 mosaïcismes; 14 anomalies liées au XY; 17 triploïdies; 17 autres Chromosomes 13, 18, 21, X et Y	92,4 219/237	100 3617/3617	100	99,5	99,5

Abréviations : BC : biopsie chorale; LA : liquide amniotique; n.d. : non disponible; R.-U. : Royaume-Uni; SE : sensibilité; SP : spécificité; VPP : valeur prédictive positive; VPN : valeur prédictive négative.

5.3 Validité analytique (ou technique)

TERME	PRÉSENCE	ABSENCE	SANS OBJET
Répétabilité			x
Reproductibilité			x
Sensibilité analytique			x
Spécificité analytique			x
Effet de matrice			x
Concordance	x		
Corrélation entre test et comparateur	x		
Autres selon le type de test	x		

La recherche documentaire n'a pas repéré d'études sur la validation technique classique de la QF-PCR utilisée dans le diagnostic d'aneuploïdies. Par contre, 6 études présentent des résultats sur l'échec de la technique [Mann *et al.*, 2012; Langlois *et al.*, 2011; Speevak *et al.*, 2011; Baig *et al.*, 2010; Hills *et al.*, 2010; Cirigliano *et al.*, 2009] et rapportent des taux variant entre 0,04 et 5 % pour les échantillons de liquide amniotique. Deux études [Mann *et al.*, 2012; Hills *et al.*, 2010] présentent les taux d'échec de 0,25 et 0,02 % pour les échantillons de biopsie chorale.

Le taux d'échec dans l'étude de validation faite au CUSM était de 0,7 % avant l'implantation et de 0 % après l'implantation de la technique. Le taux de contamination de l'échantillon par des cellules maternelles était de 0,7 % avant l'implantation et de 4,6 % après [Birch *et al.*, 2013].

La concordance de la détection des aneuploïdies 21, 18, 13 et sexuelles entre la QF-PCR et la méthode de référence (caryotype) a été extensivement rapportée. Dans un premier temps, la concordance entre les deux techniques peut être évaluée pour tout l'effectif des échantillons (cas d'euploïdie et d'aneuploïdie). En raison du faible taux d'aneuploïdie et de la spécificité clinique à près de 100 %, la concordance globale (c.-à-d. l'exactitude clinique : vrais positifs et vrais négatifs sur tout l'effectif, tableau 1) sera près de 100 % (entre 97,7 % et 100 %) [Papoulidis *et al.*, 2012; Langlois *et al.*, 2011; Speevak *et al.*, 2011; Badenas *et al.*, 2010; Baig *et al.*, 2010; Lau *et al.*, 2009; Kagan *et al.*, 2007].

Lorsque la proportion d'aneuploïdies détectée par QF-PCR est comparée à celle diagnostiquée par la méthode traditionnelle du caryotype, la concordance est de près de 90 %, surtout si on considère les anomalies chromosomiques ciblées et cliniquement significatives, mais en tenant compte des limites de la technique. Pour Kagan et ses collègues [2007], la concordance est à 100 % pour les aneuploïdies 21, 18, 13 et sexuelles, mais de 92,4 % lorsque les mosaïques manquées sont incluses. Lau et ses collaborateurs [2009] rapportent une concordance de 88,9 % avec les villosités chorales où la fréquence de mosaïcisme est bien connue. La concordance est de 88,0 % dans l'étude de Badenas et ses collaborateurs [2010]. L'équipe ontarienne [Speevak *et al.*, 2011] rapporte une concordance de 94,6 % pour toutes les anomalies et de 98,5 % pour les anomalies chromosomiques cliniquement significatives qui auraient été détectées par le caryotype. Avec la stratégie proposée et si le caryotype est offert en présence des signes d'appel à

l'échographie, alors le taux de concordance serait à 99,2 % et il pourrait atteindre 99,94 % si le risque d'anomalie est < 4 % [Speevak *et al.*, 2011].

La performance de la trousse Aneufast a été comparée à celle d'une autre trousse, la QST-RV2 [Scott *et al.*, 2012]. Les deux trousse ont une performance similaire avec une sensibilité (97,1 %) et une spécificité (100 %) identiques lorsque comparées au caryotype. Il y aurait moins de nécessité de répétitions (*second round of reflex testing*), soit 9,7 % vs 14,1 % avec la QST-RV2, bien que cette trousse performe moins bien qu'Aneufast pour la détection de la trisomie 13.

Il y a peu d'études sur le contrôle de la qualité. En 2012, Susan Hamilton et ses collègues de la NHS Foundation, en Angleterre, rapportent les résultats discordants entre la QF-PCR et le caryotype obtenus lors de deux audits faits dans 11 grands laboratoires du Royaume-Uni (5 ont participé au premier audit et 11 au deuxième) et suggèrent de simples modifications techniques pour améliorer la performance de la QF-PCR [Hamilton et Waters, 2012]. En janvier 2012, l'Association de cytogénétique clinique présente ses lignes directrices des meilleures pratiques de laboratoire pour le diagnostic des aneuploïdies avec la QF-PCR [Association for Clinical Cytogenetics, 2012].

5.4 Recommandations d'autres organismes

Dans la recommandation de 2011-2014 pour le dépistage prénatal du syndrome de Down, le National Health Service (NHS), au Royaume-Uni, recommande la QF-PCR en tant que test diagnostique pour la confirmation des anomalies fœtales dans son modèle de meilleure pratique [NHS England, 2013].

L'utilisation de la QF-PCR dans le cadre du dépistage systématique des aneuploïdies a été établie en Suède en 2005 [Badenas *et al.*, 2010] et au Royaume-Uni au début des années 2000 [Mann *et al.*, 2012]. Déjà, en 2008, la Société des obstétriciens gynécologues du Canada (SOGC) proposait cette technique [Sparkes *et al.*, 2008], et le recours systématique à ce test devenait une recommandation ferme en 2011 [Langlois *et al.*, 2011]), associée à un conseil génétique prénatal approprié.

6 RÉPERCUSSIONS DE L'INTRODUCTION DE L'ANALYSE

6.1 Effet sur les ressources matérielles et humaines

Ogilvie et ses collaborateurs [2005] rapportent les résultats d'un rapport d'évaluation des technologies publié en 2003 au Royaume-Uni, selon lequel 4 personnes (professionnels et techniciens) sont nécessaires pour réaliser 12 000 analyses par QF-PCR, en comparaison avec 30 personnes pour le même nombre de caryotypes.

Aucune analyse n'a été faite dans le contexte québécois pour la préparation du présent avis.

6.2 Conséquences économiques de l'introduction de l'analyse dans le système de santé et de services sociaux québécois

Ces calculs reposent sur les chiffres fournis par le requérant :

- diagnostic pour les cas à risque très élevé : 53 400 \$ (300 tests x 178 \$ par test) par année;
- diagnostic pour les cas à risque élevé pour le RUIS de McGill seulement : entre 142 400 \$ et 160 200 \$ par année (entre 800 et 900 tests x 178 \$ par test);

- diagnostic pour les cas à risque élevé pour la province : entre 534 000 \$ et 623 000 \$ par année (178 \$ par test x entre 3000 et 3500 cas);
- d'autres cas s'ajouteraient si le test devait être utilisé pour le diagnostic postnatal.

6.3 Principaux enjeux organisationnels, éthiques ou autres (social, juridique, politique)

Dans le cas du diagnostic prénatal, le facteur temps est très important pour permettre aux femmes enceintes de bénéficier d'une consultation génétique adéquate afin de les rassurer ou de les aider dans la prise de décision difficile concernant la suite de leur grossesse. Le recours à un test rapide et efficace est essentiel [Langlois *et al.*, 2011; Dickinson *et al.*, 2009; Conrad *et al.*, 2005].

La surcharge de travail ainsi que le nombre de personnes nécessaires à l'exécution du test dans les laboratoires de génétique est un autre facteur à considérer. Selon la littérature, la QF-PCR exige moins de temps et de personnel que le caryotype [Sparkes *et al.*, 2008; Conrad *et al.*, 2005; Oglivie *et al.*, 2005b].

Si la QF-PCR est offerte en première ligne aux femmes enceintes ayant reçu un résultat indiquant un risque élevé (échographie anormale, résultats anormaux de dépistage prénatal, âge maternel avancé ou histoire familiale d'anomalie chromosomique), en cas de résultats positifs, le caryotype est exécuté pour la confirmation du diagnostic. Une estimation de la fréquence du caryotype sera entre 13 % [Speevak *et al.*, 2011], 16 % [Kagan *et al.*, 2007] et 22 % [Badenas *et al.*, 2010] avec un taux de détection des anomalies chromosomiques entre 99,92 %, 98 % et 99,95 % respectivement.

Le dépistage prénatal, surtout celui de la trisomie 21, a suscité de nombreux débats dans la communauté, et il implique ultimement la femme enceinte et son conjoint. L'information génétique prénatale se doit d'être complète et impartiale tout en étant compréhensible. Le choix de se soumettre au dépistage systématique offert doit être éclairé et libre. La SOGC [Langlois *et al.*, 2011] insiste sur l'importance du conseil génétique, en particulier avec cette technique, y inclus la formation des conseillers au début de la mise en place systématique de la QF-PCR concernant les avantages et les limites du test. Autant le counseling que le dépistage se doivent d'être accessibles et effectués à la période appropriée de la grossesse. Lorsqu'un diagnostic d'anomalie chromosomique est posé, une équipe spécialisée (et parfois multidisciplinaire) devrait être disponible afin de permettre à la mère ou au couple de faire un choix libre et éclairé quant à la poursuite de la grossesse. En postnatal, lorsque le test est fait après la naissance, l'approche sera souvent multidisciplinaire tout en respectant l'autonomie et les valeurs des parents.

7 EN BREF

7.1 Pertinence clinique

La QF-PCR est une technique génétique moléculaire bien établie, rapide, robuste, précise et peu coûteuse pour détecter les aneuploïdies les plus fréquentes en cours de grossesse. Parmi les avantages, il y a surtout l'obtention d'un résultat dans les 24 à 48 heures au lieu des 2 à 3 semaines d'attente avec le caryotype. Cela réduit considérablement l'anxiété des parents et leur permet de prendre une décision, le cas échéant, à un moment beaucoup moins avancé de la grossesse. Cependant, ce test nécessite une intervention effractive, l'amniocentèse ou la biopsie des villosités chorionales, qui est associée à un risque de complications qui peut même aller jusqu'à la perte fœtale (1/200-1/400 pour

l'amniocentèse au deuxième trimestre et jusqu'à 3 à 5 % avec la biopsie des villosités choriales au premier trimestre).

7.2 Validité clinique

Ce test présente une sensibilité > 90 %, une spécificité à 100 % avec une exactitude à près de 100 %. Il n'y a pratiquement pas de faux positifs ni négatifs. Ce test ne peut détecter que de 20 à 30 % des mosaïcismes, comme la FISH. Le risque de manquer un diagnostic cliniquement important varie entre 0,06 % et 0,7 % selon les études.

7.3 Validité analytique

Le taux d'échec de la technique est de 0,25 % à 0,02 % selon les études, attribuable surtout à la contamination de l'échantillon par des cellules maternelles. La concordance globale avec le test de référence est de près de 100 %; lorsque les cas pathologiques établis par QF-PCR sont comparés au caryotype, la concordance se situe à plus de 90 %, mais elle se trouve à 98 et 99 % pour les anomalies chromosomiques cliniquement significatives. Le contrôle de la qualité a été mis en œuvre au Royaume-Uni [Hamilton *et al.*, 2012] et par l'Association for Clinical Cytogenetics et la Clinical Molecular Genetics Society [2012], mais peu d'études sont disponibles sur le sujet.

7.4 Recommandations d'autres organismes

Cette technique est utilisée pour le dépistage des aneuploïdies 21, 18, 13 et sexuelles depuis le début des années 2000 au Royaume-Uni, depuis 2005 en Suède et dans d'autres pays d'Europe. Elle a été suggérée en 2008 par la SOGC qui la recommande depuis 2011.

8 AVIS EN BREF DE L'INESSS

Détection des aneuploïdies des chromosomes 13, 18, 21, X et Y par QF-PCR

Le statut de la technologie diagnostique

- ☒ Établie
- ☐ Innovatrice
- ☐ Expérimentale (pour la recherche uniquement)
- ☐ Remplacement de la technologie _____ qui devient obsolète

La recommandation de l'INESSS

- ☒ Avis de recommandation d'introduction
- ☐ Avis de refus d'introduction
- ☐ Avis de réévaluation

Recommandation additionnelle

- ☐ Lien à faire avec l'inscription de médicaments, si test compagnon
- ☐ Décision de production d'un guide d'usage optimal
- ☐ Production d'indicateurs dans le cas d'un besoin de vigilance

NOTE

Analyse très bien établie avec des bénéfices importants escomptés.

NOTE au MSSS

S'assurer de la réduction du nombre des analyses de caryotype de même que du nombre d'heures consacrées à cette technique dans les laboratoires de cytogénétique.

RÉFÉRENCES

- Association for Clinical Cytogenetics and Clinical Molecular Genetics Society. QF-PCR for the diagnosis of aneuploidy – Best practice guidelines (2012) v3.01. Liverpool, Royaume-Uni : Association for Clinical Cytogenetics (ACC); 2012. Disponible à : http://www.cytogenetics.org.uk/prof_standards/acc.cmgs_qfpcr_bp_jan2012_3.01.pdf.
- Badenas C, Rodriguez-Revenga L, Morales C, Mediano C, Plaja A, Perez-Iribarne MM, et al. Assessment of QF-PCR as the first approach in prenatal diagnosis. *J Mol Diagn* 2010;12(6):828-34.
- Baig S, Ho SS, Ng BL, Chiu L, Koay ES, Leow GH, et al. Development of quantitative-fluorescence polymerase chain reaction for the rapid prenatal diagnosis of common chromosomal aneuploidies in 1,000 samples in Singapore. *Singapore Med J* 2010;51(4):343-8.
- Birch A, De Bie I, Agatep R, Ruchon A. Clinical validation and implementation of QF-PCR for detection of chromosomal aneuploidies at the McGill RUIS. Affiche présentée à la réunion annuelle de l'Association des médecins généticiens du Québec, Sherbrooke, Qc, 31 mai 2013.
- Caine A, Maltby AE, Parkin CA, Waters JJ, Crolla JA. Prenatal detection of Down's syndrome by rapid aneuploidy testing for chromosomes 13, 18, and 21 by FISH or PCR without a full karyotype: A cytogenetic risk assessment. *Lancet* 2005;366(9480):123-8.
- Cirigliano V, Voglino G, Ordonez E, Marongiu A, Paz Canadas M, Ejarque M, et al. Rapid prenatal diagnosis of common chromosome aneuploidies by QF-PCR, results of 9 years of clinical experience. *Prenat Diagn* 2009;29(1):40-9.
- Comas C, Echevarria M, Carrera M, Serra B. Rapid aneuploidy testing versus traditional karyotyping in amniocentesis for certain referral indications. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2010;23(9):949-55.
- Conrad B, Bena F, Dahoun-Hadorn S. Le diagnostic prénatal rapide des anomalies chromosomiques : du FISH à la QF-PCR. *Rev Med Suisse* 2005;1(11):785-8.
- Dickinson JE, Harcourt E, Murch A. The selective use of rapid aneuploidy screening in prenatal diagnosis. *Au N Zeal J Obstet Gynaecol* 2009;49(1):28-33.
- Gekas J, van den Berg DG, Durand A, Vallée M, Wildschut HI, Bujold E, et al. Rapid testing versus karyotyping in Down's syndrome screening: Cost-effectiveness and detection of clinically significant chromosome abnormalities. *Eur J Hum Genet* 2011;19(1):3-9.
- Hamilton SJ et Waters JJ. Completely discrepant results between prenatal QF-PCR rapid aneuploidy testing and cultured cell karyotyping obtained from CVS: Lessons from UK audit and re-audit of 22,221 cases. *Prenat Diagn* 2012;32(9):909-11.
- Hills A, Donaghue C, Waters J, Waters K, Sullivan C, Kulkarni A, et al. QF-PCR as a stand-alone test for prenatal samples: The first 2 years' experience in the London region. *Prenat Diagn* 2010;30(6):509-17.

- Kagan KO, Chitty LS, Cicero S, Eleftheriades M, Nicolaides KH. Ultrasound findings before amniocentesis in selecting the method of analysing the sample. *Prenat Diagn* 2007;27(1):34-9.
- Kozlowski P, Grund I, Hickmann G, Stressig R, Knippel AJ. Quantitative fluorescent polymerase chain reaction versus cytogenetics: risk-related indication and clinical implication of nondetected chromosomal disorders. *Fetal Diagn Ther* 2006;21(2):217-23.
- Langlois S, Duncan A. Use of a DNA method, QF-PCR, in the prenatal diagnosis of fetal aneuploidies. *J Obstet Gynaecol Can* 2011;33(9):955-60.
- Lau ET, Tang L, Wong C, Yung Hang L, Ghosh A, Leung WC, et al. Assessing discrepant findings between QF-PCR on uncultured prenatal samples and karyotyping on long-term culture. *Prenat Diagn* 2009;29(2):151-5.
- Leung WC, Lau ET, Lau WL, Tang R, Wong SF, Lau TK, et al. Rapid aneuploidy testing (knowing less) versus traditional karyotyping (knowing more) for advanced maternal age: What would be missed, who should decide? *Hong Kong Med J* 2008;14(1):6-13.
- Mann K, Hills A, Donaghue C, Thomas H, Ogilvie CM. Quantitative fluorescence PCR analysis of >40,000 prenatal samples for the rapid diagnosis of trisomies 13, 18 and 21 and monosomy X. *Prenat Diagn* 2012;32(12):1197-204.
- Moftah R, Marzouk S, El-Kaffash D, Varon R, Bommer C, Karbasiyan M, Neitzel H. QF-PCR as a molecular-based method for autosomal aneuploidies detection. *Advances in Reproductive Sciences* 2013;1(3):21-8.
- NHS England. NHS Down's Syndrome Screening (Trisomy 21) Programme. Public health functions to be exercised by NHS England. Service specification No.16. NHS England : Londres, Angleterre; 2013. Disponible à : https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/256468/17_nhs_fetal_anomaly.pdf.
- Nicolini U, Lalatta F, Natacci F, Curcio C, Bui TH. The introduction of QF-PCR in prenatal diagnosis of fetal aneuploidies: Time for reconsideration. *Hum Reprod Update* 2004;10(6):541-8.
- Ogilvie CM, Lashwood A, Chitty L, Waters JJ, Scriven PN, Flinter F. The future of prenatal diagnosis: Rapid testing or full karyotype? An audit of chromosome abnormalities and pregnancy outcomes for women referred for Down's Syndrome testing. *Br J Obstet Gynecol* 2005;112(10):1369-75.
- Papoulidis I, Siomou E, Sotiriadis A, Efstathiou G, Psara A, Sevastopoulou E, et al. Dual testing with QF-PCR and karyotype analysis for prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities. Evaluation of 13,500 cases with consideration of using QF-PCR as a stand-alone test according to referral indications. *Prenat Diagn* 2012;32(7):680-5.
- Saadi AV, Kushtagi P, Gopinath PM, Satyamoorthy K. Quantitative fluorescence polymerase chain reaction (QF-PCR) for prenatal diagnosis of chromosomal aneuploidies. *Int J Hum Genet* 2010;10(1-3):121-9.
- Scott P, Podemski L, Baptista Wyatt K, Walker C, Haase SM, Elyas BG, et al. Toward optimal detection of the common prenatal aneuploidies by quantitative fluorescent-polymerase chain reaction: Comparison of two commercial assays. *Genet Test Mol Biomarkers* 2012;16(8):943-7.

- Sparkes R, Johnson JA, Langlois S, Wilson RD, Allen V, Blight C, et al. New molecular techniques for the prenatal detection of chromosomal aneuploidy. *J Obstet Gynaecol Can* 2008;30(7):617-27.
- Speevak MD, McGowan-Jordan J, Chun K. The detection of chromosome anomalies by QF-PCR and residual risks as compared to G-banded analysis. *Prenat Diagn* 2011;31(5):454-8.
- Speevak MD, Dolling J, Terespolsky D, Blumenthal A, Farrell SA. An algorithm for the prenatal detection of chromosome anomalies by QF-PCR and G-banded analysis. *Prenat Diagn* 2008;28(13):1221-6.