La trisomie 21 du dépistage au diagnostic

Karine Hecart

▶ **To cite this version:**

Karine Hecart. La trisomie 21 du dépistage au diagnostic. Sciences pharmaceutiques. 2016. dumas-01400725

HAL Id: dumas-01400725

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01400725

Submitted on 22 Nov 2016

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.

UNIVERSITE DE PICARDIE JULES VERNE
FACULTE DE PHARMACIE

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Soutenue publiquement le 20 juin 2016
par
Karine HECART

LA TRISOMIE 21
DU DEPISTAGE AU DIAGNOSTIC

JURY :

Président :	
Monsieur Michel Brazier	Professeur des Universités Praticien Hospitalier UPJV - CHU d'Amiens
Directeur de thèse :	
Monsieur Francis Boitte	Praticien Hospitalier CHU d'Amiens
Membres :	
Monsieur Romuald Mentaverri	Maitre de Conférences Faculté de Pharmacie d'Amiens
Monsieur Jedraszak Guillaume	Assistant Hospitalier Universitaire CHU Amiens

Thèse N° 3053

REMERCIEMENTS

En premier lieu je tiens à remercier Monsieur Francis Boitte, pour avoir accepté d'être le Directeur de cette thèse et avoir accepté de juger mon travail.
Mille fois merci.

Un grand merci également à Monsieur Romuald Mentaverri pour son implication dans ce projet.

Merci à Monsieur Michel Brazier pour m'avoir fait l'honneur d'être Président du jury de cette thèse.

Au secteur de Biologie Endocrinienne et Osseuse du CHU d'Amiens, merci pour toutes ces précieuses informations.

Aux techniciennes du laboratoire de Cytogénétique pour leur accueil et leur gentillesse ainsi qu'à Monsieur Guillaume Jedraszak, merci infiniment pour toute l'aide apportée et pour avoir accepté de faire partie de ce jury.

Au Docteur Acoume, gynécologue obstétricien, pour m'avoir accueillie et fait découvrir l'échographie fœtale.

Mes remerciements vont également à mes parents pour leur soutien durant toutes ces années d'études, pour avoir cru en moi et m'avoir permis d'être ici aujourd'hui. Je vous dois tant et vous en suis plus que jamais reconnaissante.

A ma sœur Marianne et à mon frère Vincent, pour toutes ces belles années passées et à venir à vos cotés.

A Clotaire, pour ta présence chaque jour, pour ton soutien si précieux.

A ma famille ainsi qu'à ma belle famille pour leur gentillesse.

A mes amis, pour ces bons moments partagés ensemble.

Merci à Monsieur Charlet et à mes collègues de la pharmacie pour cette sympathie au travail. C'est un plaisir au quotidien de travailler avec vous.

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS 6

INTRODUCTION 7

Chapitre I : Description de la trisomie 21 8

I – 1 : Découverte de la maladie 8

I – 2 : Données épidémiologiques 8

I – 3 : Etude cytogénétique du syndrome de Down 10
I – 3 – 1 : La trisomie libre 10
I – 3 – 2 : La trisomie en mosaïque 11
I – 3 – 3 : La trisomie par translocation 12

I – 4 : Signes cliniques de la maladie 12
I – 4 – 1 : Retard mental 12
I – 4 – 2 : Hypotonie musculaire 13
I – 4 – 3 : Traits morphologiques 13
I – 4 – 4 : Développement staturo-pondéral 14
I – 4 – 5 : Pathologies fréquentes observées 15

Chapitre II : Le dépistage sérique 17

II – 1 : Les marqueurs biologiques utilisés 17
II – 1 – 1 : hCG et hCG β libre 17
II – 1 – 2 : PAPP-A 20
II – 1 – 3 : AFP 20
II – 1 – 4 : Estriol libre 22
II – 1 – 5 : Inhibine dimérique A 22

II – 2 : Paramètres échographiques : la clarté nucale 23
II – 2 – 1 : Définition 23
II – 2 – 2 : Bonnes pratiques de mesure 25
II – 2 – 3 : Hygroma kystique 29
II – 2 – 4 : Disparité dans la prise des mesures échographiques 29

II – 3 : Dépistage par les marqueurs sériques maternels 30
II – 3 – 1 : Généralités 30
II – 3 – 2 : Réglementations 32
II – 3 – 3 : Facteurs influents sur le calcul de risque 33

II – 4 : Dépistage combiné du premier trimestre 35

II – 5 : Dépistage du deuxième trimestre 36
II – 5 – 1 : Séquentiel intégré ou non 36
II – 5 – 2 : Cas particulier : Grossesse gémellaire 36
II – 5 – 3 : Cas particulier : Procréation Médicalement Assistée 37
II – 5 – 4 : Dépistage tardif 37

II – 6 : Profils atypiques 37

II – 7 : Evolution dans le dépistage la trisomie 21 au fil du temps 39
II – 7 – 1 : Les dates clés de l'évolution 39
II – 7 – 2 : Impact des recommandations de 2009 40
II – 7 – 3 : Perspectives d'avenir 41

II – 8 : Dépistage Versus Diagnostic 43

Chapitre III : La cytogénétique 44

III – 1 : Les prélèvements permettant le diagnostic 44
III – 1 – 1 : La choriocentèse 44
III – 1 – 2 : L'amniocentèse 46
III – 1 – 3 : Ponction de sang fœtal 48

III – 2 : Mise en culture des prélèvements 48

III – 3 : Le caryotype 49
III – 3 – 1 : Méthode de réalisation 49
III – 3 – 2 : Ses limites 53

III – 4 : L'aneuvysion®, alternative au caryotype 54

Chapitre IV : Le dépistage prénatal non invasif 56

IV – 1 : Définition 56

IV – 2 : Les indications de ce dépistage 56

IV – 3 : La technique analytique 57
IV – 3 – 1 : Le prélèvement 58
IV – 3 – 2 : Extraction de l'ADN 59
IV – 3 – 3 : Préparation de la librairie d'ADN et amplification clonale 59
IV – 3 – 4 : Séquençage 60
IV – 3 – 5 : Alignement des séquences d'ADN 61
IV – 3 – 6 : Rendu des résultats du test 61

IV – 4 : Epidémiologie 62

IV – 5 : Avantages et limites du dépistage prénatal non invasif 63

IV – 6 : Evaluation de la place des tests ADN libre circulant 64
IV – 6 – 1 : Les stratégies de dépistage envisagées 64
IV – 6 – 2 : Les études en cours d'évaluation 65
IV – 6 – 3 : Consultation des experts 67
IV – 6 – 4 : Les recommandations internationales 68

Chapitre V : Ethique vis à vis du dépistage de la trisomie 21 et conseils à apporter aux patientes 69

V – 1 : Dépistage et notion d'éthique 69

V – 2 : La fondation Jérôme Lejeune 70

V – 3 : Conseils et soutien à l'officine 71

CONCLUSION 72

ANNEXES 73

BIBLIOGRAPHIE 79

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribonucléique

LH : Hormone Lutéinisante

FSH : Hormone Folliculo-Stimulante

TSH : Hormone Stimulante de la Thyroïde

SA : Semaines d'Aménorrhée

hCG β : Sous-unité β libre de l'hormone Chorionique Gonadotrope

AFP : Alpha Foeto-Protéine

PAPP-A : Pregnancy Associated Plasma Protein A

LCC : Longueur Cranio Caudale

CN : Clarté Nucale

MoM : Multiple de la Médiane

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament

GBEA : Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale

RV : Rapport de Vraisemblance

RC : Risque Combiné

FISH : Hybridation In Situ Fluorescente

VPP : Valeur Prédictive Positive

IMG : Interruption Médicale de Grossesse

MPS : Massively-Parrallel Sequencing

PCR : Réaction en Chaine Polymérase

CCNE : Comité Consultatif National d'Ethique

ACLF : Association des Cytogénéticiens de Langue Française

INTRODUCTION

La trisomie 21, ou Syndrome de Down, est une maladie génétique congénitale due à la présence d'un chromosome surnuméraire (le chromosome 21). C'est l'anomalie chromosomique la plus fréquemment retrouvée chez l'Homme avec une prévalence estimée à un cas pour 700 à 900 grossesses [1], et augmente considérablement avec l'âge maternel.
L'incidence de cette pathologie est aujourd'hui estimée à 0,9 pour mille dans la population générale, ce qui en fait la première cause de retard mental en France.

Découverte au milieu du 19ème siècle, l'origine moléculaire de la pathologie ne sera comprise qu'au milieu du 20ème siècle principalement grâce aux travaux de Jérôme Lejeune, Marthe Gautier et Raymond Turpin.
Depuis, l'espérance de vie de ces patients a considérablement augmenté en raison du progrès de la prise de charge des pathologies associées à la maladie.

Parallèlement les progrès du dépistage prénatal de la trisomie 21 ont permis de réduire sensiblement le nombre de naissances d'enfants atteints de ce syndrome.
Ainsi depuis la mise en place du dépistage systématique en 1997, il n'a cessé d'être perfectionné au fil des années, pour devenir de plus en plus fiable.
Reflétant l'intérêt de ce dépistage, de nombreuses études sont toujours menées actuellement afin de développer de nouvelles approches et d'optimiser les techniques existantes.

Le dépistage de la trisomie 21 fœtale concerne près de 700 000 femmes chaque année en France, ce qui en fait un enjeu de santé publique important. Le but est d'améliorer autant que possible la stratégie de dépistage afin de permettre aux femmes enceintes et aux couples d'avoir une information fiable sur le niveau de risque de trisomie de leur enfant à naitre, tout en évitant les gestes dits invasifs dont le principal est l'amniocentèse, associés à un risque de perte fœtale.

Une approche nouvelle voit le jour actuellement et prendra probablement sa place à l'avenir dans les laboratoires de dépistage de la trisomie 21. Elle porte le nom de DPNI ou Dépistage Prénatal Non Invasif et soulève de nombreuses interrogations auprès de l'ensemble du corps médical qui travaille depuis 1997 avec la méthode de référence : celle des marqueurs biologiques.

Quelle place accorder à cette nouvelle technique ?
Pourra t'elle remplacer le dépistage pratiqué aujourd'hui ?

C'est l'ensemble de ces méthodes, aussi bien de dépistage que de diagnostic de la trisomie 21, que nous étudierons ensemble au travers de ce travail.

Chapitre I : Description de la trisomie 21

I – 1 : Découverte de la maladie

1785 :
J.F. Esquirol parle dans ces écrits d'enfants atteints « d'états de stupeur » qu'il qualifie ensuite d'idiots incurables.

1846 :
Le Docteur E. Seguin propose pour la première fois une description de l'individu porteur de la trisomie 21. Sous le terme de « idiotie furfuracée » il regroupe l'ensemble des caractéristiques morphologiques de ce qui deviendra le Syndrome de Down.

1866 :
Le Docteur Lord Langdon Down à son tour identifie ce syndrome comme étant congénital en proposant une description plus précise. Il donne alors son nom à cette maladie, la caractérisant d'« idiotie mongolienne » et de « mongolisme », par ressemblance au peuple de Mongolie.

1909 :
L'association avec l'âge maternel élevé est mise en évidence.
Le risque de trisomie 21 est exponentiel par rapport à l'âge, il passe d'un cas sur 1500 à 20 ans, à 1 cas sur 100 à 40 ans.

1959 :
Raymond Turpin, Marthe Gauthier et Jérôme Lejeune révèlent l'origine chromosomique de la trisomie 21 : une anomalie du nombre de chromosomes présents sur le caryotype.

2000 :
Quarante années ont été nécessaires pour parvenir à séquencer totalement le chromosome 21.
Il est, contrairement aux autres, pourvu d'une faible quantité de gènes, 225 au total, dont moins de la moitié sont actifs.
Cela explique que la trisomie 21 permet la survie du fœtus et est compatible avec la vie. [2]

I – 2 : Données épidémiologiques

Près de 50 000 personnes en France, 400 000 personnes en Europe et plus de 8 000 000 dans le monde entier sont porteuses de la trisomie 21 [3].

L'incidence de la maladie est de l'ordre d'un cas sur 700 à 900 grossesses. Elle est très influencée par l'âge de la mère au moment de la grossesse.

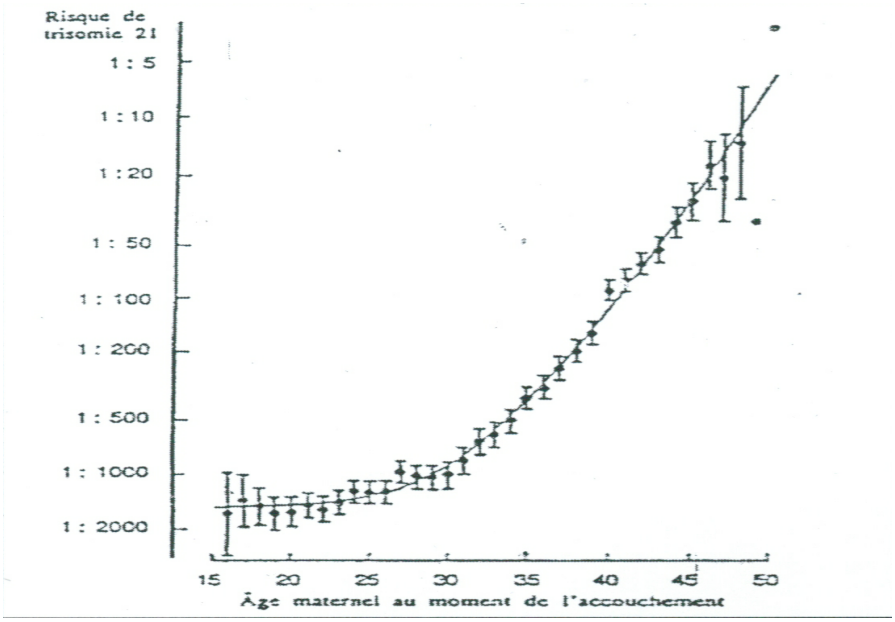


Figure 1 : Augmentation du risque de trisomie 21 en fonction de l'âge maternel

(Dossier de la bioformation ACORATA, Paris, décembre 2014)

Globalement le risque pour une femme d'être porteuse d'un fœtus atteint de la trisomie 21 est estimé à :

- 1/1500 cas à 20 ans
- 1/1000 cas à 30 ans
- 1/400 cas à 35 ans
- 1/250 cas à 38 ans
- 1/100 cas à 40 ans
- 1/50 cas à 45 ans
- 1/28 cas à 50 ans

La prévalence de la maladie tend à se stabiliser dans la population générale française autour de 0,9 pour mille naissances, tandis qu'elle était de 1,3 pour mille dans les années 70 [4].

Cette diminution a pu être observée grâce au dépistage prénatal qui n'a cessé d'être perfectionné au cours des dernières années.

Un tiers des cas de trisomie 21 s'observe chez les femmes de plus de 38 ans. Les garçons sont davantage touchés que les filles; 59% sont des hommes contre 41% de femmes.

L'espérance de vie de ces patients s'est accrue depuis la découverte de la maladie, grâce à la prise en charge des malformations notamment cardiaques et digestives qui entrainaient la mort des patients avant que ceux ci n'atteignent l'âge de 2 ans au début des années 1900 [5].

L'espérance de vie aujourd'hui pour une personne atteinte du syndrome de Down est de 60 ans, contre 20 ans dans les années 50 et 9 ans au moment de la découverte de la trisomie 21.

I – 3 : Etude cytogénétique du Syndrome de Down

La trisomie 21 a pour cause une anomalie du nombre de chromosomes.
Au niveau de la 21ème paire se trouve un troisième chromosome surnuméraire, caractéristique de la pathologie.

Cela s'explique par la non disjonction des 2 chromosomes 21 de la cellule lors de la formation des gamètes maternels ou paternels (le plus souvent l'origine est maternelle) au cours de la méïose. Parfois la non disjonction est mitotique, au cours du développement embryonnaire, et aboutit le plus souvent à une trisomie 21 en mosaïque. Ceci conduit à un caryotype à 47 chromosomes au lieu de 46.

C'est en méiose que 97% des cas de trisomie 21 trouvent leur origine. Elle est maternelle dans 89% des cas, paternelle dans 8% des cas.
3% des cas de trisomie 21 seulement ont pour origine une non disjonction chromosomique lors de la mitose durant le développement embryonnaire.

Au niveau du caryotype, il existe différentes formes de trisomies 21 :

I – 3 – 1 : La trisomie libre

Dans 92% des cas, la trisomie est dite libre, le troisième chromosome 21 est totalement indépendant des autres chromosomes, et homogène puisqu'elle est présente dans toutes les cellules du fœtus. Ceci s'explique par la succession des mitoses d'un zygote anormal à 47 chromosomes.
C'est dans cette situation que le phénotype est le plus complet et le plus sévère.
Dans ce contexte, le risque pour un couple d'avoir un nouvel enfant trisomique est de l'ordre de 1%.

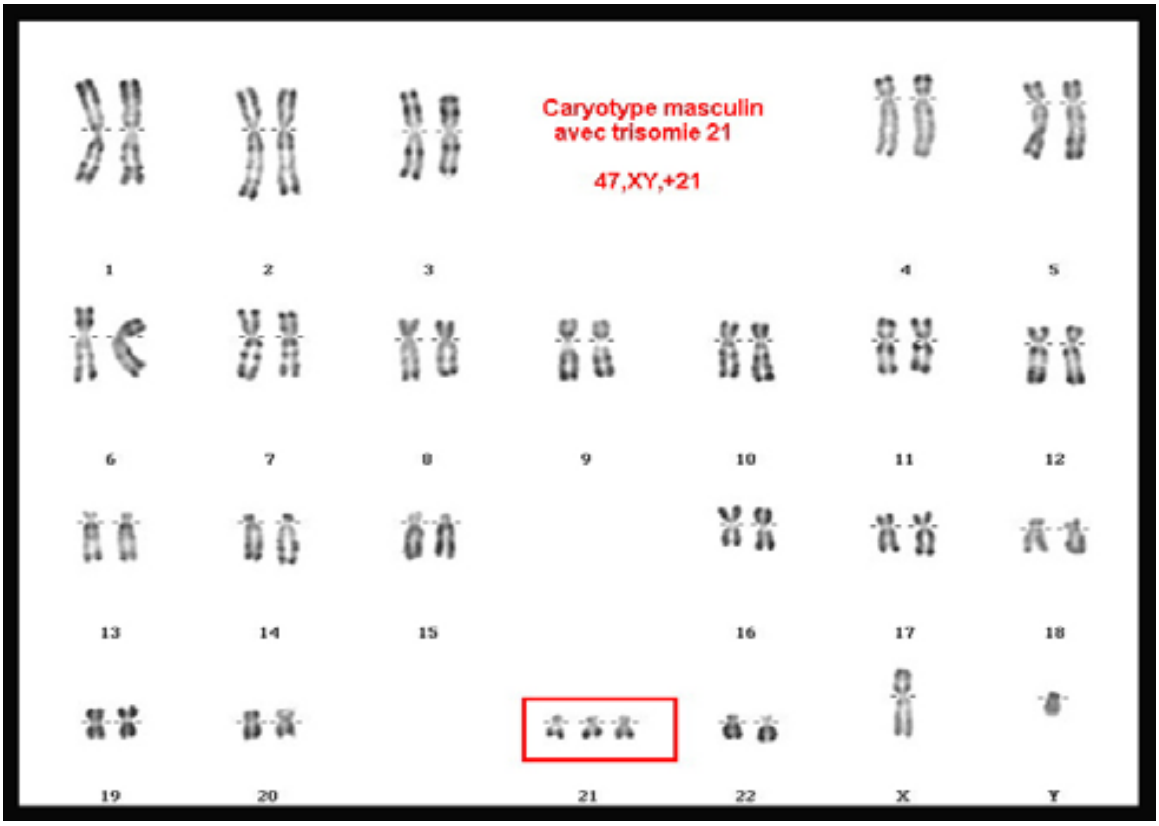


Figure 2 : Caryotype d'une trisomie 21 libre

(http://www.trisomie21alsace.fr/trisomie21/les-differentes-formes-de-trisomie-21/)

I – 3 – 2 : La trisomie en mosaïque

Dans 3% des cas la trisomie est dite en mosaïque ou hétérogène.
Il coexiste deux populations cellulaires différentes : une normale et une porteuse de la trisomie 21, dans des proportions variables selon les patients et les tissus étudiés.
Ceci est du à un accident mitotique, donc post-conceptionnel, entrainant la non-disjonction d'un chromosome lors du développement embryonnaire.
Cet accident aboutit à la formation de deux cellules aneuploïdies : une cellule à 47 chromosomes avec un chromosome 21 surnuméraire, et une cellule avec 45 chromosomes dont un seul chromosome 21. Cette dernière cellule est non viable et ne pourra plus évoluer.
Dans ce cas, le syndrome s'exprime de façon variable selon la proportion et la répartition aléatoire des cellules trisomiques et des cellules saines dans les tissus.
Le morphotype peut être moins marqué que celui d'une trisomie 21 libre.

I – 3 – 3 : La trisomie par translocation

Dans 5% des cas la trisomie n'est pas libre, mais due à une translocation de type robertsonienne.
Dans cette situation, un chromosome 21 vient se fixer sur un autre chromosome acrocentrique (le plus souvent un chromosome 14 ou un chromosome 22). Le caryotype est donc composé de 46 chromosomes et le chromosome 21 impliqué peut être plus difficile à mettre en évidence sur le caryotype. La translocation provient le plus souvent d'une anomalie au cours de la méiose dans le gamète.

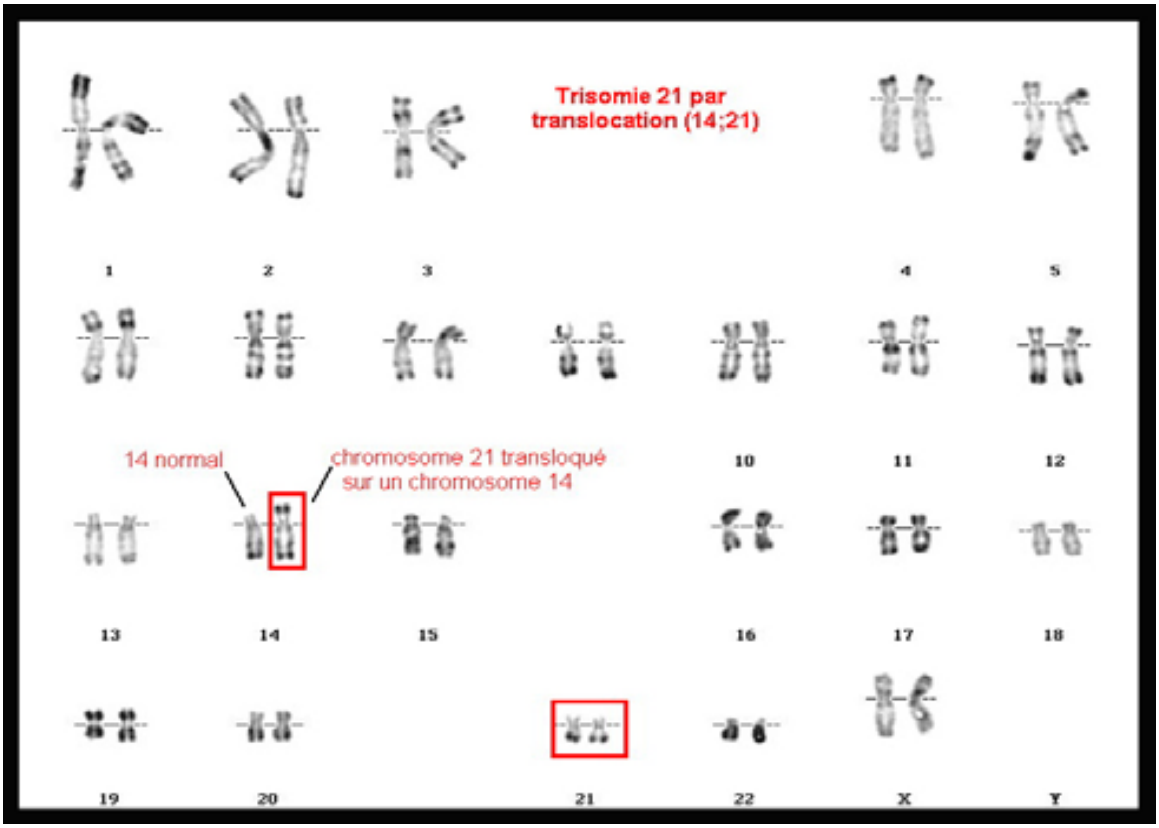


Figure 3 : Caryotype d'une trisomie 21 par translocation

(http://www.trisomie21alsace.fr/trisomie21/les-differentes-formes-de-trisomie-21/)

Cette translocation peut survenir de novo chez l'individu atteint ou être transmise de manière déséquilibrée par un parent porteur. Dans ce cas le risque d'une nouvelle grossesse trisomique est élevé et dépend du parent porteur et/ou des chromosomes impliqués dans la translocation.

I – 4 : Signes cliniques de la maladie

I – 4 – 1 : Retard mental

La déficience intellectuelle d'un patient porteur d'une trisomie 21 est constante, mais variable d'un individu à l'autre. Il est estimé à l'aide du QI (quotient intellectuel) qui se situe en moyenne à 50 à l'adolescence.

Globalement, l'enfant atteint de trisomie 21 apprend continuellement avec un délai par rapport aux autres enfants. Un ralentissement de la progression est observé à l'âge de 15 ans, associé à une stagnation du niveau intellectuel.

I – 4 – 2 : Hypotonie musculaire

L'hypotonie musculaire est un signe quasi constant chez le patient atteint de trisomie 21. Associée aux traits morphologiques spécifiques, elle participe au diagnostic clinique de la maladie.
Elle est présente dès la naissance. On parle de « bébé mou », calme, avec faiblesse du cri, peu de mouvements et une tendance à ne pas se réveiller pour réclamer les biberons.

Le retard psychomoteur arrive précocement pendant la plus jeune enfance et engendre une lenteur des gestes.
Elle retarde l'apprentissage de la marche et la préhension, et touche également les fibres musculaires lisses (système musculaire à commande involontaire).
Le péristaltisme digestif est atteint, donnant des problèmes de constipation. Sont souvent associés hypotonie des sphincters et reflux gastro-oesophagiens.

L'hypotonie du tronc crée des problèmes de scolioses et de hernie ombilicale.

Au niveau de la cavité buccale, cela provoque un collapsus des voies aériennes et de ce fait des infections ORL plus fréquentes comme des otites.

La ptose de la langue pendant le sommeil provoque un phénomène d'apnée du sommeil.

Toutes ces conséquences sur la qualité de vie du porteur de la trisomie 21 montrent que la lutte contre l'hypotonie musculaire, par la rééducation intensive, constitue une priorité.

I – 4 – 3 : Traits morphologiques

Le visage

Une dysmorphie crânio-faciale est observée chez la majorité des patients atteints de trisomie 21.

Le périmètre crânien est inférieur à celui des enfants non trisomiques : on parle de microcéphalie. L'os occipital est aplati : on parle de brachycéphalie. Le visage est arrondi, plat.

Un trouble de la croissance osseuse du milieu du visage est à l'origine d'une exiguïté particulière de la cavité buccale et d'une sténose des voies aériennes supérieures.

La base du nez est large, le nez est court. La bouche est petite avec des lèvres épaisses. La langue paraît hypertrophiée. La dentition est disharmonieuse.

Au niveau des yeux, les fentes palpébrales sont classiquement obliques en haut et en dehors (obliquité mongoloïde des fentes palpébrales), avec une augmentation de l'écart entre les deux yeux (hypertélorisme) et des cils court.

Les oreilles sont de petite taille et implantées bas. L'implantation des cheveux est basse sur le front. La nuque est courte, plate et trapue.

Les extrémités

Les mains sont larges et trapues, les doigts et les orteils sont courts (brachydactylie). Les articulations sont hyperlaxes (élasticité excessive des muscles et tissus conjonctifs). Les pieds sont plats, larges et petits. Le gros orteil est très espacé des autres (signe de la sandale).

I – 4 – 2 : Développement staturo-pondéral

La taille

Le fœtus présente un retard de croissance, en règle générale modéré, dans 20% des cas. Le plus souvent, la taille de naissance est donc dans la norme. Puis elle va s'infléchir dans les deux premières années de vie.

La taille moyenne est de 1,55m chez les hommes et de 1,45m chez les femmes.

Le poids

Le poids à la naissance est habituellement identique à celui des autres enfants, parfois en dessous des valeurs normales (hypotrophie).

La tendance au surpoids et à l'obésité est fréquente dans la population trisomique, de la petite enfance jusqu'à l'âge adulte. Elle rend propice la survenue de pathologies caractéristiques comme les troubles de la statique posturale, les troubles articulaires et métaboliques, les infections.

I – 4 – 5 : Pathologies fréquentes observées [5]

Pathologies cardiovasculaires :

- Communication inter ventriculaire
- Communication inter auriculaire
- Persistance du canal artériel perméable
- Valvulopathie
- Problèmes tensionnels
- Thrombose vasculaire

Pathologies digestives :

- Constipation
- Maladie coeliaque
- Reflux gastro oesophagiens

Pathologies endocriniennes :

- Hypothyroïdie
- Hyperthyroïdie
- Diabète type 1 ou 2
- Déficience en hormone de croissance (encore discutée à ce jour)

Pathologies neurologiques :

- Epilepsie
- Démence précoce

Pathologies ORL :

- Sténose des conduits auditifs
- Infection de l'oreille moyenne
- Otite chronique
- Perte auditive
- Obstructions nasales
- Syndrome d'apnée du sommeil

Pathologies ostéo-articulaires :

- Arthrite
- Luxation de la hanche
- Genu valgum (déformation du genou vers l'intérieur)
- Pieds plats
- Métatarsus varus (saillie médiale du gros orteil dit « oignon »)
- Scoliose

Pathologies oculaires :

- Cataracte
- Trouble de l'accommodation
- Strabisme

Pathologies dermatologiques :

- Hyperkératose
- Chéilite
- Alopécie
- Vitiligo (maladie auto immune provoquant des plaques cutanées)
- Dermatite atopique

Pathologies broncho-pulmonaires :

- Infection des voies respiratoires
- Asthme

Pathologies tumorales :

- Augmentation du risque de leucémie (leucémie aigue lymphoblastique)

Chapitre II : Le dépistage sérique

II – 1 : Les marqueurs biologiques utilisés

II – 1 – 1 : hCG et hCG β libre

L'hCG ou hormone chorionique gonadotrope humaine est une glycoprotéine hétérodimère composée de deux sous-unités α et β.

Elle possède au total 237 acides aminés et une masse moléculaire de 36.7 kDalton.

La sous-unité α est composée de 92 acides aminés et est identique à celle d'autres gonadotropines : l'hormone lutéinisante (LH), l'hormone folliculo-stimulante (FSH) et l'hormone stimulante de la thyroïde (TSH).

Elle est codée par un seul gène situé sur le chromosome 6.

La sous-unité β est composée de 145 acides aminés et est propre à l'hCG.

C'est elle qui est responsable de sa spécificité, mais ne peut être biologiquement active qu'en présence de la sous-unité α. L'hCG n'est active qu'en présence de ses deux sous-unités.

Elle est codée par sept séquences génomiques homologues situées sur le chromosome 19.

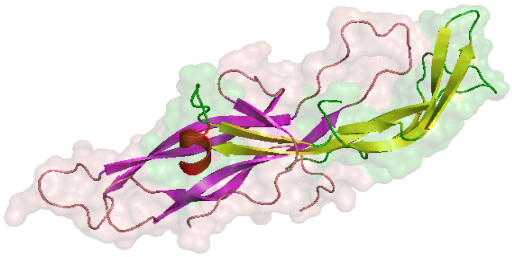


Figure 4 : Structure de l'hormone chorionique gonadotrope

(https://en.wikipedia.org/wiki/Human_chorionic_gonadotropin)

L'hCG est sécrétée par le placenta dès sa formation, plus précisément par les cellules du trophoblaste, dès le 10ème jour de grossesse, prenant ainsi le relais de la LH. La fonction de l'hCG est essentiellement le maintien du corps jaune durant la grossesse et de la sécrétion de progestérone. Elle inhibe la sécrétion des hormones LH et FSH.

Chez la femme en dehors de la grossesse, sa concentration sanguine est inférieure à 10 IU/L de sang [6].

Dès le 9ème jour qui suit l'ovulation elle sera détectable si l'œuf fécondé s'est implanté et son taux plasmatique double quasiment tous les 2 à 3 jours, pour atteindre son maximum entre 6 et 8 semaines d'aménorrhée.

Le taux redescend progressivement ensuite pour atteindre un plateau jusqu'à la fin de la grossesse (autour de 5000 UI /L).

Semaines d'aménorrhée	jour ou semaine de grossesse	Dosage moyen en mIU/ml	Dosage HCG normal compris entre
3 SA	10ème jour	10	10 et 30
3 SA	11ème jour	18	18 et 40
3 SA	12ème jour	30	30 et 110
3 SA	13ème jour	50	10 et 180
4 SA	14ème jour	80	16 et 300
4 SA	15ème jour	130	27 et 300
4 SA	16ème jour	220	44 et 800
4 SA	17ème jour	350	70 et 1 330
4 SA	18ème jour	600	120 et 2 000
4 SA	19ème jour	900	190 et 3 500
4 SA	20ème jour	1 500	320 et 6 000
5 SA	21ème jour	2 500	550 et 9 500
5 SA	22ème jour	4 000	850 et 15 000
6 SA	28ème jour	28 000	2 400 et 70 000
7 SA	5ème semaine	57 000	10 000 et 130 000
8 SA	6ème semaine	94 000	25 000 et 170 000
9 SA	7ème semaine	87 000	35 000 et 160 000
10 SA	8ème semaine	76 000	25 000 et 140 000

Tableau 1 :
Tableau des concentrations en hCG β en fonction de l'âge gestationnel

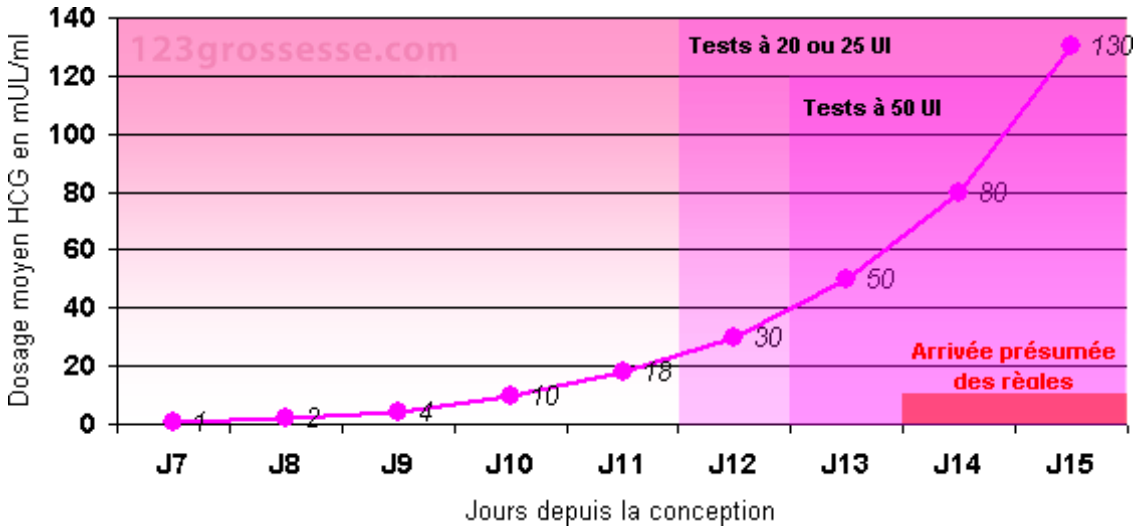


Figure 5 : Taux moyen de l'hormone HCG les 15 premiers jours de la grossesse

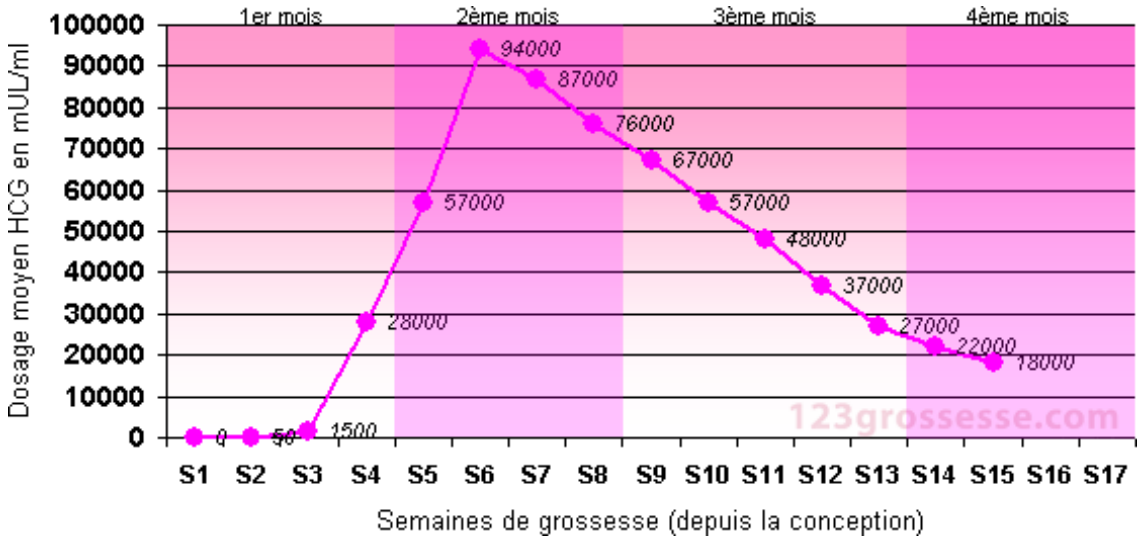


Figure 6 : Taux moyen de l'hormone HCG les 4 premiers mois de la grossesse

(www.123grossesse.com)

Certains facteurs peuvent influencer la concentration de hCG β [7]:

Augmentation :

- Localisation placentaire basse
- Décollement placentaire
- Certaines origines (asiatique, africaine)
- Trisomie 21
- Grossesse gémellaire
- Insuffisance rénale
- Choriocarcinome, Mole hydatiforme

Diminution :

- Fausse couche (hCG faible pour l'âge de la grossesse)
- Grossesse extra-utérine (hCG faible, augmentation lente)

Le lien entre l'élévation anormale de l'hCG et la trisomie 21 est établi par Bogart en 1987.

Puis Marcri et Spencer montrent que le dosage de la sous unité β libre de l'hCG améliore le taux de dépistage [8].
Dosée seule elle permettait à l'époque de dépister 45% des cas trisomiques, contre 38% des cas avec l'hCG totale [8].

II – 1 – 2 : PAPP-A

La PAPP-A ou Pregnancy Associated Plasma Protein A est une métalloprotéinase de 200 kDalton présente en forte concentration durant la grossesse, avec une augmentation constante jusqu'à l'accouchement.

Elle est produite par les cellules trophoblastiques dans un premier temps puis par le placenta. Son rôle est encore mal connu à l'heure actuelle.
Hurley et Brambati ont montré que le taux plasmatique de ce marqueur est plus bas chez les femmes porteuses de fœtus trisomiques [8].

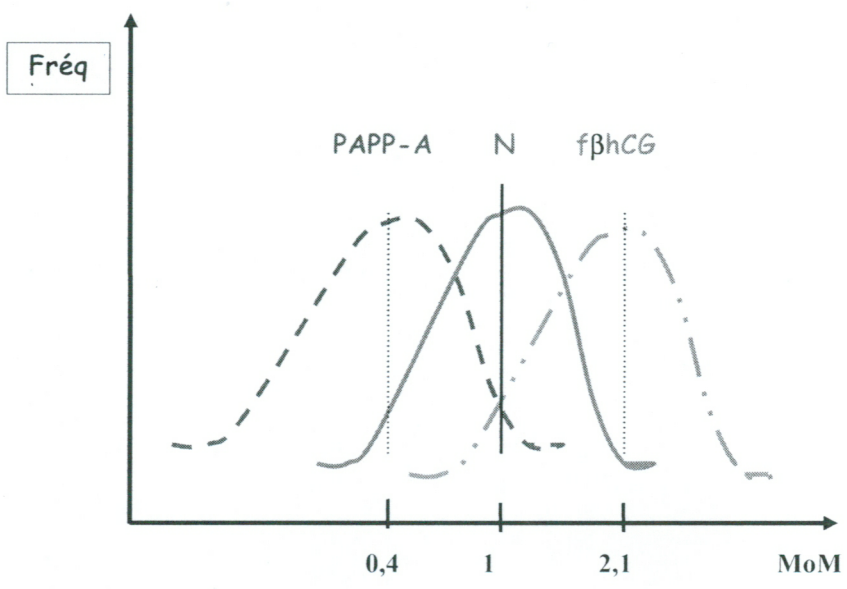


Figure 7 : Variation des taux de PAPP-A et de hCG β en cas de trisomie 21
(Dossier de la bioformation ACORATA, Paris, décembre 2014)

II – 1 – 3 : AFP

L'AFP ou alpha-foetoprotéine est une alpha globuline normalement produite par le foie et l'intestin du fœtus au cours de la grossesse.

L'alpha-fœtoprotéine est présente dans le sang maternel au cours de la grossesse et son taux augmente régulièrement jusqu'à la 30ème semaine pour atteindre une concentration voisine de 200 ng/mL.

Chez l'adulte elle est en général inférieure à 10 ng/mL. Un taux plus élevé peut être observé dans les cas de carcinome hépatocellulaire, cirrhose, hépatite, cancer du testicule ou des ovaires.
Abelev, immunologiste Russe, met en évidence l'AFP en 1963. Il a d'abord pensé qu'elle jouait un rôle dans l'immunorégulation mère/enfant.

Une équipe Anglaise dirigée par le Dr Merkatz travaillant sur les maladies liées à la non fermeture du tube neural, détectables grâce à un taux élevé en AFP, a montré en 1984 que le taux sérique maternel était également abaissé en cas de trisomie 21 [8].

Certains facteurs peuvent influencer la concentration de l'alpha-foetoprotéine :

Augmentation :

- Poids de la mère
- Origine ethnique
- Diabète
- Grossesses multiples
- Malformations du tube neural (spina bifida, anencéphalie…)

Diminution :

- Trisomie 21
- Mort fœtale
- Grossesse molaire (dégénérescence des villosités choriales, prolifération tumorale du trophoblaste)
- Choriocarcinome

En présence d'un fœtus atteint de trisomie 21, le taux d'AFP sérique maternel est inférieur à la valeur moyenne et le taux théoriquement retrouvé dans le liquide amniotique 150 fois inférieur à la normale [9].

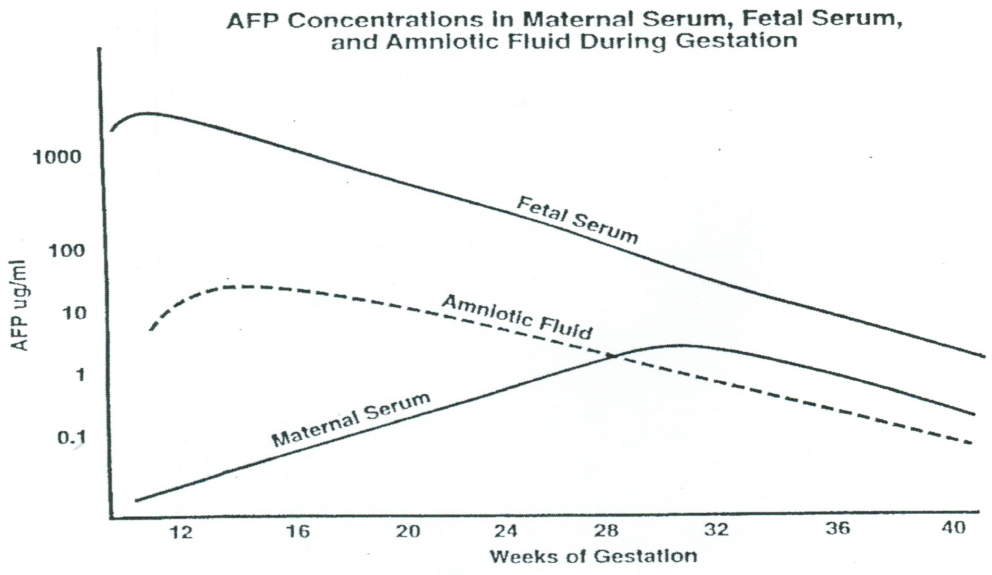


Figure 8 : Concentrations en AFP dans le liquide amniotique, concentrations sériques maternelle et fœtale au fil de la grossesse
(Dossier de la bioformation ACORATA, Paris, décembre 2014)

II – 1 – 4 : Estriol libre

L'estriol libre, aussi appelé estriol non conjugué ou uE3, est une hormone stéroïde d'origine foeto-placentaire.

Elle est sécrétée par les glandes surrénales du fœtus et augmente dans le sérum maternel à partir de la 12ème semaine et jusqu'au terme.

En 1988, Canick démontre que le taux plasmatique maternel de cette hormone est plus bas en cas de trisomie 21 et que l'on peut corréler cette mesure à celle de l'alpha-foetoprotéine.

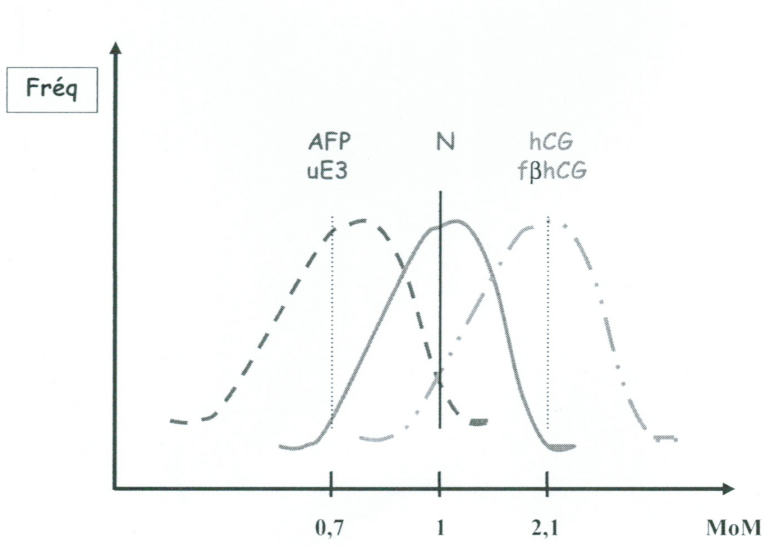


Figure 9 : Variation des taux en AFP/uE3 et en hCG en cas de trisomie 21 (Dossier de la bioformation ACORATA, Paris, décembre 2014)

II – 1 – 5 : Inhibine dimérique A

Très peu utilisée, l'inhibine dimérique A par son élévation nette entre 11 et 14 semaines d'aménorrhée peut se révéler être un indicateur biochimique utilisable comme marqueur de la trisomie 21.

Marqueurs sériques Caractéristiques	AFP	hCG	Oestriol non conjugué	hCG β	PAPP-A
Origine physiologique	Foie et intestin du foetus	Tissu endocrinien placentaire	Ensemble fœtus/placenta	Syncytiotrophoblaste	Syncitiotrophoblaste
Variation du taux si Trisomie 21	Inférieur à la normale	Supérieur à la normale	Inférieur à la normale	Supérieur à la normale	Inférieur à la normale
Période d'utilisation au cours de la grossesse	2ème trimestre	2ème trimestre	2ème trimestre	1er et 2ème trimestres	1er trimestre

Tableau 2 : Tableau récapitulatif des marqueurs sériques utilisés pour le dépistage de la trisomie 21 [10]

Les marqueurs sériques maternels permettent d'exprimer un risque statistique et non un diagnostic.
La pertinence des dosages est nettement améliorée par la prise en compte de la mesure échographique de la clarté nucale.

II – 2 : Paramètres échographiques : la clarté nucale

II – 2 – 1 : Définition

La clarté nucale est l'espace anéchogène normal visible entre les tissus sous cutanés et les tissus recouvrant l'os occipital et le rachis cervical.
C'est une image trans-sonore de nature liquidienne [11].

Elle est présente entre la 10ème et 14ème semaine d'aménorrhée.
Après la 14ème semaine cet espace est moins anéchogène donc moins visible et il n'existe pas d'abaques après ce terme [45].

Cette image peut parfois déborder en remontant vers le crâne et en descendant vers le dos de l'embryon.

La clarté nucale est un phénomène physiologique, correspondant à un engorgement transitoire du système lymphatique à l'endroit où il se déverse dans le système cave supérieur.

Lorsque la mesure de celle-ci est anormalement élevée, cela peut correspondre à une anomalie du drainage lymphatique ou du retour veineux.

Elle peut être un moyen de dépistage des aneuploïdies (nombre anormal de chromosomes dans une cellule) mais aussi révélatrice d'anomalies malformatives en particulier cardiaques.

Cette mesure doit être interprétée en fonction de la longueur cranio caudale de l'embryon et donc de l'âge gestationnel.

La prise de mesure de la clarté nucale doit être effectuée entre la 11ème et la 13ème (+ 6 jours) semaine d'aménorrhée.
Ceci correspond à une longueur cranio caudale comprise entre 45 et 84 millimètres.

Une mesure de clarté nucale supérieure à 3.5 mm au premier trimestre peut conduire à la réalisation d'un prélèvement invasif sans être associée à un dépistage par marqueurs sériques.

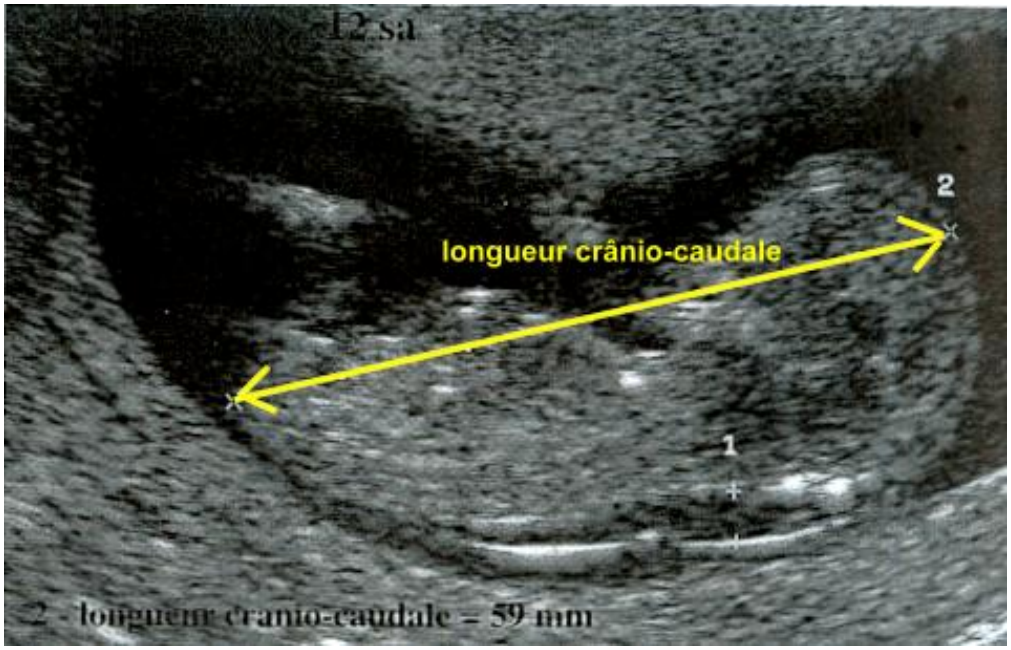


Figure 10 : Image échographie de la longueur cranio caudale d'un embryon

(http://www.svt.ac-versailles.fr/archives/docpeda/actpeda/lycee/trisomie/trisomie/T21-12avril07/corractiechographie.htm)

La clarté nucale suit une courbe d'évolution de taille dont l'unité de mesure est le percentile.

Définition du Percentile :
La croissance de l'enfant dans le ventre de sa mère est évaluée en percentile.
L'écart de taille observé entre une mesure telle que celle du diamètre du crâne de l'enfant par exemple et celle de la population générale, est quantifié en percentile.
L'échelle des percentiles est graduée de 0 à 100.
Les individus "normaux" sont les plus nombreux, puisqu'il s'agit de la moyenne de la population générale et correspondent au 50ème percentile.
Plus on s'écarte de cette valeur, vers le haut ou vers le bas, plus on sort de la norme.

En dessous du 10ème percentile, la mesure est considérée comme anormalement faible.
Au dessus du 90ème percentile, la mesure est considérée comme anormalement élevée.

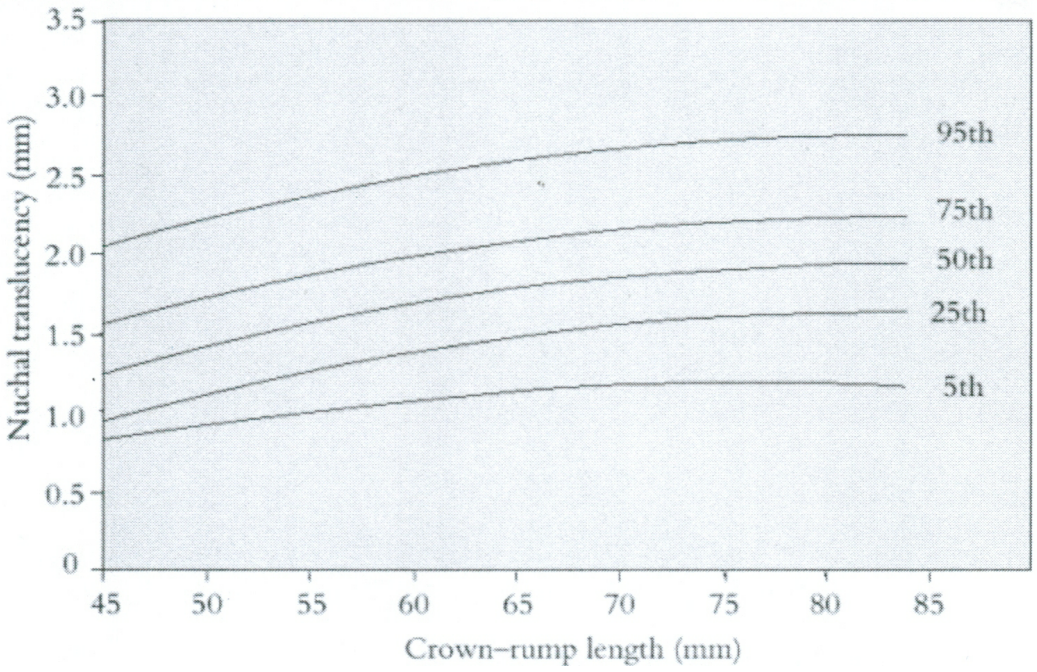


Figure 11 : Mesure en percentile de la clarté nucale en fonction de la longueur cranio caudale
(Dossier de la bioformation ACORATA, Paris, décembre 2014)

II – 2 – 2 : Bonnes pratiques de mesure

Critères de mesure :

- Echographie par voie abdominale ou endovaginale
- Réalisée entre 11 et 13+6 semaines d'aménorrhée
- La LCC doit être comprise entre 45 et 84 mm
- Trois mesures échographiques doivent être réalisées et seule la valeur maximale est conservée
- La coupe doit être sagittale (embryon perpendiculaire au faisceau d'ultra-sons)

L'échographiste doit être impérativement agréé par un réseau de périnatalité pour que la clarté nucale soit incluse dans le calcul de risque du 1er ou du 2ème trimestre [43].

Il existe un contrôle de qualité de la mesure de la clarté nucale appelé le SCORE DE HERMAN [12], il est composé de trois critères majeurs et de trois critères mineurs.

Critères majeurs :

- Coupe sagittale stricte
- Calipers bien placés
- Visualisation de la continuité de la peau du dos

Critères mineurs :

- Tête en position neutre
- Amnios visible
- Tête et thorax occupant les ¾ de l'image

La coupe sagittale stricte est celle de la mesure de la longueur cranio caudale, elle passe par le nez et le pôle caudal.

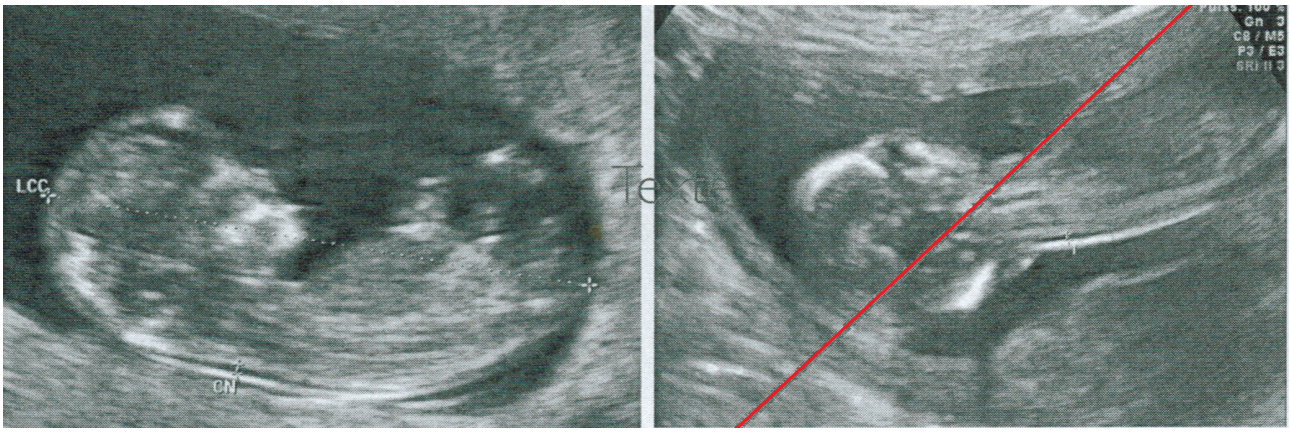


Figure 12 : Coupe sagittale stricte de l'embryon
(Dossier de la bioformation ACORATA, Paris, décembre 2014)

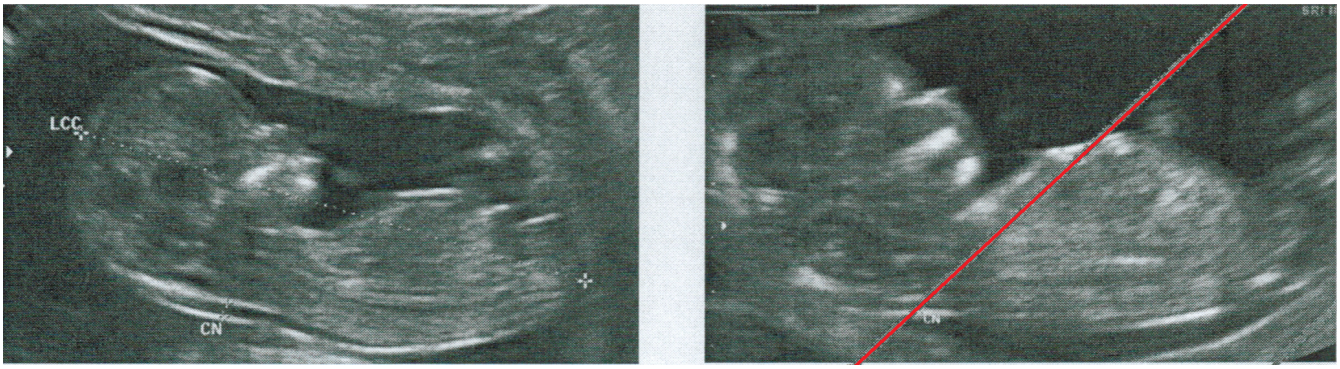


Figure 13 : Visualisation de la continuité de la peau du dos de l'embryon
(Dossier de la bioformation ACORATA, Paris, décembre 2014)

Les calipers sont les « curseurs » qui permettent à l'échographiste de mesurer un organe, un élément, d'un point A à un point B de l'image.
Ils doivent être positionnés de la limite interne de la clarté (sans le tissu sous-cutané) à la limite externe (sans la membrane).

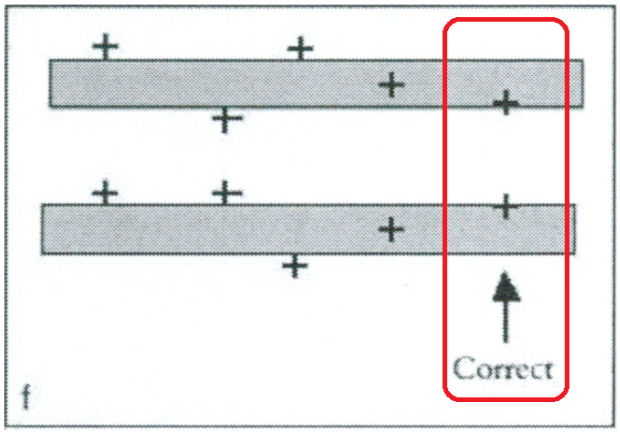


Figure 14 : Bon positionnement des calipers pour la prise de mesure de la clarté nucale

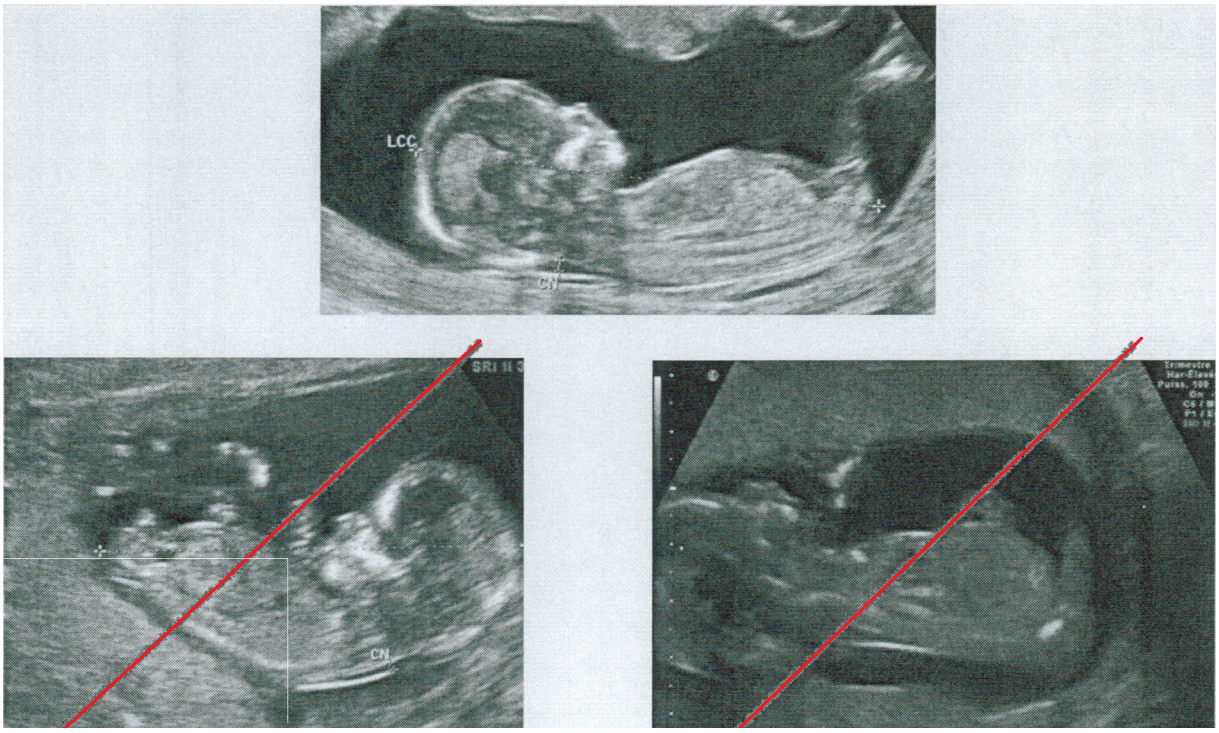


Figure 15 : Visualisation de la tête de l'embryon en position neutre
(Dossier de la bioformation ACORATA, Paris, décembre 2014)

En cas d'hyperflexion la clarté nucale est sous-estimée (image de gauche), en cas d'hyperextention la clarté nucale est surestimée (image de droite).

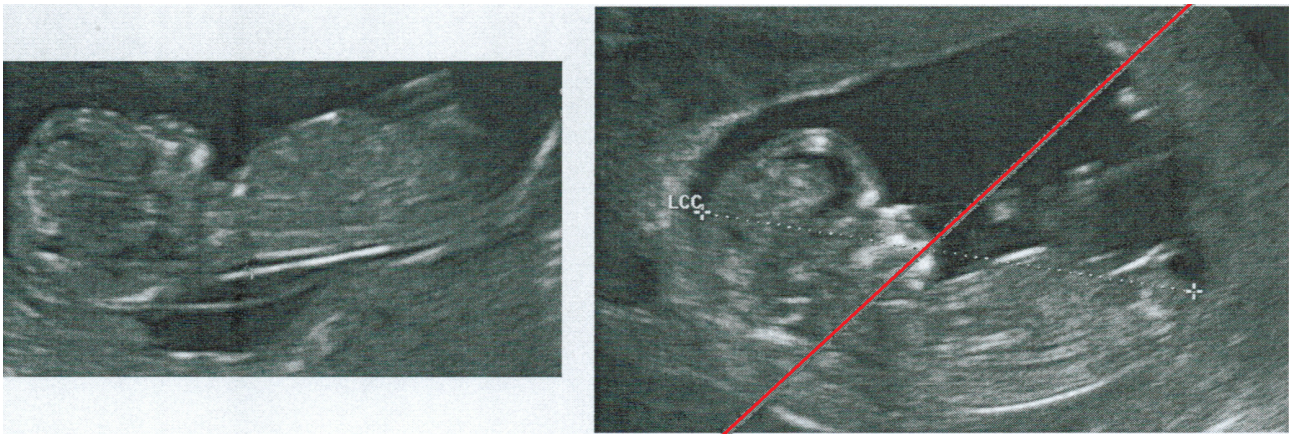


Figure 16 : Visualisation de l'amnios de l'embryon
(Dossier de la bioformation ACORATA, Paris, décembre 2014)

Ce critère de mesure évite la confusion possible entre l'amnios et la peau du dos, ce qui pourrait rendre une mauvaise valeur de la clarté nucale.

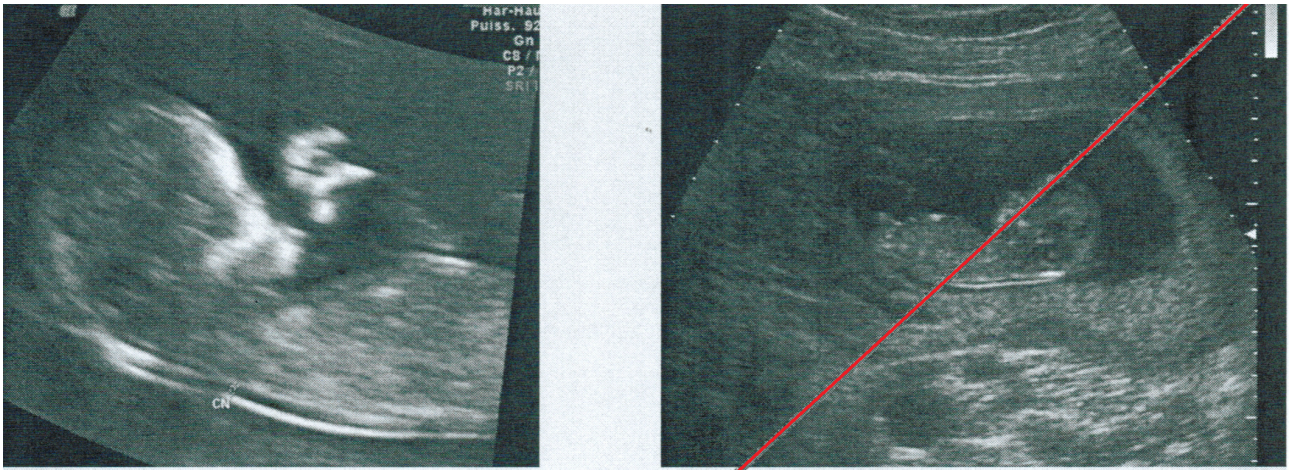


Figure 17 : Visualisation de la tête et du thorax de l'embryon occupant les ¾ de l'image
(Dossier de la bioformation ACORATA, Paris, décembre 2014)

Pour aider l'échographiste, le logiciel propose une mesure semi-automatisée, avec un repérage « bord à bord », mais elle reste malgré tout opérateur-dépendante et n'exclut pas un risque d'erreur.

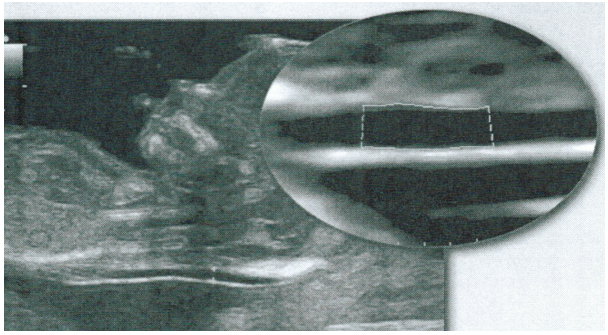


Figure 18 : Repérage « bord à bord » du système semi-automatisé

Un critère majeur compte pour 3 points, un critère mineur compte pour 2 points.
Le score obtenu est classé selon les quatre groupes suivants :

8-9 : excellent
4-7 : acceptable
2-3 : insuffisant
0-1 : inacceptable

Une coupe parfaite équivaut à un score de 8 ou 9, le score reste acceptable s'il est compris entre 4 et 7. En dessous de 4, il est nécessaire de recommencer l'échographie.

II – 2 – 3 : Hygroma kystique

On parle d'hygroma kystique lors d'hyper-clarté nucale.
Il peut être retrouvé lorsque la clarté nucale est supérieure au 95ème percentile.
Il correspond à une masse polykystique de volume variable allant d'un simple épaississement de la zone postérieure du cou à une ou plusieurs masses polykystiques pouvant s'étendre en direction du dos et du tronc du fœtus.

Ces formations kystiques dites « logettes » ou « septas » sont de tailles variées et contiennent un liquide riche en AFP.

Environ 75% des fœtus avec un hygroma évoluent vers un oedème généralisé ou anasarque, aboutissant à une mort fœtale in utero.

Une étude récente montre que l'hygroma cervical qui apparaît au premier trimestre est plus fréquemment associé à des aneuploïdies autosomiques (trisomie 21, 18, et 13) tandis que l'hygroma cervical qui se constitue au deuxième trimestre est plus souvent associé à la monosomie XO (syndrome de Turner) [13].

L'hygroma cervical est constaté aussi chez des fœtus euploïdes (à caryotype normal) pour lesquels est observée dans 9 cas sur 10 une pathologie cardiaque +/- associée à une pathologie syndromique qui n'est pas d'origine chromosomique (comme le syndrome de Noonan).

II – 2 – 4 : Disparité dans la prise des mesures échographiques [14]

La qualité des échographies fœtales est indispensable dans la stratégie de dépistage de la trisomie 21. L'identification de ce point critique a permis l'amélioration des pratiques professionnelles.

Un arrêté publié le 12 juin 2013 a confié à la Haute Autorité de Santé la responsabilité de définir avec les professionnels de santé les conditions de l'assurance qualité des pratiques professionnelles en matière de dépistage de la trisomie 21.

Un programme d'assurance qualité comprenant l'évaluation nationale des mesures faites dans le cadre du dépistage combiné du 1er trimestre par les échographistes a été

proposé. Ce programme donne accès à l'ensemble de ces échographistes une formation continue et une accréditation.

En 2013, une base d'analyse des données de contrôle qualité a été mise en place. Elle comprenait 4765 échographistes et totalisait 509 986 échographies.

Notion de MoM

Le MoM est une unité de mesure donnant un résultat en Multiple de la Médiane.
Elle est obtenue par le rapport entre la valeur de l'élément étudié et la valeur médiane obtenue pour cet élément.
La médiane est la valeur située exactement au milieu d'une série ordonnée.
Pour chaque paramètre dosé dans le dépistage sérique, elle est calculée sur un effectif de 500 patientes au minimum, par semaine d'âge gestationnel. Sur cette série de valeurs classées par ordre croissant, il faut retenir la 250ème comme étant la médiane.

Une disparité régionale importante des médianes de MoM de la clarté nucale était observée mais en diminution entre 2010 et 2013.
Les valeurs allaient de 0,77 à 1,01 MoM en fonction des régions étudiées.

En 2013 six régions avaient une médiane de la clarté nucale inférieure à 0,83 : la Picardie, la Champagne, l'Alsace, la Lorraine, l'Auvergne et le Languedoc-Roussillon.

Les évaluations faites par l'Agence de la BioMédecine concernant la courbe d'apprentissage des échographistes ont montré une augmentation de la médiane de MoM de la clarté nucale avec la pratique échographique.

Cependant en 2013, 3% des échographistes avaient une médiane de MoM de la clarté nucale inférieure à 0,6 et 0,6% des échographistes avaient une médiane de MoM supérieure ou égale à 1,2.

La variabilité des mesures observée par le biais de ces études montre l'importance capitale des bonnes pratiques professionnelles et de l'erreur humaine possible qui peut influer sur le résultat du dépistage de la trisomie 21.

II – 3 : Dépistage par les marqueurs sériques maternels

II – 3 – 1 : Généralités

Le dépistage combiné du premier trimestre et le dépistage séquentiel intégré du deuxième trimestre sont obtenus en pondérant le risque lié à l'âge maternel par un facteur lié aux valeurs des concentrations de chaque marqueur sérique et à la mesure de la clarté nucale.
Les marqueurs sériques dosés au premier trimestre sont l'hCG β libre et la PAPP-A, ceux dosés au deuxième trimestre sont l' l'hCG (β libre ou totale) et l'AFP.

Il définit le dépistage combiné par l'association des facteurs suivants :

- Age maternel
- Clarté nucale
- hCG (β libre ou totale)
- PAPP-A ou AFP

On parle de Rapport de Vraisemblance, ou « likelihood ratio » pour désigner le rapport des fréquences entre l'hormone dosée et l'hormone témoin.

En France, le risque lié à l'âge maternel dépend de l'âge gestationnel.
Le risque retenu est le risque de trisomie 21 au moment du prélèvement, alors que dans les autres pays on fait référence au risque à terme, or il faut tenir compte des risques de fausses couches tout au long de la grossesse.

Effectivement, au premier trimestre entre 75 et 80% des grossesses de fœtus à caryotype anormal mènent à un avortement spontané.
Entre la 22ème semaine d'aménorrhée et le terme, 25% de fœtus vont également être éliminés suite à une fausse-couche [7].

Il existe à ce jour entre 80 et 85 laboratoires en France ayant l'agrément pour effectuer le calcul de risque de la trisomie 21. Ils sont agréés par le Ministère de la Santé.

La valeur seuil de 1/250 a été choisie sur la base de l'estimation qu'à cette valeur, un maximum de 5% de prélèvements invasifs seraient effectués sur l'ensemble des femmes enceintes.

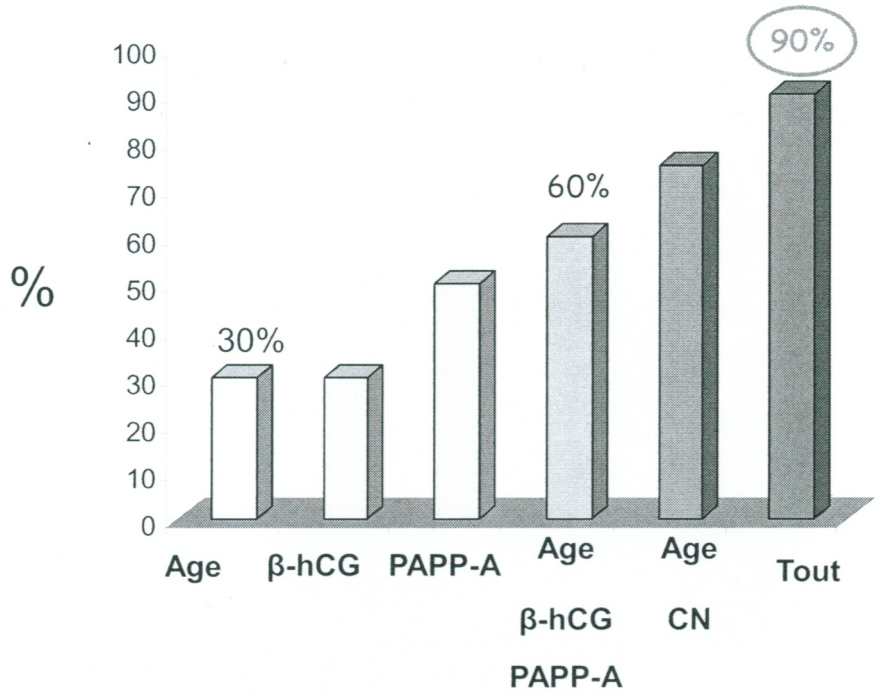


Figure 19 : Pourcentage de sensibilité du dépistage combiné du premier trimestre (Dossier de la bioformation ACORATA, Paris, décembre 2014)

L'interprétation du résultat est obligatoire et réservée au biologiste, qui appose un commentaire clair sur le compte rendu :

« La patiente appartient à un groupe à risque accru de trisomie 21 fœtale » ou
« La patiente n'appartient pas à un groupe à risque accru de trisomie 21 fœtale ».

II – 3 – 2 : Réglementations

La conformité du prélèvement :

- Prise de sang sur un tube sec
- Pas de tube hépariné ou EDTA
- Centrifugé, décanté dans les 4 heures
- Température de transport idéale : 4 degrés
- Conservation au laboratoire : 72 heures à 4 degrés, -20 degrés au delà
- Conservé pendant 1 an dans la sérothèque, pour une éventuelle réévaluation

La conformité de l'étape analytique :

- Obligation de travailler avec un couple logiciel/réactifs d'un même fabriquant, enregistrés à l'Agence du Médicament (il en existe 4 en France : Brahms, Perkin Elmer, Roche et Siemens)

En 2010, un travail mené par le groupe d'experts de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et de produits de Santé sur les dispositifs utilisables dans le cadre du dépistage de la trisomie 21 fœtale a permis de vérifier l'homogénéité de conception et de performances des logiciels CE.
Ce travail a permis de mettre en évidence des divergences de résultats pour le dépistage combiné.
Une nouvelle enquête réalisée en 2014 par ce même groupe de travail a montré des changements dans la conception des logiciels, des modifications effectuées par les fabricants (médiane de référence, facteurs de correction…).

Le contrôle qualité :

- CIQ ou contrôles internes de qualité sont des dosages de contrôle (hCG, AFP et PAPP-A) passés en début et en fin de chaque série de patientes.
- Probioqual : association pour la promotion du contrôle de qualité en biologie, organisme externe sollicité par le laboratoire pour mettre en place un programme ponctuel « sérum enquête » 4 à 5 fois par an [15].
- Contrôle national obligatoire mis en place par l'ANSM, 2 à 3 fois par an.
- Respect du GBEA (Guide de Bonne Exécution des Analyses de Biologie Médicale) [16].
- Réponse aux exigences de la norme ISO 15189 et évaluation par le COFRAC (Comité Français d'Accréditation).

Le suivi du laboratoire :

- Compte rendu standardisé
- Archivage des dossiers
- Suivi des issues de grossesses

L'arrêté du 2 mai 1997 précise
« Les comptes rendus des analyses mentionnées ne peuvent être remis à la femme enceinte que par l'intermédiaire du médecin prescripteur ».
Ainsi le résultat ne sera jamais rendu directement à la patiente sans une étude préalable de son dossier par le médecin ou la sage femme qui suit sa grossesse.

II – 3 – 3 : Facteurs influents sur le calcul de risque

Systématiquement un résultat entre 1/251 et 1/270 fera l'objet d'une réévaluation. Les marqueurs sériques seront dosés une seconde fois dans une nouvelle série et un nouveau calcul de risque sera effectué. Le risque le plus élevé est pris en considération.

Certains facteurs peuvent modifier de façon significative le résultat du risque :

- Le poids
- Le tabagisme
- L'origine géographique
- Le diabète
- L'insuffisance rénale

Le poids

Le surpoids fait varier le résultat du calcul de risque de la trisomie 21 et pose un problème principalement pour le dosage de l'hCG et la PAPP-A dont les concentrations baissent par le phénomène d'hémodilution.
Le risque peut passer de 1/270 pour une personne de 50 kg, à 1/190 pour une personne de 100 kg, alors que les autres variantes sont similaires (marqueurs biologiques, âge, clarté nucale).

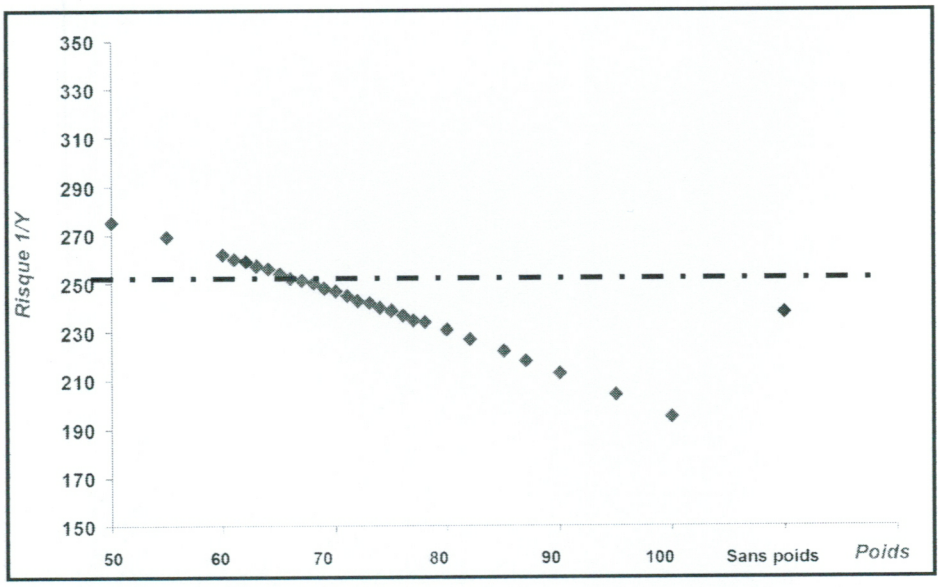


Figure 20 : Corrélation entre le risque combiné et le surpoids de la patiente (Dossier de la bioformation ACORATA, Paris, décembre 2014)

Le tabagisme

Le tabagisme a un impact important sur la concentration de la PAPP-A et de l'hCG avec une diminution de – 15% environ au premier trimestre. L'impact du tabac sur les marqueurs sériques est indépendant du nombre de cigarettes fumées. Il apparait dès la consommation d'une cigarette par jour. On admet un sevrage de 15 jours pour considérer la femme comme non fumeuse. Le risque chez une femme fumeuse est donc augmenté.

L'origine géographique

Cela concerne les patientes venant d'Afrique, des Antilles et d'Asie.
L'origine ethnique a un impact important sur la PAPP-A, en effet on note une augmentation de 50% chez les femmes afrocarribéennes et entre 17 et 30% pour les femmes d'origine asiatique. Le risque en cas d'origine ethnique concernée est donc minimisé.

	Diabète	Fumeuse	PMA (FIV)	Ethnie
AFP	0,9	1.03	1	Afrique subsaharienne et Antilles : 1 Asie : 1
hCGß	0,96	0,88	1.12	Afrique subsaharienne et Antilles : 1,11 Asie : 0.93
PAPP-A	1,02	0,82	1	Afrique subsaharienne et Antilles : 1,55 Asie : 1,08

Tableau 3 : Facteurs correctifs appliqués aux marqueurs sériques en fonction de l'ethnie, du diabète, du caractère fumeur et de la réalisation d'une Fécondation In Vitro. (Pour le logiciel de calcul Perkin Elmer)

Mauvaise datation de la grossesse

Prenons un exemple :

	Datation correcte ***16+6 SA***		***Datation incorrecte*** ***17+6 SA***
AFP :	1,52 MoM	58,13 ng/ml	1,25 MoM
hCG :	0,94 MoM	30,36 UI/ml	1,21 MoM
Risque	***1/9800***		***1/3900***

Cela montre l'influence d'une mauvaise datation de grossesse, dans ce cas le risque est plus que doublé.

II – 4 : Dépistage combiné du premier trimestre

Le calcul de risque combiné obéit à la formule suivante :

RC = R (âge maternel) * RV1 (CN) * RV2 (PAPP-A) * RV3 (hCG β libre)

Où :

- R (âge maternel) est le risque lié à l'âge de la femme enceinte exprimé sous la forme 1/xxx
- RV1 est le rapport de vraisemblance de la clarté nucale (CN de fœtus/CN médiane)
- RV2 est le rapport de vraisemblance du marqueur PAPP-A (PAPP-A étudiée/PAPP-A témoin)
- RV3 est le rapport de vraisemblance du marqueur hCG β libre (hCG étudiée/hCG témoin)

Ce dépistage est encadré par l'arrêté du 23 juin 2009 [17].
Le dépistage combiné du 1er trimestre permet ainsi de détecter 90% des trisomies 21 après réalisation de 5% d'amniocentèses.
Le prélèvement est effectué entre 11 et 13 (+6 jours) semaines d'aménorrhée.

II – 5 : Dépistage du deuxième trimestre

II – 5 – 1 : Séquentiel intégré ou non

Il arrive dans certains cas que le dépistage combiné du 1er trimestre ne puisse pas être effectué. Cela concerne majoritairement les grossesses découvertes trop tardivement ou les grossesses gémellaires.
Il est tout de même proposé à la femme enceinte au cours du 2ème trimestre un dépistage de la trisomie 21 incluant des marqueurs sériques différents [18].
Ce dépistage du 2ème trimestre doit être réalisé entre la 14ème et 17ème (+ 6 jours) semaine d'aménorrhée.

La notion de dépistage séquentiel intégré est invoquée lorsque les mesures de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale ont pu être prises au 1er trimestre.
A ces mesures échographiques est ajouté le dosage des marqueurs sériques du 2ème trimestre que sont l'hCG totale (ou uniquement l'hCG β) et l'AFP (ou plus rarement l'estriol non conjugué).
Sont pris également en compte dans ce calcul l'âge de la femme, ainsi que les facteurs pouvant faire varier les concentrations plasmatiques des marqueurs : le poids, le tabagisme, l'origine géographique.

Le calcul de risque au deuxième trimestre intégré répond à la formule :

RC = R (âge maternel) * RV1 (CN) * RV2 (AFP) * RV3 (hCG totale ou β libre)

Quand les mesures échographiques ne sont pas disponibles ou qu'elles ne peuvent pas être prises en compte, le dépistage du 2ème trimestre proposé à la patiente repose uniquement sur les marqueurs sériques.
Cette situation est relativement moins fréquente grâce à une généralisation du dépistage combiné du premier trimestre.

II – 5 – 2 : Cas particulier : Grossesse gémellaire

Lors d'une grossesse gémellaire, les taux des marqueurs sériques sont considérablement augmentés, ce qui rend le dépistage combiné du 1er trimestre impossible à réaliser, le recul étant insuffisant dans cette situation [19].
La Haute Autorité de Santé recommande dans ce cas un dépistage par les marqueurs du deuxième trimestre.
Les marqueurs biologiques utilisés restent inchangés : l'hCG β et l'AFP.
Les clartés nucales doivent être intégrées au calcul de risque si elles ont pu être mesurées au 1er trimestre.

Il faut être prudent face au « Vanishing-twins Syndrom » qui est une grossesse gémellaire dont la croissance d'un des deux embryons s'est arrêtée, l'AFP est surestimée de part la « présence » initiale de deux embryons.

II – 5 – 3 : Cas particulier : Procréation Médicalement Assistée

Dans le cadre de la procréation médicalement assistée, il est nécessaire en cas de don d'ovocyte, de tenir compte de l'âge de la donneuse et non celui de la patiente.

II – 5 – 4 : Dépistage tardif

Au delà de 18 semaines d'aménorrhée, les patientes sont hors « fenêtre règlementaire », le calcul de risque reste possible mais à ne faire et à ne rendre que si le laboratoire dispose de données statistiques suffisantes.

II – 6 : Profils atypiques

Un marqueur sérique est atypique si sa concentration est anormalement basse ou anormalement élevée. Ceci après confirmation de l'âge gestationnel, de la présence éventuelle de jumeaux, et des facteurs induisant une correction du résultat en MoM.

AFP supérieure à 2,5 MoM
Devant une AFP particulièrement augmentée, une échographie de contrôle est souhaitable.
Il peut s'agir d'un défaut de fermeture du tube neural comme une anencéphalie ou un spina bifida.
Ou bien d'un défaut de fermeture de la paroi abdominale ou d'une sténose digestive.
Dans le cadre d'un avortement spontané, d'une réduction embryonnaire mais aussi en cas d'un jumeau évanescent, le taux d'AFP peut être largement augmenté.

AFP inférieure à 0,25 MoM
Devant une AFP particulièrement basse il faut penser à un déficit congénital.
Cela concerne une grossesse sur 10 000 mais est sans conséquences pour le fœtus.
Il peut cependant s'agir d'une Trisomie 21 avec AFP isolément basse, une échographie orientée et/ou un nouveau prélèvement de contrôle sont souhaités.

AFP et hCG inférieures à 0,5 MoM
Face à des taux en AFP et en hGC inférieurs à 0,5 MoM, il est nécessaire de procéder à une échographie de contrôle.
Ce profil atypique peut être un signe de la trisomie 18, pour laquelle aucun calcul de risque ni dépistage systématique n'existent actuellement.
Ce profil atypique peut également être du à une malformation intra utérine ou à une pré-éclampsie.

PAPP-A inférieure à 0,25 MoM
Un taux de PAPP-A particulièrement bas peut être évocateur de différents syndromes :

- Une trisomie 21, une trisomie 18 ou une trisomie 13
- Une pré-éclampsie ou une hypertension artérielle
- Un retard de croissance intra-utérin
- Un accouchement prématuré
- Une fausse couche

hCG supérieure à 2,5 MoM
Devant un taux d'hCG élevé, et après exclusion d'une grossesse gémellaire, un prélèvement de contrôle est conseillé.
Ce profil peut être évocateur de la trisomie 21.
Il peut également avoir pour origine :

- Un hygroma kystique
- Un retard de croissance intra-utérin
- Une insuffisance rénale sévère
- Un choriocarninome (hCG supérieure à 10 MoM)
- Une pré-éclampsie

Dans cette situation une échographie orientée est souhaitable, un dosage de la créatinine est réalisé en cas d'insuffisance rénale.

	PAPP-A MoM	βhCG MoM
Trisomie 21	↘ 0,5	↗ 2,2
Trisomie 18	↘ 0,2	↘ 0,2
Trisomie 13	↘ 0,5	↘ 0,5
Jumeaux	↗ 1,83	↗ 2,23
Vanishing Twins	↗	=
Prééclampsie	↘	
RCIU	↘	↗ ou ↘
Pertes foetales	↘ < 0,2	↘ < 0,2
Prématurés	↘ ou ↗	

Tableau 4 : Variations en PAPP-A et en hCG β en fonction de certains profils atypiques (Dossier de la bioformation ACORATA, Paris, décembre 2014)

II – 7 : Evolution dans le dépistage de la trisomie 21

II – 7 – 1 : Les dates clés de l'évolution

C'est à partir de 1975 que des travaux sur le caryotype fœtal ont pu être développés. Ce développement s'est accompagné de discussions sur le remboursement par la Sécurité Sociale et sur son indication [20].
Fixée au départ à 40 ans, la prise en charge de l'amniocentèse a été abaissée progressivement à 38 ans jusqu'à la mise en place du dépistage combiné du 1er trimestre en 2009.

Dès cette époque, les possibilités de prélèvements fœtaux (amniocentèse, biopsie de villosités choriales, ponction de sang fœtal) et de caryotypage offraient une possibilité de diagnostic *in utero* de la trisomie 21 pour les femmes enceintes qui le souhaitaient.

Une autre étape a ensuite été franchie en 1985 avec l'avancée de l'échographie obstétricale.
Les progrès ont été tels qu'ils ont permis d'inscrire l'échographie dans la stratégie de dépistage des anomalies chromosomiques.

A partir des années 1985-1986, l'utilisation des marqueurs sériques maternels au deuxième trimestre de la grossesse s'est développée. Cela permet dès 1997 le dépistage systématique du deuxième trimestre chez toutes les femmes enceintes le souhaitant.

Depuis les années 1990 l'hyperclarté nucale du fœtus mesurée au premier trimestre de la grossesse est décrite comme fréquemment associée à la trisomie 21 mais sa mesure ne sera intégrée au calcul de risque qu'à partir de l'arrivée du dépistage combiné en 2009.

Le seuil *1/250* a été décidé comme étant le seuil de proposition d'un prélèvement fœtal par l'arrêté du 27 mai 1997, arrêté qui officialise la pratique du dépistage de la trisomie 21 [18] . Depuis cette date il était ainsi proposé aux femmes enceintes un dépistage du deuxième trimestre intégrant l'âge maternel et les marqueurs sériques correspondants.

Devant l'hétérogénéité des attitudes vis-à-vis du dépistage, génératrice d'un surcroit de prélèvements invasifs : plus de 10%, induisant dans 0,5 à 1% des cas une fausse couche, la Haute Autorité de Santé a remis ses recommandations en juin 2007.

La mise en application réglementaire de ces recommandations repose sur l'arrêté du 23 juin 2009 qui ouvre la voie au dépistage de la trisomie 21 du premier trimestre en France, comme c'est déjà le cas dans d'autres pays européens. Cet arrêté prévoit que chaque femme enceinte signe un consentement après avoir reçu une information claire et précise quant au dépistage qu'elle s'apprête à suivre et marque un tournant significatif dans la prise en charge des femmes enceintes de plus de 38 ans qui à partir de là n'ont plus été orientées vers l'amniocentèse systématique. En pratique c'est à partir du 1er janvier 2010 que le dépistage du premier trimestre a été proposé sur l'ensemble du territoire.

Au cours de l'année 2010, 3263 échographistes ont obtenu leur numéro d'identifiant, permettant à 30% des femmes enceintes de bénéficier d'un dépistage combiné du premier trimestre. Au cours du premier semestre 2011, 820 nouveaux échographistes ont reçu leur numéro d'identifiant, donnant ainsi accès au dépistage du premier trimestre à 50% des femmes enceintes sur l'année 2011 [21].

Cette prise de conscience massive de la part des professionnels de santé a ainsi permis une généralisation de cette technique qui est pratiquée en systématique aujourd'hui.

Depuis 2008, nous assistons à l'émergence d'une technique nouvelle dont la place reste à définir dans la stratégie de dépistage de la trisomie 21 : le dépistage prénatal non invasif.

II – 7 – 2 : Impact des recommandations de 2009

Les données Françaises recueillies en population générale mettent en évidence une nette amélioration de la performance du dépistage de la trisomie 21 depuis la mise en place du dépistage combiné en 2009 et soulignent l'impact important de la clarté nucale sur le calcul du risque.

La valeur prédictive positive a nettement évoluée. Elle représente la proportion de femmes porteuses d'un fœtus atteint de trisomie 21 parmi l'ensemble des femmes considérées comme à risque et dépend de la prévalence de la maladie ainsi que des performances intrinsèques du test de dépistage.

En 2009, 98% des dépistages de la trisomie 21 étaient effectués au 2ème trimestre sans mesures échographiques. Dés 2013, c'est 73% des femmes dépistées qui ont eu recours au 1er trimestre combiné.

La comparaison en 2013 des trois stratégies de dépistage (1er trimestre combiné, 2ème trimestre intégré ou 2ème trimestre marqueurs seuls) a montré que le dépistage combiné abouti à un plus grand nombre de diagnostics avec une meilleure valeur prédictive positive.

La valeur prédictive positive était égale à 1,5% pour le dépistage du 2ème trimestre par les marqueurs sériques seuls, égale à 3,2% pour le dépistage du 2ème trimestre séquentiel intégré, et égale à 5,7% pour le dépistage combiné du 1er trimestre. Effectivement le test combiné du 1er trimestre donne une proportion de femmes considérées à risque de 4% alors que le test utilisé au 2ème trimestre donne une proportion de risque de 8,8%.

La montée en charge de l'utilisation du dépistage combiné du 1er trimestre à la place des tests de dépistage du 2ème trimestre a permis une nette diminution du nombre de caryotypes réalisés. Effectivement en 2009, 9,6% des femmes enceintes avaient bénéficié d'un prélèvement invasif pour caryotype foetal contre seulement 5,3% en 2013.

Le nombre de caryotypes fœtaux faisant suite à une amniocentèse ou à une choriocentèse a ainsi chuté de 46% entre 2009 et 2013, ce qui a permis d'éviter entre 180 et 360 pertes fœtales pour l'année 2013 à elle seule.

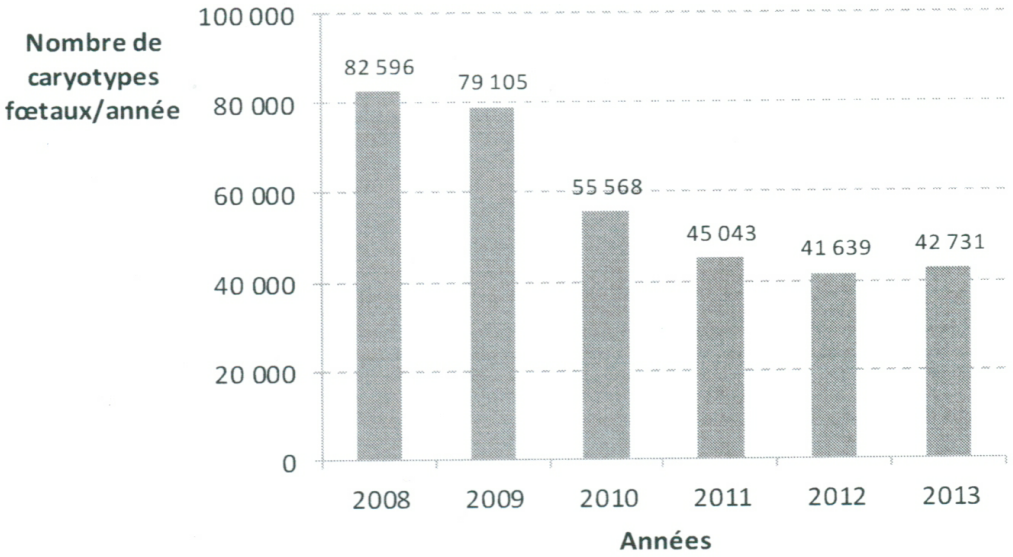


Figure 21 : Diminution des caryotypes fœtaux depuis la mise en place du dépistage combiné (Agence de biomédecine)

Chez les femmes de plus de 38 ans, le prélèvement invasif n'a plus été indiqué d'emblée. N'étant plus orientées vers l'amniocentèse systématiquement, les femmes enceintes de plus de 38 ans ont majoritairement opté pour le dépistage combiné en première intention.

II – 7 – 3 : Perspectives d'avenir

L'apparition de nouveaux marqueurs de risque doit être considérée avec attention car elle peut introduire dans le futur des modifications majeures dans le dépistage prénatal de la trisomie 21. Parmi ces méthodes de dépistage qui font actuellement l'objet d'une recherche plus ou moins avancée, trois se révèlent potentiellement intéressantes. Il s'agit premièrement de l'ADN foetal circulant, deuxièmement des autres marqueurs échographiques et troisièmement de nouveaux marques sériques du 1er trimestre.

1 - L'ADN fœtal circulant

Méthode de dépistage étudiée depuis 2008, elle porte le nom de dépistage prénatal non invasif.

Cette technique de dépistage semblant être aujourd'hui la plus prometteuse, nous la décrirons plus loin dans ce manuscrit, afin d'en étudier le progrès, les avantages, et les limites.

2 - Les autres marqueurs échographiques du 1er trimestre

En dehors de la mesure de la clarté nucale, l'échographie du 1er trimestre pourrait fournir d'autres informations utiles au dépistage de la trisomie 21.

Plusieurs signes échographiques seraient plus souvent retrouvés chez les fœtus atteints de trisomie 21.

Les os propres du nez :

Ils ne sont pas visualisés (agénésie) chez 60 à 70% de ces fœtus porteurs d'une trisomie 21 au cours de l'échographie du 1er trimestre de la grossesse. Ils sont également absents chez 50% des fœtus porteurs d'une trisomie 18, chez 40% des fœtus porteurs d'une trisomie 13, chez 1 à 3% des fœtus non porteurs d'aneuploïdie.

L'intérêt de ce marqueur est limité par le manque de sensibilité et par sa difficulté de mise en évidence. Il pourrait en revanche être utilisé à l'issu d'un premier dépistage combiné à risque.

Le ductus venosus (canal d'Arantius) :

Il s'agit d'un shunt vasculaire permettant d'apporter le sang oxygéné de la veine ombilicale vers la veine cave inférieure puis le cœur. Ce canal présente une anomalie du flux dans 80% des cas de fœtus porteur d'une trisomie 21, repérable par doppler au 1er trimestre de la grossesse.

Cependant cette technique est extrêmement consommatrice de temps, ce qui rend l'intégration de ce marqueur dans une stratégie de dépistage délicate.

La place de ces nouveaux marqueurs échographiques du 1er trimestre reste donc débattue. Leur utilisation ne pourrait sans doute être envisagée que dans un cadre très spécialisé, après confirmation de leur intérêt réel.

3- Les nouveaux marqueurs sériques du 1er trimestre

Il porte le nom de ADAM 12, pour A Desintegrin And Metalloprotease 12. Il s'agit d'une protéase produite par les trophoblastes, qui apparaît comme un marqueur prometteur de la trisomie 21.

Sa concentration dans le sérum maternel est diminuée au premier trimestre d'une grossesse de fœtus atteint de trisomie 21.

La combinaison de la PAPP-A et de ADAM 12 à 8 ou 9 semaines d'aménorrhée pourrait identifier 91% des fœtus porteurs d'une trisomie 21 pour un taux de faux positifs de 5%.

Ces premières estimations modélisées à partir de données issues d'une étude cas-témoins devront être confirmées [22].

II – 8 : Dépistage Versus Diagnostic

Dépister n'est pas diagnostiquer !
Le dépistage ne répond pas à une demande explicite du patient, c'est le médecin qui prend l'initiative de l'examen clinique ou biologique pour des personnes à priori en bonne santé.
Les outils utilisés pour le dépistage sont différents des examens diagnostics car ils peuvent être utilisées sans risque dans la population générale et ceci à un coût relativement faible.

Le dépistage
Consiste en la recherche d'une maladie ou d'une anomalie dite « à risque » chez les individus d'une population donnée.
Ces investigations sont suivies ou non de consultations médicales, d'examens cliniques ou de traitements.
Le dépistage constitue une procédure préliminaire visant à détecter un ou plusieurs signes ou symptômes caractéristiques d'une maladie, pouvant ensuite donner lieu à une investigation approfondie [23] [24].

Le dépistage ne doit pas être confondu avec la prévention bien qu'il s'adresse aussi à des populations cliniquement asymptomatiques. Il peut s'intégrer dans le cadre de la promotion de la santé.

Par dépistage du risque de Trisomie 21, nous entendons donc l'ensemble des méthodes que nous venons d'étudier, à savoir le calcul de risque combiné du 1er ou du 2ème trimestre mais également le Dépistage Prénatal Non Invasif.

Quel qu'il soit, un dépistage dont le résultat est rendu positif peut donner suite à un examen de diagnostic qui a pour objectif de confirmer le dépistage.

Le diagnostic
Constitue l'acte médical, le raisonnement permettant d'identifier la nature et la cause de l'affection dont un patient est atteint.
Il permet d'affirmer ou d'infirmer un dépistage positif.

Cas du diagnostic prénatal
Ensemble des pratiques médicales ayant pour but de détecter *in utero* chez le fœtus une affection d'une potentielle gravité. Il permet de donner aux futurs parents le choix d'interrompre la grossesse ou de permettre une meilleure prise en charge médicale de la pathologie si la grossesse est poursuivie.

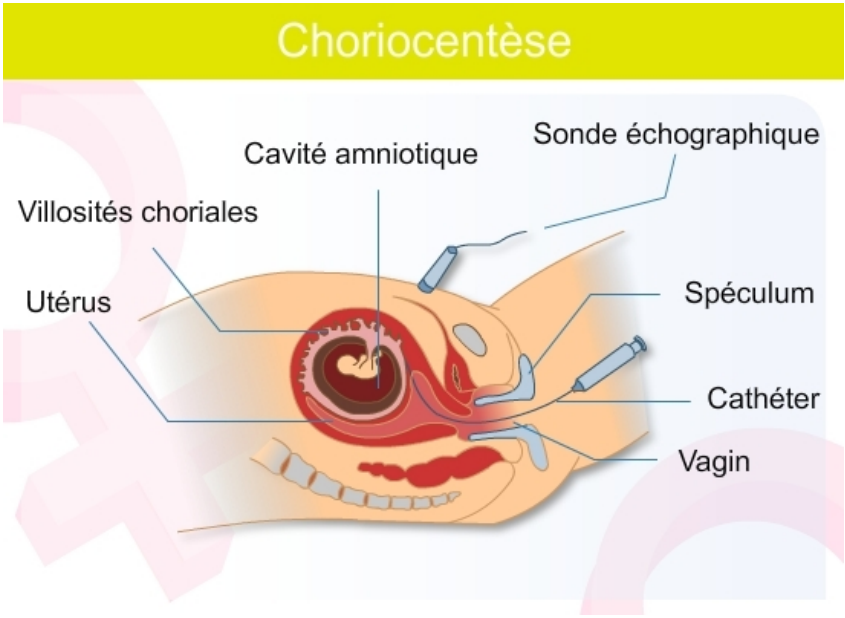
Quelles sont ces pratiques médicales à visée diagnostic de la trisomie 21 ?
Quels en sont les risques ?
Quels résultats apportent elles ?

Chapitre III : La cytogénétique

III – 1 : Les prélèvements permettant le diagnostic

III – 1 – 1 : La choriocentèse

La ponction de villosités choriales est également appelée biopsie de trophoblaste, ou choriocentèse.
Il s'agit du prélèvement d'un petit fragment du tissu qui entoure la poche amniotique et le fœtus, appelé trophoblaste.
Ce tissu deviendra le placenta au cours du premier trimestre de la grossesse et possède le même patrimoine génétique que le fœtus car il est issu d'une partie de l'œuf fécondé.



(lesanomaliesdunombredechromosomes.e-monsite.com)

L'examen est habituellement effectué entre la 11ème et la 14ème semaine d'aménorrhée.
Le prélèvement est soit trans-abdominal soit trans-cervical.

La choriocentèse est décrite dès 1960 sur un placenta à terme en post-partum.
La première biopsie par voie trans-cervicale au premier trimestre a pu être effectuée en 1973, cependant l'aspiration au cathéter à l'aveugle était source de contaminations maternelles fréquentes.
Le premier prélèvement écho-guidé par voie trans-cervicale a été réalisé en 1982, celui par voie abdominale à l'aiguille en 1984 [25].

Le prélèvement doit être composé de 5 à 15 mg de villosités choriales.
La ponction en elle-même n'est pas plus douloureuse qu'une prise de sang et ne dure que quelques minutes.

Complications éventuelles :

- Possibles infections, hémorragies, voire perforation utérine.
- Formation d'hématome sous le chorion (paroi externe qui enveloppe l'embryon)
- Le risque de fausse couche est d'environ 1%.
- Un prélèvement effectué avant 9 SA peut conduire à des malformations fœtales comme des réductions de membres, rapportées dans 20% des cas, suite à une vasoconstriction des vaisseaux périphériques du fœtus, provoquant une diminution de l'oxygénation des tissus et une nécrose. Ce risque n'existe plus si le prélèvement est fait après 12 SA.

Suite au prélèvement, un contrôle échographique est effectué pour vérifier l'absence d'hématome et la viabilité de l'embryon.

Il faut également être prudent quant à l'immunisation Rhésus si celui de la mère est négatif.
En effet dans ce cas, il est possible par prévention de faire une injection de Rhophylac 300 (immunoglobuline humaine anti-D) à la patiente [26].
Cette injection évitera, le cas échéant, qu'elle ne s'immunise contre son enfant si celui ci à un Rhésus positif, compte tenu des problèmes que cela pourrait poser lors de l'accouchement.

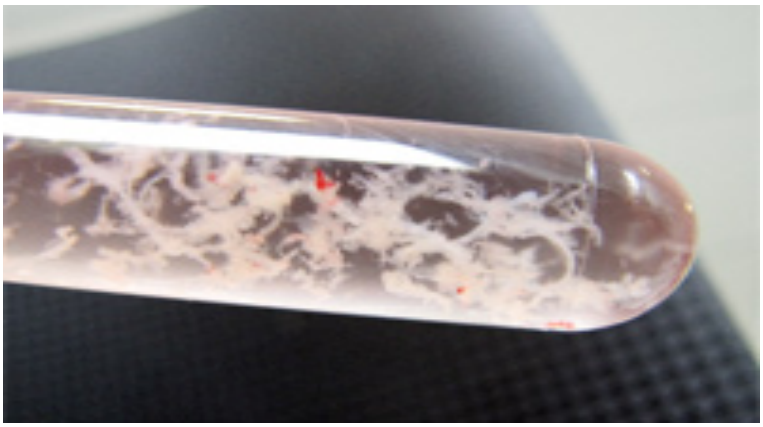


Figure 22 : Prélèvement de villosités choriales
(http://www.chu-st-etienne.fr/Reseau/reseau/cpdpn/PVCTrophoblaste.asp)

Malgré le bénéfice qu'apporte la biopsie de trophoblaste de part la précocité de l'examen, elle reste peu utilisée pour différentes raisons :

- Les prélèvements sont parfois difficiles à analyser, petits et souillés.
- La contamination maternelle est fréquente.
- La technique est délicate (culture difficile, risque d'échec plus important).
- Les anomalies chromosomiques sont plus difficiles à interpréter en raison d'une moins bonne résolution comparativement au caryotype sur liquide amniotique.
- La culture des cellules est souvent longue, supérieure à 12 jours pour un prélèvement de 10 mg, 8 jours pour un prélèvement supérieur à 20 mg, avec un risque d'échec non négligeable selon la qualité et la quantité du prélèvement [27].

S'il persiste le moindre doute sur le caryotype réalisé avec la choriocentèse, une amniocentèse de contrôle est systématiquement demandée, ce qui fait courir un risque supplémentaire pour la patiente et son fœtus.

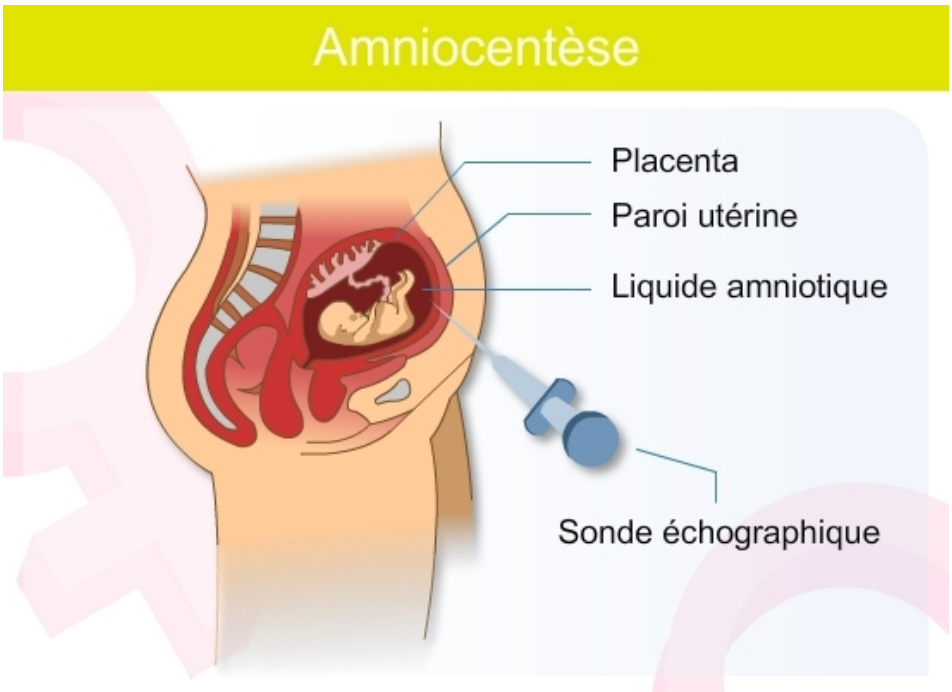
III – 1 – 2 : L'amniocentèse

L'amniocentèse est un prélèvement de liquide amniotique situé dans la cavité amniotique où se trouve le fœtus. Elle fait partie des gestes invasifs du dépistage de la trisomie 21.
Vingt à trente millilitres sont en général prélevés pour effectuer les analyses nécessaires [28].

Elle est pratiquée dès qu'il y a assez de liquide dans la cavité amniotique et que le nombre de cellules est suffisant, soit à partir de 16 à 17 semaines d'aménorrhée.
Au delà de 32 SA il devient difficile d'obtenir un résultat interprétable, les échecs de culture étant fréquents.

Quatre vint douze pourcent des caryotypes fœtaux sont réalisés à partir du liquide amniotique.

Il faudra attendre 1972 pour que soit mise en place en France le diagnostic prénatal des aneuploïdies par amniocentèse.
Roger Henrion est le tout premier médecin à avoir pratiqué ce geste [29][44].



L'amniocentèse est théoriquement possible dès 11 semaines d'aménorrhée mais comporte à ce stade un risque majoré de fausse couche, principalement par risque de décollement des tissus placentaires. Il comporte également un risque d'échec important.

Le prélèvement nécessite une échographie préalable pour localiser le placenta, définir la présentation foetale, sa vitalité, ainsi que la réserve de liquide amniotique.
Il est ensuite pratiqué sous contrôle échographique permanente afin de visualiser la pointe de l'aiguille et ne pas blesser le fœtus.

Différentes recherches peuvent être pratiquées par le biais d'une amniocentèse :

- Elle permet d'établir le caryotype du fœtus après culture cellulaire. Les résultats détaillés sont obtenus sous trois semaines.

- Elle permet également grâce à une technique FISH (Fluorescence In Situ) d'obtenir en 48 heures une indication sur le nombre de certains chromosomes (concernant les principales aneuploïdies) :
    - Trisomie 13 ou syndrome de Patau
    - Trisomie 18 ou syndrome d'Edwards
    - Trisomie 21 ou syndrome de Down
    - Anomalies du nombres de gonosomes, notamment syndrome de Klinefelter (47,XXY), Triple X (47,XXX), monosomie X ou syndrome de Turner (45,X)

- L'amniocentèse permet également de rechercher certaines maladies génétiques d'origine génique, comme la mucoviscidose ou de la drépanocytose, dans le cas de pathologies familiales.

- Certaines maladies virales ou parasitaires peuvent être mises en évidence par l'intermédiaire d'analyses réalisées sur le liquide amniotique : le Cyto Mégalo Virus, la rubéole, la toxoplasmose, l'herpes simplex.

Suite à une amniocentèse, il est conseillé à la patiente de se reposer durant 24 heures à domicile [30].

Le geste est réussi dès la première tentative dans 99 % des cas si l'opérateur est expérimenté.
Cette expérience est capitale pour ne pas avoir besoin de recommencer le prélèvement et en conséquent multiplier le risque d'effets secondaires, notamment de fausse couche.
Le risque de fausse couche spontanée suite à une amniocentèse d'environ 0,5%. Cette fausse couche survient dans les 8 à 10 jours suivants le prélèvement.

Les complications infectieuses sont très rares, elles sont dépendantes des conditions d'aseptie préalables.

Comme pour la choriocentèse, il faut être très vigilant quant à la transfusion foeto-maternelle si la maman à un Rhésus négatif. Il est possible de pratiquer une allo-immunisation par un Rhophylac afin qu'elle ne développe pas d'anticorps contre les globules rouges de son enfant si le Rhésus du fœtus est posistif.

III – 1 – 3 : Ponction de sang fœtal

La ponction de sang fœtal est aussi appelée cordocentèse.
Elle peut être réalisée à partir de 18 semaines d'aménorrhée jusqu'au terme de la grossesse, mais en pratique n'est utilisée que lorsque l'amniocentèse n'est plus possible (après 32 SA environ).
Le prélèvement est fait dans la veine ombilicale, au niveau de l'insertion du cordon.
Depuis 1983 ce geste est pratiqué par ponction écho-guidée [29].
Réalisée après 26 semaines aménorrhée, la cordocentèse nécessite une hospitalisation.
La ponction de sang fœtal représente 1% de l'ensemble des prélèvements invasifs réalisés.

Après la ponction, le risque d'hémorragie fœtale est important, de l'ordre de 60 %, mais régresse en général de façon spontanée.
Une bradycardie est observée chez le fœtus dans 7 % des prélèvements de sang de cordon, pouvant provoquer des spasmes vasculaires.

Cette technique permet d'obtenir un caryotype plus rapidement qu'une amniocentèse (environ 72 heures). Cependant, en raison des comorbidités importantes, notamment le déclenchement d'un accouchement prématuré, ce geste n'est quasiment plus réalisé [29].

III – 2 : Mise en culture des prélèvements [31]

Dans plus de 9 cas sur 10, c'est à partir du liquide amniotique que le laboratoire de cytogénétique déterminera le caryotype du fœtus. La ponction de villosités choriales est peu utilisée.
Ceci s'explique par la date habituelle de rendu du résultat de dépistage combiné du 1er trimestre. La patiente est en général aux alentours de 14 semaines d'aménorrhée, ce qui est trop tardif pour la ponction de villosités choriales.

L'acheminement du prélèvement doit être fait le plus rapidement possible jusqu'au laboratoire de cytogénétique. Dans un délai inférieur à 24 heures et à température ambiante.
Dés réception du prélèvement le laboratoire procède à la mise en culture.

La mise en culture des prélèvements est faite sous hotte à flux laminaire pour éviter toute contamination. Un milieu enrichi à base de facteurs de croissance et d'antibiotiques est ajouté.
Un millilitre du prélèvement est conservé et congelé pendant 6 mois pour une utilisation ultérieure en fonction des demandes éventuelles.

Une fois le tapis cellulaire confluant obtenu le prélèvement subi différents traitements :

- Trypsination pour décoller les foyers cellulaires
- Colchicine pour bloquer la division cellulaire en métaphase
- Choc hypotonique pour faire éclater les cellules
- Fixation des cellules
- Centrifugation pour obtenir le culot cellulaire

Les lames subissent une dénaturation thermique qui marque les chromosomes en bandes R.
Les lames sont ensuite placées pendant dix minutes dans un colorant Giemsa, rincées, puis séchées à l'air libre avant d'être observées au microscope.

Tout le matériel biologique ayant servi à l'élaboration du caryotype est archivé :

- Les lames colorées ayant servi au diagnostic sont conservées 1 an
- Le culot cellullaire fixé est conservé 9 mois à -20°C
- Un échantillon de 1 mL de liquide amniotique congelé est conservé 9 mois à -20°C

III – 3 : Le caryotype

III – 3 – 1 : Méthode de réalisation

Le caryotype humain est l'arrangement caractéristique des chromosomes d'un individu. Il comporte 46 chromosomes, composés de 22 paires d'autosomes et une paire de gonosomes, deux chromosomes X dans le sexe féminin, un X et un Y dans le sexe masculin.

Les mitoses en métaphase étalées sur les lames sont observées au microscope, qui est relié à une caméra, pilotée par un logiciel permettant de capturer l'image sur un écran.

Quinze mitoses doivent être capturées puis imprimées.
Parmi ces quinze mitoses, trois au minimum seront caryotypées (plus si nécessaire en cas d'anomalies).
Les douze autres mitoses sont imprimées et analysées mais sans classement des chromosomes.

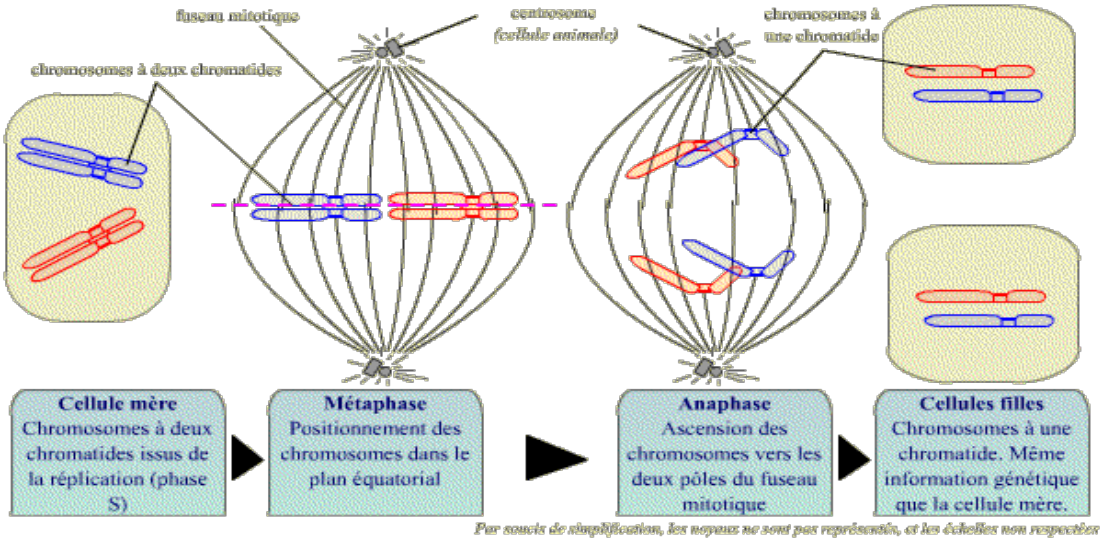


Figure 23 : Schéma du cycle de la division cellulaire
(https://fr.wikipedia.org/wiki/Cycle_cellulaire)

Les règles de classements des chromosomes sont au nombre de trois :

- La taille décroissante
- L'indice centromérique
- Le banding

L'indice centromérique

Il est caractérisé par le ratio « p/p+q », où p est la taille du bras court (le bras supérieur) et q la taille du bras long (le bras inférieur).
Il permet de distinguer les chromosomes métacentriques, submétacentriques et acrocentriques.

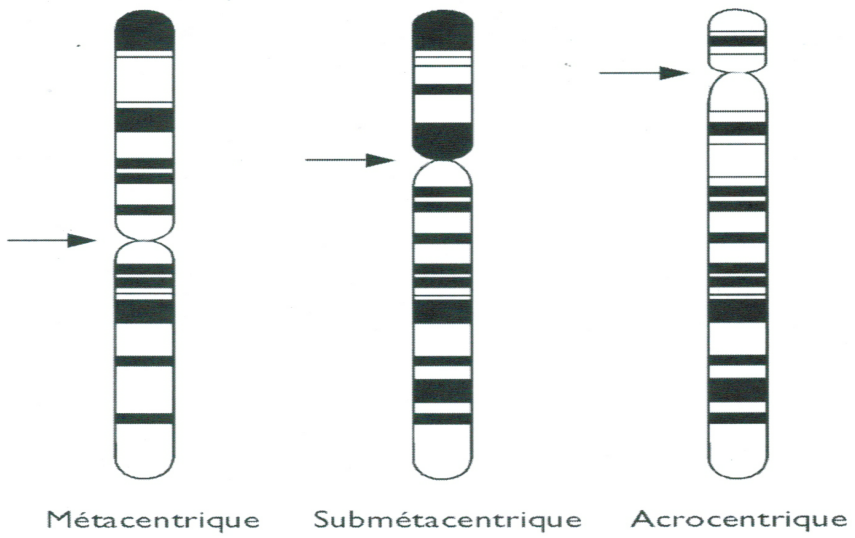


Figure 24 : Les différents types de chromosomes existants chez l'Homme (http://slideplayer.com/slide/5901623/)

Le banding

Les deux marquages différents qui sont effectués sur les mitoses en fin de culture permettent le banding.
Les mitoses qui ont subi une dénaturation par la chaleur seront marquées par les bandes R (pour Reverse).

Tandis que les mitoses qui ont subi une digestion enzymatique à la trypsine seront marquées par les bandes G [32].

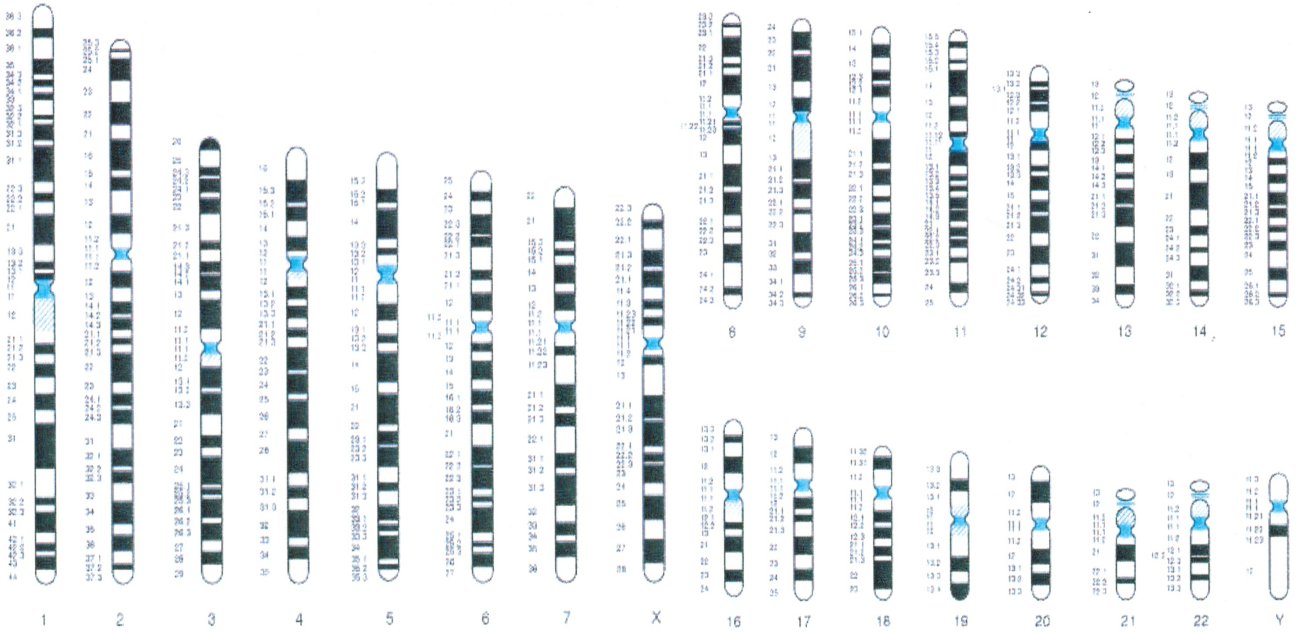


Figure 25 : Chromosomes en bandes G : Régions, bandes et sous-bandes (http://medecineamiens.fr/Cours/M1_PHEFI/UE_Alterations_genomiques/Indications_et_caryotype_sans_anomalie.pdf)

Les bandes R et les bandes G sont complémentaires, elles marquent les régions euchromatiques codantes des chromosomes ; ce qui correspond aux régions riches en ADN et donc en gènes.
Si l'on superposait un caryotype bande R et ce même caryotype bande G, les chromosomes seraient entièrement noirs.
Il est recommandé d'utiliser les deux marquages pour la réalisation d'un caryotype en période post-natale. En période anténatale seules les bandes R sont utilisées.

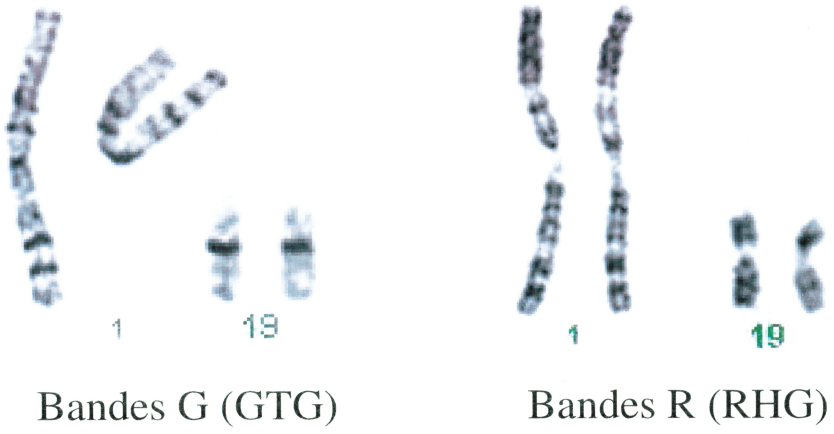
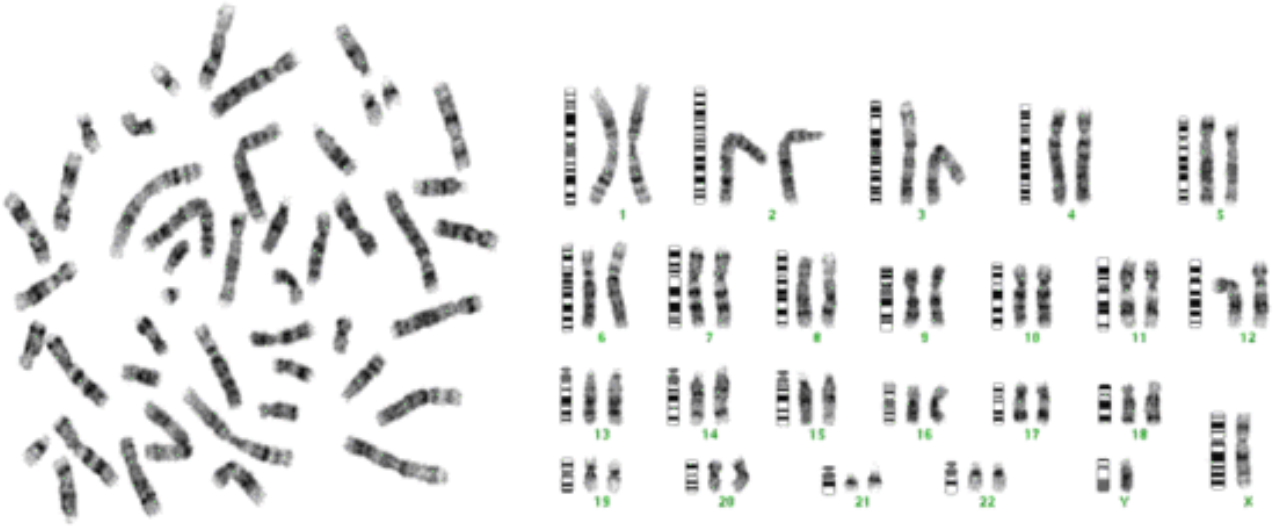


Figure 26 : Schéma des chromosomes 1 et 19, bandes G et bandes R (http://medecineamiens.fr/Cours/M1_PHEFI/UE_Alterations_genomiques/Indications_et_caryotype_sans_anomalie.pdf)

L'image de gauche illustre une mitose observée au microscope par le technicien.
Les chromosomes sont comptés, regroupés par paires puis classés selon leurs tailles et leurs banding pour obtenir un caryotype comme observé sur l'image de droite.



(http://medecineamiens.fr/Cours/M1_PHEFI/UE_Alterations_genomiques/Indications_et_caryotype_sans_anomalie.pdf)

Pour valider techniquement le dossier, le technicien doit renseigner les données nécessaires suivantes [31] :

- Le temps de culture
- Le type de banding
- Le nombre de mitoses examinées
- Le nombre de mitoses caryotypées
- Le nombre de flacons utilisés
- L'identifiant du technicien réalisateur de l'examen

Le dossier est ensuite prêt pour la validation biologique.
Un exemplaire du compte rendu signé par le médecin responsable du dossier sera adressé par courrier au médecin prescripteur. Selon les souhaits des patientes, un double peut être envoyé au médecin traitant ou à la sage-femme.
En cas d'anomalie chromosomique décelée, le résultat est communiqué par téléphone au gynécologue obstétricien qui aura la responsabilité d'en informer sa patiente.
En cas de non-conformité initiale du dossier, une réserve est émise sur le résultat.

Le biologiste rédige la formule chromosomique selon la nomenclature internationale (ISCN 2013), puis la conclusion.
On ne parlera jamais de caryotype normal, mais de caryotype sans anomalie détectée par les méthodes d'analyses actuelles.

III – 3 – 2 : Ses limites

Il existe des limites au caryotype.

La première : le long délai d'obtention du résultat.
Il avoisine souvent les 10 jours, après un délai de culture cellulaire de 8 jours en moyenne.

La deuxième limite est la résolution.
Elle n'est pas toujours suffisante pour différencier les chromosomes les uns des autres, souvent dépendante du type de prélèvement effectué.
Plus le nombre de bandes visibles est élevé, plus il est facile pour le technicien de visualiser une anomalie atypique.
Si le prélèvement est une choriocentèse, les chromosomes observés sur le caryotype comportent environ 300 bandes.
Si le prélèvement est une amniocentèse, il faut s'attendre un rendu de 300 à 400 bandes.
La cordocentèse quant à elle donne le résultat le plus précis, entre 400 et 550 bandes [32].

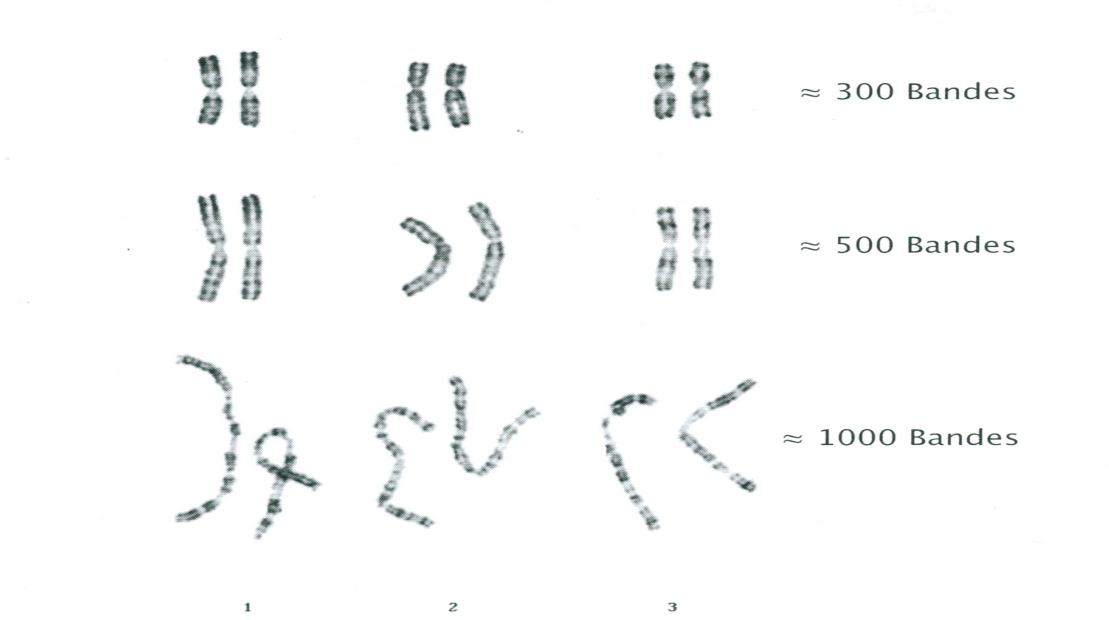


Figure 27 : Illustration de chromosomes en fonction de trois résolutions différentes (Dossier de la bioformation ACORATA, Paris, décembre 2014)

L'erreur humaine reste possible dans l'élaboration d'un caryotype, le technique n'étant pas à ce jour automatisable.
Les contaminations maternelles sont possibles lors des différents prélèvements ; ce qui mènerait à établir le caryotype de la maman et non celui de l'enfant.
Une trisomie 21 en mosaïque peut donner un caryotype normal si les cellules concernées ne sont pas celles analysées.

Cependant, le caryotype reste le seul examen de diagnostic de la trisomie 21.
A celui ci peut précéder une autre technique : L'aneuvysion®.

III – 4 : L'aneuvysion®, alternative au caryotype

L'aneuvysion® est une technique de FISH (Hybridation In Situ Fluorescente).
Elle permet de visualiser une région chromosomique d'intérêt (chromosome ou portion de chromosome) grâce à des sondes fluorescentes. Cette analyse peut être réalisée sur noyaux métaphasiques ou interphasiques.

Les sondes du centromère sont utilisées pour visualiser les chromosomes X, Y et 18.
Les sondes site-spécifique sont utilisées pour visualiser les chromosomes 13 et 21, elles permettent de reconnaître si un locus spécifique est dupliqué [33].

L'avantage de l'aneuvysion® est de pouvoir compter beaucoup plus de cellules que lors de l'élaboration du caryotype, et d'obtenir un résultat très rapide.

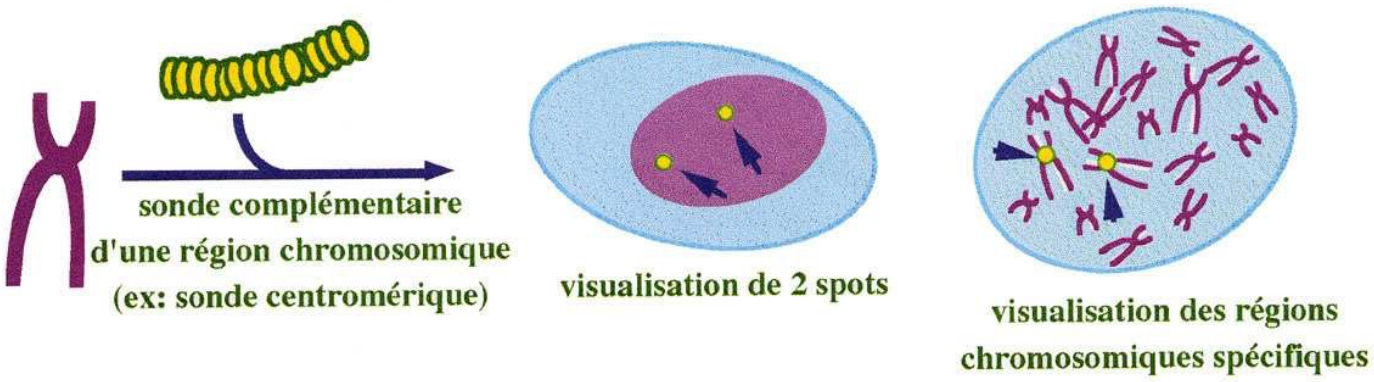


Figure 28 : Principe de la FISH
(http://medecineamiens.fr/Cours/M1_PHEFI/UE_Alterations_genomiques/Indications_et_caryotype_sans_anomalie.pdf)

Elle s'effectue sur le liquide amniotique frais, avant la mise en culture et réalisation du caryotype. Ceci permet un résultat beaucoup plus rapide que le caryotype : 4 heures pour l'étalement des cellules amniotiques sur lame, une nuit pour l'hybridation, une heure pour la lecture au microscope.
En pratique, le résultat est souvent rendu en 48 heures [32].

L'aneuvysion® peut suffire, dans un contexte de signe d'appel échographique, à proposer une interruption médicale de grossesse si le résultat montre la présence de trois chromosomes 21.

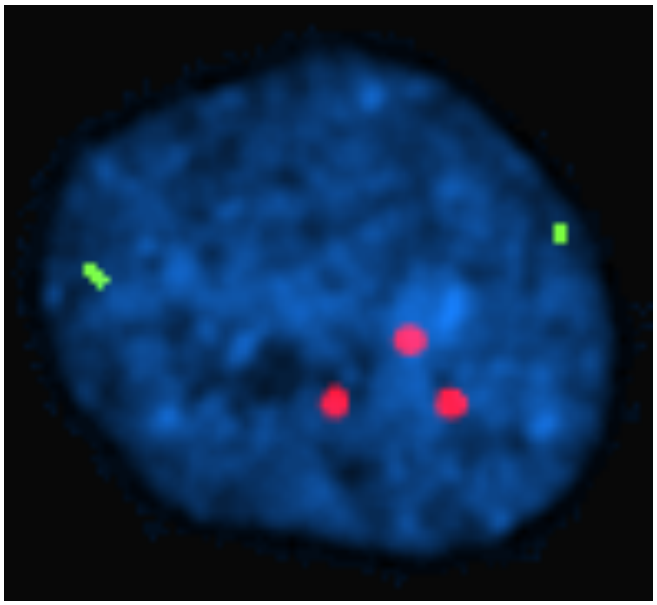


Figure 29 : Trisomie 21 observée sur amniocytes
(http://medecineamiens.fr/Cours/M1_PHEFI/UE_Alterations_genomiques/Indications_et_caryotype_sans_anomalie.pdf)

Cet amniocyte observé au microscope après l'hybridation possède 2 chromosomes 13 (les signaux sont en vert) et 3 chromosomes 21 (les signaux sont en rouge).

Le caryotype sera tout de même fait sur la culture de liquide amniotique, de préférence avant une Interruption Médicale de Grossesse. Mais la situation peut amener la patiente à demander une IMG, et le centre à accepter cette IMG, avant qu'il ne soit établi, principalement en cas de signe d'appel échographique associé.

S'il s'agit d'une amniocentèse réalisée pour une hyperclarté nucale ou un signe d'appel échographique, l'aneuvysion® est régulièrement utilisée par le laboratoire de cytogénétique. S'il s'agit d'une amniocentèse réalisée suite à un dépistage par les marqueurs sériques à risque, l'aneuvysion® est peu utilisée pour donner préférence au caryotype complet.

Cette technique peut également être réalisée sur un prélèvement de villosités choriales, mais uniquement en cas d'échec d'obtention de mitoses.

Elle a cependant des limites :
Le résultat reste partiel. Il ne décèle que des anomalies de nombre et non de structure, qui correspondent uniquement aux sondes d'hybridation utilisées.

Chapitre IV : Le dépistage prénatal non invasif

IV – 1 : Définition [1]

Il s'agit d'un test se basant sur l'ADN foetal libre circulant dans le sang maternel qui permet de dépister les principales aneuploïdies que sont les trisomies 13, 18 et 21.

Dans le rapport HAS 2007, il avait été souligné que l'analyse de l'ADN circulant dans le sang maternel était une perspective de recherche prometteuse susceptible de modifier la stratégie de dépistage de la trisomie 21 fœtale.
A la suite de la demande de la Direction Générale de la Santé (DGS), la Haute Autorité de Santé a réévalué les modalités de dépistage en tenant compte de la mise à disposition des tests prénataux non invasifs afin d'actualiser les recommandations publiées en 2007.
Pour cela elle rédige en Septembre 2015 le premier volet « Performances des tests ADN libre circulant pour le dépistage de la trisomie 21 fœtale ».
L'enjeu majeur de cette actualisation est de limiter le nombre de prélèvements invasifs réalisés suite au dépistage par les marqueurs sériques à risque, pour éviter autant que possible les pertes fœtales.

L'ADN fœtal qui est libéré dans la circulation sanguine maternelle est majoritairement issu des cellules trophoblastiques placentaires. Il est détectable dès la 6ème semaine d'aménorrhée.
La proportion de cet ADN fœtal augmente au cours de la grossesse et représente environ 10% de l'ADN total vers 10-12 SA en libre circulation dans le sang maternel.
Il a une courte durée de vie dans la circulation et est éliminé en moins de 48 heures après l'accouchement.

L'objectif du test n'est pas d'analyser le génome du fœtus, mais de rechercher dans l'ADN fœtal libre en circulation dans le sang maternel une surreprésentation éventuelle du nombre de copies du chromosome 21 (sans différentiation des fractions fœtales et maternelles).

IV – 2 : Les indications de ce dépistage

Les objectifs du dépistage non invasif sont :

- D'améliorer la sensibilité et la spécificité du dépistage des aneuploïdies et en particulier de la trisomie 21
- De diminuer le recours aux gestes invasifs et potentiellement diminuer leur morbidité secondaire de l'ordre de 0,5 à 1 %
- De simplifier le parcours de soin

Le test non invasif de dépistage de la trisomie 21 n'est pas recommandé en présence de signes d'appel échographiques ni en cas de clarté nucale supérieure ou égale à 3,5 millimètres.

Son indication doit être discutée en cas de clarté nucale comprise entre le 95ème percentile et 3,5 millimètres.
C'est pour cette raison que le test n'est recommandé qu'à partir de 11 semaines d'aménorrhée après la mesure de la clarté nucale.

En revanche, le DPNI a maintenant fait ses preuves chez les femmes à risque accru (hors signes d'appel échographiques), bien que le nombre d'études publiées soit encore insuffisant pour le recommander en dépistage primaire.

L'Association des Cytogénéticiens de Langue Française (ACLF) considère que le test ADN libre circulant de la trisomie 21 n'est pas un test de dépistage de première ligne au regard des données disponibles aujourd'hui mais préconise son utilisation dans certaines indications.

Les indications recevables actuellement sont les suivantes :

1 - Les patientes à risque accru de trisomie 21

- Celles dont le risque par les marqueurs sériques est supérieur ou égal à 1/1000, quelle soit la stratégie utilisée (combine du 1er trimestre, 2ème trimestre intégrant ou non la clarté nucale)
- Les patientes de plus de 38 ans n'ayant pas pu bénéficier du dépistage par les marqueurs sériques
- Les couples porteurs d'une translocation impliquant le chromosome 21

2 - Les patientes chez qui le dépistage par les marqueurs sériques n'est pas fiable

- Les grossesses gémellaires
- Les marqueurs sériques hors bornes d'après le logiciel de biochimie

3 - Les patientes avec antécédents de grossesse avec aneuploïdie fœtale

4 - Les patientes ayant un risque accru de trisomie 13 ou 18
(translocation connue chez les parents, marqueurs sériques évocateurs)

IV – 3 : La technique analytique

Le séquençage peut se faire selon deux approches différentes :

- Une approche globale dite pangénomique, au cours de laquelle l'intégralité du génome sera analysé, nécessitant un très gros séquenceur et au minimum 10 millions de reads.
- Une approche ciblée qui consiste à sélectionner puis analyser les séquences spécifiques des chromosomes recherchés, nécessitant 2 millions de reads pour l'interprétation.

La technique de Massively Parallel Sequencing ou Séquençage Massif Parallèle (MPS) a fait l'objet de nombreuses études qui ont permis de valider en pratique clinique son utilisation pour le Dépistage Prénatal Non Invasif des principales aneuploïdies.

Quelle que soit l'approche, la grande majorité des tests visant à analyser l'ADN libre circulant utilisent la technique du séquençage haut débit.

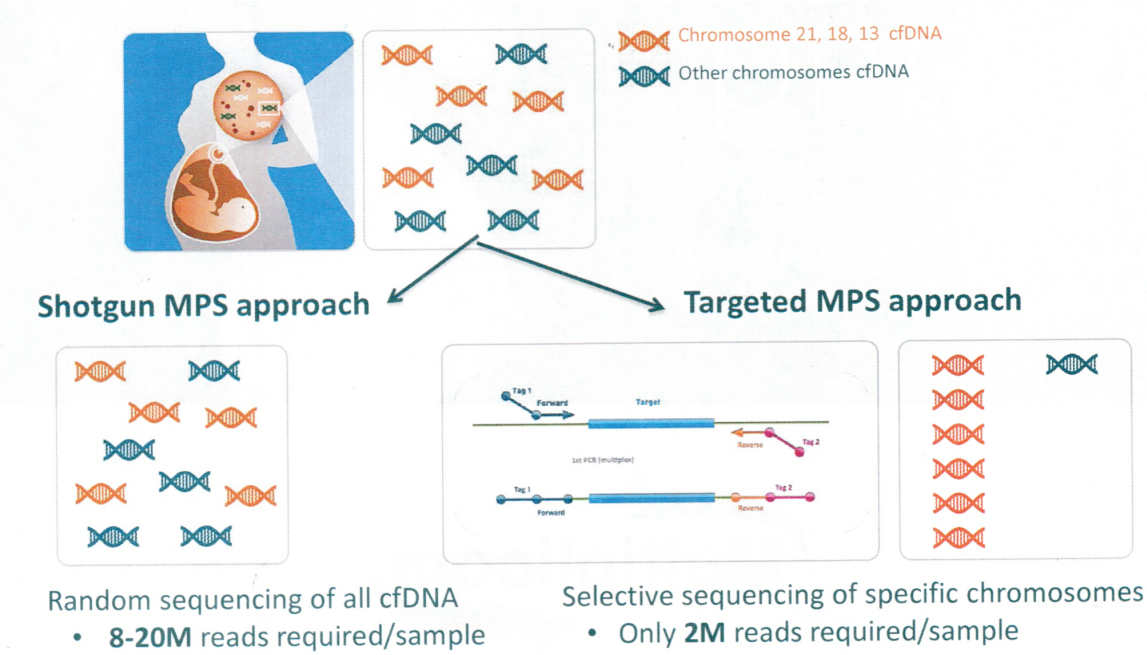


Figure 30 : Approche du séquençage par la technique MPS
(Document Multiplicom 2015)

IV – 3 – 1 : Le prélèvement

Le prélèvement sanguin est effectué chez la femme enceinte dans des tubes spéciaux dits « cell-free » qui permettent d'éviter le relargage de l'ADN cellulaire et ainsi de conserver la fraction d'ADN fœtal libre circulant.

Les prélèvements peuvent être conservés à température ambiante le minimum de temps avant traitement, avec un maximum de 5 à 10 jours indiqué par les fournisseurs. Passé ce délai, il y a un risque élevé de lyse cellulaire et de dégradation de l'ADN.

Il n'est réalisé aujourd'hui en France qu'après l'échographie du premier trimestre pour ne pas masquer un signe d'appel échographique.

IV – 3 – 2 : Extraction de l'ADN

Les tubes de sang sont centrifugés deux fois : une première fois à vitesse lente et une seconde fois à vitesse rapide. La lyse cellulaire des cellules maternelles doit être évitée pour ne pas que l'ADN maternel soit relargué dans le plasma.
Cette étape permet de récupérer un plasma purifié, la qualité de l'extraction influe sur la concentration d'ADN dans l'échantillon et sur la fraction fœtale.

A la centrifugation suit une étape d'extraction de l'ADN, sur colonne de silice, contenu dans l'échantillon. L'ADN obtenu est un mélange d'ADN maternel et d'ADN fœtal (fraction fotale de 10% en moyenne, variant selon le terme de la grossesse).

Pour l'analyse Clarigo®, réalisée dans le laboratoire de cytogénétique, la concentration d'ADN total avant analyse est mesurée et doit être supérieure à 0,1 ng/mL pour permettre le test.

IV – 3 – 3 : Préparation de la librairie d'ADN et amplification clonale

La préparation des échantillons avant séquençage se fait en plusieurs étapes, qui reposent sur la PCR. La PCR est basée sur le mécanisme de réplication de l'ADN, elle a pour but d'augmenter le signal de détection.

- Une première PCR dite multiplexe est utilisée afin d'amplifier plusieurs fragments d'ADN à la fois par échantillon.
- Après une étape de purification des échantillons, une seconde PCR est utilisée, elle est dite simple ou universelle et a pour but d'attribuer un signal « code-barres » unique à chaque échantillon d'ADN. Cela permet de mélanger les ADN de différentes patientes avec pour objectif d'analyser douze patientes sur un run de séquençage.

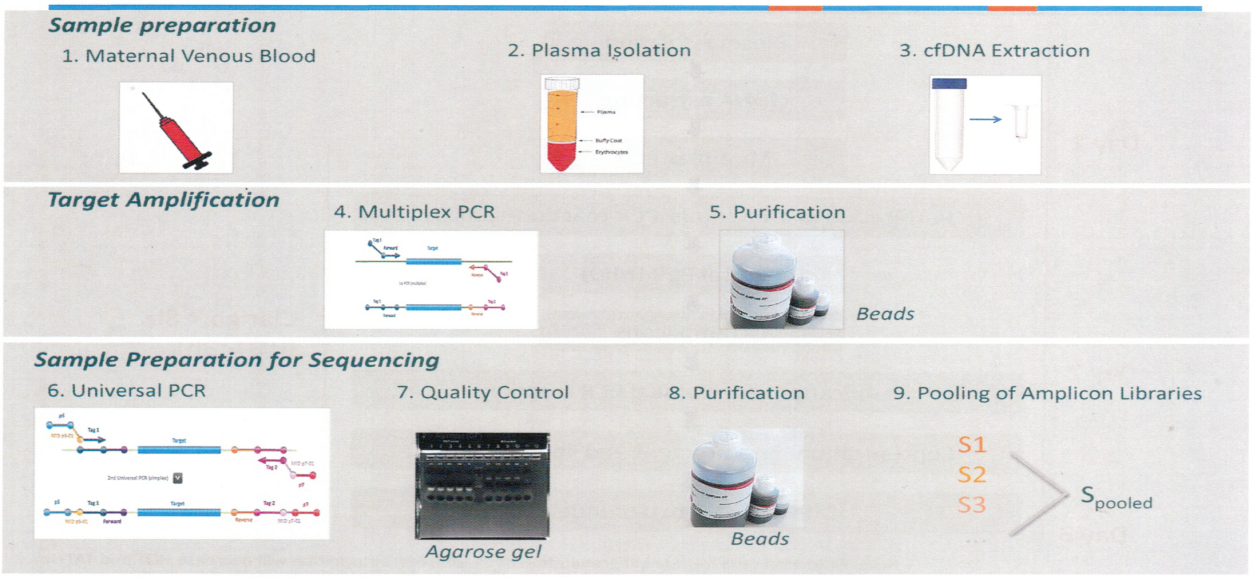


Figure 31 : Les différentes étapes du test ADN libre ciruculant
(Document Multiplicom 2015)

IV – 3 – 4 : Séquençage

Le séquençage consiste à déterminer l'ordre d'enchainement des nucléotides d'un fragment donné [34].
Le séquençage haut débit permet la production d'un nombre important de séquences, appelés reads. Des programmes bio-informatiques permettent ensuite de réordonner les fragments d'ADN par chevauchement des séquences communes [35].

L'approche MPS nécessite de compter un grand nombre de molécules d'ADN circulant afin de pouvoir discriminer les fœtus euploïdes des fœtus porteurs d'une trisomie 21. Cette nouvelle génération de séquenceurs a permis l'évolution du Dépistage Prénatal Non Invasif.

Le test ADN libre circulant nécessite une méthode d'analyse puissante, le séquençage à très haut débit combiné à une importante capacité de calcul (pipeline informatique) pour analyser rapidement plusieurs millions de molécules d'ADN, les attribuer à un chromosome d'origine, en mesurer la proportion relative et déterminer s'il y a ou non une surreprésentation statistiquement significative.

En cas de trisomie 21, l'analyse de plusieurs dizaines de milliers de séquences est nécessaire pour mettre en évidence une surreprésentation statistique du nombre de molécules du chromosome 21. En effet, l'ADN fœtal libre représente moins de 10% de l'ADN présent dans le sang maternel et la part liée au chromosome 21 est infime par comparaison à l'ADN lié aux autres chromosomes.

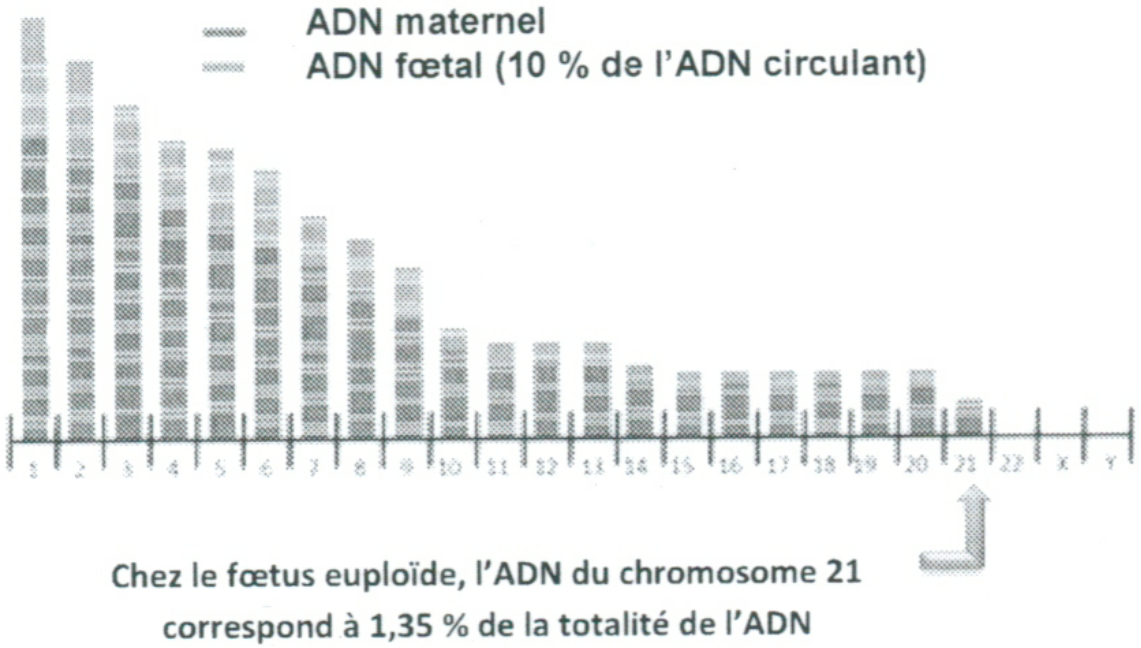


Figure 32 : Schématisation du pourcentage d'ADN libre circulant de chaque chromosome (Document de la HAS « Les performances des tests ADN libre circulant pour le dépistage de la trisomie 21 fœtale »)

IV – 3 – 5 : Alignement des séquences d'ADN

Les « reads », séquences lues par le séquenceur, qu'elles soient ciblées ou non, sont affectées à leur chromosome d'origine par un logiciel bio-informatique.
Chaque séquence est comparée à un génome de référence, de façon à identifier le site d'où provient chaque « reads » dans ce génome de référence.

Avec la technologie de Séquençage Massif Parallèle (MPS), seuls les 30 à 40 premiers nucléotides d'une séquence sont lus, puis cette séquence est assignée à un chromosome.
Avec l'approche ciblée, le séquençage cible environ 384 locus sur le chromosomes 21.

IV – 3 – 6 : Rendu des résultats du test

La proportion de chromosomes 21 est comparée aux valeurs de référence de génomes euploïdes.
Un seuil de déviation par rapport à la moyenne des euploïdes est fixé en fonction du test ADN libre circulant de la trisomie 21.

Quel que soit le test choisi, le résultat s'appuie sur la mise en évidence d'une surreprésentation de chromosome 21 sur la base d'un calcul statistique par rapport à une population de référence.
Ce résultat est exprimé en Z-score, t-score ou L-score et exprime l'écart par rapport à la valeur moyenne.

Pour certains tests, un algorithme statistique peut être utilisé. Il prend en considération, en plus de la représentation chromosomique, certains facteurs comme l'âge maternel, l'âge gestationnel ou la fraction d'ADN fœtal.

La valeur seuil de déviation a été déterminée par de nombreuses études, constituées de séries d'échantillons euploïdies, avec une trisomie 21, selon l'algorithme de calcul du Z-score.

Le résultat est dit négatif
Si le test n'a pas mis en évidence la présence d'une trisomie 21 chez le fœtus, cependant ce résultat n'exclue pas une trisomie 21 à 100%.
La patiente pourra cependant demander la réalisation d'un caryotype fœtal si elle le souhaite un diagnostic de certitude.

Le résultat est dit positif
Si la déviation observée est significative.
Ce résultat doit toujours être confirmé par la réalisation d'un caryotype fœtal après amniocentèse (recommandations ACLF en cas d'absence de signe d'appel échographique).

Le résultat est parfois incertain
Si l'algorithme ne permet pas de classer l'échantillon en positif ou négatif pour la trisomie 21. Dans ce cas, un nouveau prélèvement ou une amniocentèse sont envisagés selon les situations.

IV – 4 : Epidémiologie [1] [36]

La validation clinique en population générale du Dépistage Prénatal Non Invasif des aneuploïdies par la méthode MPS est actuellement en cours d'évaluation.

Le DPNI des aneuploïdies concerne essentiellement de dépistage de la trisomie 21 qui est la seule anomalie chromosomique dont la fréquence dans la population est suffisamment élevée pour avoir justifié de la mise en place d'un dépistage national dès 1997.

Les estimations agrégées obtenues suite aux méta-analyses de la Haute Autorité de Santé montrent que la sensibilité et la spécificité moyenne des tests ADN libre circulant de la trisomie 21 sont élevées.
La sensibilité globale est estimée à 98 % et la spécificité globale à 99,9 %.

Les premières études semblent démontrer clairement son intérêt aussi bien dans la population générale dite « tout venant » que dans un groupe de risque accru de trisomie 21.

En ce qui concerne le test ADN libre circulant effectué dans la population générale, les études analysées par la Haute Autorité de Santé sont au nombre de 13 et démontrent que :

- La sensibilité moyenne est de 96,9 %
- La spécificité moyenne est de 99,9 %
- La valeur prédictive positive varie de 45,5 % à 80,9 %

Ses performances sont tout aussi excellentes dans une population à risque accru d'aneuploïdie fœtale, principalement pour la trisomie 21. Les études analysées par la Haute Autorité de Santé sur la population à haut risque sont au nombre de 20 et démontrent que :

- La sensibilité moyenne est de 98,4 %
- La spécificité moyenne est de 99,8 %
- La valeur prédictive positive est de 99,44 %
- Le taux de détection est de 99,6 %

Au total, 33 études étaient disponibles pour renseigner les performances des tests ADN libre circulant de la trisomie 21.
Les données de la littérature et celles de la méta-analyse de la Haute Autorité de Santé permettent de démontrer que quelque soit le risque de départ, le taux de détection du DPNI est supérieur à 99% et le taux de faux positifs inférieur à 1%.

Ces moyennes sont légèrement inférieures pour ce qui concerne les trisomies 13 et 18 :

- Trisomie 13 : sensibilité de 93,33 %, spécificité de 99,54 %, taux de détection de 87 %.
- Trisomie 18 : sensibilité de 98,1 %, spécificité de 99,92 %, taux de détection de 98 %.

Ces performances moindres en terme de trisomie 13 et 18 s'expliquent par des calculs entachés d'une très forte incertitude en raison de leurs faibles prévalences en population générale.

Ces informations épidémiologiques proviennent de la publication de la Haute Autorité de Santé « Les performances des tests ADN libre circulant pour le dépistage de la trisomie 21 fœtale »; Volet 1 (Septembre 2015).
Un Volet 2 est attendu, il aura pour rôle d'évaluer la place de ces tests dans la stratégie de dépistage, le coût et leurs modalités de mise en œuvre et de prise en charge.

IV – 5 : Avantages et limites du Dépistage Prénatal Non Invasif

Le Dépistage Prénatal Non Invasif pourra être proposé aux patientes pour lesquelles les marqueurs maternels sériques n'ont pas fait preuve de leur efficacité. C'est le cas principalement des grossesses gémellaires et des marqueurs sériques hors bornes du logiciel de calcul.
Mais également en cas de profil atypique des marqueurs maternels sériques, évocateur d'une trisomie 13 ou 18.

Une certaine prudence est nécessaire sur le rendu du résultat sur cytotrophoblaste, qui étudie le même tissu que le test non invasif.
Il se peut que le résultat soit rendu positif alors qu'il s'agissait d'une trisomie 21 en mosaïque confinée au placenta.
C'est pourquoi le caryotype devra être réalisé de préférence à partir d'une ponction de liquide amniotique plutôt que d'un prélèvement de villosités choriales.

De plus, il est nécessaire de rappeler les limites d'ordres biologiques et techniques de ces tests, qui ne permettent pas de considérer le DPNI comme un diagnostic mais bien comme un test de dépistage :

- Il existe pour cette technique de dépistage un taux de faux positifs estimé à 0,2% et un taux de faux négatifs estimé à 8 grossesses sur 10 000.
- La forte proportion d'ADN maternel dans le prélèvement implique aussi les anomalies propres à l'ADN maternel qui peuvent masquer le génotype fœtal.

La fraction fœtale doit impérativement être calculée car il a été démontré que la fraction d'ADN maternel augmente avec l'Indice de Masse Corporel (IMC) de la mère, par remodelage des adipocytes et induit une diminution de la fraction d'ADN fœtal. Ces variations sont aussi observées en cas de maladies auto-immunes ou de pathologies rénales, mais aussi avec certains médicaments (anticoagulants, chimiothérapies).

Bien que ces tests nécessitent, en cas de résultat positif, de confirmer le diagnostic par un caryotype fœtal, leur performance élevée devrait permettre de diminuer le nombre de choriocentèses et d'amniocentèses réalisées.

Les tests ADN libre circulant de la trisomie 21 pourraient également permettre de réduire le nombre de cas qui ne sont pas identifiés par le dépistage combiné, ceci sous réserve de définir la place de ce test dans la stratégie de dépistage de la trisomie 21.

IV – 6 : Evaluation de la place des tests ADN libre circulant [42]

IV – 6 – 1 : Les stratégies de dépistage envisagées

Les stratégies de dépistage envisagées seront modélisées par un arbre de décision. Une stratégie est définie comme un ensemble cohérent de parcours possibles pour les femmes enceintes dans un même cadre de dépistage. Elle peut se décomposer en plusieurs parcours en fonction de l'âge gestationnel et des tests qui ont pu être réalisés. Les différentes stratégies testées visent à estimer l'efficience de l'introduction des tests ADN libre circulant de la trisomie 21 selon leur place dans la stratégie par rapport à la stratégie de dépistage actuelle.

L'échographie du 1er trimestre est maintenue dans toutes les stratégies et permet de proposer directement un caryotype en cas d'hyperclarté nucale supérieure à 3,5 mm ou si les marqueurs sériques très bas suggèrent la présence d'une trisomie 18.
Un test de confirmation diagnostique est toujours proposé si la stratégie de dépistage conduit à un résultat positif compte tenu des seuils retenus. Lorsque la femme est considérée comme présentant un bas risque selon le seuil considéré alors le dépistage s'arrête.

Les 4 stratégies de dépistage envisagées sont les suivantes :

La stratégie de dépistage proposée aujourd'hui (S1)
Comprenant le dépistage combiné du 1er trimestre, le dépistage séquentiel intégré et le dépistage par les marqueurs sériques seuls du 2ème trimestre.

La stratégie S2
Introduction d'une étape intermédiaire par le test ADN libre circulant, entre le dépistage actuel et le diagnostic pour les femmes à haut risque (supérieure à 1/250).
Si le test ADN libre circulant est positif le caryotype est réalisé.

La stratégie S3
Introduction d'un test ADN libre circulant pour les femmes à risque intermédiaire.
Cette stratégie implique une modification de la définition des seuils de positivité avec introduction de la notion de risque intermédiaire.
Différents seuils de positivité seront testés dans cette stratégie :

- Risque intermédiaire avec un seuil compris entre 1/1000 et 1/50
- Risque intermédiaire avec un seuil compris entre 1/1000 et 1/100
- Risque intermédiaire avec un seuil compris entre 1/1000 et 1/250

En admettant un risque intermédiaire allant jusqu'à 1/1000, cela permettrait d'après le Rapport de l'Agence de Biomédecine le diagnostic de 50 % de fœtus atteints de la trisomie 21 non diagnostiqués actuellement.

Dans ces trois stratégies un caryotype est proposé aux femmes à haut risque alors qu'un test ADN libre circulant est proposé aux femmes à risque intermédiaire (au delà de 1/50, 1/100 ou 1/250 en fonction du seuil de positivité retenu).

Dans les stratégies S2 et S3 le caryotype est proposé directement en cas de présence de signes d'appels échographiques ou de marqueurs sériques très bas.

La stratégie S4
Introduction d'un test ADN libre circulant dans le dépistage pour toutes les femmes en première intention et indépendamment du niveau de risque, précédé de l'échographie du 1er trimestre.
En cas de présence de signes d'appels échographiques ou en cas de test ADN libre circulant positif le caryotype est proposé.

IV – 6 – 2 : Les études en cours d'évaluation

Etude SAFE 21
Cette étude est coordonnée par l'équipe de Professeur Salomon à l'hôpital Necker, c'est une étude nationale multicentrique (incluant 69 centres en France pour 2450 femmes) qui a pour objectif d'évaluer l'utilisation des test ADN libre circulant chez les femmes enceintes à haut risque de trisomie 21 (défini par un seuil de risque au dépistage combine du 1er trimestre supérieur à 1/250).
Les inclusions ont débuté en 2014 et se terminent au deuxième trimestre 2016.
L'objectif principal de l'étude est d'évaluer l'impact de ces tests sur le nombre de prélèvements invasifs et leurs complications, mais aussi d'évaluer l'effet de l'absence de caryotype (et donc d'autres anomalies chromosomiques).
Le projet prévoit d'analyser également les préférences des femmes entre prélèvement invasif apportant une certitude au prix d'un risque de perte fœtale et un test ADN libre circulant.
Les impacts économique et sur les pratiques professionnelles sont également évalués dans cette étude.

Etude DEPOSA
Etude Française coordonnée par le Professeur Benachi à l'hôpital Antoine Béclère est une étude prospective interventionnelle multicentrique qui a pour objet d'évaluer l'utilisation d'un test ADN libre circulant réalisé en même temps que la procédure de dépistage actuelle par les marqueurs sériques.
Deux populations à bas risque sont étudiées dont une ayant bénéficié d'une procréation médicalement assistée.
Ce projet a pour objectifs d'évaluer les performances du test dans ces deux populations, d'évaluer l'acceptation de la non réalisation d'un caryotype, d'estimer le nombre de prélèvements invasifs évités par l'utilisation du test ADN libre circulant et d'élaborer

une conduite à tenir en cas de valeurs extrêmes du dépistage pas les marqueurs sériques.

Etude PEGASE
(Personnalisation par la Génomique du dépistage des Aneuploïdies dans le Sang maternel)
Il s'agit d'une étude canadienne multicentrique portant sur l'intégration des test ADN libre circulant dans le dépistage de la trisomie 21 chez les femmes enceintes (entre 10 et 23 semaines de grossesse) considérées à haut risque sur l'un des critères suivants :

- Age supérieur ou égal à 40 à l'accouchement
- Dépistage standard positif
- Anomalie fœtale à l'échographie
- Antécédent de grossesse avec fœtus atteint de la trisomie 21
- Mère ou père porteur d'une translocation sur le chromosome 21

Les objectifs de cette étude sont de comparer en situation réelle les différentes méthodes de tests ADN libre circulant, d'évaluer le rapport coût-efficacité du test, d'analyser les problématiques éthiques et juridique liés à l'introduction des ces tests, ainsi que de développer des outils d'aide à la décision du couple en cas de résultat positif.

Etude du NHS
(National Health Service)
C'est une étude qui a pour objet d'évaluer l'intégration des tests ADN libre circulant de la trisomie 21 dans le programme de dépistage au Royaume-Uni.
Ces tests sont proposés aux femmes enceintes ayant un niveau de risque intermédiaire ou élevé (jusqu'à 1/1000).
Dans cette étude il est prévu de faire une évaluation économique de la stratégie de dépistage, de l'acceptation et des préférences des femmes.

La HAS avait initialement conditionné l'inscription de cette évaluation à son programme de travail, à la disponibilité des résultats de ces études en cours, notamment l'étude SAFE 21.
Finalement, elle a décidé de ne pas attendre les résultats finaux de cette étude pour mener cette évaluation.

"Considérant les risques d'inégalités d'accès et le risque éventuel d'une dérive des pratiques sur l'usage de ces tests, il a été considéré comme préférable de ne pas attendre les résultats finaux pour réévaluer les recommandations de 2007", indique la HAS.

IV – 6 – 3 : Consultation des experts

Des experts vont être consultés pour l'élaboration du rapport final quant à la place à accorder aux test ADN libre circulant dans la stratégie de dépistage de la trisomie 21. La consultation des experts est actuellement en cours, dans le cadre d'un groupe de travail. Elle a commencé en avril et selon le calendrier prévisionnel de la HAS doit se terminer en juillet.

Les experts consultés :

Professionnels de santé

- Biologistes (notamment ceux agréés pour le dépistage de la trisomie 21)
- Cytogénéticiens
- Echographistes
- Médecins généralistes
- Sages-femmes
- Gynécologues et obstétriciens
- Pédiatres néonatologistes
- Radiologues
- Médecins spécialisée en médecine fœtale

Institutions

- Agence de la biomédecine
- Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
- Comité consultatif national d'éthique

Les associations de patients

Méthodologistes

- Médecins en santé publique
- Epidémiologistes
- Economistes de la santé
- Sociologues

La validation et la publication du rapport final sont prévues par la Haute Autorité de Santé pour le mois de septembre 2016. Le volet 2 est attendu afin de définir précisément la place à accorder aux tests ADN libre circulant de la trisomie 21 dans la stratégie de dépistage.

IV – 6 – 4 : Les recommandations internationales

La trisomie 21 fait l'objet d'une attention particulière dans la plupart des pays industrialisés où son dépistage est proposé à l'ensemble des femmes enceintes. Cependant les politiques et les pratiques de dépistage varient d'un pays à l'autre.

Les recommandations internationales sur la place des tests ADN libre circulant dans la stratégie de dépistage de la trisomie 21 sont principalement fondées sur l'évaluation de la performance de ces tests et sur la diminution estimée du nombre de prélèvements invasifs.
Bien que la stratégie de dépistage et le contexte épidémiologique de chaque pays soient différents, la performance des test ADN libre circulant est considérée comme étant supérieure au dépistage actuel par l'ensemble des pays ayant émis des recommandations.

Au vu des seules données de performance, la plupart des pays ne recommandent pas d'utiliser les tests ADN libre circulant de la trisomie 21 en première ligne mais plutôt en seconde ligne après un test de dépistage combiné positif.

Le Canada et le Royaume-Uni préconisent de proposer ces tests aux femmes à haut risque ou ayant un dépistage standard positif.
Les Etats-Unis proposent le test ADN libre circulant en seconde ligne pour les femmes à haut risque.
La Belgique et l'Australie ne se prononcent pas sur la place à donner à ces tests dans la stratégie de dépistage, estimant ne pas disposer de suffisamment de données économiques, organisationnelles, éthiques et sociales.
La Suisse a préconisé le dépistage de la trisomie 21 avec un test ADN libre circulant en seconde ligne et propose depuis juillet 2015 une prise en charge par l'Assurance Obligatoire des Soins. Elle est le seul pays pour le moment à avoir mis en place cette prise en charge financière des tests ADN libre circulant après dépistage combiné dont le risque est supérieur à 1/1000.
L'Italie quant à elle préconise de mettre en première ligne ces tests dans la stratégie de dépistage.
La Polynésie Française a inscrit dans sa nomenclature des actes de biologie médicale le dépistage de la trisomie 21 par le DPNI dans certaines conditions.

Le groupement européen ISUOG (International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology) recommande que le test combiné au 1er trimestre reste le dépistage de premier ligne de la trisomie.
Le groupement international FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) recommande quant à lui que les tests ADN libre circulant de la trisomie 21 soient proposées en seconde ligne pour les femmes ayant un risque intermédiaire supérieur ou égal à 1/2500.

Chapitre V : Ethique vis à vis du dépistage de la trisomie 21 et conseils à apporter aux patientes

V – 1 : Dépistage et notion d'éthique

Les enfants porteurs de trisomie 21 présentent une déficience intellectuelle et des malformations dont l'expressivité est très variable, toutefois on observe une nette amélioration de l'autonomie des personnes atteintes de la trisomie 21 grâce à un suivi médical adapté.

L'eugénisme peut être défini comme l'ensemble des méthodes et pratiques visant à intervenir sur le patrimoine génétique de l'espèce humaine dans le but de le faire tendre vers un idéal déterminé.
Le risque de dérive eugénique dû à l'utilisation de tests de dépistage de plus en plus performants doit être évoqué d'autant plus qu'en France, 96% des couples confrontés à l'annonce d'une trisomie 21 fœtale optent pour une interruption médicale de grossesse [36].

Elle peut à toute période de la grossesse être pratiquée si deux médecins membres d'une équipe pluridisciplinaire attestent, après que cette équipe ait rendu son avis consultatif, soit que la grossesse met en péril grave la santé de la femme, soit qu'il existe une forte probabilité que l'enfant à naître soit atteint d'une affection d'une particulière gravité reconnue comme incurable au moment du diagnostic.
Elle est possible en France à tout âge, et jusqu'au terme de la grossesse.

Il est important de rappeler que la dernière loi de bioéthique propose un délai de réflexion d'une semaine suite à cette annonce.
Il est du devoir des professionnels de santé d'informer les parents des différentes possibilités de prise en charge : poursuite de la grossesse, accompagnement, prise en charge de l'enfant, abandon de la grossesse.
Le Comité Consultatif National d'Ethique insiste sur l'importance du conseil génétique et sur l'accompagnement psychologique.

L'autonomie des personnes doit être respectée afin que la meilleure option pour le couple puisse être choisie, la réalisation d'un dépistage et/ou d'un diagnostic de la trisomie 21 doit rester un choix personnel et non imposé.
Le droit de ne pas recourir à ce dépistage doit être conservé.

De son côté, le comité consultatif national d'éthique craint que la généralisation du test ADN circulant ne favorise l'interruption de grossesse « pratiquée en cas de moindre doute » lors même du délai légal de l'IVG, par des femmes enceintes ou des couples non accompagnés [37]. Le DPNI peut en effet être réalisé dès la 11ème semaine d'aménorrhée, soit trois semaines avant la fin du délai légal d'interruption volontaire de grossesse en France. Si cette méthode de dépistage est pratiquée dans l'avenir en systématique, les couples concernés par un DPNI positif devront être suivis.

V – 2 : La fondation Jérôme Lejeune [41]

En 1959 le Professeur Jérôme Lejeune, médecin et chercheur, ainsi que son équipe, ont découvert la cause de la trisomie 21. A sa suite la Fondation Jérôme Lejeune, reconnue d'utilité publique depuis 1996, agit pour les personnes atteintes de maladies génétiques de l'intelligence dont la trisomie 21 fait partie. Au service des malades et de leur famille, la Fondation poursuit trois objectifs :

-- Chercher, Soigner, Défendre --

Chercher :

Premier financeur en France de la recherche sur la trisomie 21, la Fondation s'est engagée dans une recherche à visée thérapeutique, en s'attaquant d'abord aux facteurs qui entraînent la déficience intellectuelle.

D'après la Fondation chaque année en France, 100 millions d'euros sont débloqués par les pouvoirs publics pour le dépistage prénatal de la trisomie 21 alors que le budget attribué à la recherche est quasiment 1 000 fois moins important.

Soigner :

Traiter la maladie, prendre en charge les handicaps associés et coordonner l'ensemble des intervenants médicaux qui suivent le patient, telle est la mission première de l'Institut Jérôme Lejeune qui réalise le suivi de plus de 6500 patients.

Défendre :

Parce qu'elle dénonce que la période prénatale est devenue l'une des plus dangereuse au cours de la vie, la Fondation Jérôme Lejeune informe, forme, sensibilise et alerte notre société sur la dignité de la vie.

La Fondation est vigilante aux questions de bioéthique dans un contexte où l'accélération des progrès scientifiques et la pression idéologique posent à la société des interrogations fondamentales.

FONDATION
Jérôme Lejeune
chercher, soigner, défendre

V – 3 : Conseils et soutien à l’officine

Le pharmacien d'officine a un rôle d’écoute mais également de conseil au quotidien. Il est bien souvent l'un des premiers professionnels de santé à qui l'on s'adresse en cas de doute ou d'interrogation.

Lorsqu’une femme enceinte se présente à la pharmacie pour une information, il est de notre devoir de l'aiguiller si cela est de notre ressort.
Nous pouvons rappeler à une patiente en début de grossesse qu'il est important de suivre les instructions de son médecin ou de sa sage-femme et de bien se rendre à son échographie du premier trimestre ainsi qu’au laboratoire pour une prise de sang entre la 11ème et la 13ème semaine de sa grossesse si bien entendu celle-ci souhaite faire le dépistage de la trisomie 21.

Le pharmacien se doit d'être à l'écoute face à une patiente inquiète dans l'attente de ses résultats d'analyse. Il faudra trouver les bons mots, savoir la rassurer sans pour autant banaliser la situation car toute femme, de tout âge, peut être porteuse d'un fœtus atteint de la trisomie 21.
En tant que femme il est tout naturellement plus facile d'en parler avec les patientes qui viennent vers nous pour se sentir comprises et à l'écoute.

Si une future maman se présente à l'officine suite à l'annonce d'une trisomie 21 pour son enfant, il est important de ne pas porter un jugement qui pourrait influencer sa décision concernant l'issue de sa grossesse.
Il est de notre devoir de rester neutre et de respecter le choix du couple tout en apportant le soutien nécessaire.

CONCLUSION

L'évolution de la prise en charge de la trisomie 21 fœtale a été constante et progressive depuis sa mise en place jusqu'à aujourd'hui. Le dépistage au deuxième trimestre a ouvert dès 1997 la voie au dépistage prénatal de la trisomie 21 fœtale, perfectionné dès 2009 par le dépistage combiné au premier trimestre incluant les mesures échographiques qui ont très largement amélioré la valeur prédictive positif du test.
Les pratiques utilisées en routine aujourd'hui, aussi bien de dépistage que de diagnostic, ont permis de réduire significativement le nombre de gestes invasifs et donc de pertes fœtales, mais aussi et surtout le nombre d'enfants atteints de la trisomie 21.

Bien que la place du Dépistage Prénatal Non Invasif dans la stratégie de dépistage reste encore à ce jour à définir clairement, nous observons en France depuis Novembre 2013 un développement de leur utilisation sans que l'on puisse chiffrer le nombre de tests réalisés annuellement.

Le rapport de la Haute Autorité de Santé publié en Novembre dernier avait pour objectif d'évaluer la performance intrinsèque de ces tests et d'analyser les modalités de dépistage au niveau international.
L'analyse a montré que ces tests sont performants et qu'il est pertinent d'évaluer l'efficience de leur introduction dans la stratégie de dépistage de la trisomie 21 pratiquée aujourd'hui.

La HAS a décidé de ne pas attendre les résultats des études en cours (notamment l'étude française SAFE 21) dans un souci d'inégalité d'accès au dépistage, pour réévaluer les recommandations de 2007.
Le second volet est donc attendu pour Septembre 2016 et sera consacré à l'évaluation de la place des tests d'ADN libre circulant dans la stratégie de dépistage de la trisomie 21 foetale au regard des enjeux de santé publique, économiques, éthiques, sociaux et organisationnels.

Par ailleurs elle explique que le terme communément utilisé "dépistage prénatal non invasif" pour identifier ces tests ne sera pas repris dans son évaluation car cette dénomination participe à la confusion selon laquelle ces tests pourraient se substituer aux tests invasifs, alors qu'ils se positionnent en amont des tests diagnostiques, dans la stratégie de dépistage.
Elle lui préfère l'appellation "tests d'ADN libre circulant dans le sang maternel concernant la trisomie 21".

Depuis maintenant 20 ans la stratégie de dépistage de la trisomie 21 est en évolution permanente, elle est d'ailleurs la seule anomalie chromosomique dont la fréquence dans la population est suffisamment élevée pour avoir justifié de la mise en place d'un dépistage national.
Bien que cette stratégie de dépistage tende aujourd'hui à détecter la quasi-totalité des fœtus porteurs de la maladie, il est important de rappeler qu'il est du devoir des professionnels de santé de respecter l'issue de grossesse qu'aura choisi un couple concerné par l'annonce d'une trisomie 21 pour son enfant à naitre.

ANNEXE N°1

Glossaire

Aneuploïdie

Correspond à une anomalie du nombre de chromosomes.

Euploïdie

Correspond au fait d'avoir un nombre de chromosomes normal (46 chromosomes dans l'espèce humaine).

Faux négatifs

Ensemble des femmes dont le fœtus est atteint de trisomie 21 et qui n'ont pas été détectées « à risque » lors du dépistage (dépistage négatif – diagnostic de trisomie 21 posé ultérieurement).

Faux positifs

Ensemble des femmes dont le fœtus n'est pas trisomique mais qui sont détectées « à risque » lors du dépistage (dépistage positif – diagnostic de trisomie 21 non confirmé).

Taux de détection

Ce taux correspond à la sensibilité du test, c'est-à-dire au pourcentage de femmes considérées à risque parmi les femmes porteuses d'un fœtus T21. Ce taux est indépendant de la prévalence de la trisomie 21 en population, mais augmente avec l'âge maternel dans la mesure où le risque lié à l'âge est inclus dans le calcul de risque du test.

Valeur prédictive positive

C'est la proportion de femmes porteuses d'un fœtus atteint de trisomie 21 parmi l'ensemble des femmes considérées comme à risque. La VPP dépend de la prévalence de la trisomie 21 en population et des performances intrinsèques du test de dépistage.

Sensibilité

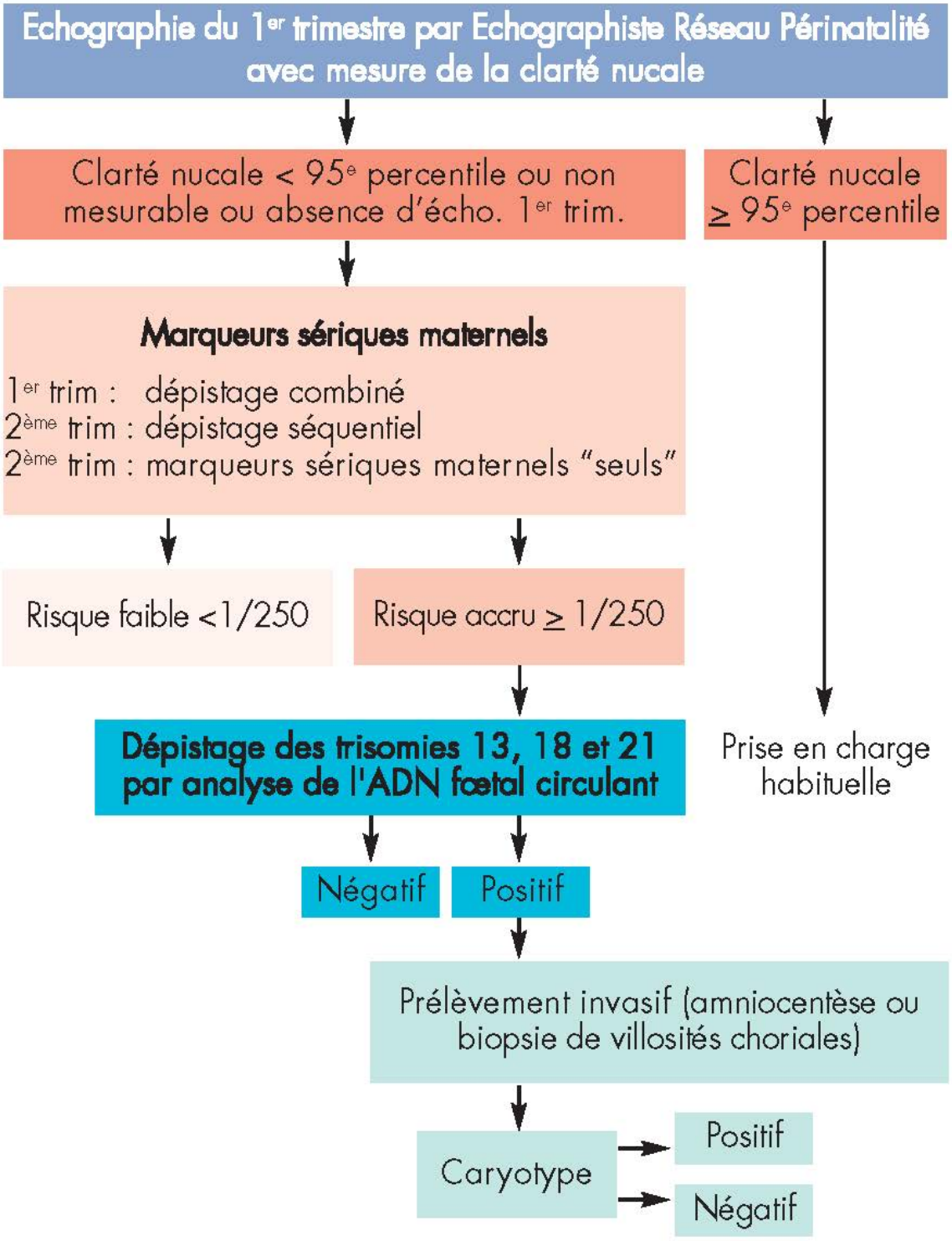
C'est la probabilité que la maladie soit présente chez les individus atteints par la maladie recherchée.

Spécificité

C'est la probabilité que la maladie soit absente chez les individus non atteints par la maladie recherchée.

ANNEXE N°2

Place potentielle du Dépistage Prénatal Non Invasif dans la stratégie de dépistage avenir



ANNEXE N°3

Fiche d'évaluation du risque de trisomie 21 fœtale par dosage des marqueurs sériques maternels

EVALUATION DU RISQUE DE TRISOMIE 21 FŒTALE
par dosage des MARQUEURS SERIQUES MATERNELS

PATIENTE :
Nom :

Prénom :

Date de naissance : __ __ /__ __ /__ __

Début de grossesse : __ __ /__ __ /__ __

Poids : __ __ __ **kg**

Origine géographique:
- ☐ Europe et Afrique du Nord
- ☐ Afrique subsaharienne et Antilles
- ☐ Asie
- ☐ Autre
- ☐ Par défaut

Nombre de fœtus : __

Tabagisme ☐ Non ☐ Oui

Diabétique insulinodépendante : ☐ Non ☐ Oui

Grossesse antérieure affectée par :
Trisomie 21 ☐ Non ☐ Oui
DFT ☐ Non ☐ Oui

LABORATOIRE
Nom et adresse :

PRESCRIPTEUR : Nom et adresse

ECHOGRAPHISTE adhérent au réseau de périnatalité

Numéro d'identification :

__ __ /__ __ /__ __ __ /__ __ __ __ /__ __

Nom :

Adresse :

Echographie (entre 11 SA et 13 SA+ 6 Jrs) :

- Date : __ __ /__ __ /__ __

- L.C.C. en mm : .....

- Clarté nucale en mm : .....

Nature du prélèvement : Tube sec
Date et heure de prélèvement :
Nom du préleveur :

STRATEGIE DE DEPISTAGE CHOISIE (Cocher la case correspondante)

☐ **Dépistage combiné au 1er trim. :** **hCGβ + PAPP-A + CN** **Grossesse monofoetale UNIQUEMENT** **Renseignements écho. Joints + N° réseau** **Prélèvement entre 11SA et 13SA+6Jrs**	☐ **Dépistage séquentiel intégré au 2ème trim. :** **hCGβ + AFP + CN** **Grossesse monofoetale UNIQUEMENT** **Renseignements écho. Joints + N° réseau** **Prélèvement entre 14SA et 17SA+6Jrs**	☐ **Marqueurs sériques maternels au 2ème trim. :** **hCGβ + AFP** **Prélèvement entre 14SA et 17SA+6Jrs**
Soit entre le et le	Soit entre le et le	Soit entre le et le

Information, Demande et Consentement de la Femme Enceinte *(En référence à l'article R.2131-1(6°) du code de la santé publique)*

Je soussignée **Madame** .....

☛ **atteste** avoir reçu du **Docteur**.....

au cours d'une consultation médicale :

1°)des informations sur le risque pour l'enfant à naître d'être atteint d'une maladie d'une particulière gravité, notamment la trisomie 21 ;

2°)des informations sur l'analyse des marqueurs sériques maternels qui m'a été proposée :

-un calcul de risque est effectué ; il prend notamment en compte les résultats de l'échographie prénatale du premier trimestre, lorsque ces résultats sont disponibles et que les mesures échographiques sont estimées fiables ;

- le résultat est exprimé en risque pour l'enfant à naître d'être atteint de la maladie. Ce risque ne permet pas à lui seul d'établir le diagnostic de cette maladie ;

-le résultat du calcul de risque me sera rendu et expliqué par le médecin prescripteur ou un autre praticien ayant l'expérience du dépistage prénatal, notamment de la trisomie 21.

➢si le risque est faible, il n'écarte pas complètement la possibilité pour le fœtus d'être atteint de l'affection

➢si le risque est élevé, un prélèvement (de liquide amniotique, de villosités choriales ou de sang fœtal) me sera proposé. Seul le résultat du caryotype fœtal permettra de confirmer ou non l'existence de l'affection. Les risques, les contraintes et les éventuelles conséquences de chaque technique de prélèvement me seront expliqués.

☛ **consent** au prélèvement de sang ainsi qu'au dosage des marqueurs sériques.

Le dosage des marqueurs sériques sera effectué dans un laboratoire d'analyses de biologie médicale autorisé à les pratiquer.

L'original du présent document est conservé dans le dossier médical de la patiente. Une copie de ce document m'est remise ainsi qu'au praticien devant effectuer les analyses.

L'établissement public de santé ou le laboratoire d'analyses de biologie médicale dans lequel exerce le praticien ayant effectué les analyses conserve ce document dans les mêmes conditions que le compte rendu de l'analyse.

Date : __ __ / __ __ / __ __ __ __

Signature du Praticien **Signature de l'Intéressé**

ANNEXE N°4

Fiche de suivi des patientes au risque élevé

CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE D'AMIENS - PICARDIE

POLE BIOLOGIE, PHARMACIE ET SANTE DES POPULATIONS
Centre de Biologie Humaine - Secteur de Biologie Endocrinienne et Osseuse
Biologistes agréés : Dr
80054 AMIENS CEDEX 01
Tel :

Docteur

Référence :

Numéro de fiche :

Nom :

Prénom :

Date de naissance :

Date de prélèvement :

Merci de bien vouloir nous retourner les renseignements suivants concernant le dossier de votre patiente mentionnée ci-dessus pour laquelle nous avons effectué le une évaluation du risque de trisomie 21 foetale par les marqueurs sériques maternels. Cette évaluation a mis en évidence l'appartenance de cette patiente à un groupe à risque accru d'anomalie chromosomique.

Outre l'intérêt scientifique de ces données, l'organisation réglementaire de cette activité de diagnostic prénatal nous fait obligation de collecter les informations suivantes :

Amniocentèse :

☐ Non ☐ Oui — Date de l'amniocentèse ☐ — ☐ Suite sans complications

Résultat du caryotype ☐ — ☐ Amniocentèse suivie d'une mort foetale

☐ IMG

☐ Refusée par la patiente

En vous remerçiant de votre collaboration,

Je vous prie de croire, Cher(e) Confrère, en l'assurance de mes meilleures salutations

ANNEXE N°5

Document de l'issu de grossesse

CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE D'AMIENS - PICARDIE
POLE BIOLOGIE, PHARMACIE ET SANTE DES POPULATIONS
Centre de Biologie Humaine - Secteur de Biologie Endocrinienne et Osseuse
Biologistes agréés : Dr
80054 AMIENS CEDEX 01 Tel :

adresse du laboratoire pour le retour dans une enveloppe à fenêtre

Docteur

CENTRE HOSPITALIER D'AMIENS-PICARDIE
Centre de Biologie Humaine
Secteur de Biologie Endocrinienne et Osseuse
80054 AMIENS CEDEX 01

Nom de la Patiente : Référence :
Date de naissance : Accouchement prévu le :
☐ Grossesse gémellaire (remplir 2 fiches) ☐ Fécondation In Vitro ☐ Injection spermatique intracellulaire

Amniocentèse NON ☐ OUI ☐
Refusée ☐
- ☐ Suites sans complications
- ☐ Perte fœtale (moins d'1 mois après l'amniocentèse)
- ☐ Résultat du caryotype (à préciser).....

Signes échographiques RAS ☐ ou bien ☐
- ☐ RCIU
- ☐ DFTN
- ☐ Autre (Préciser).....

Issue de grossesse A terme ☐ ou bien ☐
- ☐ IMG
- ☐ Accouchement prématuré
- ☐ Avortement spontané
- ☐ MFIU

Enfant à la naissance
Normal ☐ ou bien ☐
- ☐ Enfant décédé
- ☐ Anomalie du caryotype postnatal (Préciser).....
- ☐ Anomalie liée à une pathologie anténatale (Préciser).....
- ☐ Autre Anomalie de l'enfant (Préciser).....

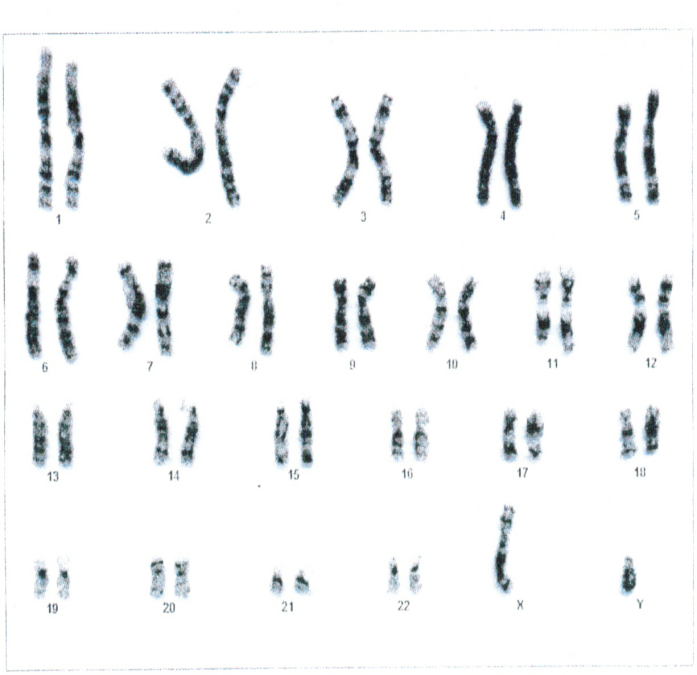
Sexe : M ou F
Poids :

Médecin ayant retourné cette fiche (Tampon) :

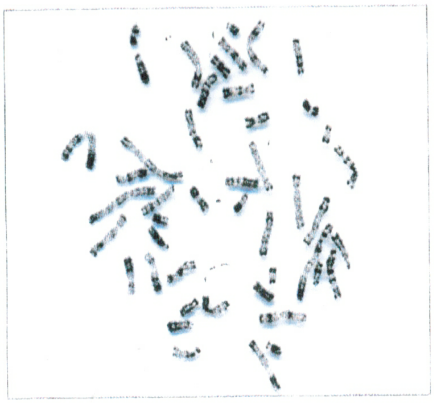
Commentaire éventuel (suite au verso si nécessaire) :

ANNEXE N°6

Caryotype standard sans anomalie
23 paires de chromosomes
2n diploïdes



46,XY
Masculin



46,XX
Féminin

Bandes G (GTG)

Bandes R (RHG)

BIBLIOGRAPHIE

[1] Site de la HAS, dossier « Les performances des tests ADN libre circulant pour le dépistage de la trisomie 21 fœtale », Volet 1. Consultable au lien suivant : http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2015-11/recommandation_trisomie_21.pdf

[2] Association t21somie Alsace. Consultable au lien suivant : http://www.trisomie21alsace.fr/trisomie21/

[3] **Touraine R**, **De Fréminville B**, **Sanlaville D**, Collège national des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale, 2010-2011

[4] Site internet Wikipédia sur la trisomie 21, rubrique « Epidémiologie ». Consultable au lien suivant : https://fr.wikipedia.org/wiki/Trisomie_21

[5] Thèse présidée par **LACHAUX A** « Description des caractéristiques de la trisomie 21 et pathologies associées ». Consultable au lien suivant : https://lesfeescreatives.files.wordpress.com/2012/07/thc3a8se-trisomie-21.pdf

[6] Site internet Wikipédia, rubrique « hGG ». Consultable au lien suivant : https://fr.wikipedia.org/wiki/Hormone_chorionique_gonadotrope_humaine

[7] **Anselem O**, **Coussement A**, **Bernard M**, **Yvert JP**, Dossier de la bioformation ACORATA, Paris, 11 décembre 2014

[8] **Abbara A**, Gonadotrophine Chorionique Humaine, Novembre 2010. Consultable au lien suivant : http://www.aly-abbara.com/livre_gyn_obs/termes/hCG_gonadotrophine_chorionique_humaine.html

[9] Site internet Wikipédia, rubrique « AFP ». Consultable au lien suivant : https://fr.wikipedia.org/wiki/Alpha-fœtoprotéine

[10] Site de l'institut français de l'éducation, accès Lyon. Consultable au lien suivant : http://acces.ens-lyon.fr/acces/ressources/sante/epidemiologie/depistage_trisomie21/Points/points_marqueurs_seriques

[11] Site internet Wikipédia, rubrique « clarté nucale ». Consultable au lien suivant : https://fr.wikipedia.org/wiki/Clarté_nucale

[12] **Collet M**, CHU de Brest, « Clarté nucale normale et pathologique », Site du Ministère des Affaires Etrangères et Européennes, 2008-2012. Consultable au lien suivant : http://www.uvp5.univ-p lyon.fr/acces/ressources/sante/epidemiologie/depistage_trisomie21/Points/points_marqueurs_seriques aris5.fr/mere-enfant/basereference/ECH/obstet03/c01/index.htm

[13] **Abbara A**, Hygroma kystique cervical, 2013 http://www.aly-abbara.com/echographie/Atlas_echographie/images/flash2/hygroma_cervical.html

[14] Site de la HAS, dossier « Les performances des tests ADN libre circulant pour le dépistage de la trisomie 21 fœtale », Volet 1, Qualité des échographies fœtales, page 24-25. Consultable au lien suivant :

http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2015-11/recommandation_trisomie_21.pdf

[15] Site internet ProBioQual. Consultable au lien suivant : http://www.probioqual.com/02-EEQ-CQH.html

[16] Site internet Legifrance.gouv, Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale. Consultable au lien suivant : https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000580061&categorieLien=id

[17] Site internet Legifrance.gouv, Arrêté du 23 juin 2009 relatif à l'information de la femme enceinte. Consultable au lien suivant : https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000020814393

[18] Arrêté du 23 janvier 1997 modifiant l'arrêté du 3 avril 1985 fixant la nomenclature des actes de biologie médicale. Consultable au lien suivant : http://acces.ens-lyon.fr/acces/ressources/sante/epidemiologie/depistage_trisomie21/Points/cadre_legal_depist_t21

[19] **Senat V**, **Rozenberg P**, **Bernard J-P**, **Ville Y**, Journal de gynécologie obstétrique et de biologie de la reproduction, 2001, Paris, rubrique « Dépistage échographique de la trisomie 21 dans les grossesses gémellaires ». Consultable au lien suivant : http://www.em-consulte.com/en/article/114139

[20] **Nivelon-Chevallier A**, Edition Laennec, 2006, Tome 54, « Diagnostic prénatal et trisomie 21 regard sur une évolution législative », pages 19-28. Consultable au lien suivant : https://www.cairn.info/revue-laennec-2006-4-page-19.htm

[21] **Simon-Bouy B, Royère D, Levy P**, La revue du praticien, rubrique « dépistage de la trisomie 21, mise en place du dépistage combiné au premier trimestre de la grossesse », page 1342.

[22] Site de la HAS, « Evaluation des stratégies de dépistage de la trisomie 21 », Juin 2007, page 162. Consultable au lien suivant : http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/rapport_evaluation_des_strategies_de_depistage_de_la_trisomie_21.pdf

[23] Site internet Wikipédia, rubrique « Dépistage prénatal ». Consultable au lien suivant : https://fr.wikipedia.org/wiki/Diagnostic_prénatal

[24] Site internet Wikipédia, rubrique « Dépistage ». Consultable au lien suivant : https://fr.wikipedia.org/wiki/Dépistage

[25] **Wagner A**, « Gestes invasifs diagnostiques. Choriocentèse, Amniocentèse, Cordocentèse », page 3. Consultable au lien suivant : http://slideplayer.fr/slide/519458/

[26] Ministère des Affaires Sociales, de la Santé et des Droits des Femmes, « base de données publique des médicaments », rubrique Rhophylac. Consultable au lien suivant : http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=68484547&typedoc=N

[27] **Pr Saura**, CHU de Bordeaux, « le dépistage de la trisomie 21 du 1er trimestre, 1er bilan depuis la réforme de 2010 ». Consultable au lien suivant : http://slideplayer.fr/slide/1145439/

[28] Site internet Wikipédia, rubrique « amniocentèse ». Consultable au lien suivant : https://fr.wikipedia.org/wiki/Amniocentèse

[29] **Wagner A**, « Gestes invasifs diagnostiques. Choriocentèse, Amniocentèse, Cordocentèse », page 26. Consultable au lien suivant : http://slideplayer.fr/slide/519458/

[30] Site internet de l'Assurance Maladie, rubrique « Comment se déroule une amniocentèse ? ». Consultable au lien suivant : http://www.ameli-san https://www.cairn.info/revue-laennec-2006-4-page-19.htmte.fr/comment-se-deroule-une-amniocentesenbsp.html

[31] Fiche Protocole « Réalisation d'un caryotype prénatal », Laboratoire de Cytogénétique CHU Amiens.

[32] Cours Faculté de Médecine, « Altérations génomiques » CHU Amiens http://medecineamiens.fr/Cours/M1_PHEFI/UE_Alterations_genomiques/Indications_et_caryotype_sans_anomalie.pdf

[33] Site internet Abbot Molecular, rubrique « Products », AneuVysion. Consultable au lient suivant : https://www.abbottmolecular.com/us/products/aneuvysion.html

[34] Site internet Wikipédia, rubrique « Séquençage ». Consultable au lien suivant : https://fr.wikipedia.org/wiki/Séquençage_de_l%27ADN

[35] Site de la HAS, dossier « Les performances des tests ADN libre circulant pour le dépistage de la trisomie 21 fœtale », Volet 1, pages 29-30. Consultable au lien suivant : http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2015-11/recommandation_trisomie_21.pdf

[36] « Recommandations pour le dépistage non invasif des anomalies chromosomiques fœtales », Association des Cytogénéticiens, Version 2, 2015

[37] Site internet du Comité Consultatif National d'Ethique. Consultable au lien suivant : http://www.ccne-ethique.fr

[38] **Nau J-Y**, Journaliste, Article pour le site Slate.fr, « Diagnostic prénatal : le risque de l'eugénisme démocratique », 2013. Consultable au lien suivant : http://www.slate.fr/story/71773/diagnostic-prenatal-depistage-eugenisme

[39] Site internet du laboratoire CERBA, dédié au « dépistage des trisomies 13, 18 et 21 par analyse de l'ADN circulant ». Consultable au lien suivant : http://www.trisomie21-foetale.com/fr/

[40] Dossier de presse Laboratoire CERBA, Conférence de presse du 30.09.2014. Consultable au lien suivant : http://www.lab-cerba.com/images/actualites/Dossier-Presse-NIPS_oct2014.pdf

[41] Site internet de la fondation Jérôme Lejeune. Consultable au lien suivant : http://www.fondationlejeune.org

[42] Note de cadrage de la HAS, « Place des tests d'ADN libre circulant dans le sang maternel dans la stratégie de dépistage de la trisomie fœtale 21 ». Consultable au lien suivant : http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2016-04/note_cadrage_place_des_tests_dadn_libre_circulant_dans_le_sang_maternel_dans_la_strategie_de_depistage_de_la_trisomie_foetal.pdf

[43] Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français, « Extrait des mises à jour en gynécologie et obstétrique », Tome XXXIII, 12.2009. Consultable au lien suivant : http://www.cngof.asso.fr/d_livres/2009_GO_063_lemery.pdf

[44] Site internet destinationsanté, rubrique « L'obstétrique : 60 ans de révolutions modernistes ». Consultable au lien suivant : https://destinationsante.com/l-obstetrique-60-ans-de-revolutions-modernistes.html

[45] A. Herman, E. Dreazen, A.M. Herman, C.E.M. Batukan, W. Holzgreve and S. Tercanli. Bedside estimation of Down syndrome risk during first-trimester ultrasound screening. Ultrasound Obstet Gynecol 2002;20: 468-475 http://www.aly-abbara.com/echographie/biometrie/biometres/CN_LCC.html