

Le Dépistage Prénatal Non Invasif de la Trisomie 21 : le DPNI

Clémence Fabre Belloin

▶ **To cite this version:**

Clémence Fabre Belloin. Le Dépistage Prénatal Non Invasif de la Trisomie 21 : le DPNI. Gynécologie et obstétrique. 2015. dumas-01193165

HAL Id: dumas-01193165

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01193165

Submitted on 15 Sep 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

AVERTISSEMENT

Ce mémoire est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'Etat de sage-femme. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4
Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 335.2-L 335.10

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES

Faculté de Médecine Paris Descartes

ECOLE DE SAGES-FEMMES BAUDELOCQUE

Mémoire pour obtenir le

Diplôme d'Etat de Sage-Femme

Présenté et soutenu publiquement

le : 10 avril 2015

par

Clémence FABRE épouse BELLOIN

Née le 23/03/1990

Le Dépistage Prénatal Non Invasif de la Trisomie 21 : le DPNI

DIRECTEURS DU MEMOIRE :

Dr JACQUEMARD François — Gynécologue Obstétricien Echographiste au Diagnostic Prénatal à l'hôpital américain de Paris

Dr BERNABE-DUPONT Céline — Gynécologue Obstétricien Echographiste au Diagnostic Prénatal à l'hôpital américain de Paris

JURY :

Dr DELOISON Benjamin	Gynécologue Obstétricien
Mme DEPUT-RAMPON Camille	Sage-femme Maternité Port-Royal
Mme CHUILON Anne-Lise	Sage-femme enseignante, à l'école de Baudelocque

N° du mémoire : 2015PA05MA12

© Université Paris Descartes – ESF Baudelocque.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier le Docteur François Jacquemard et le Docteur Céline Bernabé-Dupont pour avoir guidé mon mémoire, pour leur soutien, leur présence et leurs conseils avisés.

Je tiens à remercier Madame Pauline Ernault, pour le temps qu'elle m'a accordé, pour son intérêt et son investissement.

Je tiens à remercier Madame Anne Chantry, Madame Anne-Lise Chuilon pour leur intérêt et leur implication au cours de ce travail de recherche.

Je remercie Madame Nathalie Bil pour sa présence et ses conseils si précieux.

Je remercie Madame Marine Ancona pour son amitié, son soutien depuis le début de ce travail et son intérêt pour mon sujet de mémoire.

Je remercie enfin, tous ceux qui ont pris le temps de s'intéresser à mon étude et de lire mon mémoire.

Je tiens à remercier mes proches, ma famille et en particulier, Louis et Gaspard, pour leurs encouragements, leurs affections et leurs présences.

TABLE DES MATIERES

I. LISTE DES TABLEAUX ET DES ANNEXES 6

II. LEXIQUE 8

III. RESUMES EN FRANÇAIS ET EN ANGLAIS 9

1) Résumé en Français 9
2) Résumé en Anglais 10

IV. INTRODUCTION 11

1) Le dépistage prénatal actuel 11
   - Historique 11
   - Législation 12
   - Dépistage Séquentiel Intégré du Deuxième Trimestre 13
   - Dépistage par les Marqueurs Sériques Maternels du Deuxième Trimestre 13
   - Dépistage Combiné du Premier Trimestre 13
   - Agence de la Biomédecine, Dépistage Combiné du Premier Trimestre et Diagnostic Invasif 14
2) Les méthodes de diagnostic prénatal actuel 17
   - Le caryotype 17
   - La FISH : Hybridation In Situ par Fluorescence 17
3) Le Dépistage Prénatal Non Invasif 19
   - Description du Dépistage Prénatal Non Invasif 19
   - Technique 19
   - Valeurs statistiques 20
   - Pratique du Dépistage Prénatal Non Invasif à L'Hôpital Américain de Paris 20
   - Pratique du Dépistage Prénatal Non Invasif en France 22
   - Pratique clinique 22

V. MATERIEL ET METHODE 24

1) Hypothèses et Objectifs 24
2) Type d'étude-Dispositif de recherche 25
3) Déroulement de l'étude-Outil méthodologique 26
4) Participants 27
5) Flow Chart 28
6) Variables retenues 29
   - Variables étudiées dans la population primaire 30
   - Variables étudiées dans les sous-groupes secondaires 31
7) Stratégies d'analyse 31

VI. RESULTATS DANS LA POPULATION PRIMAIRE PUIS DANS LES SOUS GROUPES SECONDAIRES 32

1) Description générale de la population étudiée 32
   - Répartition de la population primaire en fonction de l'âge en 2012 et 2013 et 2014 32

- DI dans les sous-groupes secondaires....36
- DPNI dans la population primaire....37
- DPNI dans les sous-groupes secondaires....37
- DI et DPNI....38
- T21 dans la population primaire....41
- T21 dans les sous-groupes secondaires....42

2) Principaux résultats....45
- DI et DPNI....45
- Statistiques....46

VII. DISCUSSION....53

1) Résumé des principaux résultats....53
2) Discussion des résultats....55
3) Limites et biais....58
4) Implications et perspectives....59
5) Conclusion....62

VIII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES....63

IX. ANNEXES....68

I. LISTE DES TABLEAUX ET DES ANNEXES

- *Données sur le Dépistage Combiné du Premier Trimestre et Diagnostic Invasif en 2010 de l'Agence de la Biomédecine 15*
- *Performances attendues du test Sequenom pour les chromosomes 21 ; 18 ; 13 ..... 21*
- *Performances attendues du test Sequenom pour les chromosomes sexuels 21*
- *Répartition de la population primaire en fonction du risque du DCT1 en 2012 et 2013 et 2014 ..... 33*
- *DI chez les patientes en 2012 et 2013 et 2014 dans la population primaire 34*
- *Techniques de DI utilisées en 2012, 2013 et 2014 dans la population primaire 35*
- *Techniques de DI (rapport mensuel) utilisées en 2012, 2013 et 2014 dans la population primaire 35*
- *DI chez les patientes en 2012 et 2013 et 2014 dans les sous-groupes secondaires 36*
- *DPNI chez les patientes en 2012, 2013 et 2014 : résultats récapitulatifs dans la population primaire 37*
- *DPNI chez les patientes en 2012, 2013 et 2014 : résultats récapitulatifs dans les sous-groupes secondaires 38*
- *DI et DPNI chez les patientes en fonction du DCT1 en 2012 et 2013 et 2014 : tableau récapitulatif dans la population primaire 38*
- *DI et DPNI chez les patientes en fonction du DCT1 en 2012 et 2013 et 2014 : tableau récapitulatif dans les sous-groupes secondaires 39*
- *DI et DPNI chez les patientes en 2012 et 2013 et 2014 dans les sous-groupes secondaires 39*
- *DI et DPNI (moyenne/mois) chez les patientes en 2012 et 2013 et 2014 dans les sous-groupes secondaires 40*
- *T21 chez les patientes en 2012, 2013 et 2014 : résultats récapitulatifs dans la population primaire 41*
- *Graphique représentant les fœtus en 2012, 2013 et 2014 : sain, atteint, et FPT21 dans la population primaire 42*
- *T21 chez les patientes en 2012, 2013 et 2014 : résultats récapitulatifs dans les sous-groupes secondaires 42*
- *DI et fœtus sains ou atteints de T21 en 2012, 2013 et 2014 dans la population primaire ... 43*
- *DPNI et fœtus supposés sains ou atteints de T21 en 2012, 2013 et 2014 dans la population primaire 43*
- *DI et DPNI chez les patientes en fonction du DCT1 en 2012 et 2013 et 2014 : tableau récapitulatif dans la population primaire 45*
- *DI et DPNI chez les patientes en fonction du DCT1 en 2012, 2013 et 2014 : tableau récapitulatif dans les sous-groupes secondaire 45*
- *Comparaison statistique des tests de dépistage DCT1 et DPNI 46*
- *Tableau statistique du test de dépistage DCT1 quand le Gold standard est le caryotype dans les sous-groupes secondaires en 2012, 2013 et 2014 ..... 47*
- *Tableau statistique du test de dépistage DPNI quand le Gold standard est le caryotype dans les sous-groupes secondaires en 2012, 2013 et 2014 ..... 47*

- *Tableau statistique de comparaison des tests de dépistage DCT1 et DPNI dans les sous-groupes secondaires en 2012, 2013, et 2014 ..... 48*
- *Comparaison statistique du test de dépistage DPNI quand le DCT1 est à risque ou non à risque dans la population primaire en 2012, 2013 et 2014 ..... 49*
- *Statistiques du test de dépistage DCT1 en fonction du seuil sélectionné (HR, MR, BR, TBR) dans la population primaire en 2012, 2013 et 2014 ..... 49*
- *Statistiques du test de dépistage DPNI en fonction du seuil sélectionné (HR, MR, BR, TBR) dans la population primaire en 2012, 2013 et 2014 ..... 50*
- *Annexe 1 : Arrêté du 23 juin 2009 ..... 68*
- *Annexe 2 : Consentement de la patiente à l'AHP 72*

II. LEXIQUE

ABM = Agence de la Biomédecine
ACOG = American College of Obstetrics and Gynecologists
AHP = American Hospital of Paris
AFSSAPS = Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé

βHCG = Hormone Chorionique Gonadotrope
BT = Biopsie de Trophoblaste

CN = Clarté Nucale

DCT1 = Dépistage Combiné du Premier Trimestre
DCT2 = Dépistage Combiné du Second Trimestre
DGS = Direction Générale de la Santé
DI = Diagnostic Invasif
DPNI = Dépistage Prénatal Non Invasif

FN = Faux Négatif
FP = Faux Positif

HAS = Haute Autorité de Santé

LCC = Longueur Cranio Caudale

MSM = Marqueurs Sériques Maternels
MSMT1 = Marqueurs Sériques Maternels du Premier Trimestre
MSMT2 = Marqueurs Sériques Maternels du Second Trimestre

PAPP-A = Pregnancy-associated Plasma Protein A
PLA = Ponction de Liquide Amniotique

T21 = Trisomie 21

SA = Semaine d'Aménorrhée
Se = Sensibilité
Sp = Spécificité

VPN = Valeur Prédictive Négative
VPP = Valeur Prédictive Positive

III. RESUMES EN FRANÇAIS ET EN ANGLAIS

1) Résumé en Français

Etat des lieux Le DPNI, Dépistage Prénatal Non Invasif est une avancée scientifique dans le dépistage prénatal de la Trisomie 21, anomalie chromosomique la plus fréquente. L'analyse de l'ADN fœtal libre circulant dans le sang maternel permettrait de minimiser le recours au geste invasif et le risque de fausse couche (0,5%). Le DPNI a d'excellentes valeurs statistiques théoriques : une sensibilité de 99,1 % et une spécificité de 99,9 %. La sensibilité du Dépistage Combiné du Premier Trimestre est de 85 % et la VPP de 1/30. Si le résultat place une patiente dans un groupe à risque accru (seuil : 1/250), les centres de DPN proposent d'étudier le caryotype fœtal après un prélèvement invasif (Amniocentèse, Biopsie de trophoblaste).

Matériel et Méthode Etude descriptive rétrospective de 8 863 patientes au Centre de Diagnostic Prénatal de l'Hôpital Américain de Paris entre le 1er Janvier 2012 et le 25 Septembre 2014.

Objectif : Décrire la performance du DPNI et évaluer sa place au sein de l'algorithme de dépistage actuel de la Trisomie 21.

Hypothèses : Le DPNI est moins invasif que le dépistage actuel des aneuploïdies fœtales. Il a de meilleures valeurs statistiques que le Dépistage Combiné du Premier Trimestre.

Résultat Depuis l'entrée du DPNI au sein du centre de DPN de l'AHP, le nombre de prélèvements invasifs diminue de façon significative ($p<0,0001$). Les valeurs statistiques du DPNI (Se = 100 % ; Sp = 50 % ; VPP = 85,7 % ; VPN = 100 % ; FP = 3) sont supérieures à celles du dépistage actuel (Se=97,5% ; Sp=18,9% ; VPP=11,7% ; VPN = 98,5% ; FP=592).

Discussion L'entrée du DPNI a des enjeux scientifiques mais aussi économiques et éthiques. Il faut attribuer sa juste place au DPNI. Doit-il rester un test de dépistage de seconde ligne ou peut-il remplacer le dépistage actuel ?

Mots-clés : DPNI, ADN fœtal, Diagnostic invasif, Diagnostic prénatal.

2) Résumé en Anglais

Background NIPT, Non-Invasive Pre-natal Testing, is a technological advance in the detection of fetal chromosomal aneuploidies, the most common of which is Down Syndrome. NIPT analyses cell-free fetal DNA in the blood of a pregnant woman. Its high sensitivity (99.1%) and specificity (99.9%) make that test a performance to the actual screening (Sensitivity = 85%, Specificity = 1/30). Fetal karyotyping is obtained by invasive procedure but nevertheless carries a risk of miscarriage of about 0.5%.A woman with an abnormal non-invasive test (High risk: 1/250) is then offered an invasive diagnostic test (amniocentesis, trophoblastic biopsy, but there is a risk of miscarriage.

Method and Design Retrospective study of 8,863 patients at the AHP Pre-natal Diagnosis center between 2 January 2012 and 25 September 2014.

Objective: to assess the performance of cell-free fetal DNA testing and improve the screening of chromosomal abnormalities.

Hypothesis: NIPT reduces the invasive procedures. It is safer and better than the current screening system with the risks attached to invasive punctures.

Results Thanks to NIPT, invasive procedures have been significantly reduced ($p < 0,0001$). Down Syndrome sensitivity is 100%, its specificity is 50%, its predictive positive value is 85.7%, and its predictive negative value is 100%.

Discussion cfDNA testing in maternal blood improves the detection of fetal chromosomal aneuploidies. NIPT needs to find its rightful and proper place (first or second line) in the detection program for Down Syndrome. It raises possible ethical and economic issues.

Key Words: Prenatal diagnosis, Down syndrome

IV. INTRODUCTION

La Trisomie 21, connue aussi sous le nom de Down Syndrome est l'anomalie chromosomique la plus répandue ; l'incidence de 1/700 pendant la grossesse, augmente avec l'âge maternel et la prévalence à la naissance est de 1/2 000 selon l'INPES.[1,2]

Cette pathologie a été décrite en 1866 par John Down et présente comme symptôme majeur un retard mental, anciennement nommé le « Mongolisme ». En 1959, la relation entre ce syndrome et l'anomalie chromosomique est publiée en France.

1) Le dépistage prénatal actuel

La Haute Autorité de Santé, HAS, définit le dépistage comme étant « *des procédures réalisées sur des groupes de personnes dans le but de détecter des maladies* ». Actuellement, trois stratégies de dépistage anténatal coexistent : le Dépistage Combiné du Premier Trimestre DCT1 (Age, MSMT1 et CN) 70%, le dépistage séquentiel intégré (Age, MSMT2 et CN) 13% et le dépistage du second trimestre (Age, MSMT2) 17%[31].

➢ Historique

Les techniques et indications de dépistage de la Trisomie 21 ont évolué ces dernières années.

En 1970, seul le dépistage des patientes dont l'âge maternel était supérieur à 35 ans était proposé sur critères échographiques et permettait de dépister 30% des fœtus porteurs de cette aneuploïdie [6] ; 70% n'étaient donc pas dépistés sur ce seul critère[7].
Dans les années 1980-1990, la proposition du dépistage a été élargie avec le «Double Test du Second Trimestre». L'âge maternel et les marqueurs sériques maternels, MSM (taux de βHCG libre et Alpha Foetoprotéine : AFP), étaient pris en compte entre la 15ème

et la 20ème semaine de grossesse. Ce dépistage permettait d'identifier 61% des fœtus porteurs de cette aneuploïdie[7].

En 2008, le test quadruple du deuxième trimestre (HCG, AFP, Estriol non conjugué (uE3) et Inhibine A) a fait ses preuves et permettait de détecter 83% des trisomies 21 en anténatal. Il s'était en revanche retrouvé moins avantageux que le test combiné du premier trimestre. En effet, les valeurs statistiques du test DCT1 sont meilleures que le DCT2 (Se=85-90% pour le DCT1 contre 83% pour le DCT2)[2].
Le DCT2 est recommandé par l'ACOG quand les professionnels de santé sont dans l'impossibilité de proposer le dépistage du premier trimestre.

➢ Législation

L'arrêté de Janvier 1997, permet d'élargir le dépistage de la Trisomie 21 à toutes les femmes enceintes et non plus seulement sur le seul critère de l'âge maternel (>35ans).

Le rapport de Juin 2007 de l'Agence de la Biomédecine (ABM), l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS) et de la Direction Générale de la Santé (DGS) pose pour objectif de diminuer le nombre d'amniocentèses. La solution est de faire un dépistage au premier trimestre en s'appuyant aussi sur des signes échographiques. Le dépistage combiné utilise donc la mesure de la clarté nucale (CN), de la longueur crânio-caudale (LCC), l'âge maternel et les MSM du premier trimestre (Pregnancy Associated Plasma Protein A : PAPP-A et βHCG).[19,31]

En 2007, the American College of Obstetrics and Gynecologists (ACOG) recommande de proposer et d'informer systématiquement les femmes enceintes sur ce dépistage combiné du premier trimestre.

L'arrêté du 23 juin 2009 annonce que « *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.* » (cf. Annexe 1.)
La pratique du diagnostic prénatal (DPN) est encadrée par le Code de la Santé Publique dans l'article L. 2131-1. « *Il s'entend des pratiques médicales, y compris l'échographie*

obstétricale et fœtale, ayant pour but de détecter in utero chez l'embryon ou le fœtus une affection d'une particulière gravité reconnue comme incurable au moment du diagnostic ».

La loi de Bioéthique de 2004 permet de proposer ce dépistage sous réserve de respecter le choix de la patiente, de l'informer et de recueillir son consentement libre et éclairé (cf. Annexe 2.).

La loi de Bioéthique de 2004 a été révisée en 2011. La révision de 2011 de la loi de Bioéthique indique que *« Toute femme enceinte reçoit, lors d'une consultation médicale, une information loyale, claire et adaptée à sa situation sur la possibilité de recourir, à sa demande, à des examens de biologie médicale et d'imagerie permettant d'évaluer le risque que l'embryon ou le fœtus présente une affection susceptible de modifier le déroulement ou le suivi de sa grossesse ».*
« Le prescripteur, médecin ou sage-femme, communique les résultats de ces examens à la femme enceinte et lui donne toute l'information nécessaire à leur compréhension ».

- **Dépistage Séquentiel Intégré du Deuxième Trimestre**

Ce test[31] inclut l'âge maternel, la mesure de la CN et les MSM du deuxième trimestre (HCG, AFP, Estriol non conjugué uE3) [30].

- **Dépistage par les Marqueurs Sériques Maternels du Deuxième Trimestre**

Ce test[31] inclut l'âge maternel et les MSM du deuxième trimestre. La mesure de la clarté nucale n'est pas prise en compte. La sensibilité des marqueurs analysés au deuxième trimestre est de 82,7% mais induit 9% de gestes invasifs et la Valeur Prédictive Positive, VPP, est de 1/127[30].

- **Dépistage Combiné du Premier Trimestre**

Depuis Janvier 2010, selon l'HAS, le Dépistage Combiné du Premier Trimestre (DCT1)[28,31] des aneuploïdies (Trisomies 13, 18, 21), est le dépistage proposé en systématique à toutes les femmes enceintes entre 11 SA et 13 SA + 6 jours et concerne 70% des patientes[30]. Ce test comprend une mesure de la clarté nucale (CN) lors de l'échographie du premier trimestre, les dosages de la βHCG, et de la PAPP-A au premier trimestre de la grossesse. Ce dépistage combiné, permet de détecter 85 % à 90% des Trisomies 21 (3-5% de faux-positifs)[28], mène à 5% de diagnostics invasifs (biopsie de trophoblaste, amniocentèse). De possibles pertes fœtales sont induites (fausses couches, rupture prématurée des membranes, infection)[8] par le geste invasif (5% de DI). Elles sont évaluées à moins de 0,5% (0,11-0,13%), estimation variable selon les publications[2,33,34]. La valeur prédictive positive du dépistage Combiné de la Trisomie 21 (DCT1) est de l'ordre de 1/30. Ce chiffre signifie que 30 prélèvements invasifs sont nécessaires pour déceler une seule Trisomie 21[30]. Par ailleurs, d'autres signes d'appel échographiques peuvent faire suspecter une anomalie chromosomique[29,32].

Le dépistage actuel de la Trisomie 21, le DCT1, repose sur l'âge maternel, les signes échographiques (CN, LCC) et les Marqueurs Sériques Maternels (MSM), que ces critères soient pris indépendamment ou de façon combinée.

➢ Agence de la Biomédecine, Dépistage Combiné du Premier Trimestre et Diagnostic Invasif

L'Agence de la Biomédecine (ABM) a recueilli les résultats nationaux de Janvier 2010 à Janvier 2012 du dépistage combiné de la Trisomie 21 au premier trimestre (DCT1) en France.[9]

En 2010, 841 563 naissances ont été déclarées :
- 55 568 caryotypes fœtaux ont été étudiés (6,6 % des naissances en France): 1 934 Trisomies 21 (3,5 % des caryotypes et 0,2 % des naissances) ont été retrouvées (VPP = 2,4%). On évalue le nombre de pertes fœtales induites par le diagnostic invasif à 268 en 2010 (environ 0,5%).
- 28 199 caryotypes ont été pratiqués sur indication des MSM, soit 50,7% des caryotypes effectués (les patientes de plus de 38 ans sont prises en compte par l'ABM)

et ont permis de déceler 711 Trisomies 21 (VPP = 2,5%) mais 27 488 faux positifs au dépistage ont eu un geste invasif (FP = 97%).

On remarque que les Marqueurs Sériques Maternels, MSM, permettent de diminuer considérablement le nombre de gestes invasifs mais ne permettent pas de dépister toutes les Trisomies 21. Grâce au DCT1, 36,7 % des Trisomies 21 sont dépistées. Les autres seront diagnostiquées après l'étude d'un caryotype pour d'autres indications : signes d'appel échographiques, clarté nucale épaisse, âge maternel > 38 ans.

- **Données sur le Dépistage Combiné du Premier Trimestre et Diagnostic Invasif en 2010 de l'Agence de la Biomédecine**

Données	Effectifs	Pourcentage
Naissances	841 563	100%
Caryotypes foetaux	55 568	6,6% des naissances
Trisomies 21	1 934	3,5% des caryotypes 0,2% des naissances
Pertes fœtales induites	268	**0,5%**
Caryotype sur indication des MSM	28 199	50,8% des caryotypes
Trisomies découvertes sur Caryotype avec indication MSM	711	2,5% des DI sur MSM. 36,7% des T21
Faux Positifs	27 488	**97,5%** des caryotypes sur indication des MSM

En 2012, l'ABM évoque que 482 222 échographies ont été réalisées au premier trimestre afin de permettre le dépistage de la Trisomie 21. Les informations nécessaires à ce dépistage sont : la date de naissance de la patiente, la date du prélèvement sanguin, les dosages de Beta HCG, de PAPP-A, les MoM respectifs (multiple de la médiane) de Beta HCG, de PAPP-A, la CN et la LCC. Les valeurs en MoM permettent de s'affranchir des variations en fonction de l'âge gestationnel et des unités différentes des marqueurs et ainsi d'homogénéiser les unités de mesure.[9]

Ainsi, un calcul de risque effectué par un logiciel peut être rendu et permet d'identifier les grossesses appartenant à un groupe à risque accru de Trisomie 21. Une valeur seuil est fixée à 1/250. Une patiente qui a un résultat ≥1/250 appartient à un groupe à risque accru de Trisomie 21[30]. En moyenne, les patientes qui effectuent le prélèvement nécessaire au dépistage ont 30 ans et celles qui appartiennent à un groupe de risque

accru ont en moyenne 35 ans. Selon le rapport de l'ABM de 2012, 3% des patientes appartiennent à un groupe à risque accru de trisomie 21 (≥1/250) et 29,7% d'entre elles ont plus de 35 ans[30]. On remarque que le taux de femmes à risque reste inchangé en 2012 par rapport à 2010 et 2011.

2) Les méthodes de diagnostic prénatal actuel

➢ Le caryotype

Depuis plus de 40 ans, le caryotype fœtal permet de déceler des anomalies chromosomiques. Plusieurs types de prélèvements invasifs sont pratiqués : la choriocentèse (Biopsie de trophoblaste (BT) par prélèvement de villosités choriales depuis les années 1980) dès 11 SA et l'amniocentèse (ponction de liquide amniotique (PLA) depuis les années 1970) dès 15 SA.

La Valeur Prédictive Positive (VPP) du Dépistage Combiné du Premier Trimestre (DCT1) est de 1/30. Le DCT1 permet de dépister 36,7% des fœtus atteints de Trisomie 21 selon l'ABM. Le DCT1 associé aux gestes invasifs induit plus de fausses couches (FC) par augmentation des morbidités maternelles et fœtales, que de confirmation d'une Trisomie 21 chez le fœtus : le risque de perte fœtale induite est proche de 0,5% alors que certains fœtus sont indemnes de cette aneuploïdie (anomalie du nombre de chromosomes).[2]

La certitude d'une Trisomie 21 peut être apportée par le caryotype. Le caryotype est l'analyse des chromosomes d'un individu. Il est possible d'étudier les cellules en métaphase ou prométaphase de la mitose au microscope optique. Un résultat peut être rendu après culture cellulaire en deux semaines. Les 23 paires de chromosomes visibles permettent de déceler de nombreuses pathologies chromosomiques.

➢ La FISH : Hybridation In Situ par Fluorescence

La FISH permet de dépister des anomalies chromosomiques. Cette technique se pratique directement sur les cellules recueillies par prélèvement invasif, et ne nécessite pas de culture cellulaire. La technique consiste à dénaturer les doubles brins d'ADN par chauffage afin de les séparer. Une sonde d'ADN complémentaire à l'ADN cible est marquée par un repère fluorescent afin de l'identifier : l'hybridation peut être effectuée. Au microscope, le calcul du nombre de lumières fluorescentes colorées,

permet de dépister les anomalies chromosomiques de nombre 13, 18, 21 et des chromosomes sexuels X et Y. Ce résultat, plus rapide, peut être rendu avant le résultat du caryotype (48h).

3) Le Dépistage Prénatal Non Invasif

➢ Description du Dépistage Prénatal Non Invasif

Afin d'éviter les complications potentielles du prélèvement invasif de nombreux chercheurs ont orienté leurs investigations dans le Dépistage Prénatal Non Invasif (DPNI)[25] de la Trisomie 21 : il consiste en l'étude de l'ADN libre fœtal, circulant dans le sang maternel.[18] Cette découverte permet d'introduire un dépistage caractérisé par son innocuité et son innovation dans la recherche de la Trisomie 21 actuelle. [3]

➢ Technique

Ce test, par prise de sang maternel, dont l'objectif est de dépister les aneuploïdies, peut être effectué précocement dans la grossesse, dès 10 SA : la quantité d'ADN fœtal dans le sang maternel est déjà significative à ce terme.[15] Un résultat rapide peut être rendu au bout d'une semaine.

Plusieurs méthodes du DPNI[16, 20] ont montré leur efficacité, mais la plus reconnue et utilisée est le MPS[21,27] (Multiples Parallel Sequencing : Séquençage à haut débit)[17]: les fragments d'ADN présents dans le plasma maternel sont identifiés et comptés. Cette technique consiste à prélever des fragments d'ADN de 150 à 200 paires de base et à les séquencer à plusieurs reprises. Ces fragments séquencés sont alignés et comparés au génome humain dont nous avons plusieurs marqueurs et dont la séquence « référence » est connue. Il est possible de détecter une copie supplémentaire d'un chromosome ou d'une partie d'un chromosome. Ainsi, les aneuploïdies chromosomiques sont dépistées de façon non invasive.

Du sang total chez la mère est prélevé, puis l'ADN fœtal est purifié. Ensuite, l'ADN est étudié (fraction fœtale) par séquençage et quantification des marqueurs spécifiques de la Trisomie 21. La fraction fœtale est le rapport de l'ADN des cellules fœtales libres sur le total d'ADN des cellules libres (maternelles et fœtales).[20] Elle est estimée à 10% et peut être calculée dès la 10ème semaine d'aménorrhée. L'ADN libre fœtal circulant

dans le sang maternel, provient du trophoblaste[13] et est détectable dès la 6ème semaine de grossesse. Son pourcentage dans le sang maternel croît avec l'âge gestationnel : 10,2% à 10 SA + 6 jours et augmente de 0,1% par semaine de grossesse[11]. La provenance trophoblastique de l'ADN fœtal dans le sang maternel a été mise en évidence par plusieurs études, et notamment par l'étude de grossesses pathologiques (prééclampsie, grossesse anembryonnaire) [12,13, 24].

➢ Valeurs statistiques

Le DPNI de la Trisomie 21 a une sensibilité (Se) de 99,1% (IC : 96,3-99,8%)[22,] une spécificité (Sp) de 99 ,9% (IC : 99,6-99,9%)[22], un taux de faux positifs (FP) estimé entre 0,1 et 0,2% contre 97% avec seulement les MSM chez les fœtus singletons. Le taux de faux négatifs est de 0,9 à 1%. Le DPNI permet de diminuer le nombre de diagnostics invasifs (DI) de près de 95%. Plusieurs études comparant le dépistage de la Trisomie 21 par étude de l'ADN fœtal et le dépistage actuel par les marqueurs sériques maternels montrent que le taux de FP chute considérablement (0,3% contre 3,6% respectivement). De même, la Valeur Prédictive Positive (VPP) augmente aussi de façon significative (45,5% contre 4,2%).[14] Ce test n'est donc pas un test diagnostique mais un dépistage à hautes sensibilité et spécificité.

➢ Pratique du Dépistage Prénatal Non Invasif à L'Hôpital Américain de Paris

A l'Hôpital Américain de Paris, le prélèvement de sang maternel à la recherche d'ADN fœtal libre circulant, est envoyé puis analysé par le laboratoire Sequenom (Center for Molecular Medicine) en Californie, ou en Caroline du Nord, aux Etats-Unis. Un résultat est obtenu 7 à 10 jours après l'envoi du prélèvement. Ainsi, une patiente ayant un risque de 1/100 au dépistage combiné du premier Trimestre (DCT1) et dont le résultat du DPNI revient négatif, réduit son risque de 1/100 à 1/10 000. Et inversement, si le résultat du DPNI revient positif, la probabilité que le fœtus soit atteint de Trisomie 21 est presque certaine, mais devra être vérifiée par un diagnostic invasif, amniocentèse ou choriocentèse, afin d'être confirmé. Ce test détecte les Trisomies 13, 18, 21 mais pas

toutes les anomalies chromosomiques en raison de mosaïques placentaires, maternelles, ou fœtales.

Aux Etats-Unis, le test de DPNI propose de dépister d'autres pathologies que les anomalies chromosomiques les plus fréquentes. En effet, les Trisomies 16 et 22 sont aussi recherchées. De même, les syndromes de Di George (22q), du Cri du Chat (5p), de Prader-Wili/Angelman (15q) et d'autres syndromes peuvent être aussi dépistés en prénatal. Ces anomalies correspondant à des délétions entre 1,5 à 10Mb, commencent à pouvoir être dépistées en prénatal.

- **Performances attendues du test Sequenom pour les chromosomes 21 ; 18 ; 13**

Objectif	Performance	Intervalle de confiance (95 % CI)
Trisomie 21	**Sensibilité : 99.1%** **Spécificité : 99.9%**	96.3 – 99.8 % 99.6 – 99.9 %
Trisomie 18	Sensibilité : > 99.9% Spécificité : 99.6%	92.4 – 100.0 % 99.2 – 99.8 %
Trisomie 13	Sensibilité : 91.7% Spécificité : 99.7 %	59.7 – 99.6 % 99.3 – 99.9 %

- **Performances attendues du test Sequenom pour les chromosomes sexuels**

Objectif	Performance	Intervalle de confiance (95% CI)
Aneuploïdies gonosomiques **(45,X ;47,XXX ;47XXY ;47XYY)**	Sensibilité : 96,2% Spécificité : 99,7%	78,4-99,8% 98,2-100%

➢ Pratique du Dépistage Prénatal Non Invasif en France

En France, depuis Janvier 2014, le laboratoire CERBA par transfert de la technologie du laboratoire Sequenom, pratique le DPNI à partir de 10 SA à la recherche des Trisomies 13, 18 et 21.[18] Ce test pratiqué au laboratoire CERBA s'adresse :

- aux patientes ayant un DCT1 à haut risque (≥ 1/250), sans hyper clarté nucale associée (< 95ème percentile).
- aux patientes ayant eu un antécédent de grossesse associée à une aneuploïdie (T13, T18, T21).
- aux patientes aux couples présentant d'emblée une translocation robertsonienne sur les chromosomes 13 et 21.
- aux patientes âgées de plus de 38 ans qui n'ont pu bénéficier du DCT1 et qui n'ont pas de signes d'appels échographiques nécessitant d'établir le caryotype du fœtus.
- aux patientes ayant une grossesse gémellaire[26].
- aux patientes ayant des marqueurs sériques maternels T13, T18, à risque.

➢ Pratique clinique

Aux Etats-Unis, The American Congress of Obstetricians and Gynecologists, l'ACOG, recommande de proposer ce test (Cell-free fetal DNA) aux patientes appartenant à un groupe à risque accru de Trisomie 21 (≥ 1/250). L'ACOG souligne aussi le fait que le « Cell Free DNA testing » ne doit pas devenir un examen de routine mais doit être le choix seul de la patiente après une consultation de conseil génétique.

En France, ce test n'est pas recommandé pour les patientes à grossesse multiple ou les femmes à bas risque. Si le résultat de ce test de dépistage revient positif, l'équipe du DPN se verra dans l'obligation de confirmer ce dépistage en proposant un diagnostic invasif. Toutefois, il n'est pas recommandé dans la pratique clinique de proposer ce test aux patientes qui n'appartiennent pas à un groupe à risque accru de Trisomie 21 lorsque le fœtus présente des signes d'appels échographiques. En effet, les anomalies chromosomiques telles que les translocations déséquilibrées, les délétions et les duplications, les maladies monogéniques (Syndrome de l'X fragile, etc...), le mosaïcisme, ne peuvent être retrouvés par ce test DPNI.

Le DPNI a reçu un avis favorable du Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français (CNOGF)[4] en Janvier 2013 et du Comité Consultatif National d'Ethique(CCNE)[5] en Avril 2013[4,5]. En 2013, le Dépistage Non Invasif de la Trisomie 21, le DPNI, prend sa place dans l'évolution naturelle de la recherche prénatale et devient la prochaine étape[10,14].

L'entrée du test DPNI au sein des centres de DPN français a plusieurs impacts : médical et sociétal[23]. Premièrement, les nombres de diagnostics invasifs, de faux positifs et de pertes fœtales induites semblent de moins en moins acceptables aux yeux du corps médical et des couples. Deuxièmement, le progrès de la recherche et de la nouvelle technologie peut expliquer l'attrait du personnel soignant et des patients pour le DPNI. Troisièmement, ce test de dépistage est facile à effectuer contrairement au diagnostic invasif : il s'agit d'une prise de sang maternel et non d'un prélèvement à risque pour la mère et le foetus.

Il est évident que la découverte de la présence d'ADN fœtal dans le sang maternel est une avancée scientifique innovante que l'on ne peut ignorer. Cette nouvelle technique de dépistage de la Trisomie 21 pose des enjeux tant techniques, économiques, qu'éthiques et doit s'intégrer de façon intelligente dans les Centres de DPN.

Il semble pertinent de s'interroger sur la juste place que peut prendre le DPNI dans l'algorithme de dépistage actuel de la Trisomie 21 tout en respectant les choix des patientes et l'éthique médicale. L'objectif principal de cette étude est de décrire les impacts de l'entrée du DPNI au sein du centre de DPN de l'AHP.

La première hypothèse de cette étude est que le DPNI est moins délétère car il n'est pas invasif et a donc moins d'impact sur la morbi-mortalité maternelle et fœtale. La seconde hypothèse est que le DPNI permet d'identifier plus de Trisomies 21 que le dépistage actuel : il est plus précis, peut être pratiqué plus tôt dans la grossesse et ses valeurs statistiques sont supérieures à celles du DCT1.

V. MATERIEL ET METHODE

1) Hypothèses et Objectifs

- Le DPNI induit-il moins de gestes invasifs que l'algorithme de dépistage actuel ?
Il semble essentiel que le DPNI soit plus performant que le DCT1-DI pour prétendre à une place légitime dans l'algorithme du dépistage actuel de la Trisomie 21.
Le **premier objectif** est de montrer que la recherche sur l'ADN fœtal dans le sang maternel est une avancée scientifique par son innocuité, car elle diminue les morbidités maternelle et fœtale induites. La **première hypothèse** de cette étude est que le DPNI est moins délétère. En effet, il induit moins de gestes invasifs et a donc moins d'impact sur la morbi-mortalité maternelle et fœtale. Grâce au DPNI, les patientes ont moins recours au prélèvement invasif. Il est nécessaire de démontrer dans un premier temps que le DPNI est plus avantageux en terme de bénéfice-risque pour les patientes.

Pour cela, il s'agit de comparer les nombres de gestes invasifs et leurs complications en 2012 (année où seul le DCT1 et le DI sont à la disposition des centres de DPN) et 2013-2014 (années du début de l'utilisation du DPNI) et ainsi mettre en lumière les apports de cette technique dans la mesure où elle permettrait de diminuer le nombre de gestes invasifs et leurs possibles complications. Etudier l'année 2014 permet de montrer que, plus le DPNI est diffusé, plus le nombre de diagnostics invasifs chute.

- Est ce que le DPNI a de meilleures valeurs statistiques que le DCT1 : est-il plus fiable ? Quelles sont les différences statistiques entre ces deux dépistages ?
Permet-il de dépister plus de Trisomies 21 quel que soit le seuil de risque attribué par le DCT1 au préalable ?
Le **second objectif** est de montrer que le DPNI permet de dépister un plus grand nombre de Trisomies 21 et diminue le nombre de faux positifs. Le DPNI pourrait déceler des Trisomies 21 chez les patientes que le test DCT1 ne place pas dans un groupe à risque accru. Il faut donc prouver que les valeurs statistiques du DPNI sont meilleures que celles du DCT1. La **seconde hypothèse** est que le DPNI dépiste plus de

Trisomies 21 que le dépistage actuel : il est plus précis et peut être pratiqué plus tôt dans la grossesse. Les valeurs diagnostiques du DPNI sont supérieures à celles du DCT1.

Cette étude classe les résultats du DCT1 ainsi :
- Haut risque HR : ≥ 1/250 (= 1/2-1/250)
- Moyen risque MR : 1/251-1/500
- Bas risque BR : 1/501-1/1 000
-Très bas risque TBR : < 1/1 000.

En effet, le DPNI serait théoriquement supérieur au DCT1 pour détecter la Trisomie 21 in utéro. Il a de plus grandes sensibilité et spécificité théoriques (Se=99,1%, Sp=99,9%) que le DCT1 (Se=90% et FP=5%) : c'est donc un dépistage à hautes sensibilité et spécificité et non un diagnostic. Un fœtus atteint de Trisomie 21 aura un résultat DPNI positif dans 99,1% des cas et un fœtus non atteint aura un résultat DPNI négatif dans 99,9% des cas selon les objectifs attendus du test Sequenom (cf. Annexe 2.)

2) Type d'étude-Dispositif de recherche

Il s'agit d'une étude descriptive, de type rétrospectif d'une nouvelle technique de dépistage prénatal : le DPNI. Celle-ci est possible grâce à la base de données du Centre de Diagnostic Prénatal de l'Hôpital Américain de Paris à Neuilly-sur-Seine et la base de données du laboratoire américain Sequenom, basé en Caroline du Nord aux Etats-Unis, qui pratique le DPNI à la demande de l'AHP.

Cette étude porte sur la période du 2 Janvier 2012 au 25 Septembre 2014 soit une durée de 33 mois. Au centre de DPN de l'AHP, les femmes viennent pour plusieurs raisons : échographies, DCT1, DI, DPNI, consultation de génétique. L'accès à ce centre de DPN n'est pas seulement réservé aux femmes dont le fœtus est atteint d'une pathologie.

Un test de dépistage doit présenter plusieurs qualités comme la fiabilité (exactitude et précision), la variabilité, et la reproductibilité. L'objectif de ce test de dépistage est de détecter les anomalies chromosomiques, et notamment la Trisomie 21, en étudiant l'ADN fœtal dans le sang maternel.

3) Déroulement de l'étude-Outil méthodologique

En 2012, sur l'année entière, 2 807 patientes sont venues au Centre de DPN de l'AHP.
Les patientes enceintes se voyaient proposer de façon systématique le dépistage combiné du premier trimestre (DCT1) et pouvaient pratiquer un diagnostic invasif si elles appartenaient à un groupe à risque accru de Trisomie 21 (≥1/250) : le test DPNI n'était pas encore disponible en 2012.

En 2013, la population a pu bénéficier du nouveau test de dépistage DPNI. Cette année-là, 3 456 patientes sont venues au Centre de DPN de l'AHP dans le but d'avoir un DPNI ou un DI, ou les deux. En effet, dans le cas où le résultat du DPNI est positif, il est nécessaire d'effectuer un prélèvement invasif de confirmation de Trisomie 21 par l'étude du caryotype fœtal, que ce soit une biopsie de trophoblaste ou une ponction de liquide amniotique. Le DPNI est un dépistage et non un diagnostic.
Les patientes pouvaient donc faire une prise de sang complémentaire, le DPNI, suite au résultat du DCT1 au lieu de faire un diagnostic invasif immédiatement.

En 2014, du 1er Janvier au 25 Septembre 2014, 2 600 patientes ont sollicité le Centre de DPN de l'AHP. En 2014, le test du DPNI commence à se faire connaître davantage et les professionnels de santé, mieux habitués, le proposent aux patientes à risque plus aisément.

Donc, pour une durée totale de 33 mois de pratique de soins à l'AHP, l'équipe pluridisciplinaire a accueilli un total de 8863 patientes.

Les patientes souhaitant bénéficier du DPNI ont toutes eu une consultation de génétique par un prénataliste ou un généticien à l'AHP. Elles ont signé un consentement avant que la prise de sang maternel soit effectuée. (cf. Annexe 2.)

2012 : DCT1 -> DI.

2013 : DCT1 -> DPNI (-> DI).

2014 : DCT1-> DPNI (->DI).

4) Participants

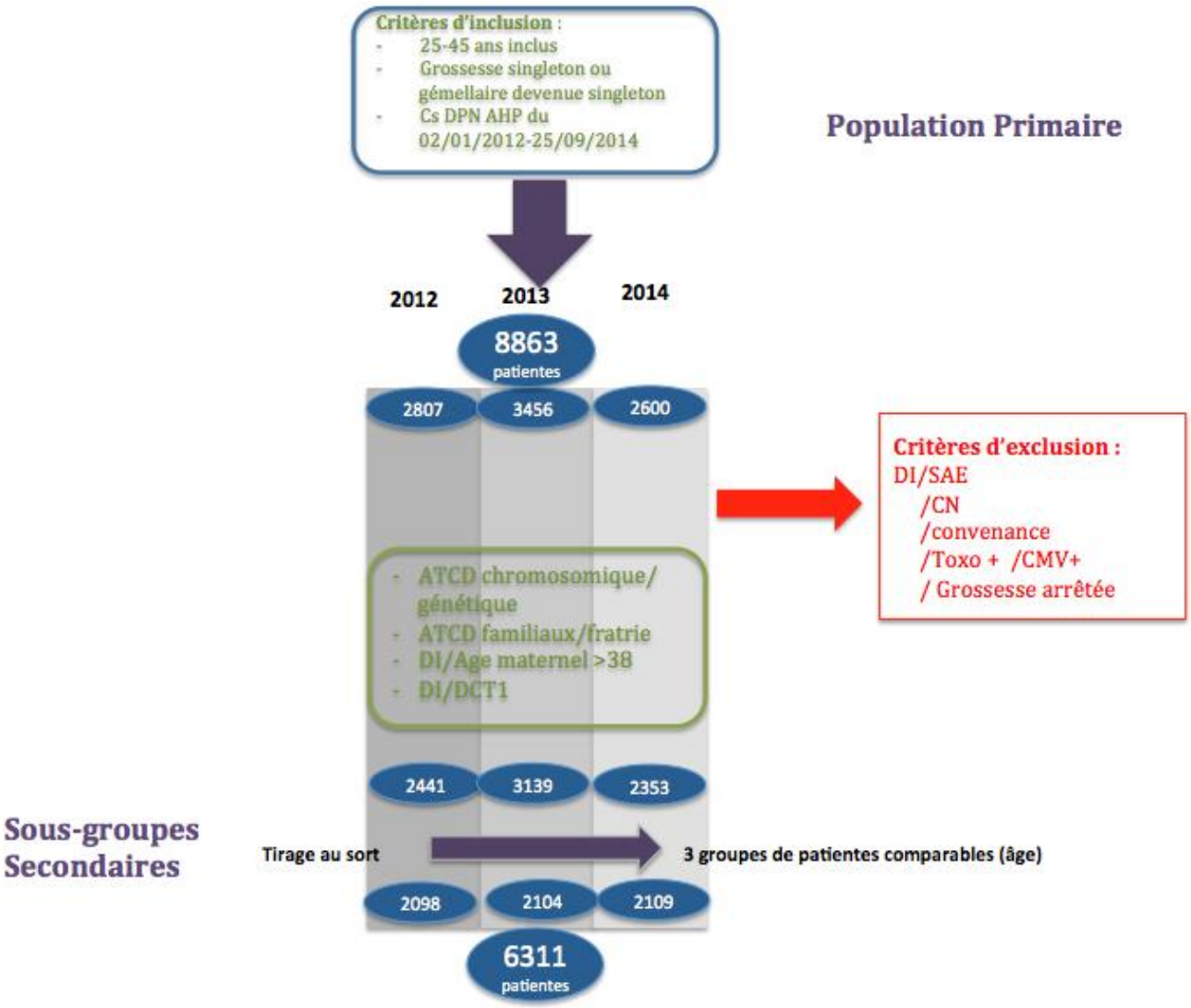
Les patientes participant à l'étude doivent présenter les critères d'inclusion suivants :

- Femmes enceintes au moment des dépistages et diagnostics de la Trisomie 21.
- Femmes ayant entre 25 et 45 ans inclus au moment de l'étude.
- Celles-ci sont venues au centre de DPN de l'Hôpital Américain de Paris pour diverses raisons (DCT1, échographies de référent, DI, DPNI, conseil en génétique...) entre le 2 Janvier 2012 et le 25 Septembre 2014.
- Ces patientes présentent soit des grossesses singletons, soit des grossesses multiples devenues singletons au cours de la grossesse.

On a donc 8 863 patientes sur ces seuls critères d'inclusion.

Mais, sur ces seuls critères, on remarque que les trois groupes de patientes formés (en 2012, 2013 et 2014) ont des âges significativement différents. Au vu de ce biais de sélection, il semble pertinent de former au hasard trois autres **sous-groupes secondaires** (total de 6 331 patientes) afin que les patientes soient comparables en ayant le même âge. Pour chaque âge, on retrouve un nombre équivalent de patientes dans chaque année étudiée. Cependant, les résultats statistiques calculés pour la **population primaire** (8 863 patientes) ont été maintenus car ils permettent de décrire l'activité générale du DPN de l'AHP.

5) Flow Chart


Critères d'inclusion :
- 25-45 ans inclus
- Grossesse singleton ou gémellaire devenue singleton
- Cs DPN AHP du 02/01/2012-25/09/2014
Population Primaire
2012
2013
2014
8863 patientes
2807
3456
2600
Critères d'exclusion :
DI/SAE
/CN
/convenance
/Toxo + /CMV+
/ Grossesse arrêtée
- ATCD chromosomique/ génétique
- ATCD familiaux/fratrie
- DI/Age maternel >38
- DI/DCT1
2441
3139
2353
Sous-groupes Secondaires
Tirage au sort
3 groupes de patientes comparables (âge)
2098
2104
2109
6311 patientes

6) Variables retenues

Afin de répondre aux hypothèses, il est nécessaire de sélectionner certaines patientes parmi les 8 863 qui sont venues au DPN de l'AHP entre Janvier 2012 et le 25 Septembre 2014. Cette étude porte sur les techniques de dépistage et de diagnostic de la Trisomie 21 seulement et non des autres aneuploïdies existantes.

Plusieurs variables ont donc été retenues :

- Age maternel au moment de la consultation.
- DCT1 : HR (Haut Risque), MR (Moyen Risque), BR (Bas Risque), TBR (Très Bas Risque).

Pour rappel, on décrit les différents risques selon :

DCT1 HR = ≥ 1/250 : 1/2-1/250

DCT1 MR = 1/251-1/500

DCT1 BR = 1/501-1/1 000

DCT1 TBR = < 1/1 000

- Pratique du DI.
- Pratique du DPNI.
- Pratique de DI sur indication de résultat DPNI positif.
- Recherche de Trisomie 21.
- T21 et DI.
- T21 et DPNI.

Cependant, ce test DPNI ne peut être proposé aux patientes qui n'appartiennent pas à un groupe à risque accru de Trisomie 21 et qui ont des signes d'appels échographiques. En effet, les anomalies chromosomiques telles que les translocations déséquilibrées, les délétions et les duplications, ne peuvent être retrouvées par ce test DPNI.

➢ Variables étudiées dans la population primaire

Variables		2012 n (%)	2013 n (%)	2014 n (%)	Totaux	p*	p**	p***	p total
N		**2 807**	**3 456**	**2 600**	**8 863**				
Age (années)		2 807	2 860 596 NR	2 600	**8 863**	0,008	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
	25-30	580 (20,6)	568 (19,9)	405 (15,6)					
	31-35	1 005 (35,8)	136 (39,7)	895 (34,4)					
	36-40	944 (33,6)	863 (30,2)	876 (33,7)					
	41-45	278 (10)	293 (10,2)	424 (16,3)					
DCT1		1 966 (70)	2 884(83)	2 364 (91)	7 214	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
	HR	210 (10,7)	727 (25,2)	594 (25,2)					
	MR	92 (4,7)	175 (6,1)	230 (9,7)					
	BR	153 (7,8)	225 (7,8)	209 (8,8)					
	TBR	1 511 (76,8)	1757 (60,9)	1 331 (56,3)					
DI		1 177 **(42)**	994 **(28)**	467 **(18)**	**2 638**	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
	DI/DCT1	329 (27,9)	547 (55)	225 (48,2)	1 101	< 0,0001	< 0,0001	0,17	< 0,0001
DPNI		0	738 (21,3)	961 (40)	**1 699**			< 0,0001	< 0,0001
	DPNI/DCT1	0	607 (82,2)	856 (89)	1 463			0,26	NS
T21		73 (2,6)	78 (2,3)	44 (1,7)	195			NS	NS
	FPT21	0	**2**	**1**	**3**				
	T21 et DCT1	26	49	22	97				
T21-DI	Atteint et DI	75	77	44	196				
	Sain et DI	1 102	914	402	2 418				
	FPT21 et DI	0	2	1	3				
T21-DPNI	Atteint et DPNI	0	11	8	19				
	Sain et DPNI	0	724	952	1 676				
	FPT21 et DPNI	0	2	1	3				
	T21 après DPNI/DCT1	0	9	6	15				

p* : p entre 2012 et 2013

p** : p entre 2012 et 2014

p*** : p entre 2013 et 2014

➢ Variables étudiées dans les sous-groupes secondaires

Variables		2012 n (%)	2013 n (%)	2014 n (%)	TOTAUX	p*	p**	p***	p total
N		**2 098**	**2 104**	**2 109**	**6 311**				
Age (années)		**2 098**	**2 104**	**2 109**	**6 311**	**0.9958**	**0.9759**	**0.9976**	**0,9982**
	25-30	307	307	307	921				
	31-35	762	762	762	2 286				
	36-40	781	781	781	2 343				
	41-45	248	254	259	761				
DCT1		1 549	1 844	1 961	5 354				
	HR	166	613	425	1 204				
	MR	60	129	207	396				
	BR	100	119	176	395				
	TBR	1 223	983	1 154	3 360				
DI		801**(38)**	564**(27)**	199 **(9)**	**1 577**	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	DI/DCT1	155	378	141	674				
DPNI		0	634	887	**1521**	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	DPNI/DCT1	0	238	277	515				
T21		29 (1,4)	44 (2,1)	21 (1)	94				

p* : p entre 2012 et 2013

p** : p entre 2012 et 2014

p*** : p entre 2013 et 2014

7) Stratégies d'analyse

Une fois le recueil de données réalisé, nous avons effectué une analyse descriptive quantitative, grâce au logiciel Excel, puis utilisé les outils statistiques tels que le test Chi 2. Le seuil de significativité retenu est de $\alpha = 0,05$.

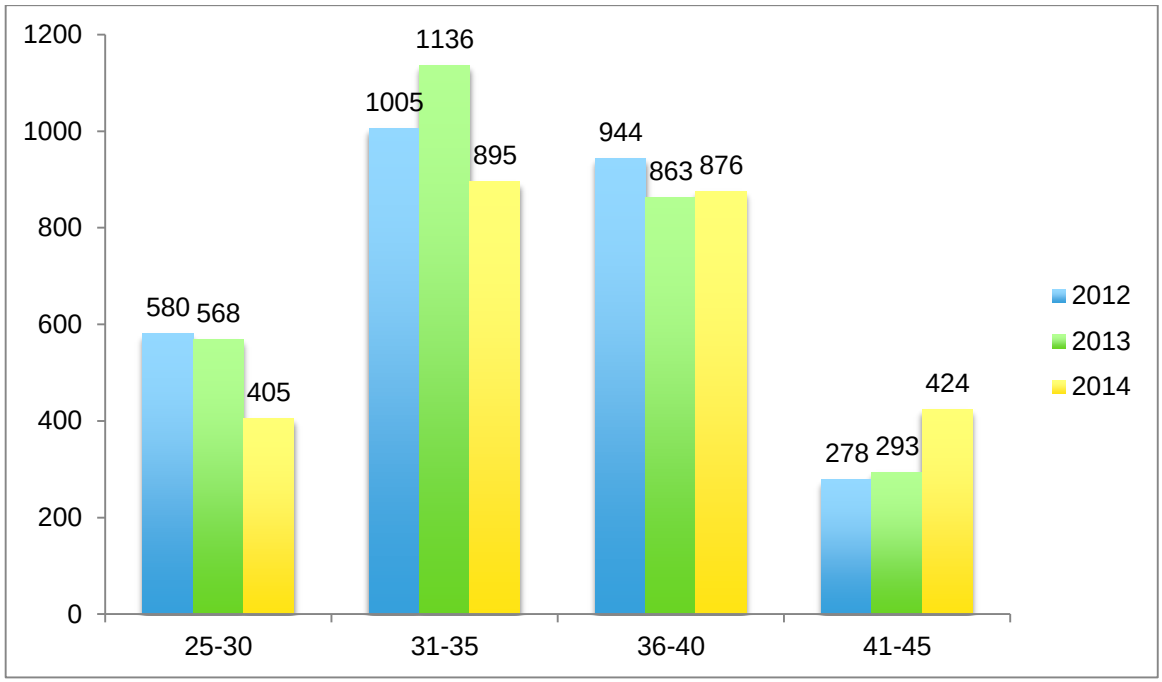
VI. RESULTATS DANS LA POPULATION PRIMAIRE PUIS DANS LES SOUS GROUPES SECONDAIRES

1) Description générale de la population étudiée

8 863 patientes font partie de cette étude après avoir été sélectionnées selon les critères d'inclusion suivants :

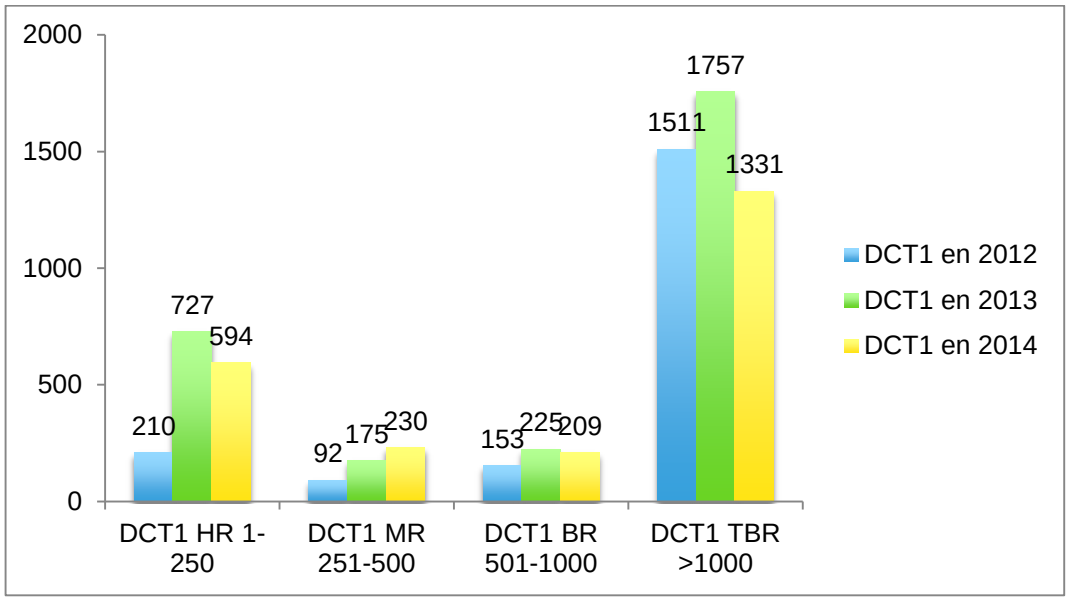
- Age maternel : 25 à 45 ans inclus.
- Grossesse singleton, ou multiple devenue singleton pendant la grossesse.
- consultation au centre de DPN de l'AHP entre le 02/01/2012 et le 25/09/2014.

➢ Répartition de la population primaire en fonction de l'âge en 2012 et 2013 et 2014



Les patientes sélectionnées ont des âges significativement différents sur cette première sélection (Population Primaire). C'est pourquoi une deuxième sélection et un tirage au sort ont permis de former trois sous-groupes secondaires.

- **Répartition de la population primaire en fonction du risque du DCT1 en 2012 et 2013 et 2014**



7214 patientes ont eu au cours de ces 33 mois des marqueurs DCT1.

21 % sont à HR.

7 % à MR.

8 % à BR.

64 % à TBR.

- **DI chez les patientes en 2012 et 2013 et 2014 dans la population primaire**

	2012		2013		2014		p*	p**	p***	p
DI	Effectifs T=2 807	%	Effectifs T=3 456	%	Effectifs T=2 600	%				
Pas de DI	1 640	58,4	2 473	71,5	2 136	82,1				
DI	**1 177**	**41,6**	**994**	**28,5**	**467**	**17,9**	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
DI/DCT1	**329**	**28**	**547**	**55**	**225**	**48,2**	<0,0001	<0,0001	0,17	<0,0001
HR	194	91	465	63,1	177	36,4				
MR	55	59,8	33	18,9	6	2,6				
BR	38	24,8	20	8,9	9	4,3				
TBR	42	2,8	29	1,6	33	2,5				
Total	**2 807**	**100**	**3 456**	**100**	**2 600**	**100**				

p* : p entre 2012 et 2013

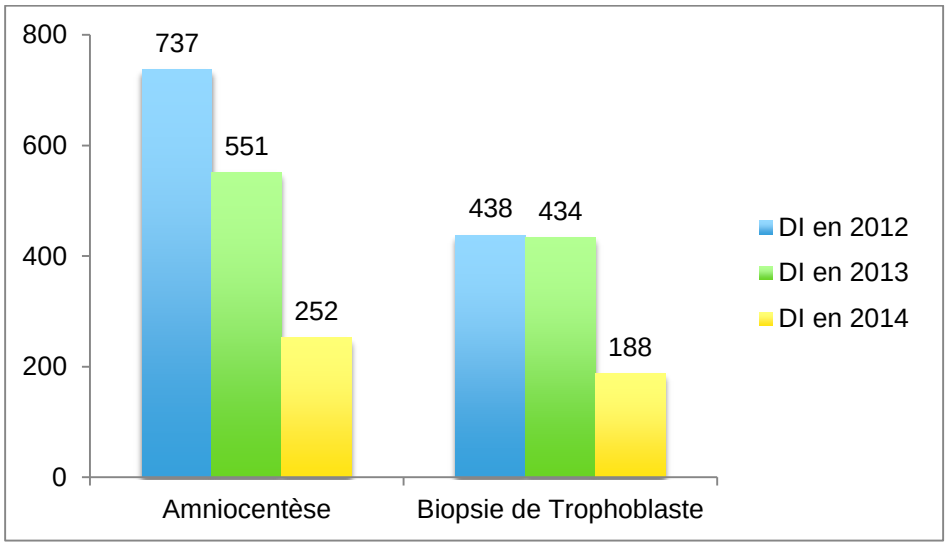
p** : p entre 2012 et 2014

p*** : p entre 2013 et 2014

2 638 gestes invasifs ont été pratiqués sur la période d'étude.

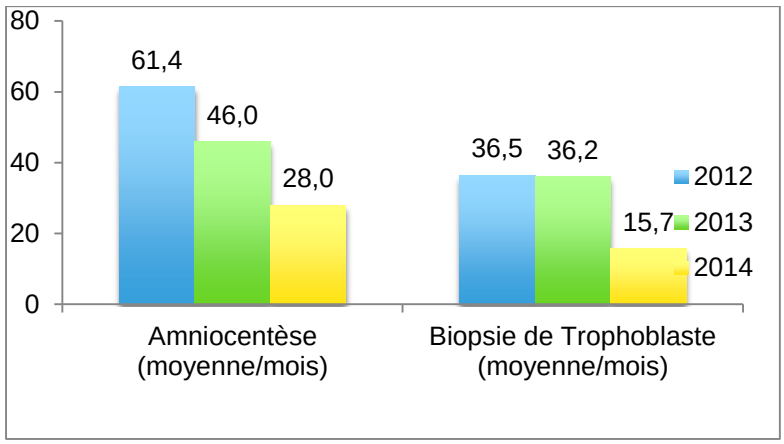
On observe une diminution significative du nombre de DI (p<0,0001) entre 2012 et 2013, et entre 2013 et 2014 depuis que le DPNI est proposé aux patientes dans les centres de DPN. De plus, nous remarquons que les DI pratiqués sur indication du résultat du DCT1 augmentent de façon significative sauf entre 2013 et 2014 (p=0,17). Le DCT1 est donc une des principales indications d'accès au DI.

- **Techniques de DI utilisées en 2012, 2013 et 2014 dans la population primaire**



Ce graphique en colonne montre clairement la chute significative du nombre de DI entre 2012 et 2013 mais aussi entre 2013 et 2014 : cette diminution s'explique par l'entrée du DPNI dans les centres de DPN en France. L'AHP a commencé à proposer le DPNI plutôt que le DI à condition que l'échographie soit normale. On peut remarquer une chute plus importante de l'amniocentèse que de la biopsie de trophoblaste. En effet, le DPNI pouvant être fait précocement dans la grossesse (dès 10 SA), les professionnels peuvent s'orienter vers un diagnostic invasif précoce (BT) en cas de résultat positif. La Biopsie de Trophoblaste (BT) peut être pratiquée plus tôt dans la grossesse que la Ponction de Liquide Amniotique (PLA).

- **Techniques de DI (rapport mensuel) utilisées en 2012, 2013 et 2014 dans la population primaire**



➢ DI dans les sous-groupes secondaires

- **DI chez les patientes en 2012 et 2013 et 2014 dans les sous-groupes secondaires**

	2012		2013		2014		Total	p*	p**	p***	p
DI	Effectifs T=2 098	%	Effectifs T= 2 104	%	Effectifs T=2 109	%	Effectifs T=6 311				
Pas de DI	1 297	62	1 540	73	1 910	90,5	4 747				
DI	**801**	**38**	**564**	**27**	**199**	**9,5**	**1 564**	**<0,0001**	**<0,0001**	**<0,0001**	**<0,0001**
DI/DCT1	**252**	**16**	**415**	**22**	**146**	**7,5**	**813**				
HR	155	61,5	378	91	141	96,6	674				
MR	40	15,8	15	3,6	2	1,3	57				
BR	29	11,6	11	2,7	0	0	40				
TBR	28	11,1	11	2,7	3	2,1	42				

p* : p entre 2012 et 2013

p** : p entre 2012 et 2014

p*** : p entre 2013 et 2014

Dans les sous-groupes secondaires, on observe aussi une diminution significative du nombre de DI entre 2012, 2013 et 2014 ($p < 0,0001$). 1 564 gestes invasifs ont été pratiqués sur la période d'étude dans la population tirée au sort.

Donc, quelle que soit la population étudiée, population primaire ou sous-groupes secondaires, la diminution du nombre de DI est significative. Il est possible d'affirmer

que l'entrée du DPNI à l'AHP est moins délétère que l'algorithme de dépistage habituel (DCT1 et DI).

➢ DPNI dans la population primaire

- **DPNI chez les patientes en 2012, 2013 et 2014 : résultats récapitulatifs dans la population primaire**

	2012		2013		2014		p	Total	
DPNI	Effectifs T=2 807	%	Effectifs T=3 456	%	Effectifs T=2 600	%		Effectifs T=8 863	%
Pas de DPNI	2 807	100	2 718	78,65	1 639	63,04		7 164	80,83
DPNI	0	0	**738**	**21,35**	**961**	**39,96**	**<0,0001**	**1 699**	**19,17**
DPNI/DCT1	0	0	**607**	**82,24**	**856**	**89,07**		**1 463**	**86,10**
HR	0	0	269	37	299	61,52		568	46,83
MR	0	0	111	63,43	195	84,78		306	75,56
BR	0	0	85	37,78	134	64,11		219	50,46
TBR	0	0	142	8,08	228	17,13		370	11,98
Total	**2 807**	**100**	**3 456**	**100**	**2 600**	**100**		**8 863**	**100**

Le DPNI augmente de façon significative ($p<0,0001$) entre 2013 et 2014.
Les DPNI pratiqués sur indication des DCT1, sont de plus en plus nombreux : il s'agit en effet de l'indication principale du DPNI, soit plus de 80%, dans les centres de DPN.

➢ DPNI dans les sous-groupes secondaires

- **DPNI chez les patientes en 2012, 2013 et 2014 : résultats récapitulatifs dans les sous-groupes secondaires**

	2012		2013		2014		p	Total	
DPNI	Effectifs T=2 098	%	Effectifs T= 2 104	%	Effectifs T=2 109	%		Effectifs T=6 311	%
Pas de DPNI	2 098	100	1 470	70	1 222	58		4 790	75,8
DPNI	**0**	**0**	**634**	**30**	**887**	**42**	**p<0,0001**	**1 521**	**24,2**
DPNI/DCT1	0	0	**521**	**82**	**792**	**89**		**1 313**	**86**
HR	0	0	238	45,7	277	35		515	39
MR	0	0	92	17,7	180	2,3		272	20,7
BR	0	0	65	12,5	124	15,7		189	14,4
TBR	0	0	126	24,2	212	26,8		338	25,7

Quelque soit la population, primaire ou secondaire, le DPNI augmente de façon significative entre 2013 et 2014 (p<0,0001). Les professionnels de santé, plus au courant du nouveau test de DPNI, proposent davantage aux patientes à risque accru de Trisomie 21 de consulter au centre de DPN de l'AHP.

➢ DI et DPNI

- **DI et DPNI chez les patientes en fonction du DCT1 en 2012 et 2013 et 2014 : tableau récapitulatif dans la population primaire**

	2012		2013		2014		p	Total	
DI ou DPNI /DCT1	Effectifs T=2 807	%	Effectifs T=3 456	%	Effectifs T=2 600	%		Effectifs T=8 863	%
DPNI/DCT1	**0**	**0**	**607**	**82,3**	**856**	**89,1**	**<0,0001**	**1 463**	**86,1**
DI/DCT1	**329**	**28**	**547**	**55**	**225**	**48,2**	**<0,0001**	**1 101**	**41,7**

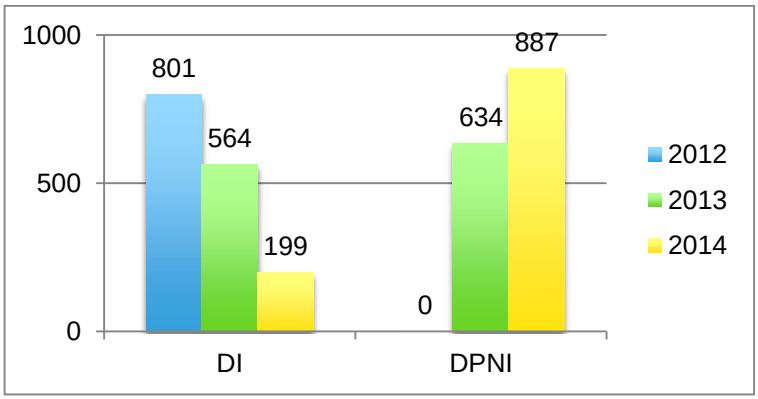
Le résultat du Dépistage Combiné du Premier Trimestre est la principale indication de poursuite de recherche dans le dépistage (DPNI secondaire au DCT1) ou le diagnostic (DI secondaire au DCT1) de Trisomie 21. 82,3 % en 2013 et 89,1 % en 2014 des DPNI ont été pratiqués sur indication du DTC1.

- **DI et DPNI chez les patientes en fonction du DCT1 en 2012 et 2013 et 2014 : tableau récapitulatif dans les sous-groupes secondaires**

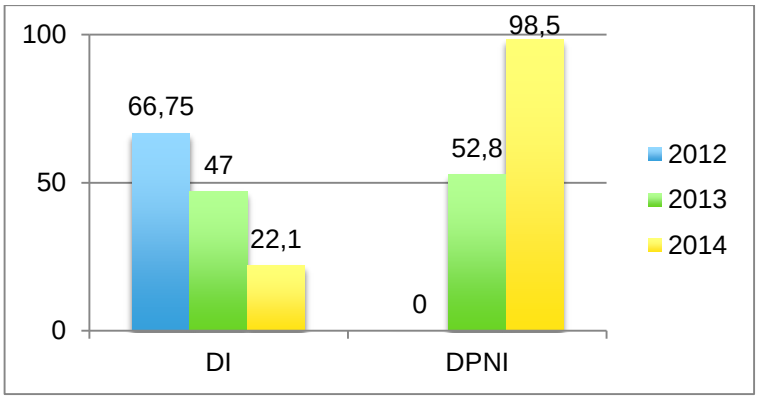
	2012		2013		2014		p	Total	
DI ou DPNI /DCT1	Effectifs T=2 098	%	Effectifs T= 2 104	%	Effectifs T=2 109	%		Effectifs T=6 311	%
DPNI/DCT1	**0**	**0**	**521**	**82**	**792**	**89**	**<0,0001**	**1 313**	**20,8**
DI/DCT1	**252**	**16**	**415**	**22**	**146**	**7,5**	**<0,0001**	**813**	**12,8**

Quelle que soit la population étudiée, population primaire ou sous-groupes secondaires, le nombre de DI et de DPNI sur indication du DCT1 diminue et augmente respectivement de façon significative.

- **DI et DPNI chez les patientes en 2012 et 2013 et 2014 dans les sous-groupes secondaires**



- **DI et DPNI (moyenne/mois) chez les patientes en 2012 et 2013 et 2014 dans les sous-groupes secondaires**



➢ T21 dans la population primaire

- **T21 chez les patientes en 2012, 2013 et 2014 : résultats récapitulatifs dans la population primaire**

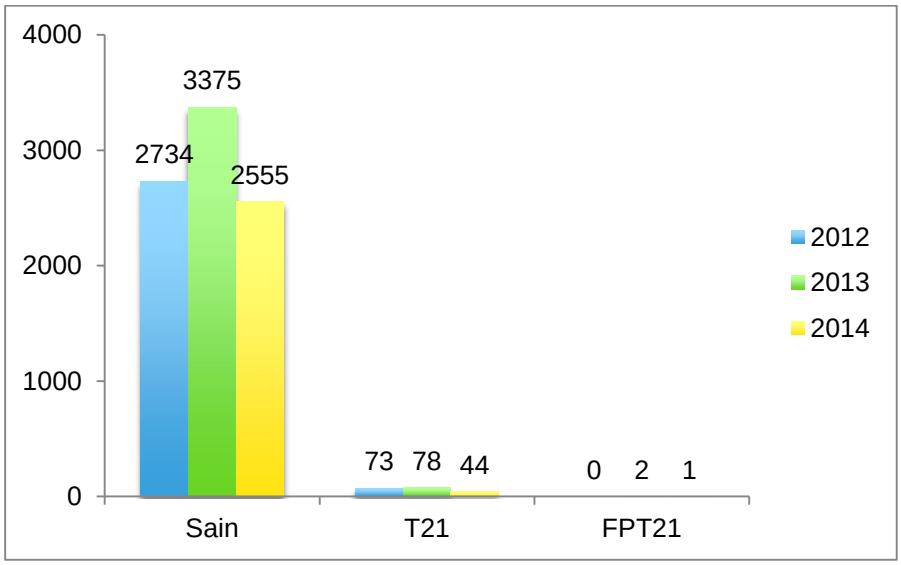
	2012		2013		2014		Total	
T21	Effectifs T=2 807	%	Effectifs T=3 456	%	Effectifs T=2 600	%	Effectifs T=8 863	%
Non	2 734	97,4	3 376	97,68	2 555	98,26	8 665	97,76
T21	**73**	**2,6**	**78**	**2,26**	**44**	**1,67**	**195**	**2,2**
FPT21 (DPNI)	**0**	**0**	**2**	**0,06**	**1**	**0,04**	**3**	**0,04**
DCT1 des T21								
HR	26	12,4	46	6,3	21	4,5	93	6,62
MR	0	0	**2**	1,14	**1**	0,5	3	0,64
BR	0	0	0	0	0	0	0	0
TBR	0	0	**1**	0,06	0	0	1	0,03
Total	**2 807**	**100**	**3 456**	**100**	**2 600**	**100**	**8 863**	**100**

On retrouve 73 fœtus trisomiques en 2012, 78 en 2013 et 44 en 2014, soit 2,2 % des fœtus sur la période étudiée.

49,7 % des patientes dont le fœtus est atteint ont eu le Dépistage Combiné du Premier Trimestre.

Le DCT1 retrouve 95,9% fœtus trisomiques (groupe à HR : 93/97). Donc le DCT1 associé au DI (en 2012) ne dépiste pas 4,1% des trisomiques. (0% sont dans le MR, 3,1% sont dans le BR et 1% dans le TBR).
Il y a 3 FP, c'est-à-dire que le DPNI a rendu un résultat positif alors que le fœtus est indemne de l'aneuploïdie T21.

- **Graphique représentant les fœtus en 2012, 2013 et 2014 : sain, atteint, et FPT21 dans la population primaire**



Ce graphique montre que 195 fœtus sont atteints de Trisomie 21, soit **2,2%** des fœtus étudiés sur une durée de 33 mois. On retrouve 3 FP avec le test DPNI.

➢ T21 dans les sous-groupes secondaires

- **T21 chez les patientes en 2012, 2013 et 2014 : résultats récapitulatifs dans les sous-groupes secondaires**

	2012		2013		2014		Total	
T21	Effectifs T=2 098	%	Effectifs T= 2 104	%	Effectifs T=2 109	%	Effectifs T=6 311	%
Non	770	96	517	92	177	90	1 464	94
T21	**29**	**4**	**44**	**8**	**21**	**10**	**94**	**6**
HR	21	72,4	40	91	18	85,7	79	84
MR	0	0	**1**	2,3	**1**	4,8	2	2,1
BR	0	0	0	0	0	0	0	0
TBR	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	**799**	**100**	**561**	**100**	**198**	**100**	**1 558**	**100**

Après le tirage au sort, dans les sous-groupes secondaires, on retrouve 94 fœtus trisomiques.

- **DI et fœtus sains ou atteints de T21 en 2012, 2013 et 2014 dans la population primaire**

	2012		2013			2014		
DI et T21	Sain	Atteint	Sain	Atteint	FPT21 (DPNI)	Sain	Atteint	FPT21 (DPNI)
NON	1 640	0	2 472	1	-	952	0	-
OUI	**1 102**	**75**	**915**	**77**	**2**	**402**	**44**	**1**
Total	**2 742**	**75**	**3 387**	**78**	**2**	**1 354**	**44**	**1**

Seul le Gold Standard, ici le DI, permet d'affirmer qu'un fœtus est atteint ou indemne de la Trisomie 21 : c'est le test de référence.

- En 2012, dans la population primaire, 1 177 DI ont été pratiqués. 75 ont montré que les fœtus étaient porteurs d'une Trisomie 21 (soit 6,4% du nombre de DI).

- En 2013, dans la population primaire, 994 DI ont été pratiqués. 77 ont montré que les fœtus étaient porteurs d'une trisomie 21 (soit 7,7%). Le DPNI avait décelé 79 fœtus atteints : il y a donc 2 FP en 2013. Ces deux faux-positifs ont induit deux diagnostics invasifs à tort.

- En 9 mois en 2014, dans la population primaire, 447 DI ont été pratiqués. 44 ont montré que les fœtus étaient porteurs d'une trisomie 21 (soit 9,8%). Le DPNI avait décelé 45 fœtus atteints : il y a donc 1 FP en 2014. Ce faux-positif a induit un diagnostic invasif à tort.

- **DPNI et fœtus supposés sains ou atteints de T21 en 2012, 2013 et 2014 dans la population primaire**

	2012		2013			2014		
DPNI et T21	Supposé Sain	Supposé Atteint	Supposé Sain	Supposé Atteint	FPT21 DPNI	Supposé Sain	Supposé Atteint	FPT21 DPNI
NON	2 734	73	2 651	67	0	399	36	
OUI	**0**	**0**	**724**	**11**	**3**	**952**	**8**	**1**
Total	**2 734**	**73**	**3 375**	**78**	**3**	**1 351**	**44**	**1**

Le DPNI a une sensibilité théorique de 99,1% et une spécificité théorique de 99,9%. Ces chiffres presque égaux à 100% ne permettent pas de définir le DPNI comme un diagnostic mais un dépistage à très haute sensibilité et spécificité.
Cette étude n'a pas de Gold Standard (caryotype pour toutes les grossesses ou examen clinique à la naissance). Cela signifie que toutes les patientes qui ont eu un DPNI n'ont pas toutes eu un caryotype afin de montrer la supériorité du DPNI sur le DCT1.

On ne peut donc qualifier de « sains » ou « atteints » que les fœtus ayant eu un Gold Standard, diagnostic de confirmation de la pathologie. L'équipe de l'AHP a cependant un retour satisfaisant des issues de grossesse, transmis par les patientes et par les médecins de ville. On peut donc supposer que si un faux négatif avait été diagnostiqué après la naissance, l'AHP en aurait eu connaissance. Cette étude ne rapporte aucun faux négatif.

Cette étude permet de décrire l'activité du centre de DPN de l'AHP durant cette période et évaluer le test DPNI. C'est pourquoi, les résultats issus de la population primaire peuvent être étudiés et maintenus dans cette étude, même si toutes les patientes n'ont pas eu de test de référence après le test DPNI.

Dans le tableau ci-dessus, lorsque le DPNI rend un résultat négatif, il est seulement possible de supposer que les fœtus sont sains, et inversement, atteints quand le résultat revient positif. En effet, la fiabilité de ce test DPNI (Se = 99,1%, Sp = 99,9%) dépiste des pathologies mais ne les diagnostiquent pas. Cette étude montre qu'il y a 4 faux positifs pour le DPNI : 3 en 2013 (soit 0,4% des DPNI) et 1 en 2014 (soit 0,1%). Trois de ces FP ont pu être expliqués a posteriori par le caryotype : il s'agissait de grossesses gémellaires devenues singletons au cours de la grossesse par arrêt de la grossesse du jumeau porteur de Trisomie 21, l'autre jumeau, vivant, étant sain. Le DPNI a rendu un résultat positif car un des deux fœtus était porteur d'une Trisomie 21.

2) Principaux résultats

Nous avons vu que 8 863 grossesses ont été suivies à l'AHP en 33 mois.

➢ DI et DPNI

- **DI et DPNI chez les patientes en fonction du DCT1 en 2012 et 2013 et 2014 : tableau récapitulatif dans la population primaire**

	2012		2013		2014		p	Total	
DI ou DPNI	Effectifs T=2 807	%	Effectifs T= 3 456	%	Effectifs T=2 600	%		Effectifs T=6 311	%
DPNI	**0**	**0**	**738**	**21,4**	**961**	**40**	**<0,0001**	**1 699**	**19**
DI	**1 177**	**41,6**	**994**	**28,5**	**467**	**18**	**<0,0001**	**2 638**	**30**

Le nombre de DI diminue significativement depuis que le DPNI existe et dont le nombre augmente significativement entre 2013 et 2014.

La première hypothèse est donc validée : le DPNI est moins délétère que le dépistage habituel de la Trisomie 21 (DCT1 et DI).

- **DI et DPNI chez les patientes en fonction du DCT1 en 2012, 2013 et 2014 : tableau récapitulatif dans les sous-groupes secondaire**

	2012		2013		2014		p	Total	
DI ou DPNI	Effectifs T=2 098	%	Effectifs T= 2 104	%	Effectifs T=2 109	%		Effectifs T=6 311	%
DPNI	**0**	**0**	**634**	**30**	**887**	**42**	**p<0,0001**	**1 521**	**24,1**
DI	**801**	**38**	**564**	**27**	**199**	**9,5**	**p<0,0001**	**1 564**	**24,7**

Quelle que soit la population (primaire ou secondaire) on observe une diminution significative du nombre de gestes invasifs (p<0,0001) entre 2012, 2013 et 2014. De même, le nombre de DPNI pratiqués augmente de façon significative entre 2013 et 2014.

➢ **Statistiques**

- **Comparaison statistique des tests de dépistage DCT1 et DPNI**

Pour rappel :

	Atteint	**Sain**	
Test +	VP	FP	**VPP =** VP/ (VP+FP)
Test -	FN	VN	**VPN =** VN/ (VN+FN)
	Se = VP/ (VP+FN)	**Sp =** VN/ (VN+FP)	

Sensibilité : Se = probabilité que le résultat du test soit Positif quand la personne est Malade.

Spécificité : Sp = probabilité que le résultat du test soit Négatif quand la personne est Saine.

Valeur Prédictive Positive : VPP = probabilité qu'une personne soit Malade quand le résultat du test est Positif.

Valeur Prédictive Négative : VPN = probabilité qu'une personne soit Saine quand le résultat du test est Négatif.

Le caryotype est dans cette étude le Gold Standard.

Cela signifie que seul ce test diagnostic permet de savoir véritablement si le fœtus est atteint ou indemne de la Trisomie 21. Afin de comparer les deux tests de dépistage, le DCT1 et le DPNI, il convient de comparer leurs valeurs statistiques. Cette étude compare donc dans cette deuxième partie, le DCT1 associé au caryotype et le DPNI associé au caryotype.

- **Tableau statistique du test de dépistage DCT1 quand le Gold standard est le caryotype dans les sous-groupes secondaires en 2012, 2013 et 2014**

	Caryotype 47, XX+21/47, XY+21	Caryotype 46, XX/46, XY	Totaux
DCT1 +	79	592	**671**
DCT1 -	2	138	**140**
Totaux	**81**	**730**	**811**

Dans le tableau ci-dessus, 811 patientes ont eu à la fois le test de dépistage DCT1 et le test diagnostic, Gold Standard : le caryotype.
Il y a 79 VP, 138 VN, 2 FN, et 592 FP.

Avec le DCT1 :

97,5 % (Se) des patientes qui sont porteuses d'un fœtus trisomique 21 ont un test positif.

18,9 % (Sp) des patientes dont le fœtus est indemne de cette aneuploïdie T21 ont un résultat du test négatif.

11,7 % (VPP) des patientes dont le test est positif sont porteuses d'un fœtus atteint de Trisomie 21.

98,5% (VPN) des patientes dont le test DCT1 est négatif sont porteuses d'un fœtus sain.

- **Tableau statistique du test de dépistage DPNI quand le Gold standard est le caryotype dans les sous-groupes secondaires en 2012, 2013 et 2014**

	Caryotype + : 47,XX+21/ 47,XY+21	Caryotype - : 46,XX/ 46,XY	Totaux
DPNI +	18	3	**21**
DPNI -	0	3	**3**
Totaux	**18**	**6**	**24**

Dans le tableau ci-dessus, 24 patientes ont eu à la fois le test de dépistage DPNI et le test diagnostic, Gold Standard : le caryotype.
Il y a 18 VP, 3 VN, 0 FN, et 3 FP.

Avec le DPNI :

100 % (Se) des patientes qui sont porteuses d'un fœtus trisomique 21 ont un test positif.

50 % (Sp) des patientes dont le fœtus n'est pas atteint ont un résultat du test négatif.

85,7 % (VPP) des patientes dont le test est positif sont porteuses d'un fœtus atteint.

100 % (VPN) des patientes dont le test est négatif sont porteuses d'un fœtus sain.

A l'aide de ces tableaux, il est possible de calculer et comparer les Sensibilité, Spécificité, Valeur Prédictive Positive et Valeur Prédictive Négative pour ces deux dépistages.

- **Tableau statistique de comparaison des tests de dépistage DCT1 et DPNI dans les sous-groupes secondaires en 2012, 2013, et 2014**

Données	DCT1	DPNI
Se	97,5%	**100%**
Sp	18,9%	**50%**
VPP	**11,7%**	**85,7%**
VPN	98,5%	**100%**
FP	592	**3**
FN	2	**0**

On remarque que toutes les valeurs statistiques augmentent pour le DPNI par rapport au DCT1 et surtout la VPP qui augmente de **11,7 % à 85,7 %.**
Le DPNI est donc un test plus performant que le DCT1.

- **Comparaison statistique du test de dépistage DPNI quand le DCT1 est à risque ou non à risque dans la population primaire en 2012, 2013 et 2014**

Données	DPNI	DPNI (DCT1 HR)
Se	100%	100%
Sp	99,8%	99,8%
VPP	**86,4%**	**94,7%**
VPN	100%	100%

Avec le DPNI, lorsque le DTC1 est à haut risque, c'est à dire ≥1/250, la VPP (probabilité que le fœtus soit atteint de Trisomie 21 quand le test DPNI est Positif) augmente : elle passe de 86,4%, tout risque confondu, à 94,7% lorsque le DCT1 est à risque accru. Cela signifie que le test se positive plus souvent quand les marqueurs DCT1 sont à haut risque.

- **Statistiques du test de dépistage DCT1 en fonction du seuil sélectionné (HR, MR, BR, TBR) dans la population primaire en 2012, 2013 et 2014**

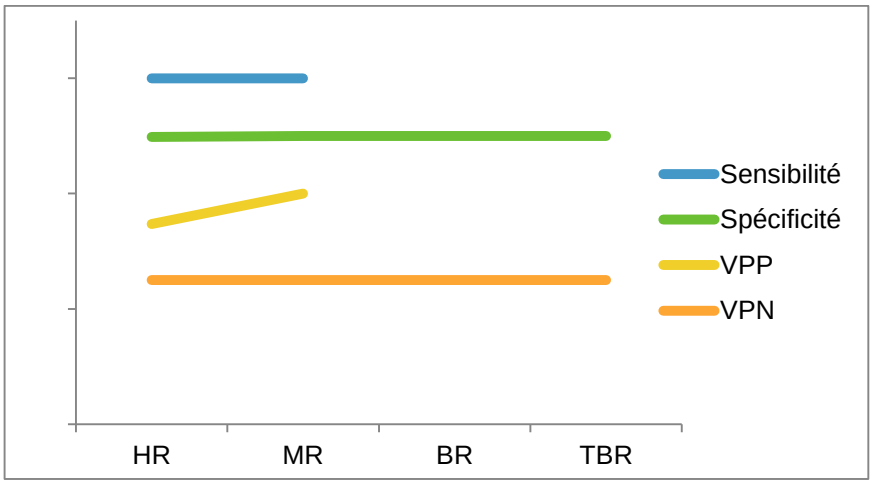
DCT1	HR (1-250)	MR (251-500)	BR (501-1000)	TBR (>1000)	Tout risque
Se	100 %	0 %	0 %	-	95,9 %
Sp	100 %	100 %	100 %	100 %	77,4 %
VPP	**6,6 %**	**0 %**	**0 %**	-	**6,6 %**
VPN	100 %	99,4 %	100 %	99,9 %	99,9 %
FP	**1 311**	0	0	0	**1 311**
FN	0	**3**	0	**1**	**4**

Le DCT1 a une VPP qui chute si on décale le seuil : il est donc essentiel de se focaliser sur les patientes à haut risque. Avant 2013, seules les patientes à HR se voyaient proposer un DI afin d'étudier le caryotype fœtal.

Le nombre de FP est conséquente (1 311).

- **Statistiques du test de dépistage DPNI en fonction du seuil sélectionné (HR, MR, BR, TBR) dans la population primaire en 2012, 2013 et 2014**

DPNI	HR (1-250)	MR (251-500)	BR (501-1000)	TBR (>1000)	Tout risque
Se	100%	100%	-	-	100%
Sp	99,8%	100%	100%	100%	99,8%
VPP	**94,7%**	**100%**	-	-	**86,4%**
VPN	100%	100%	100%	100%	100%
FP	1	0	0	0	1
FN	0	0	0	0	0



On remarque que les valeurs statistiques du DPNI restent excellentes quand elles sont calculées à différents seuils du test DCT1. Cela signifie que le DPNI peut être proposé aux patientes ayant un risque par exemple de 1/50, 1/250, 1/450, et au-delà sans que cela modifie la pertinence des valeurs statistiques du DPNI. Ce tableau récapitulatif du DPNI en fonction des risques (DCT1) montre qu'il est pertinent de proposer ce test plutôt qu'un diagnostic invasif aux patientes ayant un risque de Trisomie allant jusqu'à 1/1 000. De plus, quand tous les risques sont confondus, les valeurs statistiques sont aussi intéressantes car la VPP est à 86,4 %. En théorie, on peut donc supposer que le DPNI pourrait prendre la place du DCT1 (VPP = 11,7 %).

- **En ce qui concerne le DI dans la population primaire :**

En 2012 : 1 177 DI ont été effectués cette année, soit 41,6 % des patientes.

En 2013 : 994 DI ont été effectués soit 28,4 % des femmes cette année.

En 2014 : 467 DI ont été effectués soit 17,9 % des patientes.

Donc en 33 mois d'activité au Centre de DPN de l'AHP, le pourcentage de diagnostics invasifs (41,6 %, puis 28,5% et enfin 17,9 %) diminue de façon significative ($p<0,0001$) depuis que le DPNI est proposé au centre de DPN.

- **En ce qui concerne le risque de fausses couches :**

Le pourcentage théorique de fausses couches induites suite à un geste invasif est estimé à moins de 0,5 % dans la littérature[33, 34].

Donc en théorie, on aurait pu observer au fil des années (de 2012 à 2014) une diminution des fausses couches :

- En 2012, 5,9 FC théoriques auraient pu être observées, soit **0,2 %** des grossesses en 2012 (pour 2807 patientes), lorsque l'on estime le taux de fausses couches à 0,5 %.
- En 2013, 5 FC théoriques auraient pu être observées, soit **0,14 %** des grossesses en 2013 (pour 3456 patientes), lorsque l'on estime le taux de fausses couches à 0,5 %.
- En 2014, 2,3 FC théoriques auraient pu être observées, soit **0,08 %** des grossesses en 2014 (pour 2600 patientes), lorsque l'on estime le taux de fausses couches à 0,5 %.

Cette diminution du nombre de FC observée n'est pas significative (entre 2012 et 2014 : $p = 0,97$).

- **En ce qui concerne le DPNI dans la population primaire :**

En 2013, 738 DPNI ont été effectués (21,4% des femmes) : il y a donc eu 61,5 DPNI/mois en moyenne en 2013.

Cependant, en 2014, 961 DPNI ont été pratiqués en 9 mois (du 02/01/2014 au 25/09/2014) soit 40,0%, ce qui donne un nombre de DPNI mensuel à 106,7/mois en 2014 contre 61,5/mois en 2013. Cette augmentation croissante et significative de l'utilisation du DPNI ($p<0,0001$) au sein de ce Centre, peut s'expliquer par la promotion du DPNI en France en ce qui concerne ses points positifs : c'est un test facile en pratique, rapide et non invasif. De plus, en 2013, l'AHP était le seul Centre de DPN, à même de proposer ce test de dépistage en France (législation Américaine). Les professionnels de

santé sont de plus en plus nombreux à comprendre, connaître la technique du DPNI et peuvent mieux l'expliquer et le recommander à leurs patientes, demandeuses de cette réforme innovante plutôt que de recourir au diagnostic invasif afin de connaître le caryotype de leur fœtus en pratiquant une PLA ou une BT. Ce succès s'observe par ces chiffres ($p< 0,0001$) : augmentation de 61,5 à 106,7 par mois en seulement un an.

- **En ce qui concerne la T21**

97 Trisomiques retrouvés sur cette période ont eu un test DCT1.

93 de ces 97 Trisomiques 21 appartiennent à un groupe à risque accru (soit 95,9% à HR) : il y a 4 FN.

3 Trisomiques appartiennent au groupe à moyen risque (3,1% MR).

Aucun n'a été retrouvé dans le groupe à bas risque (BR).

1 fœtus porteur de trisomie 21 est retrouvé dans le groupe à très bas risque (1% à TBR).

Le nombre de faux négatifs, permet de remettre en cause la place légitime du DCT1 quand un test plus performant, le DPNI, diminue le nombre de faux négatifs (0 contre 2) et de faux positifs (3 contre 592).

VII. DISCUSSION

1) Résumé des principaux résultats

Cette étude a permis de montrer que le nombre de diagnostics invasifs diminue de façon significative (p<0,0001) de 2012 à 2014 : 42% en 2012, 28% en 2013 et 18% en 2014, depuis que le DPNI est proposé au centre de diagnostic prénatal de l'Hôpital Américain de Paris (année d'apparition en 2013).

Le DPNI associé au geste invasif (DPNI->DI) est moins délétère que le DCT1 associé au geste invasif (DCT1->DI). Une diminution théorique des fausses-couches est déduite. Celle-ci est non significative.

Le DPNI prouve donc son importance et sa pertinence dans le dépistage actuel de la Trisomie 21 car il réduit les morbidité et mortalité maternelles et fœtales.
Le DPNI est majoritairement pratiqué dans cette étude après que le test DCT1 ait été effectué (DCT1 -> DPNI : 82% en 2013 et 89% en 2014). Il est ici secondaire au DCT1.
Une étude où le DPNI est utilisé en première ligne a été publiée par Diana Bianchi.

Le DCT1 identifie 95,9% des fœtus trisomiques et les place dans un groupe à risque. Donc le DCT1 associé au DI (en 2012) ne dépiste pas **4,1%** des fœtus trisomiques. (0% sont dans le MR, **3,1% sont dans le BR et 1% dans le TBR**).

La première hypothèse de cette étude est donc validée : le DPNI est moins délétère que le dépistage actuel de la Trisomie 21 (DCT1+/- DI).

Données	DCT1	DPNI
Sensibilité Se	97,5%	**100%**
Spécificité Sp	18,9%	**50%**
VPP	**11,7%**	**85,7%**
VPN	98,5%	**100%**
FP	592	**3**
FN	2	**0**

La comparaison des valeurs statistiques des deux tests de dépistage, DCT1 et DPNI, montre bien la valeur ajoutée du DPNI par rapport au DCT1 seul : le DPNI est un test de dépistage supérieur et plus performant que le DCT1 proposé jusqu'ici en systématique.

Le DPNI reste performant quand le seuil fixé à 1/250 est décalé, il est utilisable jusqu'à 1/1000 sans perdre sa puissance : ses valeurs statistiques ne changent pas.
De plus, le nombre de faux positifs diminue de façon significative (FP : p=0,0004) mais pas le nombre de faux négatifs (p=0,22).

La deuxième hypothèse de cette étude est donc validée : les valeurs statistiques du DPNI sont supérieures à celles du DCT1. Ce nouveau test de dépistage des aneuploïdies défend sa place légitime au sein de l'algorithme de dépistage actuel.

2) Discussion des résultats

Avant la découverte du DPNI, la recherche d'anomalies chromosomiques par un geste invasif, dont la Trisomie 21, est décidée en fonction du résultat du DCT1, et surtout selon un seuil, fixé à ≥1/250. Le groupe à risque accru de Trisomie 21 comprend les patients dont le résultat du DCT1 se situe entre 1/2 et 1/250. Cette limite a été élaborée afin de diminuer le nombre de patientes exposées à un risque de prélèvement invasif. Seul ce groupe se voyait proposer une poursuite de la recherche par l'établissement du caryotype fœtal après un prélèvement invasif.

Ainsi, les complications possibles liées au geste invasif étaient possibles pour 21% des grossesses placées dans ce groupe à HR (DCT1) et non pour l'ensemble de la population. En effet, 21% des patientes en 2012, 2013 et 2014 appartenaient au groupe à HR, soit 1514 patientes sur cette période d'étude.

Le DPNI consistant en une prise de sang maternel sans risque pour la grossesse, il est possible de réévaluer ce seuil de dépistage de 1/250 afin de retrouver un plus grand nombre de fœtus trisomiques (4,1% des fœtus trisomiques ne sont pas retrouvés avec le DCT1 seul).

De plus, le DPNI est probablement moins anxiogène pour les couples que le dépistage actuel proposé par le DCT1. En effet, un couple ayant un résultat DPNI négatif peut être soulagé et investir la grossesse plus tôt et sans angoisse (le DPNI peut être fait dès 10 SA) : il n'y a aucun faux négatif dans cette étude. Des faux négatifs ont cependant été retrouvés dans d'autres études portant sur le DPNI.

Grâce à son taux de dépistage significativement plus élevé et à son taux de FP bien moindre que le DCT1 seul (1 311 FP avec le DCT1 contre 3 avec le DPNI), le DPNI doit être pensé comme étant le meilleur test de dépistage pour les trois anomalies chromosomiques les plus fréquentes : les Trisomies 13, 18 et 21.

Si le DPNI reste un dépistage de **seconde ligne dans l'arbre décisionnel actuel,** donc proposé après résultat du DCT1, il serait peut-être envisageable d'évaluer la prise en

charge selon chaque patiente. Si la patiente est à HR et si le dépistage échographique n'a montré aucune anomalie, il est possible d'envisager le DPNI comme test de seconde ligne. Ainsi, un moindre nombre de patientes risque les potentielles complications liées au prélèvement invasif. Si la patiente est à HR et que le dépistage échographique a décelé une anomalie, (ex : hyperclarté nucale entre le 95° et 99° percentile), il est préférable de s'orienter vers un prélèvement invasif d'emblée (le DPNI ne dépiste pas toutes les anomalies). Si la patiente n'appartient pas à un groupe à risque accru de T21 (MR, BR, TBR), il faut la rassurer (seulement 4,5% des trisomiques se trouvent au-delà de 1/250). Mais, si cette patiente a des antécédents familiaux d'anomalies chromosomiques ou de translocations robertsoniennes, si elle est très anxieuse face au résultat du DCT1, si elle a une grossesse gémellaire, il est probablement préférable de considérer un DPNI plutôt qu'un prélèvement invasif. Les données de la littérature (Diana Bianchi) ne mettent pas en évidence une augmentation du nombre de faux positifs dans le bas risque mais une diminution de la VPP.

L'objectif principal de l'entrée du DPNI dans le dépistage actuel des anomalies chromosomiques est de réduire les morbidité et mortalité maternelle et fœtale liées au prélèvement invasif, et donc de ne proposer qu'exceptionnellement l'accès au caryotype fœtal par un prélèvement invasif. Le DI devrait être envisagé si le résultat du DPNI est positif et si le dépistage échographique décèle des signes d'appel.

En faisant l'hypothèse que le DPNI remplace un jour le DCT1 et soit un test de dépistage de **première ligne**, il faut évaluer les impacts médicaux, techniques, éthiques et économiques qu'auraient les centres de DPN à ne plus faire le DCT1. Eliminer le DCT1 de l'algorithme de dépistage néglige-t-il d'autres anomalies ?

Ces résultats ne peuvent être généralisables à la population générale. En effet, la proportion de fœtus atteints de Trisomie 21 (2,2%) est bien moins importante que le nombre de fœtus sains. Il aurait été idéal de proposer une étude où l'on connaît toutes les issues de grossesse de chaque patiente : IMG, naissance vivante avec un examen clinique qui diagnostique une Trisomie 21, naissance vivante avec un examen clinique normal. Afin de montrer qu'un test de dépistage (le DCT1 et le DPNI) prime sur l'autre, il faut que chaque patiente ait eu deux tests : le test de dépistage (le DCT1 et le DPNI)

et un test diagnostic nommé Gold Standard ou test de référence (le caryotype ou un examen clinique à la naissance). Ce Gold Standard permet de rendre un diagnostic sûr de la pathologie : on est sain ou atteint de façon certaine (à 100%). Or, dans cette étude, les patientes ayant eu un résultat négatif au test DPNI, n'ont pas eu de caryotype après le test de dépistage DPNI et le recueil de données ne permet pas de connaître la conclusion de l'examen clinique des nouveau-nés fait en salle de naissance.

L'étude idéale aurait été de faire une prise de sang pendant la grossesse à la recherche d'ADN fœtal circulant dans le sang maternel, et de suivre toutes les patientes et leurs grossesses ayant bénéficié du DPNI. Tous les résultats positifs ont été suivis.

Si le résultat du DPNI est positif, il faut envisager un prélèvement invasif afin d'établir le caryotype foetal. Il aurait fallu récupérer le résultat du caryotype et notifier toutes les issues de grossesse (IMG, grossesse poursuivie, FP).

Si le résultat du DPNI est négatif, la grossesse est suivie normalement et chaque issue de grossesse doit être recueillie (IMG, grossesse poursuivie, FN).

Tous les nouveaux nés dont la mère a bénéficié du DPNI pendant la grossesse doivent être examinés à la recherche de signes cliniques de Trisomie 21 : dysmorphie faciale, microcéphalie, épicanthus, hypertélorisme, macroglossie, aplasie des os propres du nez, hypotonie, membres courts, malformations cardiaque, digestive, oculaire...

Seul l'examen clinique (Gold Standard) permet d'interpréter les résultats de ce nouveau dépistage DPNI. Sans ce test de référence, on ne peut différencier de façon certaine les fœtus dépistés in utéro « sains », des « atteints », des « faux positifs », des « faux négatifs ».

Cependant, ces résultats peuvent tout de même être pris en compte. En effet, si un faux négatif avait été identifié à la naissance, l'Hôpital Américain aurait été informé.

3) Limites et biais

Le principal biais est que cette étude ne présente pas de Gold Standard : toutes les patientes ayant bénéficié du DPNI n'ont pas eu de caryotype, et tous les fœtus n'ont pas été examinés à la recherche de signes cliniques de la Trisomie 21.
En effet, le test de référence ou Gold Standard tel que le caryotype est trop invasif pour être applicable à toutes les grossesses. Le risque de fausse couche ne peut permettre d'envisager un prélèvement invasif, afin d'établir le caryotype fœtal, comme test de référence.

Cependant, un autre test de référence comme l'examen clinique à la naissance ou en suites de couches de chaque nouveau-né, peut être envisagé, afin que l'étude du DPNI soit rigoureuse et rende des résultats généralisables à la population générale. Cette étude n'a pas recueilli l'examen clinique des nouveau-nés fait en salle de naissance ou en suites de couches : on ne connaît pas l'état clinique des enfants. Il faut que le test étudié (DPNI) et le test de référence (caryotype ou examen clinique) soient indépendants l'un de l'autre.

Dans cette étude, le test de référence (le caryotype ou l'examen clinique) n'est pas appliqué à toutes les patientes. Ceci entraîne donc un biais de vérification important. Plus précisément, il s'agit d'un biais de vérification partiel : le Gold Standard n'a été appliqué qu'aux fœtus dont le DPNI est revenu positif. On peut observer une augmentation des faux négatifs et des vrais négatifs.

Cette étude présente un biais de sélection. En effet, cette étude est uni centrique. Toutes les patientes sélectionnées : entre 25 et 45 ans, ayant une grossesse singleton, ou gémellaire devenue singleton, sont venues au centre de DPN de l'AHP entre le 1er Janvier 2012 et le 25 Septembre 2014. Seul ce centre proposait le DPNI en 2013 en France.

Cette étude présente aussi un biais d'information. En effet, le recueil de données de l'AHP ne reporte par les examens cliniques des enfants à la naissance, ce qui aurait permis de conclure sur les faux négatifs et les vrais négatifs.

4) Implications et perspectives

Le DPNI ayant fait ses preuves, la question d'actualité porte sur la place légitime de ce nouveau test dans l'algorithme actuel de dépistage des anomalies chromosomiques, dont la Trisomie 21.

Est-il pertinent de faire deux tests de dépistage : le DCT1 puis le DPNI dans les maternités en France ?

En effet, le DPNI ayant montré sa supériorité en terme de dépistage prendra peut-être un jour la place du DCT1 et ne sera plus un examen sanguin de seconde ligne. Maintenir les deux tests induirait un surcoût pour les patientes et l'économie de la Santé.

Afin de répondre à ces questions d'actualité, il est nécessaire d'évaluer les conséquences de l'arrêt du DCT1 dans l'algorithme. De plus, une étude en économie de la santé pourrait évaluer l'intérêt à supprimer cette première prise de sang.
Deux prises de sang : pourquoi ne pas en effectuer une seule et la meilleure ?

Il faut garder à l'esprit que le DPNI ne dépiste pas toutes les anomalies chromosomiques, micro-délétions et anomalies en mosaïque. C'est pourquoi, il est essentiel que le DPNI soit un complément à l'échographie : celle-ci reste essentielle au dépistage d'autres pathologies que les anomalies chromosomiques fréquentes : le DPNI ne remplace en aucun cas l'échographie fœtale de dépistage.

Il est important que les indications du DPNI restent limitées. En effet, il ne s'agit pas de « tout savoir » et de tout connaître du fœtus avant sa naissance maintenant que la recherche a accès à l'ADN fœtal. Seul le dépistage des pathologies dites d'une particulière gravité, comme celles dépistées actuellement doit être fait. Des dérives eugénistes et théorie de l'enfant « parfait » pourraient découler de cet accès à l'ADN fœtal si ces limites ne sont pas clairement fixées par le Comité Consultatif National d'Ethique.

Question d'ouverture

Aspect économique

Après avoir démontré l'innocuité et l'extrême sensibilité du DPNI, une autre question subsiste : est-ce que le DPNI coûte moins cher ? Si l'algorithme de dépistage de la Trisomie 21 actuel est revisité, Il est peut-être moins onéreux de proposer un DPNI plutôt que le DCT1 suivi d'un prélèvement invasif. Le DPNI permet de diminuer le nombre de gestes invasifs et leur risque d'hospitalisation (rupture prématurée des membranes, fausses couches), qui sont des frais économiques pour les établissements de santé. Une étude belge a montré que le DPNI devrait coûter 130 euros pour ne pas être néfaste pour l'économie de la Santé.[35]

Actuellement, le DPNI coûte 650 euros mais n'est pas pris en charge par la Sécurité Sociale. Ce non-remboursement pose le problème de la non-accessibilité de ce test innovant à tous les couples.

Quels sont les impacts économiques de l'incorporation du DPNI dans les centres de diagnostics anténataux en France ? Le DPNI coûte-t-il vraiment plus cher que le dépistage combiné du premier trimestre associé au diagnostic invasif ?
- Pour cela, il faut étudier l'évolution du coût du DPNI depuis sa découverte et le comparer au coût du dépistage combiné du premier trimestre associé au diagnostic invasif et aux possibles complications (frais d'hospitalisation en cas de rupture prématurée des membranes, d'infection, de fausses couches) [35, 36, 37]. Il s'agit d'une avancée remarquable pour le DPN en France, mais son utilisation nécessite d'évaluer sa répercussion économique.

Aspect éthique

Le droit de ne pas savoir

Le Comité Consultatif National d'Ethique CCNE a rendu un avis (Avis n° 120) le 25 Avril 2013[5]. Le CCNE est favorable à l'entrée du DPNI dans les centres de Dépistage Prénatal en France. Cependant, ce nouveau test de dépistage ne peut être envisagé que pour les patientes à risque accru de Trisomie 21, c'est-à-dire pour celles qui ont fait le Dépistage Combiné du Premier Trimestre et dont le résultat les place dans ce groupe à risque. L'entrée du DPNI au sein de l'algorithme actuel a des répercussions. En effet, une utilisation abusive voire eugéniste du DPNI pourrait avoir des conséquences néfastes sur le respect de l'humain. Peut-on tout connaître d'un être vivant non encore né, le fœtus ? A t'on le droit de rechercher son ADN et de l'étudier sous prétexte du dépistage d'anomalies chromosomiques ? Quelles sont les répercussions éthiques de l'implantation de ce DPNI dans l'algorithme actuel de dépistage ?

La recherche sur la Trisomie 21 est en constante évolution et cherche à devenir de plus en plus efficiente à la recherche de la perfection.

En France, à l'Hôpital Necker à Paris, une étude en cours, SAFE 21, permet d'évaluer le DPNI et son entrée dans l'algorithme actuel.

5) Conclusion

Le DPNI, Dépistage Prénatal Non Invasif, étudie l'ADN fœtal libre circulant dans le sang maternel et permet d'identifier des fœtus atteints d'anomalies chromosomiques, et notamment la Trisomie 21.

Cette avancée scientifique a plusieurs impacts : scientifique, technique, médical, éthique et financier dans les centres de Dépistage Prénatal en France. Cette étude permet de montrer l'intérêt des Centres de DPN à utiliser le DPNI.

Grâce au DPNI, le nombre de prélèvements invasifs, l'amniocentèse et la biopsie de trophoblaste, diminue de façon considérable ($p<0,0001$). De cette diminution des gestes invasifs, découle une réduction du nombre de complications possibles liées à ce prélèvement invasif comme le risque de fausse couche évalué à moins de 0,5%.
Cette diminution significative des gestes invasifs s'observe depuis l'entrée du DPNI au sein des centres de Diagnostic Prénatal, en 2013 à l'Hôpital Américain de Paris.
De plus, les valeurs statistiques du DPNI sont supérieures à celles du Dépistage Combiné du Premier Trimestre proposé en systématique aux patientes enceintes de 11 à 13 SA + 6 jours depuis 2010. La sensibilité du test DPNI est de 99,1% et la spécificité de 99,9%.

Cette découverte innovante nécessite d'être étudiée en France (étude en cours SAFE 21 à l'Hôpital Necker, Paris) avant d'être proposée aux patientes et de décider de sa place définitive dans l'algorithme de dépistage des aneuploïdies fœtales et notamment, la Trisomie 21 qui est la plus courante.

VIII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Wellesley D, Dolk H, Boyd PA, Greenlees R, Haeusler M, Nelen V, et al. Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe. Eur J Hum Genet. 2012 May;20(5):521–6.

2. INPES, Ministère de la Santé. Le dépistage et le diagnostic de la trisomie 21 [Internet]. INPES; http://www.inpes.sante.fr/CFESBases/catalogue/pdf/1310-3b.pdf

3. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. Lancet. 1997 Aug 16;350(9076):485–7.

4. Coste M. Le Diagnostic Prénatal Non Invasif (DPNI) : actualité sur les tests prénataux de dépistage et de diagnostic [Internet]. Paris; 2013 Jan p. 1–2. http://www.cngof.asso.fr/D_TELE/130128_DPNI_Com_presse.pdf

5. Basset C, Beaufils F, Dreifuss-netter F. CCNE : Questions éthiques associées au développement des tests génétiques fœtaux sur sang maternel : avis numéro 120. Comité Consultatif National d'Ethique pour les sciences de la vie et de la santé. Avis rendu le 25 avril 2013. http://www.ccne-ethique.fr/sites/default/files/publications/avis-120.pdf

6. Snijders RJ, Sundberg K, Holzgreve W, Henry G, Nicolaides KH. Maternal age- and gestation-specific risk for trisomy 21. Ultrasound Obstet Gynecol. 1999 Mar;13(3):167–70.

7. HAS. Evaluation des stratégies de dépistage de la Trisomie 21 Recommandation en santé publique Juin 2007. HAS; 2007.

8. Kagan KO, Wright D, Valencia C, Maiz N, Nicolaides KH. Screening for trisomies 21, 18 and 13 by maternal age, fetal nuchal translucency, fetal heart rate, free beta-hCG and pregnancy-associated plasma protein-A. Hum Reprod. 2008 Sep;23(9):1968–75.

9. Evaluation nationale : Dépistage combiné de la trisomie 21 au 1er trimestre en France, Résultats nationaux de janvier 2010 à décembre 2012, Agence de la Biomédecine. 2012

10. Lau TK, Cheung SW, Lo PSS, Pursley AN, Chan MK, Jiang F, et al. Non-invasive prenatal testing for fetal chromosomal abnormalities by low-coverage whole-genome sequencing of maternal plasma DNA: review of 1982 consecutive cases in a single center. Ultrasound Obstet Gynecol. 2014 Mar;43(3):254–64.

11. Wang E, Batey A, Struble C, Musci T, Song K, Oliphant A. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma. Prenat Diagn. 2013 Jul;33(7):662–6.

12. Taglauer ES, Wilkins-Haug L, Bianchi DW. Review: cell-free fetal DNA in the maternal circulation as an indication of placental health and disease. Placenta. 2014 Feb;35 Suppl:S64–8.

13. Alberry M, Maddocks D, Jones M, Abdel Hadi M, Abdel-Fattah S, Avent N, et al. Free fetal DNA in maternal plasma in anembryonic pregnancies: confirmation that the origin is the trophoblast. Prenat Diagn. 2007 May;27(5):415–8.

14. Bianchi DW, Parker RL, Wentworth J, Madankumar R, Saffer C, Das AF, et al. DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening. N Engl J Med. 2014 Feb 27;370(9):799–808.

15. Gil MM, Quezada MS, Bregant B, Ferraro M, Nicolaides KH. Implementation of maternal blood cell-free DNA testing in early screening for aneuploidies. Ultrasound Obstet Gynecol. 2013 Jul;42(1):34–40.

16. Bianchi DW, Platt LD, Goldberg JD, Abuhamad AZ, Sehnert AJ, Rava RP, et al. Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. Obstet Gynecol. 2012 May;119(5):890–901.

17. Chiu RWK, Akolekar R, Zheng YWL, Leung TY, Sun H, Chan KCA, et al. Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study. BMJ. 2011;342:c7401.

18. Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE, Neveux LM, Ehrich M, et al. DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: an international clinical validation study. Genet Med. 2011 Nov;13(11):913–20.

19. Bussières L, Rozenberg P, Bault J-P, Ville Y, Echo PAPP-A.78 study. First trimester Down syndrome screening program using nuchal translucency and maternal serum markers: the Echo PAPP-A.78 study. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris). 2004 Feb;33(1 Suppl):S61–6.

20. Zimmermann B, Hill M, Gemelos G, Demko Z, Banjevic M, Baner J, et al. Noninvasive prenatal aneuploidy testing of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y, using targeted sequencing of polymorphic loci. Prenat Diagn. 2012 Dec;32(13):1233–41.

21. Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, Hudgins L, Quake SR. Analysis of the size distributions of fetal and maternal cell-free DNA by paired-end sequencing. Clin Chem. 2010 Aug;56(8):1279–86.

22. Smith M, Lewis KM, Holmes A, Visootsak J. A Case of False Negative NIPT for Down Syndrome-Lessons Learned. Case Rep Genet. 2014;2014:823504.

23. Van den Berg M, Timmermans DRM, Kleinveld JH, Garcia E, van Vugt JMG, van der Wal G. Accepting or declining the offer of prenatal screening for congenital defects: test uptake and women's reasons. Prenat Diagn. 2005 Jan;25(1):84–90.

24. Bianchi DW. Circulating fetal DNA: its origin and diagnostic potential-a review. Placenta. 2004 Apr;25 Suppl A:S93–101.

25. Bianchi DW, Oepkes D, Ghidini A. Current controversies in prenatal diagnosis 1: should noninvasive DNA testing be the standard screening test for Down syndrome in all pregnant women? Prenat Diagn. 2014 Jan;34(1):6–11.

26. Canick JA, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE, Ehrich M, van den Boom D, et al. DNA sequencing of maternal plasma to identify Down syndrome and other trisomies in multiple gestations. Prenat Diagn. 2012 Aug;32(8):730–4.

27. Tucker T, Marra M, Friedman JM. Massively parallel sequencing: the next big thing in genetic medicine. Am J Hum Genet. 2009 Aug;85(2):142–54.

28. Senat MV, Rozenberg P, Bernard JP, Ville Y. [Trisomy 21 screening: value of ultrasound and serum markers in a combined approach]. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris). 2001 Feb;30(1):11–27.

29. Kagan KO, Wright D, Valencia C, Maiz N, Nicolaides KH. Screening for trisomies 21, 18 and 13 by maternal age, fetal nuchal translucency, fetal heart rate, free beta-hCG and pregnancy-associated plasma protein-A. Hum Reprod. 2008 Sep;23(9):1968–75.

30. Muller F, Dreux S, Czerkiewicz I, Bernard M, Guibourdenche J, Lacroix I, et al. [Down syndrome maternal serum screening: results' comments recommended by accredited biologists]. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris). 2014 Nov;43(9):671–9.

31. Biomnis : Dépistage de la trisomie 21 fœtale. Bilan 2010-2012. 2013

32. Guide pratique de l'échographie obstétricale et gynécologique. Gilles Granger, Frédéric Bargy. Guide Broché. 2012.

33. Akolekar R, Beta J, Picciarelli G, Ogilvie C, D'Antonio F. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. Ultrasound Obstet Gynecol. 2015 Jan;45(1):16–26.

34. Odibo AO, Gray DL, Dicke JM, Stamilio DM, Macones GA, Crane JP. Revisiting the fetal loss rate after second-trimester genetic amniocentesis: a single center's 16-year experience. Obstet Gynecol. 2008 Mar;111(3):589–95.

35. Hulstaert F, Neyt M, Gyselaers W. Test prénatal non invasif pour la Trisomie 21. Belgique: KCE; 2014. Report No.: KCE REPORT 222Bs.

36. Neyt M, Hulstaert F, Gyselaers W. Introducing the non-invasive prenatal test for trisomy 21 in Belgium: a cost-consequences analysis. BMJ Open. 2014 Nov 7; 4(11):e005922–e005922.

37. Ayres AC, Whitty JA, Ellwood DA. A cost-effectiveness analysis comparing different strategies to implement noninvasive prenatal testing into a Down syndrome screening program. Aust N Z J Obstet Gynaecol. 2014 Oct;54(5):412–7.

IX. ANNEXES

- Annexe 1 : Arrêté du 23 juin 2009

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

La ministre de la santé et des sports,

Vu le code de la santé publique, et notamment ses articles R. 2131-1-1 et R. 2131-2 ;

Sur proposition du directeur général de l'Agence de la biomédecine ;

Vu l'avis du directeur général de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé en date du 20 février 2009,

Arrête :

Article 1

Lors de la consultation médicale prévue à l'article R. 2131-2 du code de la santé publique, 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. Ce dépistage associe le dosage des marqueurs sériques du premier trimestre, réalisé à partir d'un prélèvement sanguin, et les mesures échographiques de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale.

Article 2

Si le dépistage combiné du premier trimestre, mentionné à l'article 1er, n'a pu être réalisé, la femme enceinte est informée de la possibilité de recourir à un dépistage séquentiel intégré du deuxième trimestre. Ce dépistage associe le dosage des marqueurs sériques du deuxième trimestre, réalisé à partir d'un prélèvement sanguin, et les mesures échographiques de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale qui ont été effectuées au premier trimestre.

Article 3

Si le dépistage combiné du premier trimestre, mentionné à l'article 1er, ou le dépistage séquentiel intégré du deuxième trimestre, mentionné à l'article 2, n'ont pu être réalisés, la femme enceinte est informée de la possibilité de recourir à un dépistage par les seuls marqueurs sériques du deuxième trimestre.

Article 4

Les analyses de biochimie portant sur les marqueurs sériques du premier trimestre sont effectuées avec des réactifs et produits réactifs marqués CE, y compris les matériaux associés d'étalonnage et de contrôle, spécifiquement destinés à l'évaluation du risque de trisomie 21.

Ces réactifs permettent au moins le dosage de la protéine plasmatique placentaire de type A (PAPP-A) et de la fraction libre de la chaîne bêta de l'hormone chorionique gonadotrope (sous-unité ß libre de l'hCG).

Article 5

Les analyses de biochimie portant sur les marqueurs sériques du deuxième trimestre sont effectuées avec des réactifs et produits réactifs marqués CE, y compris les matériaux associés d'étalonnage et de contrôle, spécifiquement destinés à l'évaluation du risque de trisomie 21.

Ces réactifs permettent au moins le dosage de la gonadotrophine chorionique humaine (hCG totale) ou de la sous-unité ß libre de l'hCG et de l'alpha-fœto-protéine (AFP) ou de l'œstriol non conjugué.

Article 6

Dans le cadre du dépistage combiné du premier trimestre, les mesures de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale sont effectuées préalablement aux analyses de biochimie portant sur les marqueurs sériques.

Ce dépistage combiné du premier trimestre repose sur un calcul de risque effectué par un logiciel d'évaluation du risque marqué CE spécifiquement adapté aux réactifs utilisés.

Le calcul de risque est réalisé par un praticien agréé pour effectuer les analyses mentionnées au 6° de l'article R. 2131-1.

Article 7

Dans le cadre du dépistage combiné du premier trimestre, par dérogation aux dispositions des premier et troisième alinéas de l'article 6 et sans préjudice de son deuxième alinéa :

— les mesures de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale peuvent être effectuées postérieurement aux analyses de biochimie portant sur les marqueurs sériques ;

— le calcul de risque peut être effectué par les praticiens mesurant la clarté nucale.

Ces dérogations sont subordonnées à la conclusion d'une convention, au sein du ou des réseaux de périnatalité concernés, entre les praticiens agréés pour effectuer les analyses mentionnées au 6° de l'article R. 2131-1, ceux mesurant la clarté nucale et le ou les coordinateurs du ou des centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal associés.

Article 8

Le dépistage par les seuls marqueurs sériques du deuxième trimestre, mentionné à l'article 3, repose sur un calcul de risque effectué par un logiciel d'évaluation du risque marqué CE spécifiquement adapté aux réactifs utilisés ou un logiciel d'évaluation du risque mis sur le marché avant le 8 décembre 2003 et mis en service avant le 8 décembre 2005, spécifiquement adapté aux réactifs utilisés.

Le calcul de risque est réalisé par un praticien agréé pour effectuer les analyses mentionnées au 6° de l'article R. 2131-1.

Article 9

Le dépistage séquentiel intégré du deuxième trimestre repose sur un calcul de risque effectué par un logiciel d'évaluation du risque marqué CE, spécifiquement adapté aux réactifs utilisés. Ce calcul de risque est réalisé par un praticien agréé pour effectuer les analyses mentionnées au 6° de l'article R. 2131-1.

Le calcul de risque global peut également être réalisé en multipliant le rapport de vraisemblance de la clarté nucale, établi à partir d'une publication scientifique référencée, et le risque établi à partir des marqueurs sériques mentionnés à l'article 8. Dans ce cas, il peut être également réalisé par le praticien mesurant la clarté nucale ou un praticien membre d'un centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal.

Article 10

Lorsque le dépistage de la trisomie 21 conduit à la réalisation d'un prélèvement à visée diagnostique, la femme enceinte est associée au choix de la technique de ce prélèvement.

Article 11

Les professionnels concourant au dépistage et au diagnostic prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21 adhèrent à un réseau de périnatalité associé à un ou plusieurs centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal.

Article 12

Les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21 sont fixées en annexe du présent arrêté. Les professionnels concourant à ce dépistage ou à ce diagnostic sont soumis à l'ensemble de ces règles.

Article 14

Le directeur général de la santé est chargé de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié au Journal officiel de la République française.

- **Annexe 2 : Consentement de la patiente à l'AHP**



CENTRE PLURIDISCIPLINAIRE DE DIAGNOSTIC PRENATAL
63 Boulevard Victor Hugo- 92200 NEUILLY SUR SEINE
Tel: 01 46 41 28 82 - Fax : 01 46 41 26 56
Centre-diagnostic-prenatal@ahparis.org

CONSENTEMENT ECLAIRE VISIBILIT

Je demande que soit réalisé un dépistage prénatal de trisomie 21 par étude de l'ADN fœtal dans le sang maternel (***VisibiliT***).
Le prélèvement sera fait par le personnel de *l'American Hospital of Paris* et transmis pour analyse au laboratoire SEQUENOM CMM (*Center for Molecular Medicine*) USA, qui est le laboratoire spécialisé ayant aujourd'hui la plus grande expérience dans ce domaine. C'est lui qui fera l'analyse.
Le prix de l'analyse, 500 euros non remboursable par l'assurance maladie en l'état actuel des tests, m'a été communiqué.
Le VisibiliT étudie l'ADN libre circulant dans le sang maternel et est indiqué uniquement pour les grossesses de singleton. L'ADN libre circulant est purifié à partir du plasma d'un prélèvement maternel de sang total prélevé sur anticoagulant. Il est ensuite étudié par séquençage et quantification des marqueurs spécifiques des chromosomes 18, 21 et Y.
Le résultat me sera transmis dans un délai de 8 à15 jours environ, sous forme d'un facteur de risque, soit élevé supérieur à 99/100, soit faible inférieur à 1/10.000. Il me sera commenté par le médecin qui a réalisé le conseil prénatal.
Cela signifie que ce test n'est pas un test diagnostique mais un test de dépistage à haute sensibilité.

Les performances du test VisibiliT ont été déterminées à partir d'études cliniques réalisées dans une cohorte de femmes enceintes dans la population générale.

Performances attendues

Objectif	Performance	Intervalle de confiance (95 CI)
Trisomie 21	Sensibilité : > 99% Spécificité : > 99.9%	80.8-100 % 99.5-100 %
Trisomie 18	Sensibilité : > 99 % Spécificité : > 99.9%	65.6 – 100 % 99.5 – 100 %
Y chromosome	Précision : 99.3%	98.6- 99.7 %

En cas de résultat positif du test VisibiliT, la probabilité que l'enfant soit atteint de l'anomalie diagnostiquée est voisine de 99% mais devra être confirmée par une amniocentèse.

A propos de ce test

Le résultat de ce test ADN ne permet pas toujours de donner un risque définitif. Bien que ses résultats soient extrêmement fiables, de rares erreurs peuvent être dues soit à des séquences inhabituelles d'ADN soit à d'autres raisons inconnues. Les surcharges pondérales importantes ou la notion d'une grossesse initialement gémellaire dont l'un des œufs n'est pas évolutif peuvent réduire la fiabilité du test. Un problème technique (insuffisance d'ADN libre circulant par exemple) peut exceptionnellement nécessiter de prélever la mère une seconde fois. Enfin dans 0,9% des cas le test n'est définitivement pas concluant.

Ce test ne permet pas de détecter les anomalies de structure des chromosomes en dehors de celles citées plus haut. Il ne détecte pas les anomalies chromosomiques situées sur les autres chromosomes que ceux qui sont étudiés. Il ne détecte pas les maladies génétiques.
Il ne permet pas de détecter les rares trisomies 21, ou 18 en mosaïques, en particulier en mosaïques faibles (pas présentes dans toutes les cellules).
L'ADN fœtal étudié étant d'origine trophoblastique, le VisibiliT test ne permet pas de détecter les rares discordances chromosomiques entre fœtus et placenta.
L'ensemble des problèmes exposés ci-dessus m'a été expliqué lors d'une consultation de conseil prénatal.

J'ai eu le temps de lire et de comprendre les informations ci-dessus.

Neuilly le : Signature :

Références:

1- Jensen TJ .et al. PloS One.2013
2- Ehrich M et al. Application of risk-score analysis to low-coverage sequencing data for noninvasive detection of trisomy 21 and trisomy 18. Poster presented at the 19th International Conference on Prenatal Diagnosis and Therapy. July 2014,Brisbane,Australia.

American Hospital of Paris
CENTRE PLURIDISCIPLINAIRE DE DIAGNOSTIC PRENATAL
63 Boulevard Victor Hugo- 92200 NEUILLY SUR SEINE
Tel: 01 46 41 28 82 - Fax : 01 46 41 26 56
Centre-diagnostic-prenatal@ahparis.org

CONSENTEMENT ECLAIRE

Je demande que soit réalisé un dépistage prénatal de trisomie 21 par étude de l'ADN fœtal dans le sang maternel (*MaterniT21 PLUS*).

Le prélèvement sera fait par le personnel de *l'American Hospital of Paris* et transmis pour analyse au laboratoire SEQUENOM CMM (*Center for Molecular Medicine*) USA, qui est le laboratoire spécialisé ayant aujourd'hui la plus grande expérience dans ce domaine. C'est lui qui fera l'analyse.

Le prix de l'analyse, 800 euros non remboursable par l'assurance maladie en l'état actuel des tests, m'a été communiqué.

Le résultat me sera transmis dans un délai de 8 à15 jours environ. Il me sera commenté par le médecin qui a réalisé le conseil prénatal.

Le MaterniT21 PLUS étudie l'ADN libre circulant dans le sang maternel. Ce test est indiqué chez les femmes enceintes présentant un risque accru de trisomie des chromosomes 21, 13 et 18 ou d'anomalie des chromosomes sexuels.

Il permet en outre depuis peu de rechercher des pathologies plus rares telles que *Trisomie 16*, *Trisomie 22*, *syndrome du Cri du chat* (5p-), *syndrome de Di George* (del 22q11), *délétion 1p36*, *syndrome Prader-Willi/Angelman* (del 15q11q12), *syndrome Jacobsen (*del 11q*), syndrome Langer-Giedion (*del 8q*), syndrome Wofl-Hirschhorn (*del 4p)

L'ADN libre circulant est purifié à partir du plasma d'un prélèvement maternel de sang total prélevé sur anticoagulant. Il est ensuite étudié par séquençage et quantification des marqueurs spécifiques des chromosomes étudiés.

Les performances du test *MaterniT21 PLUS laboratory-developed test* (LTD) ont été déterminées à partir d'études cliniques réalisées chez des femmes enceintes à risque accru d'aneuploïdies fœtales en ce qui concerne les chromosomes 21,18 et 13 (1) (2) et par une étude spécifique pour les chromosomes X et Y (3).

Performances attendues pour les chromosomes 21 ; 18 ;13.

Objectif	Performance	Intervalle de confiance (95 CI)
Trisomie 21	Sensibilité : 99.1% Spécificité : 99.9%	96.3 – 99.8 % 99.6 – 99.9 %
Trisomie 18	Sensibilité : > 99.9% Spécificité : 99.6%	92.4 – 100.0 % 99.2 – 99.8 %
Trisomie 13	Sensibilité : 91.7% Spécificité : 99.7 %	59.7 – 99.6 % 99.3 – 99.9 %

Performances attendues pour les chromosomes sexuels

Objectif	Performance	Intervalle de confiance 95%CI)
Aneuploïdies gonosomiques (45,X ;47,XXX ;47XXY ;47XYY)	Sensibilité : 96,2% Spécificité : 99,7%	78,4-99,8% 98,2-100%

Cela signifie que ce test n'est pas un test diagnostique mais un test de dépistage à haute sensibilité.

Il est en général considéré qu'il a la même fiabilité qu'un caryotype fœtal étudié par analyse directe des cellules d'une biopsie de trophoblaste.

A titre d'exemple : chez une patiente présentant un risque accru de trisomie 21 de 1/100, un test MaterniT21 PLUS négatif réduira ce risque à moins de 1/10000, ce qui est très rassurant mais permet de souligner qu'un test négatif ne permet pas d'être absolument certain que le fœtus n'est pas atteint d'anomalie chromosomique.

En cas de résultat positif du test MaterniT21 PLUS, la probabilité que l'enfant soit atteint de trisomie 21 est quasi certaine mais devra être confirmée par une amniocentèse.

Ces données ont été confirmées en Décembre 2012 par les sociétés scientifiques américaines : Collège Américain des Gynécologues et Obstétriciens et la Société Internationale de diagnostic prénatal.

A propos de ce test

Le résultat de ce test ADN ne permet pas toujours de donner un risque définitif. Bien que ses résultats soient extrêmement fiables, de rares erreurs peuvent être dues soit à des séquences inhabituelles d'ADN soit à d'autres raisons inconnues. Les surcharges pondérales importantes ou la notion d'une grossesse initialement gémellaire dont l'un des œufs n'est pas évolutif peuvent réduire la fiabilité du test. Un problème technique (insuffisance d'ADN libre circulant par exemple) peut exceptionnellement nécessiter de prélever la mère une seconde fois. Enfin dans 0,9% des cas le test n'est définitivement pas concluant.

D'après l'expérience du laboratoire ce test peut être utilisé en cas de grossesses multiples. Cette situation pose des problèmes particuliers d'interprétation qui m'ont été expliqués.

Ce test ne permet pas de détecter les anomalies de structure des chromosomes en dehors de celles citées plus haut. Il ne détecte pas les anomalies chromosomiques situées sur les autres chromosomes que ceux qui sont étudiés. Il ne détecte pas les maladies génétiques.
Il ne permet pas de détecter les rares trisomies 21, 13 ou 18 en mosaïques, en particulier en mosaïques faibles (pas présentes dans toutes les cellules).
L'ADN fœtal étudié étant d'origine trophoblastique, le MaterniT21 test ne permet pas de détecter les rares discordances chromosomiques entre fœtus et placenta.
L'ensemble des problèmes exposés ci-dessus m'a été expliqué lors d'une consultation de conseil prénatal.

J'ai eu le temps de lire et de comprendre les informations ci-dessus.

Paris le : Signature :

7 Publications de référence sur le sujet et avis des sociétés scientifiques américaines : (http://www.acog.org/Resources_And_Publications/Committee_Opinions/Committee_on_Genetics/Noninvasive_Prenatal_Testing_for_Fetal_Aneuploidy).

1) Noninvasive detection of fetal trisomy 21 by sequencing of DNA in maternal blood: a study in a clinical setting.Ehrich M, Deciu C, Zwiefelhofer T, Tynan JA, Cagasan L, Tim R, Lu V, McCullough R, McCarthy E, Nygren AO, Dean J, Tang L, Hutchison D, Lu T, Wang H, Angkachatchai V, Oeth P, Cantor CR, Bombard A, van den Boom D.Am J Obstet Gynecol. 2011 Mar;204(3):205.e1-11. Epub 2011 Feb 18.
2) DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: an international clinical validation study.Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE, Neveux LM, Ehrich M, van den Boom D, Bombard AT, Deciu C, Grody WW, Nelson SF, Canick JA.Genet Med. 2011 Nov;13(11):913-20.
3) Noninvasive prenatal detection of sex chromosomal aneuploidies by sequencing circulating cell-free DNA from maternal plasma. Mazloom AR et al. Prenat Diagn. 2013 Jun;33(6):591-7. doi: 10.1002/pd.4127