



**HAL**  
open science

# L'apport de la CGH-array dans la prise en charge des hyperclartés nucales

Julien Béal

► **To cite this version:**

Julien Béal. L'apport de la CGH-array dans la prise en charge des hyperclartés nucales. Médecine humaine et pathologie. 2018. dumas-02078333

**HAL Id: dumas-02078333**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02078333v1>**

Submitted on 25 Mar 2019

**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.



ANNEE 2017-2018

UNIVERSITE DE PICARDIE JULES VERNE  
FACULTE DE MEDECINE D'AMIENS



N°2018-76

**L'APPORT DE LA CGH-ARRAY DANS LA PRISE EN CHARGE DES  
HYPERCLARTES NUCALES**

THESE POUR L'OBTENTION DU  
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE  
SPECIALITE : GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE : 6 JUILLET 2018

PAR :

**BEAL JULIEN, RONAN**

**PRESIDENT DU JURY : Monsieur le Professeur Fabrice SERGENT**

**JUGES : Monsieur le Professeur Philippe MERVIEL**

**Monsieur le Professeur Henri COPIN**

**Monsieur le Professeur Bernard BOUDAILLEZ**

**DIRECTEUR : Monsieur le Docteur Charles MUSZYNSKI**



## DEDICACES PERSONNELLES

A *Julie*, toi qui a choisi de partager ma vie, toi qui a traversé deux fois la France pour moi abandonnant tout, toi qui me soutient et me supporte même dans mes excès. Ce travail et cet investissement n'auraient aucun sens si je ne pouvais en partager les fruits et les mérites avec toi. Cet avenir commun qu'on a imaginé ensemble a été le moteur de mes efforts ces cinq dernières années. Je n'oublierai jamais tout ce que je te dois.

A mes parents, *Denis et Isabelle*, mes frères et sœur, *Pierre-Henri Joséphine et Antoine*. Grandir à vos coté m'a donné cet équilibre qui m'a permis d'avancer. Malgré l'éloignement de ces dernières années, je n'oublierai jamais d'où je viens. *Sophie et Alexis* vous faites maintenant aussi partie de cet équilibre. Je n'aurai jamais pu aller aussi loin sans vous tous. J'espère par ce travail justifier un peu mes nombreuses absences ces cinq ans passés.

A *Ambre et Walter*, nièce et neveu derniers arrivés dans la famille. Vos gazouillis et vos rires ont été un rayon de soleil dans cette dernière ligne droite.

A mes grands-parents, *Marcel, Marie, Monique, Jean-Pierre*, à mes oncles et tantes, *Jean-Yves, Anne-Marie, Nathalie, Lionel, Valérie, Pierre, Laure, Fred, Charles*, à mes cousins *Célie, Alban, Doriane, Etéla, Bleuenn, Jules*. Merci à vous tous d'avoir égayé mon enfance et participé à l'édification de mes valeurs.

A tous mes amis, *Max, Etienne, Mehdi, Baptiste, Gilou, Ivan, Adriane, Elsa, Carole, Emma, Lionel, GG, Claire, Ben, Manu, Adri, Brahm's, Yoan, John* et tous ceux que j'oublie. Merci par votre présence d'avoir rendu agréable ces longues années d'étude.



**A NOTRE PRESIDENT DE THESE**

**Monsieur le Professeur Fabrice SERGENT,**

**Professeur des Universités – Praticien Hospitalier de Gynécologie Obstétrique,**

**Pôle "Femme - Couple - Enfant", CHU AMIENS-PICARDIE**

Vous nous faites le plus grand honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse.

Veillez trouver avec ce travail l'expression de mes remerciements les plus sincères.

Nous vous remercions pour votre disponibilité, votre écoute, ainsi que pour la formation tant pratique que théorique dispensée durant ces années à vos côtés.

Soyez assuré de notre gratitude et de notre plus grand respect.



**A NOTRE JURY DE THESE:**

**Monsieur le Professeur Philippe MERVIEL,  
Professeur des Universités – Praticien Hospitalier de Gynécologie Obstétrique,  
Chef du Service de Gynécologie Obstétrique, Chirurgie oncologique gynécologique et  
mammaire, Pôle « Femme-Mère-Enfant, CHRU de BREST**

Vous nous faites l'immense honneur d'accepter cette invitation et de juger notre travail,  
veuillez trouver ici l'expression de notre gratitude.

Nous vous remercions également pour votre aide, votre disponibilité, votre présence et votre  
soutien infailible durant les mois passés auprès de vous.

Soyez assuré de notre profonde reconnaissance et de notre plus grande admiration.

**Monsieur le Professeur Henri COPIN,  
Professeur des Universités – Praticien Hospitalier d'Histologie Embryologie  
Cytogénétique, Chef du Service de Médecine et Biologie de la Reproduction et de  
Cytogénétique et CECOS de Picardie, Pôle "Femme - Couple - Enfant",  
CHU AMIENS-PICARDIE**

**Chevalier dans l'Ordre des Palmes Académiques**

Nous vous remercions de l'intérêt que vous portez à notre travail et de l'honneur que vous  
nous apportez en acceptant d'être notre juge.

Puissiez-vous trouver par ce travail l'expression de mon profond respect.



**Monsieur le Professeur Bernard BOUDAILLIEZ,**  
**Professeur des Universités – Praticien Hospitalier de Pédiatrie,**  
**Pôle "Femme - Couple - Enfant", CHU AMIENS-PICARDIE**  
**Officier dans l'Ordre des Palmes Académiques**

Vous nous faites l'honneur d'accepter de juger notre travail.

Nous vous remercions de l'intérêt que vous portez à cette thèse.

Soyez assuré de notre profond respect.

**Monsieur le Docteur Charles MUSZYNSKI**  
**Praticien Hospitalier Universitaire de Gynécologie Obstétrique,**  
**Pôle "Femme - Couple - Enfant", CHU AMIENS-PICARDIE**

Sois remercié pour ton implication, pour ton aide et pour tes conseils dans l'élaboration de cette étude puis durant ces deux ans et demi de travail. J'ai vraiment apprécié travailler avec toi. J'espère que tu trouveras par ce travail l'expression de ma gratitude.



## **REMERCIEMENTS PARTICULIERS**

**Monsieur le Professeur Denis GALLOT, Professeur des Universités – Praticien**

**Hospitalier de Gynécologie Obstétrique, CHU CLERMONT-FERRAND**

Sois remercié de ton soutien durant mes études de médecine et mon internat ainsi que pour tes conseils précieux et avisés lors de l'élaboration de ce protocole d'étude.

**Madame Sylvie RIVRIN, sage-femme échographiste et Madame Anne CAROFF,**

**sage-femme conseillère en génétique, Diagnostic Anténatal, CHU de BREST**

Soyez remerciez de votre aide à l'inclusion des patientes sur le site de BREST sans laquelle ce travail multicentrique n'aurait pu être effectué.

**Monsieur le Docteur Guillaume JEDRAZACK, Praticien Hospitalier Universitaire de**

**Génétique médicale, Service de cytogénétique, CHU AMIENS-PICARDIE**

Soyez remercié de votre disponibilité, votre écoute et votre aide dans l'élaboration de ce travail. Ce travail n'aurait pu être aussi complet sans vos explications sur la partie technique cytogénétique et génétique médicale.

**Monsieur le Docteur Benoit VAYSSE, Praticien Hospitalier de Santé publique,**

**Direction de la Recherche Clinique et de l'Innovation, CHU AMIENS-PICARDIE**

Soyez remercié de votre aide dans l'élaboration des calculs statistiques.



# L'APPORT DE LA CGH-ARRAY DANS LA PRISE EN CHARGE DES HYPERCLARTES NUCALES

## RESUME

**Introduction:** Hyperclarté nucale et hygroma colli ont un pronostic néonatal, lorsque le caryotype est normal, qui dépend de ce qui sera découvert lors du suivi médical. La CGH-array a été systématiquement incorporé à ce suivi par les équipes de Diagnostic Anténatal. Il n'existe pas de recommandation et peu de données dans la littérature sur les avantages à réaliser cet examen de façon systématique. L'objectif de notre étude est d'évaluer l'apport de la CGH-array dans ce suivi.

**Matériel et Méthodes:** 60 patientes ont été incluses sur 18 mois et suivies jusqu'au dénouement de leur grossesse aux centres de Diagnostic Anténatal de Brest et d'Amiens. Le critère d'inclusion était une hyperclarté nucale  $> 3,5\text{mm}$  en échographie du 1<sup>er</sup> trimestre. Des analyses d'ADN fœtal par ChromoQuant® et CGH-array effectuées sur ponction de villosité chorale, une échographie à 18SA étaient réalisées durant ce suivi.

**Résultats :** La CGH-array n'a été déterminante qu'à 2 reprises. L'échographie à 18SA semble plus sensible dans le dépistage d'une anomalie. Lorsque la CGH-array révélait une anomalie, l'échographie permettait d'envisager la présence d'une malformation. Dans 10 cas, la CGH-array n'a pu être interprétée sur la ponction de villosité chorale. Dans 9 cas, une amniocentèse a été réalisée afin d'obtenir ce résultat.

**Conclusion:** Au vu des résultats de cette étude la CGH-array est peu souvent déterminante dans la réalisation d'une IMG. Ces éléments nous amènent à réfléchir à la nécessité de maintenir cet examen avant 14SA ou bien de le proposer en seconde intention après apparition de signes échographiques à 18SA.

## MOTS CLES:

Mesure de la clarté nucale, Hygroma kystique, Analyse du caryotype sur puce à ADN, Prélèvement de villosité chorale, Diagnostic échographique prénatal



# CONTRIBUTION OF ARRAY-CGH IN THE MANAGEMENT OF FETAL INCREASED NUCHAL TRANSLUCENCY

## **ABSTRACT**

**Introduction:** Increased nuchal translucency and cystic hygroma have a neonatal prognosis, when the karyotype is normal, which depends on the findings during the medical follow-up. Array comparative genomic hybridization (aCGH) has been systematically included in this follow-up by prenatal diagnosis teams. There are no guidelines and little information on the advantages of carrying out this test systematically. The aim of our study is to evaluate the contribution of the aCGH in the medical follow-up.

**Material and Methods:** 60 patients were included during 18 months and followed till the end of their pregnancy in prenatal diagnosis centers in Brest and Amiens. Inclusion criterion was a nuchal translucency above 3,5mm on the first trimester ultrasound. A fetal DNA ChromoQuant® and aCGH analysis on chorionic villi sampling, and an ultrasound at 18 weeks of gestation were performed during the follow-up.

**Results:** The aCGH was decisive in only 2 cases. The ultrasound at 18 weeks gestation seemed to be more sensible in the detection of an abnormality. When the aCGH relieved an abnormality, the ultrasound permitted already to detect the presence of a deformity. In 10 cases, the aCGH could not be interpreted on the chorionic villi sampling. In 9 cases, an amniocentesis was performed in order to obtain this result.

**Conclusion:** Given the results of this study, the aCGH was rarely determinant on the realization of a therapeutic abortion. These elements make us reflect on the necessity of maintaining this test before 14 weeks of gestation or propose it as a second-line test after the ultrasound shows signs at 18 weeks of gestation.

## **KEYWORDS :**

Nuchal translucency measurement, Cystic hygroma, Karyotyping on DNA array, Chorionic villi sampling, Ultrasonic prenatal diagnosis

## **TABLE DES MATIERES**

LISTE DES ABREVIATIONS.....	18
I- INTRODUCTION .....	19
A. La CGH-array.....	19
1. Définition .....	19
2. Indication en diagnostic anténatal .....	19
B. Hyperclarté nucale et Hygroma Colli .....	19
1. Généralités .....	19
2. Définition de l’HCN et de l’HC et technique de mesure .....	20
3. Recommandations de bonnes pratiques .....	20
C. Objectifs de l’étude .....	21
II- MATERIELS ET METHODES .....	22
A. Recueil des données .....	22
B. Protocole de suivi des patientes .....	23
C. Prélèvement d’ADN fœtal .....	24
1. Ponction de villosité choriale .....	24
a. Définition .....	24
b. Technique par aspiration à l’aiguille par voie haute.....	24
c. Technique par biopsie à la pince par voie basse .....	25
2. Ponction de liquide amniotique .....	25
D. Extraction de l’ADN fœtal et analyse par ChromoQuant®.....	25
E. Conseil génétique .....	26
F. CGH-array .....	26
G. Echographie de contrôle entre 16SA et 18SA .....	27
H. Nouveau conseil génétique .....	27
I. Analyse des données .....	27
J. Population .....	27

III- RESULTATS .....	29
A. Anomalies caryotypiques .....	29
B. Anomalies génomiques révélées par la CGH-array .....	30
C. Anomalies morphologiques révélées par l'échographie de contrôle de 18SA .....	30
D. Comparaison de la CGH-array avec l'échographie de 18SA .....	30
E. Echecs de l'analyse de la CGH-array et accidents obstétricaux .....	33
F. Caractéristiques des IMG réalisées précocement .....	33
G. Caractéristiques des enfants nés à terme .....	34
IV-DISCUSSION .....	35
A. Statistiques et éthique .....	35
B. Médico-économique .....	36
C. Limites de l'étude .....	36
D. Ouverture .....	37
V- CONCLUSION .....	38
VI- BIBLIOGRAPHIE .....	39
VII- ANNEXES .....	43
Annexe 1 : Technique de mesure de la clarté nucale.....	43
Annexe 2 : Courbe de Nicolaïdes.....	44
Annexe 3 : Image échographiques d'une hyperclarté nucale.....	45
Annexe 4 : Images échographiques d'un hygroma colli.....	46
Annexe 5 : Principales Affections et génopathies associées à une HCN.....	47
Annexe 6 : Ponction de villosité chorale par voie basse à l'aide d'une pince.....	48
Annexe 7 : Ponction de villosité chorale par voie haute.....	49
Annexe 8 : Ponction de liquide amniotique.....	50
Annexe 9 : Images échographiques du syndrome de Jacobsen.....	51
Annexe 10 : Images échographiques de la trisomie partielle du chromosome 4.....	52
Annexe 11 : Récapitulatif des 7 échographies de contrôle anormales .....	53

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**ACPA** analyse chromosomique sur puce à ADN

**ADN** acide désoxyribonucléique

**BT** biopsie de trophoblaste

**CGH-array** array chromosomal genomic hybridization

**CHU** Centre Hospitalo-Universitaire

**CIV** communication interventriculaire

**CN** clarté nucale

**CNGOF** Collège National des Gynécologues Obstétriciens Français

**CPDPN** Centre Plusidisciplinaire de Diagnostic Prénatal

**CNIL** Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés

**CPP** Comité de Protection des Personnes

**DAN** diagnostic anténatal

**DLRS** derivative log ratio spread

**FCS** fausse couche spontanée

**HC** hygroma colli

**HCN** hyperclarté nucale

**IMG** interruption médicale de grossesse

**PCR** polymerase chain reaction

**PVC** ponction de villosités choriales

**PLA** ponction de liquide amniotique

**SA** semaine d'aménorrhée

**TGNI** test génétique non invasif

## **I- INTRODUCTION**

### A. La CGH-Array

#### 1. Définition

La CGH-array (Array Comparative Genomic Hybridization), aussi appelée ACPA (Analyse Chromosomique sur Puce à ADN) est une technique cytogénétique récente permettant une analyse globale du génome sur des micro-réseaux afin d'identifier un déséquilibre, en perte ou en gain, de tout ou partie d'une ou plusieurs régions génomiques. Elle peut donc détecter des pertes ou gains de nombre de copie d'ADN et identifier des anomalies chromosomiques déséquilibrées. Son pouvoir de résolution est 1000 fois supérieur à un caryotype. Elle nécessite un prélèvement d'un échantillon d'ADN du fœtus qui est réalisé le plus souvent par ponction de villosité chorale ou amniocentèse.

#### 2. Indication en diagnostic anténatal

A ce jour, le bénéfice de l'application CGH-array à toutes les patientes qui ont recours à un diagnostic prénatal invasif pour caryotype n'est pas démontré. Cet examen est indiqué en présence d'anomalies morphologiques fœtales associées à un risque élevé d'anomalies chromosomiques [1,2]. Les études prospectives sur la CGH-array ont montré un taux d'anomalies chromosomiques élevé (8-12%) dans des cohortes de fœtus polymalformés [3,4].

### B. Hyperclarté nucale et Hygroma Colli

#### 1. Généralités

Dans le cadre du diagnostic anténatal (DAN), parmi les anomalies morphologiques qui justifient l'utilisation de cet examen, l'hyperclarté nucale (HCN), diagnostiquée lors de l'échographie du premier trimestre est la situation la plus fréquente [5]. Dans le cas où cette HCN est supérieure au 99<sup>ème</sup> percentile ou bien lorsqu'il s'agit d'un hygroma coli (HC), les nombreuses études réalisées ces vingt dernières années [6-12] montrent que cette anomalie est associée dans près d'un cas sur deux à une anomalie chromosomique. Lorsque le caryotype est normal, près de 5% des fœtus vont présenter des anomalies malformatives ou syndromes génétiques [13-20]. Parmi les malformations retrouvées, près d'une malformation sur quatre est une cardiopathie [21-26].

## 2. Définition échographique de l'HCN et de l'HC

La clarté nucale (CN) se mesure sur une coupe sagittale strictement médiane utilisée pour mesurer la longueur crânio-caudale, la peau fœtale normale réalise entre 10 et 14 SA une ligne hyperéchogène unique, parallèle à l'occiput et à la portion supérieure de la colonne cervicale. Elle est séparée de ces structures par une zone anéchogène, dont l'épaisseur est inférieure à 2 mm. Afin de réaliser une mesure correcte, les calipers doivent être correctement positionnés (annexe 1).

La CN augmente avec l'âge gestationnel entre 10 et 14 SA. La courbe de Nicolaides la taille de la CN en fonction de la longueur crânio-caudale permet d'exprimer cette mesure en percentiles (annexe 2). L'HCN correspond à une CN  $\geq$  95e percentile (annexe 3).

L'HC présente un aspect échographique est différent d'une hyperclarté nucale par le fait que son développement est latéralisé et ne peut donc être confondu avec cette dernière. Son diagnostic s'affirme sur une coupe transversale: on voit qu'il constitue une masse complexe, d'origine lymphatique sous forme de deux cavités symétriques, séparées par une ligne médiane avec ou sans trabéculations internes (annexe 4).

## 3. Recommandations de bonnes pratiques

Les recommandations de bonnes pratiques du Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français (CNGOF) sur la prise en charge des HCN datent de 2002 [27]. Elles proposent un organigramme décisionnel basé sur le suivi pas à pas de la grossesse. Ce suivi s'applique pour toute HCN  $> 3,5$  mm ou HC découvert lors de l'échographie du 1<sup>er</sup> trimestre. Depuis ces recommandations, de nombreux progrès ont été réalisés que ce soit au niveau des examens cytogénétiques mais également dans le domaine de l'échographie. C'est ainsi que sont apparus l'échographie 3D, l'échographie à haute fréquence, le ChromoQuant et enfin la CGH-array.

De façon consensuelle, ces examens ont été incorporés au suivi des HCN et HC. La CGH-array est maintenant réalisée dans beaucoup de centres de DAN sur le même prélèvement d'ADN que celui nécessaire à la réalisation du caryotype. Il n'y a toutefois que très peu d'études qui se sont intéressées à son apport. Le peu d'étude retrouvé analysant l'apport de cet examen sont très récentes et rétrospectives [28,29]. Aucune ne s'intéresse à son apport dans le cas spécifique des aneuploïdies partielles ou syndromes génétiques décrits dans la littérature comme étant associés aux HCN et HC (annexe 5).

### C. Objectif de l'étude

L'objectif principal de cette étude va donc être d'évaluer l'apport de cet examen dans la prise en charge des patientes qui présentent une HCN > 3.5 mm ou un HC lors de l'échographie du premier trimestre.

Le critère de jugement principal sera « découverte d'une anomalie d'une particulière gravité pouvant permettre au couple d'accéder à une interruption médicale de grossesse (IMG) »

Les objectifs secondaires seront de décrire les différents résultats obtenus lors des différents examens effectués lors du suivi de ces patientes.

## **II- MATERIELS ET METHODES**

### A. Recueil des données

Nous avons réalisé une étude prospective observationnelle bicentrique sur les Centres Plusidisciplinaires de Diagnostic Prénatal (CPDPN) d'Amiens et de Brest. Cette étude a reçu un accord favorable de la Commission nationale de l'informatique et des libertés (CNIL) et du Comité de Protection des Personnes (CPP) le 15 Mai 2016 (N/Ref : TB/LR/2016-69). Les patientes étaient incluses dans les CPDPN de Brest et d'Amiens dès leur première consultation pour le motif HCN ou HC. Pour les patientes acceptant l'utilisation anonyme des données de leur dossier médical à des fins de recherche médicale, il leur était remis un formulaire de non opposition qu'elles remplissaient et signaient. Le recueil des données était ensuite réalisé sur un cahier d'observation incorporé au dossier de diagnostic anténatal et rempli au fur et à mesure du suivi des patientes.

Cette étude a été débutée en août 2016 et s'est poursuivie jusqu'en février 2018, incluant toute patiente présentant une HCN supérieure à 3,5mm ou un HC. Les patientes présentant une HCN comprise entre 2,5mm et 3,5mm n'ont pas été incluses. En effet dans la pratique des CPDPN d'Amiens et de Brest une CGH-array était d'emblée proposée lorsque l'HCN était supérieur ou égale à 3.5mm ou en présence d'un HC. Pour les patientes ayant une CN inférieure à 3.5mm un dépistage des aneuploidie était proposé par le dépistage combiné du 1<sup>er</sup> trimestre de grossesse. Les grossesses multiples, les patientes mineures, les anomalies génétiques connus chez les parents, les patientes ayant eu recours au diagnostic préimplantatoire et les patiente refusant le prélèvement d'ADN fœtal ont été exclues. Le suivi des patientes enceintes présentant une HCN ou un HC commençait à partir de l'échographie du premier trimestre et se poursuivait jusqu'à la naissance de l'enfant. Soixante patientes ont été incluses et suivie entre le 1<sup>er</sup> Aout 2016 et le 1<sup>er</sup> Février 2018.

## B. Protocole de suivi des patientes

Le suivi proposé était directement inspiré de celui recommandé par le CNGOF schématisé par la figure 1 tirée des extraits de mise à jour de 2002 [2].

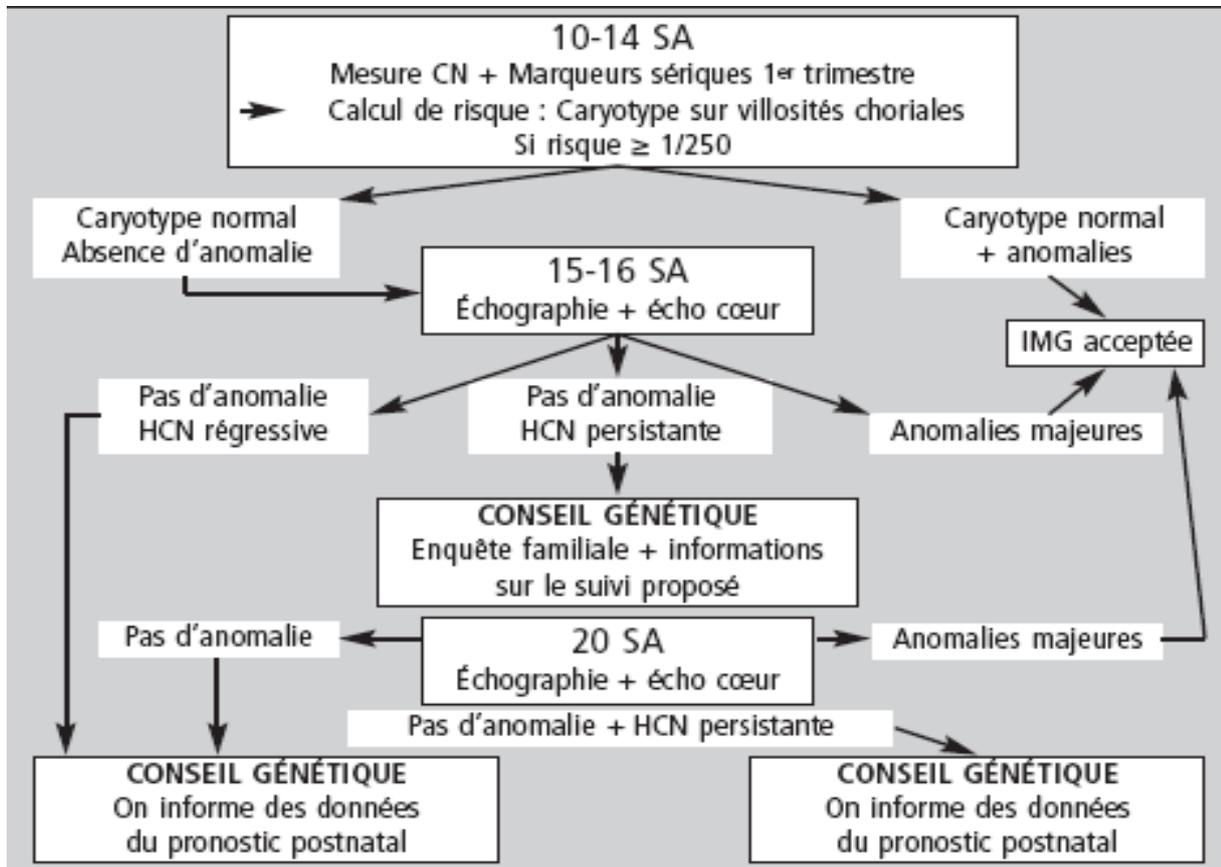


Figure 1 : Suivi recommandé par le CNGOF selon les extraits de mise à jour de 2002 [2]

Il était ajouté une CGH-array réalisée sur le prélèvement d'ADN effectué en vue d'obtenir le caryotype. Il se déroulait donc de la façon suivante :

- ⊙ Ponction de villosité chorale d'emblée
  - Analyse de l'ADN fœtal par ChromoQuant®
  - Analyse de l'ADN fœtal par CGH-Array
- ⊙ Echographie de contrôle à 16SA-18SA avec échocardiographie fœtale
- ⊙ Echographie du deuxième trimestre avec échocardiographie fœtale
- ⊙ Dans le cas où tous ces examens sont normaux → reprise d'un suivi classique
- ⊙ Examen du nouveau-né à la naissance

## C. Prélèvement d'ADN fœtal

### 1. Ponction de villosité chorale

#### a. Définition

La ponction de villosité chorale (PVC) parfois appelée biopsie de trophoblaste (BT) était proposée et réalisée avant 14 semaines d'aménorrhée (SA) soit par voie haute (annexe 6) soit par voie basse (annexe 7) selon les habitudes des différents CPDPN. Le diagnostic prénatal par PVC au premier trimestre de la grossesse est devenu une alternative fréquente aux techniques traditionnelles du deuxième trimestre. Il est le plus souvent réalisé aux alentours de 12SA. Sa précocité permet de rassurer plus tôt les patientes ou de minimiser les complications obstétricales et psychologiques d'une éventuelle interruption médicale de la grossesse lorsque cette éventualité se présente. Le trophoblaste, qui va devenir le futur placenta, est un tissu appartenant au fœtus et non à sa mère. Sa composition est donc la même que celle du fœtus (sauf cas tout à fait exceptionnel). La principale indication de la PVC est l'étude des chromosomes du fœtus mais plus de 200 anomalies génétiques peuvent être diagnostiquées par analyses cytogénétiques, enzymatiques ou étude de l'ADN sur les villosités chorales. Le terme le plus adapté pour réaliser une PVC se situe autour de 12SA. Elle peut être réalisée sans inconvénient plus tard dans la grossesse (on parlera alors de choriocentèse à partir de 15 SA) ; par contre on évitera les prélèvements trop précoces avant 10SA.

#### b. Technique par aspiration à l'aiguille par voie haute

La ponction par aspiration à l'aiguille à travers la paroi abdominale est la technique la plus utilisée dans le monde. C'est également celle réalisée au centre de diagnostic anténatal du CHU de Brest. Au terme de 12SA le volume de l'utérus est d'environ 12 cm de diamètre. Il est encore en position basse dans le bassin et déborde peu au dessus du pubis. Une vessie un peu pleine est parfois nécessaire pour le repousser vers le haut. Contrairement à l'amniocentèse la technique nécessite idéalement la présence de trois opérateurs : un pour la ponction, un pour réaliser la dépression permettant l'aspiration des villosités chorales et un pour réaliser l'échographie simultanément permettant de localiser l'aiguille de ponction au niveau du trophoblaste. Le prélèvement est pratiqué en salle d'échographie. Il est fait dans des conditions strictes d'asepsie. Après repérage du trophoblaste à l'échographie, une anesthésie locale à la Xylocaïne est réalisée à l'endroit de la ponction. Une aiguille longue de 120mm à

180mm et très fine (de 20G à 22G) est alors introduite en direction du trophoblaste en suivant sa progression sur l'écran de l'échographe. Le choix de l'aiguille est dépendant de la position du placenta, de l'épaisseur de la paroi et des habitudes de l'opérateur. L'aiguille est choisie aussi courte et aussi fine que possible selon ce que permettent les conditions locales. Lorsque la pointe de l'aiguille est en bonne position au niveau du trophoblaste, une dépression est provoquée dans l'aiguille à l'aide d'une poignée adaptée sur la seringue et quelques mouvements de va-et-vient sont imprimés au système. On peut récupérer ainsi quelques dizaines de milligrammes de villosités chorales qui sont aspirées dans l'aiguille et immédiatement contrôlées.

#### c. Technique par biopsie à la pince par voie basse

Cette technique est fréquemment utilisée au CHU d'Amiens. Son indication préférentielle est la position postérieure ou proche de l'orifice interne du trophoblaste ainsi que chez les patientes obèses. La patiente est en position gynécologique avec vessie vide ou en semi-réplétion. Un spéculum permettant l'exposition du col, la désinfection du vagin et du col et parfois la mise d'une pince de Pozzi sur la lèvre antérieure du col pour pouvoir exercer une traction douce. On introduit une pince à biopsie rigide de 2 mm de diamètre (longueur 20cm), sous contrôle échographique (sonde abdominale), en direction de l'épaisseur maximale de trophoblaste. Une fois la pince en place, près de la plaque chorale, elle est poussée dans l'épaisseur du trophoblaste avec les mors ouverts. Elle est ensuite refermée et retirée permettant de récupérer du trophoblaste.

#### 2. Ponction de liquide amniotique

Lorsque la PVC n'aboutissait pas soit par refus de la patiente soit par échec de l'analyse, une ponction de liquide amniotique (PLA) à 16SA était réalisée (annexe 8).

#### D. Extraction de l'ADN foetal et analyse par ChromoQuant®

L'extraction de l'ADN foetal est réalisée sur le prélèvement de trophoblaste natif, ou après culture si la quantité n'est pas suffisante. Elle est réalisée en utilisant le coffret PureGene Blood Core Kit B (Qiagen), en suivant les recommandations du fournisseur. La qualité et la quantité de l'ADN extrait sont vérifiées par spectrophotométrie (système Nanodrop - ThermoFisher).

Le prix de l'extraction est d'environ 8 euros et le temps technique nécessaire est de 3 heures.

La première étape de l'analyse de l'ADN fœtal consiste en la recherche des principales aneuploïdies et la recherche de contamination maternelle du prélèvement fœtal à l'aide du coffret « ChromoQuant SuperSTaR Optima » (Amplitech), en suivant les recommandations du fournisseur. Le ChromoQuant® est une analyse basée sur la PCR multiplex fluorescente permettant l'analyse simultanée de 14 à 22 marqueurs microsatellites localisés sur les chromosomes 13, 18, 21, X et Y. Cette analyse est réalisée sur l'ADN fœtal et sur l'ADN maternel et permet ainsi, par l'étude des différents profils microsatellitaires de dépister les aneuploïdies lorsque 3 allèles sont présents sur le chromosome concerné d'une part, et de dépister une contamination maternelle si 3 allèles sont présents sur tous les marqueurs étudiés d'autre part.

Le prix du ChromoQuant® est d'environ 30 euros et le temps technique et biologique nécessaire est d'une journée

#### E. Conseil génétique

Selon la découverte ou non d'une anomalie caryotypique telle qu'une trisomie, le CPDPN pouvait, entre 13SA et 18SA accéder à la demande d'IMG du couple.

#### F. CGH-array

Lorsque le ChromoQuant® ne montre pas d'aneuploïdie, une CGH-array est réalisée. La CGH-array a pour objectif d'identifier des remaniements chromosomiques déséquilibrés (délétion, duplication) chez le fœtus. Pour cela, l'ADN fœtal extrait est comparé à un ADN témoin (ADN fourni par Agilent). L'ACPA réalisée dans le laboratoire est basée sur la technologie oligonucléotide SurePrint G3 CGH/CGH+SNP 4x180K (permettant une résolution moyenne de 60 kb sur l'ensemble du génome), technologie fournie par Agilent Technologies, protocole réalisé en suivant les recommandations du fournisseur. Après marquage des ADN à l'aide du coffret « SureTag DNA Labelling », les ADN sont purifiés avec le coffret « SureTag Purification Column » puis hybridés avec le coffret « OligoCGH Hybridization » sur une lame 4x180k. Les lames sont ensuite lues sur un scanner SureScan Microarray (Agilent). Les données générées sont exploitées par les logiciels « Feature Extraction » et « Cytogenomics » et les « copy number variant » identifiés sont analysés à l'aide du logiciel « Cartagena ».

Le prix de l'ACPA est d'environ 400 euros, le temps biologique nécessaire est de 1 à 4 heures et le temps technique nécessaire est de 2 jours.

## G. Echographie de contrôle entre 16SA et 18SA

Une échographie de contrôle réalisée entre 16SA et 18SA associée à une échocardiographie fœtale étaient réalisées afin de déceler d'éventuelles anomalies malformatives précoces. Les appareils utilisés étaient des échographes Voluson E10 datant de moins de sept ans. Ces échographies de contrôle étaient réalisées par les échographistes référents des centres de DAN du CHU de Brest et d'Amiens. L'échocardiographie fœtale était réalisée soit par l'un des échographistes référents du DAN soit par un échocardiographe pédiatrique. Ce choix était laissé à l'appréciation des échographistes du DAN.

## H. Nouveau conseil génétique

Ces échographies et le rendu du résultat de la CGH-array avaient souvent lieu de façon concomitante. Selon la découverte ou non d'une anomalie malformative ou génomique à l'issue de ces deux examens, le CPDPN pouvait, après 18SA et à ce stade, accéder à la demande d'IMG du couple selon la gravité de l'anomalie malformative ou génomique découverte. Pour toutes les grossesses qui se sont ensuite poursuivies, les patientes ont été rassurées et informées du pronostic postnatal. Le suivi repris a ensuite été celui de toute grossesse à savoir un examen clinique chaque mois, l'échographie du deuxième puis du troisième trimestre et enfin l'examen du nouveau né à la naissance.

## I. Analyse des données

L'apport de la CGH-array a été évalué par rapport au critère de jugement interruption médicale de grossesse ou poursuite du suivi. La sensibilité, spécificité de cet examen et sa valeur prédictive négative ont été comparées avec l'échographie morphologique qui était réalisée à 16-18SA. L'analyse statistique comprend le calcul du taux de cohérence entre la CGH-array et l'échographie morphologique de 18SA ainsi que la détermination de coefficient Kappa de Cohen.

## J. Population

Au total 60 patientes ont été incluses. 46 par le CHU d'Amiens et 14 par le CHU de Brest. 9 ont été exclues et 1 perdue de vue. L'évolution des grossesses suivies par la suite est représentée par la figure 2.

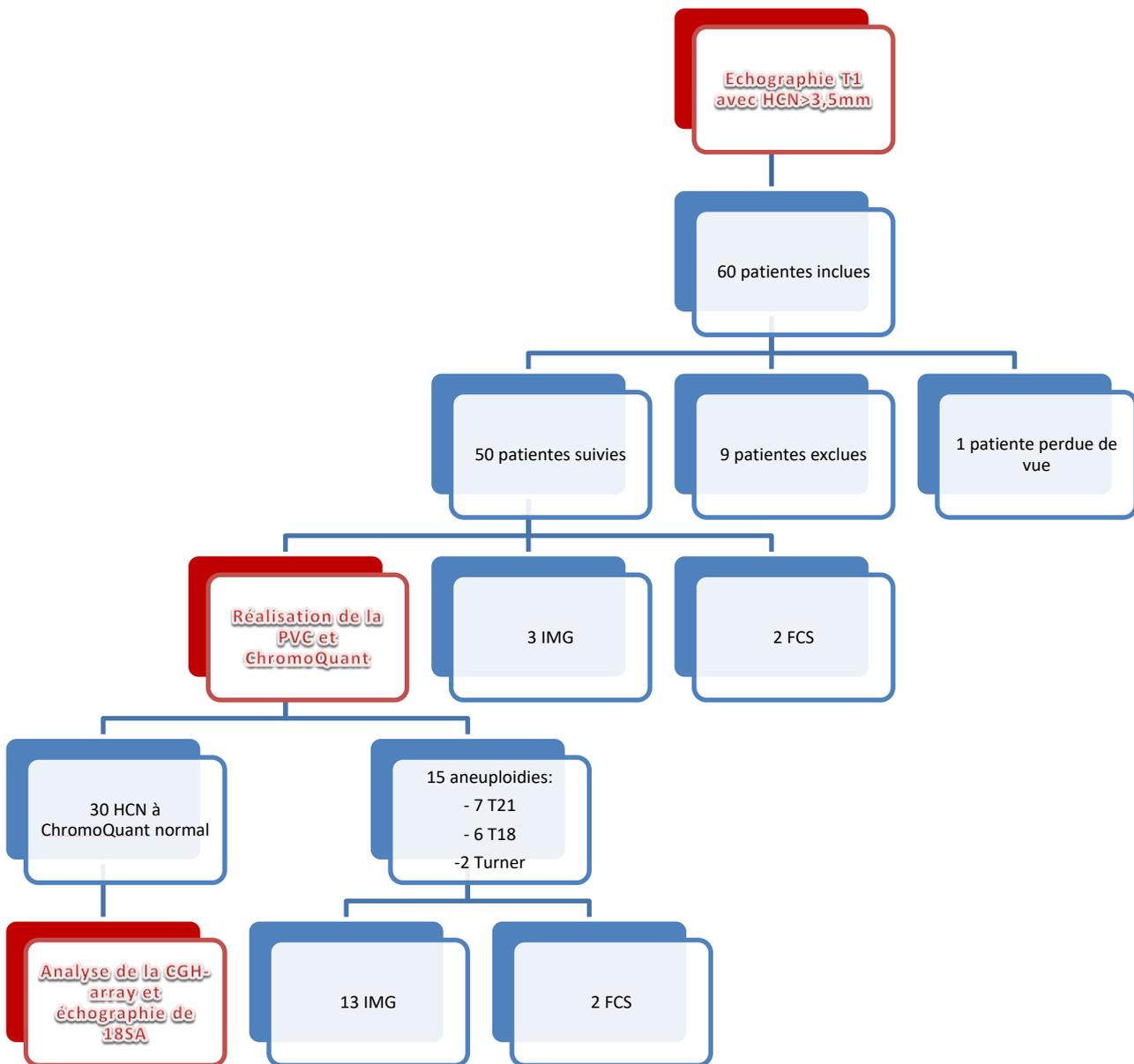


Figure 2: Diagramme de flux

Parmi les 9 patientes exclues : 1 était porteuse d'une translocation 3/17, 2 voyaient leur terme dépasser 14SA après vérification échographique au CPDPN, 2 ont refusé de la ponction de villosité choriale, 2 présentaient l'HCN était inférieure à 3,5mm et 2 car il s'agissait de grossesses gémellaires.

### III- RESULTATS

#### A. Anomalies caryotypiques

Sur les 50 patientes restantes qui ont été suivies jusqu'à l'arrêt de leur grossesse, 2 patientes ont perdu leur grossesse avant le prélèvement caryotypique, 3 autres patientes ont recouru à une IMG d'emblée du fait d'anomalies malformatives majeures découvertes dès l'échographie du premier trimestre et 48 patientes ont réalisé un caryotype, parmi elles 3 patientes ont spontanément perdu leur grossesse par fausse couche spontanée (FCS) après le prélèvement.

15 ChromoQuant® étaient anormaux comprenant 7 trisomies 21, 6 trisomies 18 et 2 syndromes de Turner. Ces 15 grossesses ont abouti pour 13 d'entre elles à une IMG et pour 2 d'entre elles à une fausse couche tardive avant 15SA. Les données des 3 analyses chromosomiques des 3 IMG d'emblée après les anomalies majeures de la première échographie n'ont pas été recueillies.

Sur les 30 patientes présentant une analyse par ChromoQuant® sans anomalie, une analyse de l'ADN fœtal par CGH-array ainsi qu'une échographie morphologique à 18SA ont donc été réalisées. Ces examens ont conduit à la réalisation d'un certain nombre d'IMG selon le schéma de la figure 3.

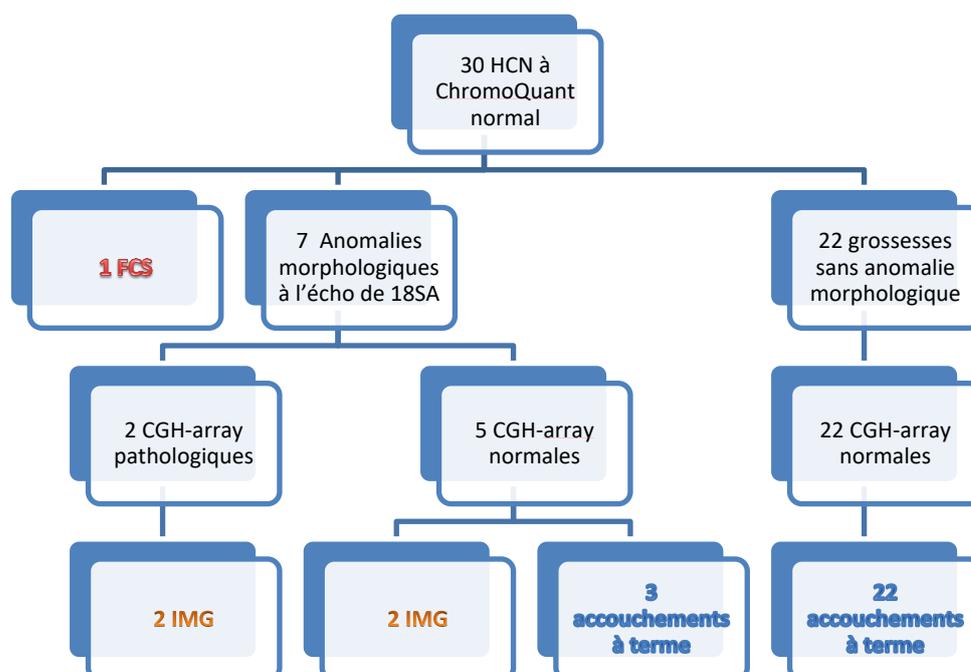


Figure 3 : Devenir des grossesses après la CGH-array et l'échographie de 18SA

## B. Anomalies génomiques révélées par la CGH-array

30 caryotypes étaient normaux, mais il y a eu 1 FCS parmi ces 30 patientes, suite au prélèvement. Parmi les 29 grossesses restantes, 29 CGH-array ont été effectuées et seulement 2 ont permis de mettre en évidence une anomalie génomique: une délétion pathogène télomérique du bras long du chromosome 11 retrouvée dans le syndrome de Jacobsen et une trisomie partielle avec duplication terminale en miroir du bras long du chromosome 4. Dans ces deux cas, le rendu anormal de la CGH-Array était accompagné d'anomalies morphologiques à l'échographie de contrôle de 18SA et à l'échographie morphologique de 20SA. La délétion au niveau du chromosome 11 était accompagnée d'une dilatation des bassinets, de fémurs courts, d'un œdème préfrontal et d'une discordance ventriculaire cardiaque lors de l'échographie de contrôle (annexe 9). Le cas de trisomie partielle du chromosome 4 était quand à lui accompagné d'une persistance d'un HC majeur mesuré à plus de 6mm lors de l'échographie de 18SA (annexe 10).

## C. Anomalies morphologiques révélées par l'échographie de 18SA

En comparaison sur les 29 grossesses suivies présentant une HCN à caryotype normal, 7 présentaient des anomalies morphologiques lors de l'échographie de contrôle de 18SA. Parmi ces anomalies, on en retrouvait de différents degrés de gravité parfois associées: simple persistance de l'HCN, communication intraventriculaire (CIV), dilatation des bassinets, fémurs courts, pied varus unilatéral, malposition des quatre membres, laparoschisis avec hépatocèle, angulation rachidienne dorso-lombaire à 90°, aspect kystique de la région occipitale du cerveau. Sur ces 7 grossesses qui ont montré des anomalies morphologiques plus ou moins graves, 4 ont abouti à une IMG (annexe 11).

## D. Comparaison de la CGH-array avec l'échographie de 18SA

La totalité des 4 IMG réalisées sur les 29 grossesses présentant une HCN à caryotype normal alors que l'échographie de contrôle de 16-18SA montrait une anomalie. En revanche pour 2 de ces IMG, bien que les grossesses présentaient des anomalies malformatives flagrantes à l'échographie de contrôle de 18SA, la CGH-array était quant à elle normale.

En prenant comme résultat la réalisation ou non d'une IMG, il apparait que la sensibilité de l'échographie de contrôle à 18SA et sa valeur prédictive négative sont de 100% (tableau 1).

<b>Echographie 18SA</b>			
	IMG oui	IMG non	
Echo + (pathologique)	4	3	7
Echo - (normale)	0	22	22
	4	25	

Se = 1 IC95%[0,40 ; 1]  
 Sp = 0,88 IC95%[0,68 ; 0,97]  
 VPP = 0,57 IC95%[0,20 ; 0,88]  
 VPV = 1 IC95%[0,82 ; 1]

Tableau 1 : Validité du test contrôle échographique à 18SA

Il apparait également que la spécificité et la valeur prédictive positive de la CGH-array sont de 100% (tableau 2).

<b>CGH</b>			
	IMG oui	IMG non	
CGH + (pathologique)	2	0	2
CGH - (normale)	2	25	27
	4	25	

Se = 0,5 IC95%[0,15 ; 0,85]  
 Sp = 1 IC95%[0,83 ; 1]  
 VPP = 1 IC95%[0,20 ; 1]  
 VPV = 0,93 IC95%[0,74 ; 0,99]

Tableau 2 : Validité du test CGH-array

En cumulant ces deux examens et en se projetant dans la situation où nous n'aurions utilisé la CGH-array que dans le cas où l'échographie de contrôle de 16-18SA révèle des anomalies, les résultats de la CGH-array sont strictement les mêmes, mais on économiserait ainsi 22 CGH-array sur les 29 réalisées de façon systématiques (tableau 3). D'autre part aucune anomalie à la naissance n'aurait échappé à cette combinaison d'examen lors du diagnostic anténatal.

<b>Combinaison Echographie 18SA/CGH</b>			
	IMG oui	IMG non	
Echo + & CGH +	2	0	2
Echo - (ou Echo+ & CGH -)	2	25	27
	4	25	

Se = 0,5 IC95%[0,15 ; 0,85]  
 Sp = 1 IC95%[0,83 ; 1]  
 VPP = 1 IC95%[0,20 ; 1]  
 VPV = 0,93 IC95%[0,74 ; 0,99]

Tableau 3 : Validité du test combiné contrôle échographique à 18SA/CGH-array

Le taux de cohérence entre ces deux examens est de 0,83 avec un coefficient Kappa de Cohen à 0,38 IC95% [-0,01 ; 0,77]. Les effectifs, notamment celui des CGH-array pathologiques, sont trop faibles pour statuer sur quoique ce soit (tableau 4).

	CGH + (pathologique)	CGH - (normale)	
Echo + (pathologique)	2	5	7
Echo - (normale)	0	22	22
	2	27	

tx de cohérence CGH & Echo = 0,83  
 Coefficient Kappa de Cohen K = 0,38 IC95%[-0,01 ; 0,77]

*K < 0.2 indique un très faible agrément*  
*0.2 < k < 0.4 indique un agrément faible*  
*0.4 < K < 0.6 indique un agrément modéré*  
*0.6 < K < 0.8 indique un agrément important*  
*K > 0.8 indique un agrément presque parfait.*

Tableau 4 : Corrélation entre le contrôle échographique de 18SA et la CGH-array

### E. Echecs de l'analyse de la CGH-array et accidents obstétricaux

Au total, 45 PVC ont été réalisés. Pour 10 prélèvements sur 45, la PVC n'a pas suffi à obtenir un résultat interprétable de la CGH-Array et dans 9 cas une PLA a été réalisée dans le seul but d'obtenir un résultat de CGH-array. Le taux d'échec global de la PVC dans cette étude est de 22%. Cet échec était soit lié à la mesure de la qualité de la puce : le Derivative Log Ratio Spread (DLRS)  $> 0,3$  (2 cas). Il pouvait aussi être lié à une quantité insuffisante de matériel (4 cas). Enfin la troisième raison était une contamination maternelle du prélèvement (4 cas). Les 10 échecs ont été retrouvés dans le bras des 35 PVC réalisées au centre de DAN du CHU d'Amiens. 2 de ces échecs (1 pour DLRS  $> 0,3$  et 1 pour prélèvement insuffisant) dans le bras des 16 PVC par voie abdominale. Les 8 autres échecs étaient constatés dans le bras des 19 PVC par voie transcervicale. Aucun échec n'a été constaté après prélèvement dans le groupe des 13 PVC par voie abdominale réalisées au centre de DAN du CHU de Brest. Le taux d'échec est donc de 42% dans le sous groupe des PVC par voie transcervicale, et de 12% dans le groupe des PVC par voie abdominale.

3 FCS ont eu lieu après la PVC dont une alors que le caryotype était normal. Ces 3 FCS ont eu lieu dans le groupe des 35 PVC réalisées au centre de DAN du CHU d'Amiens. 2 ont eu lieu sur le sous groupe des PVC par voie transcervicale et 1 sur le sous groupe des 16 PVC par voie abdominale. Aucune FCS n'a été constaté après prélèvement dans le groupe des 13 PVC par voie abdominale réalisées au centre de DAN du CHU de Brest. On a donc 3% de FCS dans le sous groupe des PVC par voie abdominale et 11% de FCS dans le sous groupe des PVC par voie transcervicale.

Les effectifs sont toutefois trop faibles dans cette étude pour conclure de façon définitive sur la supériorité ou non d'une de ces deux techniques de prélèvement.

### F. Caractéristiques des IMG réalisées précocement

Au total 20 IMG ont eu lieu. 8 de ces IMG ont été réalisées précocement avant 14SA par curetage aspiratif. Il s'agissait de 2 lymphœdèmes généralisés, 3 trisomies 21, 2 trisomies 18 et 1 cardiopathie majeure diagnostiquée à 12SA par une échocardiographie par voie endovaginale. Aucune de ces IMG précoces n'était liée à un rendu anormal de la CGH-array.

## G. Caractéristiques des enfants nés à terme

Parmi les 50 patientes suivies, 25 ont donc décidé de poursuivre leur grossesse. Toutes ont accouché à terme d'un enfant vivant ne présentant aucune anomalie malformative à l'examen à la naissance non dépistée en anténatal. Cet examen avait pour but de :

- s'assurer de l'absence de pathologie vitale respiratoire ou cardiaque (cyanose, détresse respiratoire, ou neurologique (troubles de conscience, hypertonie...)).

- dépister des anomalies et malformations, le plus souvent externes et donc facilement repérables, nécessitant soit une prise en charge rapide, soit une information auprès des parents

Les anomalies recherchées étaient les suivantes :

- Anomalies du crâne, de la face et du cou : fentes labiales et vélo-palatines,
- Anomalies du visage : paralysie faciale,
- Anomalies des yeux : observation des pupilles et de la cornée,
- Paralysie du plexus brachial, fracture de clavicule,
- Anomalies de la paroi abdominale,
- Anomalies des hanches,
- Malformations ano-rectales,
- Anomalies de la charnière lombo-sacrée : fossettes ou anomalies cutanées,
- Malformations des organes génitaux et urinaires : ectopie ou cryptorchidie, et hypospadias chez le garçon, anomalies vulvaires chez la fille,
- Anomalies des extrémités et des membres : doigts ou orteils surnuméraires, pieds malpositionnés,
- Tout autre signe ou tout ensemble de signes pouvant évoquer une anomalie chromosomique.

Seuls deux enfants présentaient une CIV, chacune ayant été diagnostiquée en anténatal à l'échographie. Ces CIV, membraneuse et musculieuse, ont guérie spontanément avant 6 mois.

## **IV- DISCUSSION**

### A. Statistiques et éthique

L'apport de la CGH-array dans la prise en charge des HCN>3,5mm semble incontestable compte tenu des 2 cas sur 50 patientes suivies où elle a permis de faire le diagnostic d'une anomalie pouvant être jugée d'une particulière gravité.

Il n'a pas été retrouvé de chiffre dans la littérature permettant de comparer nos résultats à d'autres études. Cependant ces résultats sont intéressants dans le sens où ils tendent à montrer que le fait de réaliser une CGH-array de façon systématique devant toute HCN> 3,5mm serait discutable. La sensibilité de cet examen et sa valeur prédictive négative dans notre étude en font un mauvais premier test. En effet la difficulté et les risques encourus du prélèvement d'ADN, le prix de l'analyse paraissent être des inconvénients importants en comparaison du peu de fois où cet examen a été déterminant dans la prise en charge de ces grossesses.

En comparaison les très bonnes spécificité et valeur prédictive positive dans notre étude font de la CGH-array un excellent examen de seconde intention. Elle semblerait donc plus pertinente après confirmation soit de la persistance d'une HCN à 16SA-18SA, soit de la présence d'une anomalie morphologique lors des échographies faites après 18SA. Du fait de la très grande sensibilité et valeur prédictive négative de l'échographie de 18SA dans cette étude, si l'on avait pris la décision de ne réaliser une CGH-array qu'après confirmation d'anomalies échographiques à 18SA, 22 CGH-array et 9 PLA auraient été économisées pour un résultat final identique. Cet argument repose sur le fait que lorsqu'on souhaite combiner deux tests médicaux, la meilleure façon de le faire est de commencer par celui à la meilleure sensibilité et de le combiner, dans le cas où le premier test est positif, au deuxième test qui lui bénéficie de la meilleure spécificité. Dans le contexte du diagnostic anténatal et de ces grossesses dont l'issue est incertaine, il est éthiquement difficile de se limiter dans les tests mis en œuvre lorsque l'on sait l'enjeu de passer à côté d'un diagnostic d'une particulière gravité. Toutefois les progrès réalisés en échographie ces dernières années et la sensibilité de 100% de cet examen dans cette étude rendent possible cette combinaison sans qu'elle soit éthiquement discutable.

Bien que ce ne soit pas notre objectif principal, cette étude semble également montrer une tendance en faveur d'une supériorité de la ponction de villosité chorale par aspiration à l'aiguille à travers la paroi abdominale comparée à la voie transcervicale, tant au niveau du

taux d'échec que du taux d'accident obstétrical, ce qui est en accord avec les dernières études sur le sujet [30,31].

### B. Médico-économique

Dans le cas où l'on mettrait les moyens nécessaires (opérateurs spécialisés, échographes récents et bénéficiant des meilleures performances) afin de préserver une sensibilité proche de 100%, 22 CGH-array et 9 PLA auraient été économisées sur 29 CGH au total. Sur ces 18 mois d'étude, ces 29 CGH correspondent à un coût de 11600€ dont 8800€ (76%) auraient pu être économisés dans le cas où l'on aurait décidé de ne réaliser cette analyse que sur signe d'appel échographique à l'échographie de contrôle de 18SA. Au-delà de ce surcoût, à 9 reprises sur 30 PVC réussie (30%) permettant d'obtenir un ChromoQuant® normal, une PLA a du être réalisée dans le seul but de permettre l'analyse de l'ADN fœtal par CGH-array. Une augmentation de 30% du nombre de prélèvement d'ADN fœtal entraînerait également un coût (incluant le geste, et l'hospitalisation de la patiente) mais aussi une augmentation nette des accidents obstétricaux. Il est évident que pour un résultat final qui s'avèrerait identique, exposer la patiente à un surrisque de FCS en répétant un prélèvement d'ADN fœtal ne semble pas valable. Cette réflexion sur la diminution de nombre de prélèvement d'ADN fœtal (PVC et PLA) peut s'étendre bien plus largement à l'aube de l'ère du test génétique non invasif (TGNI). En effet, si l'analyse d'ADN fœtal par CGH-array n'est plus systématique dans la prise en charge des HCN>3,5mm, on pourrait tout à fait imaginer voir le TGNI remplacer l'analyse de l'ADN fœtal par ChromoQuant® dans le but d'éliminer une aneuploïdie. Le prélèvement d'ADN fœtal ne serait alors plus réalisé que lorsqu'une CGH-array s'avèrerait nécessaire. Dans le cas où l'on ne réaliserait plus cet examen que sur signe d'appel échographique à 18SA (7 cas dans notre étude sur 29 PVC réalisées), ce serait alors près de 76% de PVC ou PLA qui ne seraient plus nécessaires.

### C. Limites de cette étude

En revanche les faibles effectifs, et l'absence d'un bras contrôle dans cette étude nous empêchent de tirer une conclusion définitive. Un autre point faible de cette étude est que l'échographie de contrôle réalisée à 16SA-18SA est un examen opérateur dépendant et les signes évocateurs d'une anomalie peuvent parfois être très discrets. Les responsabilités pesant sur l'échographiste sont donc grandes. Bien que la sensibilité soit à 100% sur cette étude, il n'est pas difficile d'imaginer qu'un opérateur moins entraîné ou une petite erreur d'appréciation puisse entraîner une diminution de la sensibilité, parfaite lors de cette étude, de

cet examen. Il ne serait alors éthiquement pas acceptable de ne pas diagnostiquer un syndrome polymalformatif ou génétique qui l'aurait été si la CGH-array avait été faite de façon systématique.

#### D. Ouverture

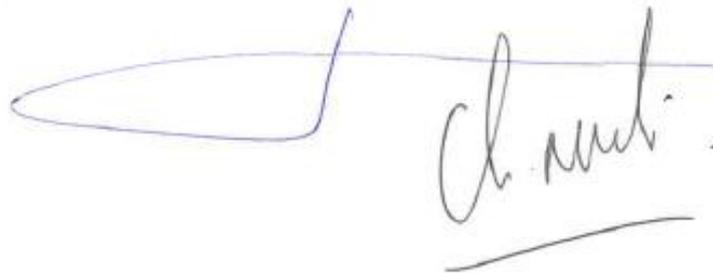
Afin de corroborer cette tendance et apporter une preuve scientifique dans la littérature, nous souhaiterions mettre en place un nouveau protocole de suivi des hyperclartés nucales supérieures inspiré des conclusions de cette étude :

- ⊙ Ponction de villosité chorale d'emblée par voie haute
  - Analyse de l'ADN fœtal par ChromoQuant®
  - Conservation du prélèvement ADN pour une possible analyse supplémentaire
- ⊙ Conseil génétique
- ⊙ Echographie de contrôle à 16SA-18SA avec échocardiographie fœtale
- ⊙ En cas d'anomalie sur l'échographie de contrôle de 16SA-18SA : CGH-array
- ⊙ Echographie du deuxième trimestre avec échocardiographie fœtale
- ⊙ Dans le cas où tous ces examens sont normaux → reprise d'un suivi classique
- ⊙ Examen du nouveau-né à la naissance

Ce protocole de suivi serait comparé à un bras contrôle conservant les mêmes consignes de prise en charge que celles actuellement en vigueur, dans le cadre d'une étude prospective interventionnelle multicentrique randomisée. L'objectif de cette étude serait de montrer la non-supériorité du protocole actuel qui recourt à une CGH-array systématique à 14SA. Le critère de jugement serait la présence d'anomalie génétique ou malformative à la naissance non diagnostiquée durant le suivi. Ce suivi comparatif ne pourra être significatif si et seulement s'il est optimisé et repose sur la réalisation d'une PVC précoce à 12SA par voie haute [22;23] et d'une échographie systématique entre 16SA et 18SA par un praticien expérimenté.

#### **IV- CONCLUSION**

La CGH-array est un examen cytogénétique qui a incontestablement amélioré les pratiques dans le domaine du diagnostic anténatal. Son pouvoir résolutif est sans comparaison. Toutefois, comme tout nouvel examen, l'indication de sa réalisation n'est pas encore optimisée. D'un point de vue éthique, le fait de le réaliser de façon systématique sur l'indication d'une HCN>3,5mm est difficilement contestable dans le sens où pour un couple attendant un enfant, il ne serait pas acceptable de ne pas tout mettre en œuvre afin d'anticiper la naissance d'un enfant avec un handicap. Cependant la très faible prévalence des anomalies retrouvées par la CGH-array nous amène à constater que cet examen pourrait être mieux employé de façon moins systématique sans pour autant diminuer la qualité du suivi anténatal. L'impact médico-économique d'une telle conclusion est important car il pourrait faire baisser le nombre de CGH-array de près de 75% ainsi qu'éviter un prélèvement ADN supplémentaire. A l'aube de l'ère du test génétique non invasif (TGNI), cette conclusion pourrait également dans l'avenir faire fortement baisser le nombre de PVC et PLA actuellement réalisées. D'autres études comparatives, à plus grande échelle, sur de plus grands effectifs, sont donc nécessaires et attendues afin de trouver le juste équilibre dans l'utilisation de la CGH-array.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Ch. Muszynski', with a horizontal line underneath.

**Professeur Fabrice SERGENT**

**Docteur Charles MUSZYNSKI**

## **VI- BIBLIOGRAPHIE**

- [1] Brady PD et Al. *Array-based approaches in prenatal diagnosis*. Methods mol biol 2012; 838:151-71.
- [2] Vialard F et Al. *Array comparative genomic hybridization in prenatal diagnosis: Another experience*. Fetal Diagn Ther 2009; 25(2):277-84.
- [3] Le Caignec C et AL. *Detection of genomic imbalances by array based comparative genomic hybridisation in fetuses with multiple malformations*. J. Med. Genet 2005; 42(2):121-8.
- [4] Valduga M et Al. *A retrospective study by oligonucleotide array-CGH analysis in 50 fetuses with multiple malformations*. Prenat Diagn 2010; 30(4):333-41.
- [5] Nicolaides KH. *Nuchal translucency and other first trimester sonographic markers of chromosomal abnormalities*. Am J Obstet Gynecol 2004; 191(1):45-67.
- [6] Nicolaides KH, Azar G, Byrne D, Mansur C, Marks K. *Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy*. Br Med J 1992; 304:867-9.
- [6] Pandya PP, Kondylis A, Hibert L, Snijders RJM, Nicolaides KH et Al. *Chromosomal defects and outcome in 1015 fetuses with increased nuchal translucency*. Ultrasound Obstet Gynecol 1995; 5:15-19.
- [7] Souka AP, Snidjers RJM, Novakov A, Soares W, Nicolaides KH. *Defects and syndromes in chromosomally normal fetuses with increased nuchal translucency thickness at 10-14 weeks of gestation*. Ultrasound Obstet Gynecol 1998; 11:391-400.
- [8] Souka AP, Krampfl E, Bakalis S, Heath V, Nicolaides KH. *Outcome of pregnancy in chromosomally normal fetuses with increased nuchal translucency in the first trimester*. Ultrasound Obstet Gynecol 2001; 18:9-17.
- [9] Ducame G, Graesslin O, Alanio E, Bige V, Gaillard D, Gabriel R et Al. *Hyperclarté nucale et hygroma cervical au 1<sup>er</sup> trimestre de la grossesse: diagnostic prénatal et devenir néonatal*. Gynecol Obstet Fertil 2005; 33(10):750-754.

- [10] Graesslin O, Demiaux E, Alanio E, Gaillard D, Vitry F, Quereux C, et Al. *Characteristics and outcome of fetal cystic hygroma diagnosed in the first trimester*. Acta Obstet Gynecol Scand 2007; 86(12):1442-6.
- [11] Baumann C, Delagarde R, Vuillard E, Oury JF et Al. *Etude de l'issue des grossesses et du devenir des enfants nés après un diagnostic de pathologie de la nuque au 1<sup>er</sup> ou 2<sup>ème</sup> trimestre*. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2001; 30:68-74.
- [12] Lajeunesse C, Stadler A, Trombert B, Varlet MN, Paturel H, Prieur F, Chêne G. *Hygroma kystique découvert à l'échographie obstétricale du 1<sup>er</sup> trimestre: caractéristiques échographiques, caryotypiques et devenir de la grossesse*. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2014; 43(6):455-62.
- [13] Senat MV, De Keersmaecker B, Audibert F, Montcharmont G, Frydman R, Ville Y and Al. *Pregnancy of outcomes in fetuses with increased nuchal translucency and normal karyotype*. Prenat Diagn 2002; 22:345-349.
- [14] Senat MV, Bussièrès L, Couderc S, Roume J, Rozenberg P, Bouyer J, Ville Y and Al. *Long terme outcome of children born after a first trimester measurement of nuchal translucency of the 99th percentile or greater with normal karyotype: a prospective study*. Am J Obstet Gynecol 2007; 196(1):531-6.
- [15] Senat MV, Frydman R et Al. *Hyperclarté nucale à caryotype normal*. Gynecol Obstet Fertil 2007; 35(6):507-15.
- [16] Senat MV, Rozenberg P, Bernard JP, Ville Y. *Trisomy 21 screening: value of ultrasound and serum markers in a combined approach*. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2001; 30(1):11-27.
- [17] Chiron R, Heggesh J, Grisaru et Al D. *Noonan syndrome: a cryptic condition in early gestation*. Am J Med Genet 2000; 92(3):159-65.
- [18] Zosmer N, Souter VL, Chan CSY, Huggon IC, Nicolaides KH, et Al. *Early diagnosis of major cardiac defects in chromosomally normal fetuses with increased nuchal translucency*. Br J Obstet Gynaecol 1999; 106(8):829-33.

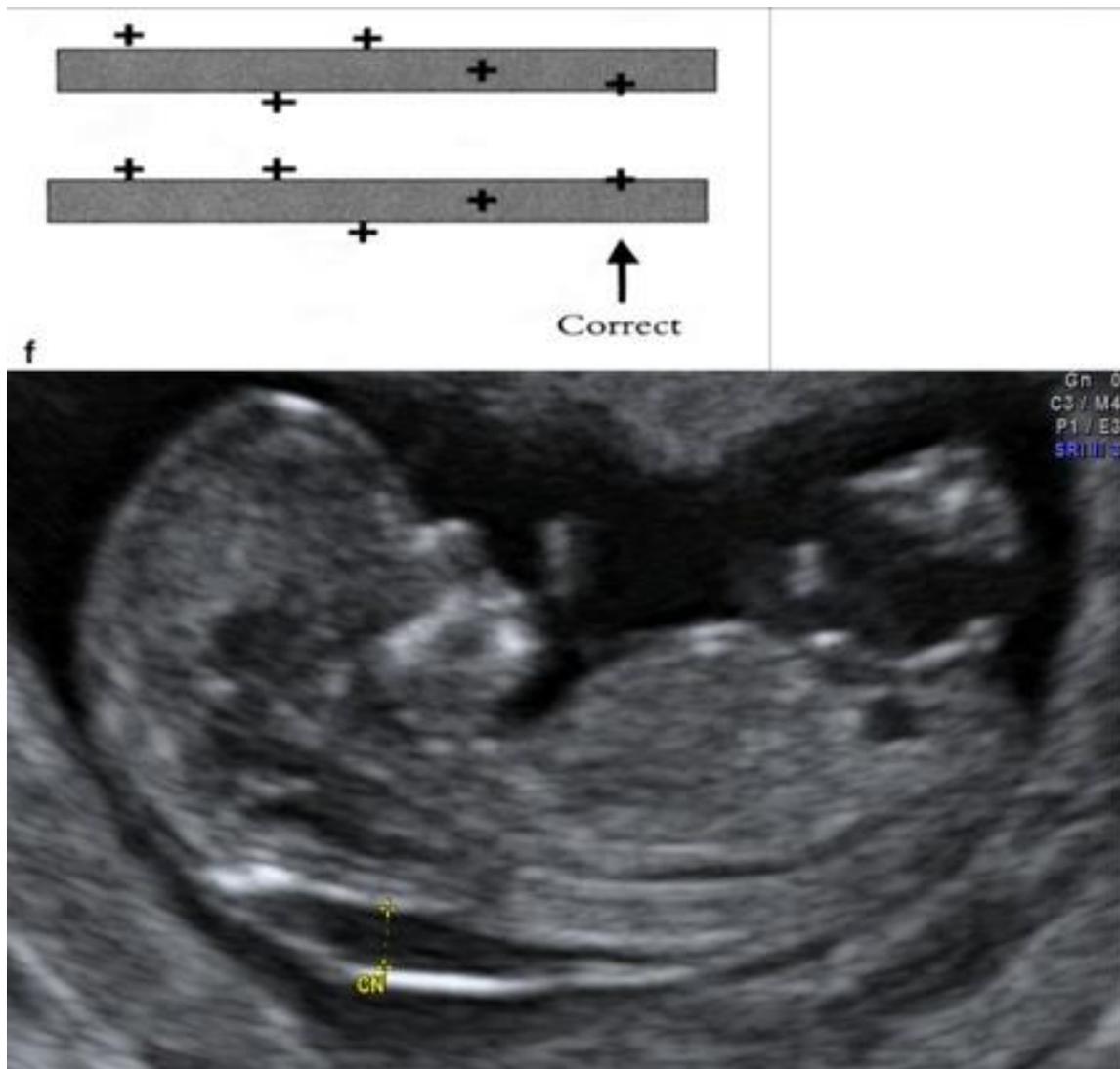
- [19] Hyett JA, Clayton PT, Moscoso G, Nicolaides KH. *Increased first trimester nuchal translucency as a prenatal manifestation of Smith-Lemli-Opitz syndrome*. Am J Med Genet 1995; 58: 374-6.
- [20] Hyett JA, Noble P, Sebire NJ, Snijders RJM, Nicolaides KH. Lethal congenital arthrogryposis presents with increased nuchal translucency at 10-14 weeks of gestation. Ultrasound Obstet Gynecol 1997; 9: 310-13.
- [21] Hyett JA, Moscoso G, Nicolaides KH. *First trimester nuchal translucency and cardiac septal defects in fetuses with trisomy 21*. Am J Obstet Gynecol 1995; 172: 1411-13.
- [22] Hyett JA, Moscoso G, Nicolaides KH. *Cardiac defects in first trimester fetuses with trisomy 18*. Fetal Diagn Ther 1995; 10: 381-6.
- [23] Hyett JA, Moscoso G, Nicolaides KH. *Increased nuchal translucency in trisomy 21 fetuses: relation to narrowing of the aortic isthmus*. Hum Reprod 1995; 10: 3049-51.
- [24] Hyett JA, Moscoso G, Nicolaides KH. *Abnormalities of the heart and great arteries in first trimester chromosomally abnormal fetuses*. Am J Med Genet 1997; 69: 207-16).
- [25] Hyett JA, Perdu M, Sharland GK, Snijders RJM, Nicolaides KH. *Increased nuchal translucency at 10-14 weeks of gestation as a marker for major cardiac defects*. Ultrasound Obstet Gynecol 1997; 10: 242-6.
- [26] Hyett JA, Perdu M, Sharland GK, Snijders RJM, Nicolaides KH et Al. *Using fetal nuchal translucency to screen for major congenital cardiac defects at 10-14 weeks of gestation: population based cohort study*. Br Med J 1999; 318(7176):81-5.
- [27] Roume J, Senat MV, Molina-Gomes D, Vialard F, Couderc S, Hillion Y, Rozenberg P, Selva J, Ville Y et Al. *Anomalies de la nuque fœtale à caryotype normal au 1er trimestre de la grossesse*. Vingt sixièmes journées nationales du Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français ; 2002, Paris.
- [28] Bartholmot C, Mousty E, Grosjean F, Petrov Y, Khau Van Kien P, Chiesa J, Letouzey V, et Al. *Apport de l'analyse chromosomique par puce à ADN dans un centre de diagnostic prénatal pluridisciplinaire*. Gynecol Obstet Fertil Senol 2017; 45(7-8):400-407.
- [29] Aihua Y, Jian L, Chang L, Li G, Jing W, Mingqin M, Yanfang Z, Xiaozhuang Z et Al. *A prenatal missed diagnosed case of submicroscopic chromosomal abnormalities by*

*karyotyping: the clinical utility of array-based CGH in prenatal diagnostics. Mol Cytogenet* 2014; 7:26.

[30] Horovitz J, Toutain J, Vandenbossche F, Saura R et Al. *Choriocentèses et placentocentèses : aspects obstétricaux, cytogénétiques (et histologiques)*. Trente troisièmes journées nationales du Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français ; 2009, Paris.

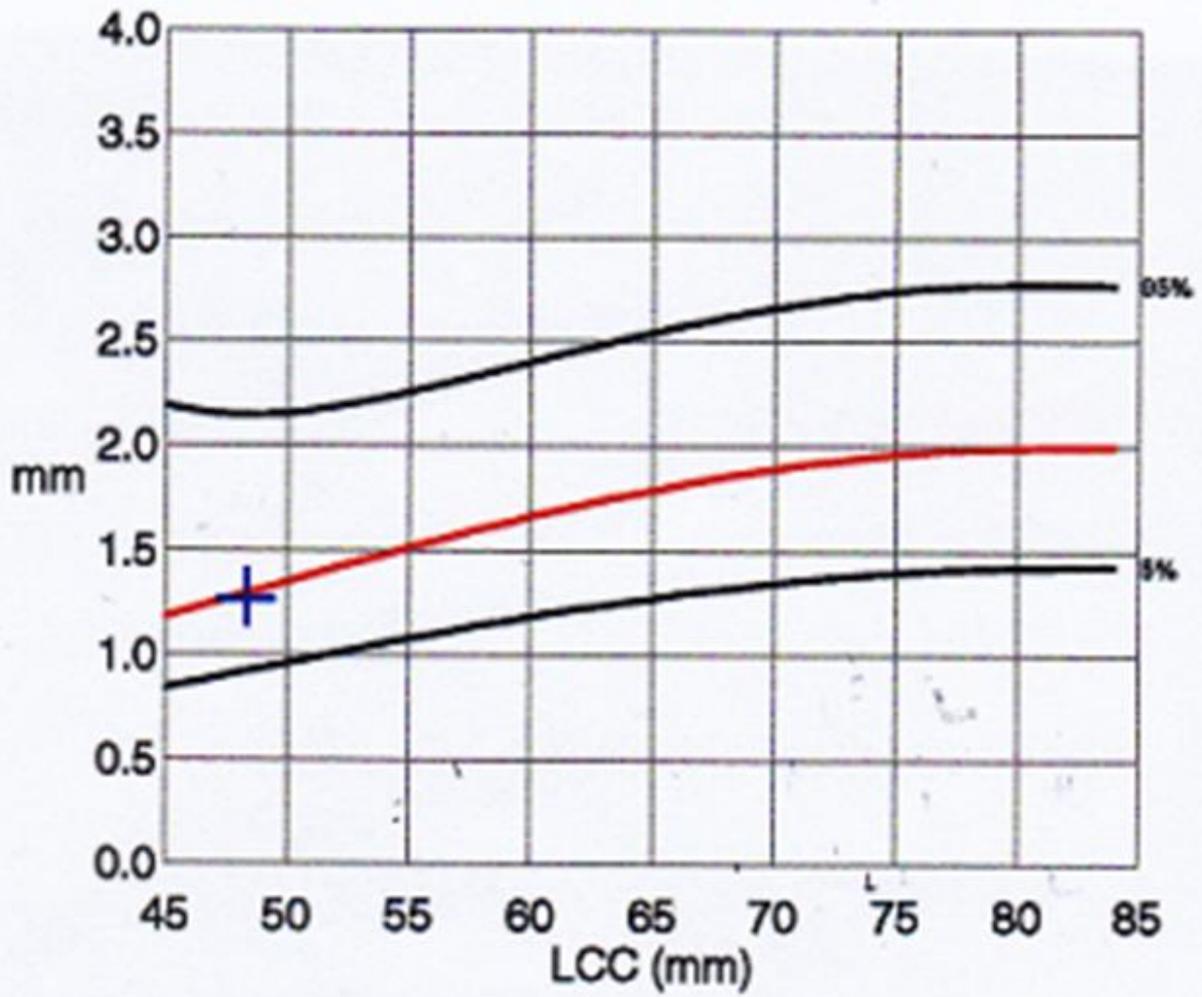
[31] Winer N, Schmitt S, Aubron F, Le Vaillant C, Philippe HJ et Al. *Biopsie de trophoblaste*. Trente troisièmes journées nationales du Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français ; 2009, Paris.

VII- ANNEXES



Annexe 1 : Technique de mesure de la clarté nucale

# Clarté nucale



Annexe2 : Courbe de Nicolaides



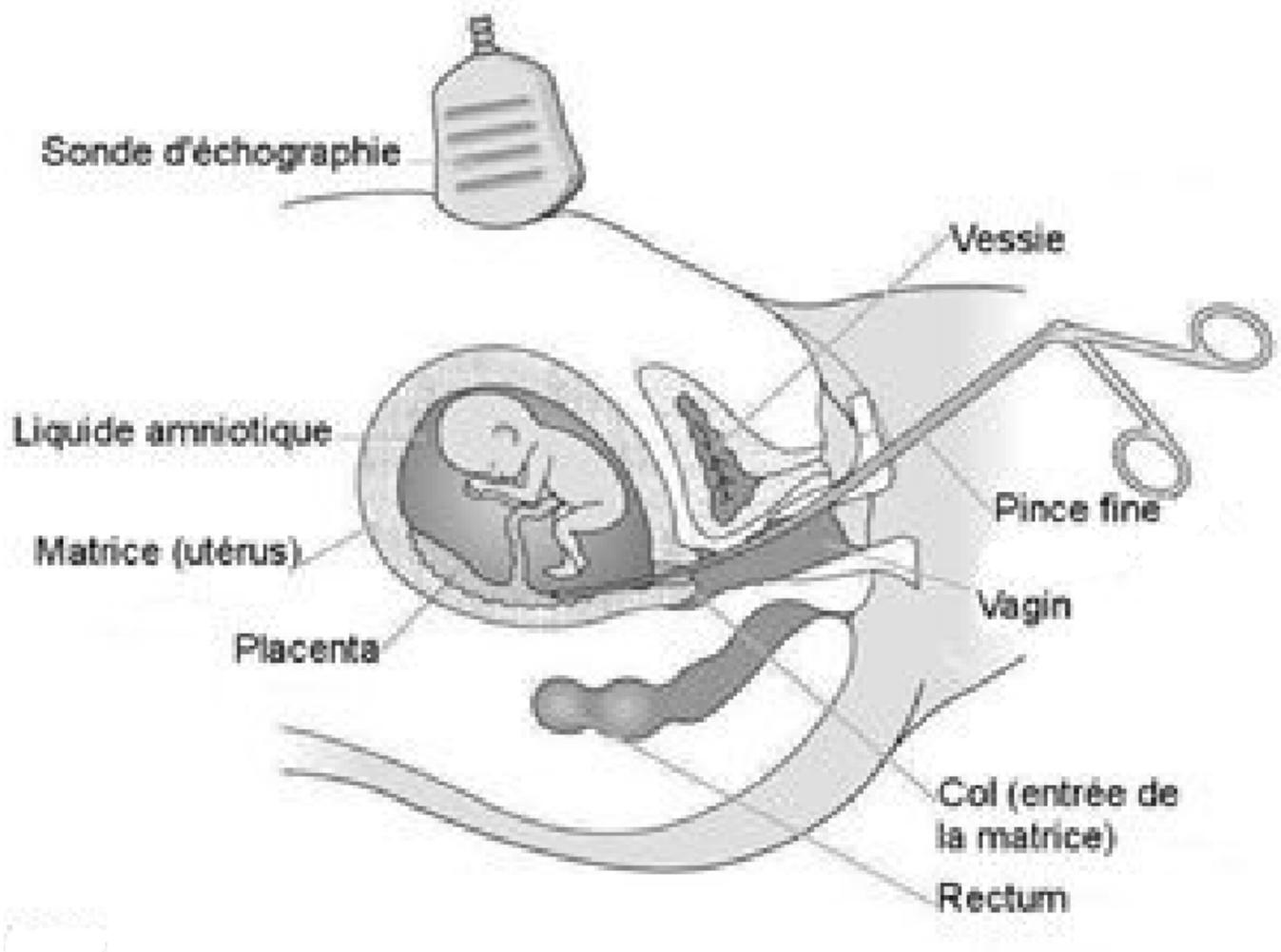
**Annexe 3 :** Image échographique d'une hyperclarté nucale



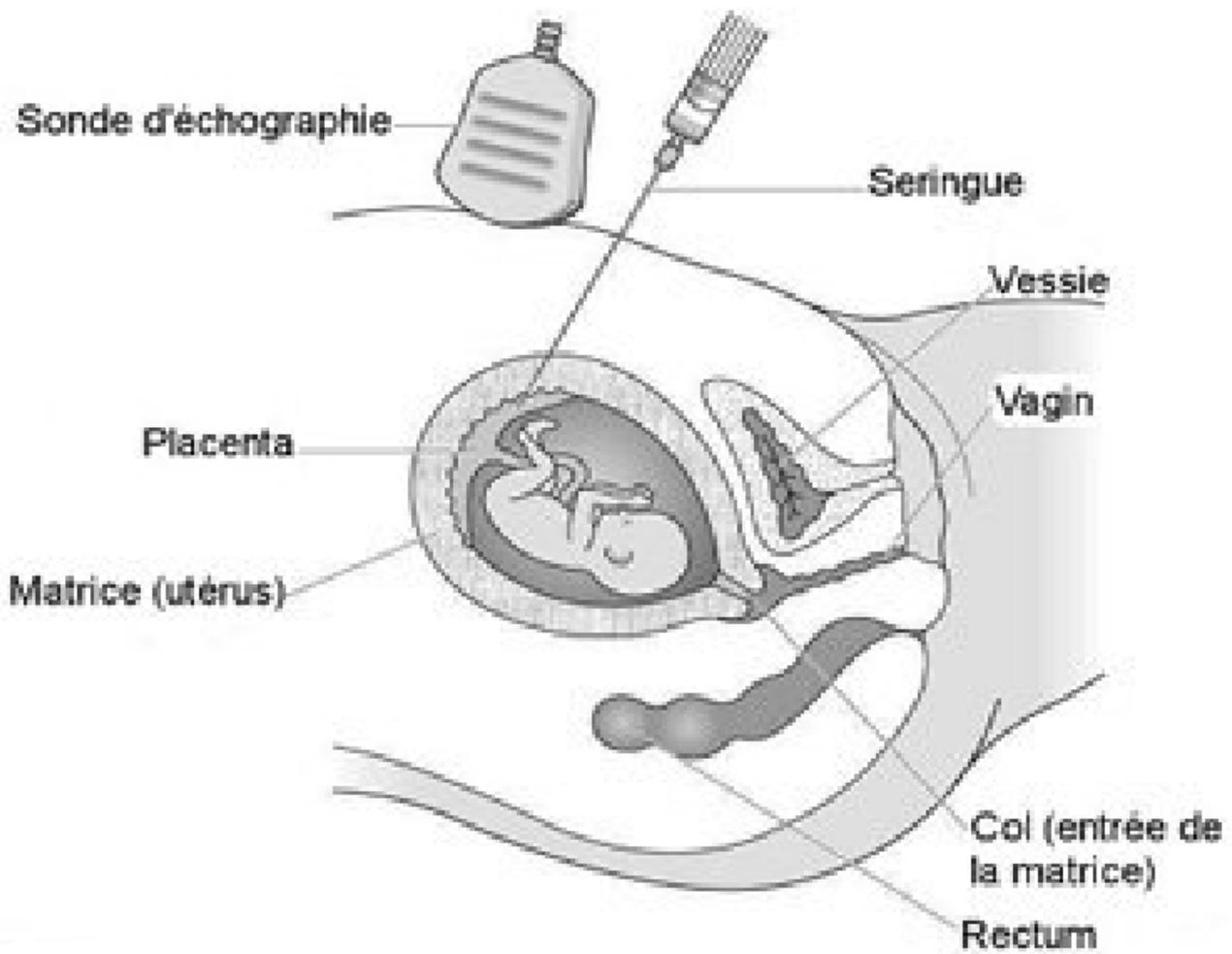
**Annexe 4 :** Images échographiques d'un hygroma colli

Cardiopathies congénitales	Syndrome de Jarcho-Levin
Hernie diaphragmatique	Syndrome de Joubert
Omphalocèle	Syndrome de Meckel-Grüber
Achondrogénèse type II	Syndrome de Nancy-Sweeney
Achondroplasie	Syndrome de Noonan
Dystrophie thoracique asphyxiante	Ostéogénèse imparfaite type II
Syndrome de Beckwith-Wiedemann	Syndrome de Perlman
Ostéochondrodysplasie de Blomstrand	Syndrome de Sotos
Anomalie de la délimitation embryonnaire	Syndrome de Weaver
Dysplasie campomélique	Syndrome de Roberts
Ectrodactylie – dysplasie ectodermique – fente palatine	Syndromes côtes courtes – polydactylie
Séquence d'immobilisme fœtal	Syndrome de Smith-Lemli-Opitz
Syndrome de Fryns	Nanisme thanatophore
Syndrome hydroléthal	Association VACTERL
Gangliosidose GM1	Syndrome de Zellweger

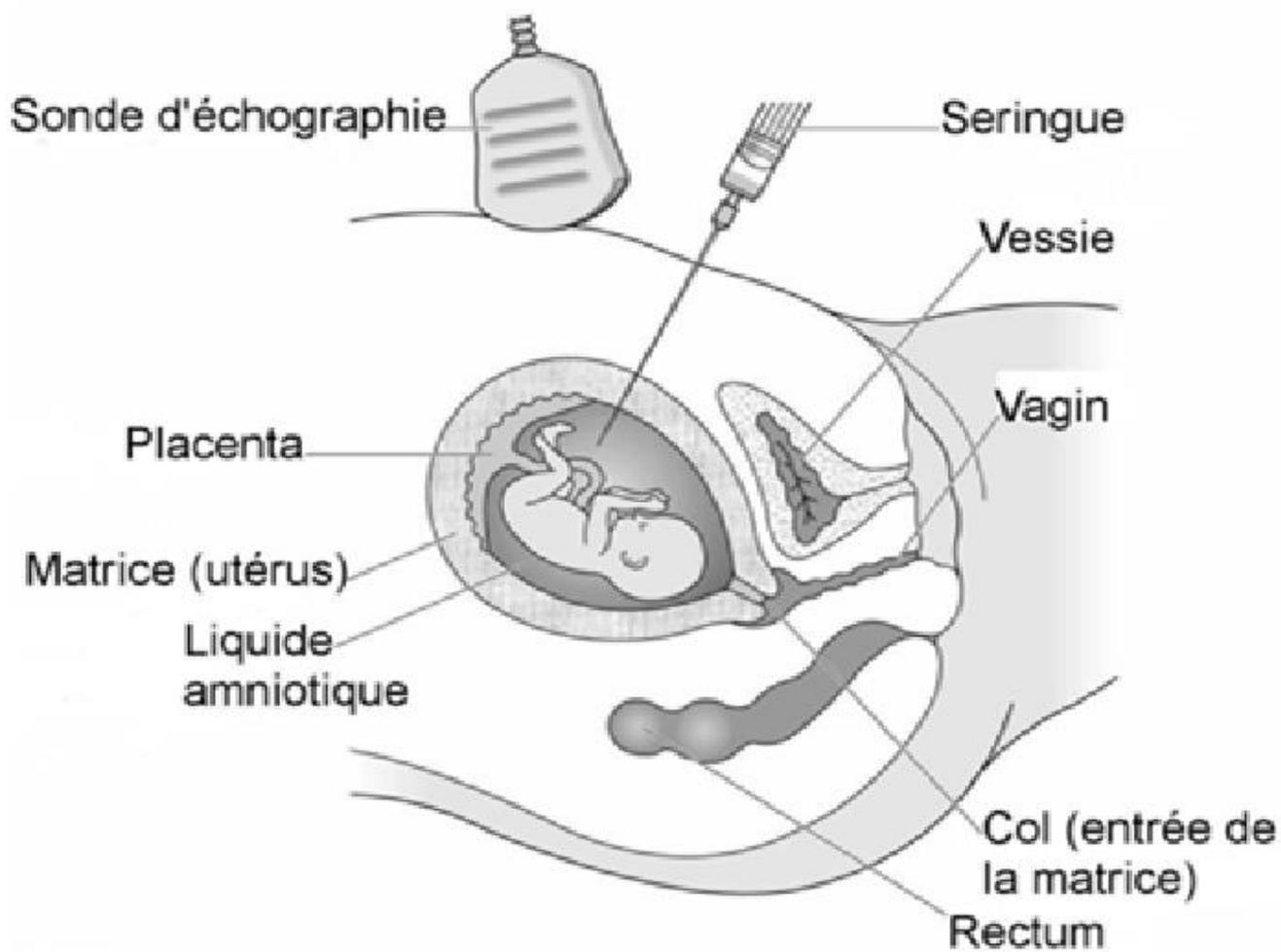
**Annexe 5** : Principales affections et génopathies décrites comme associées à une HCN [8]



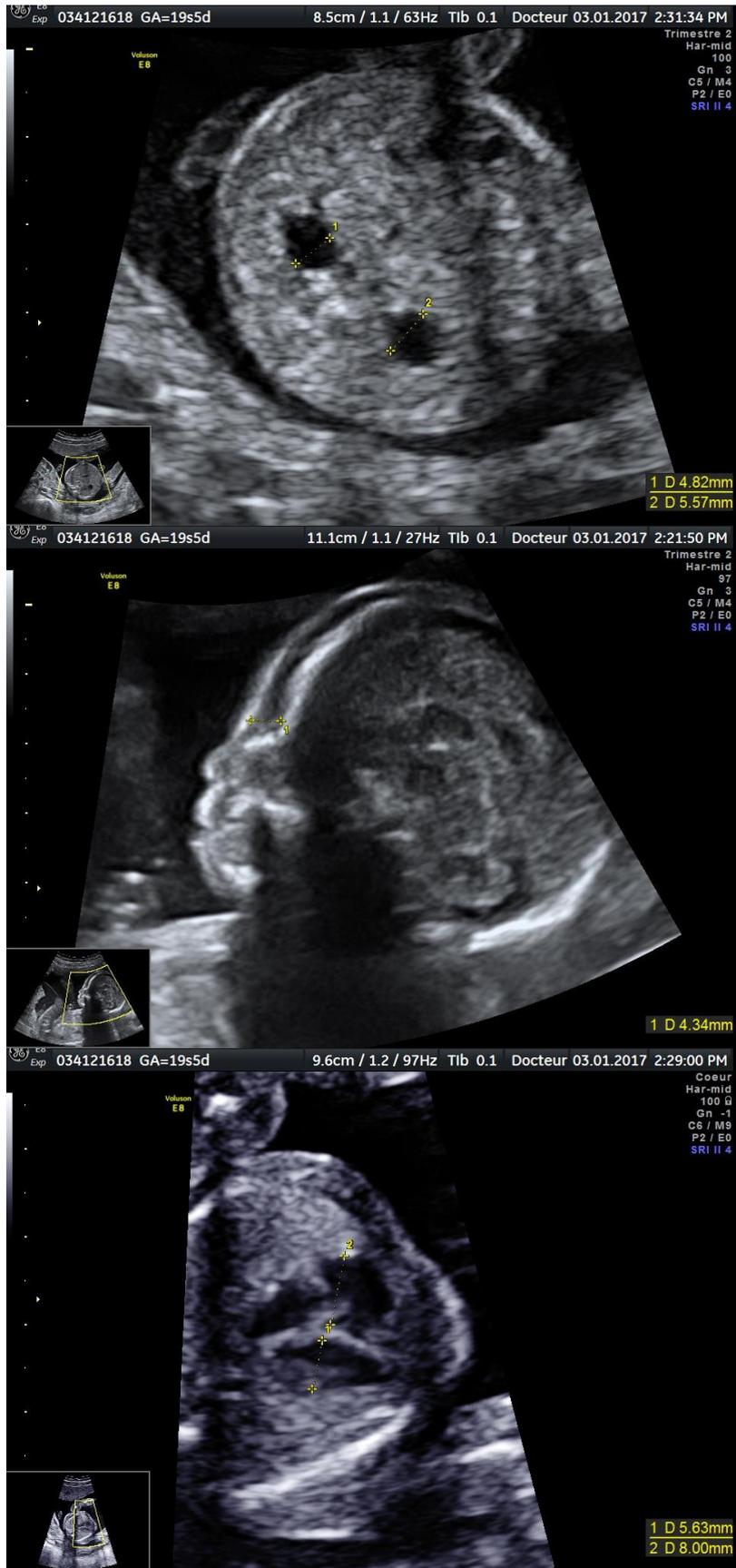
**Annexe 6 :** Ponction de villosité choriale par voie basse à l'aide d'une pince



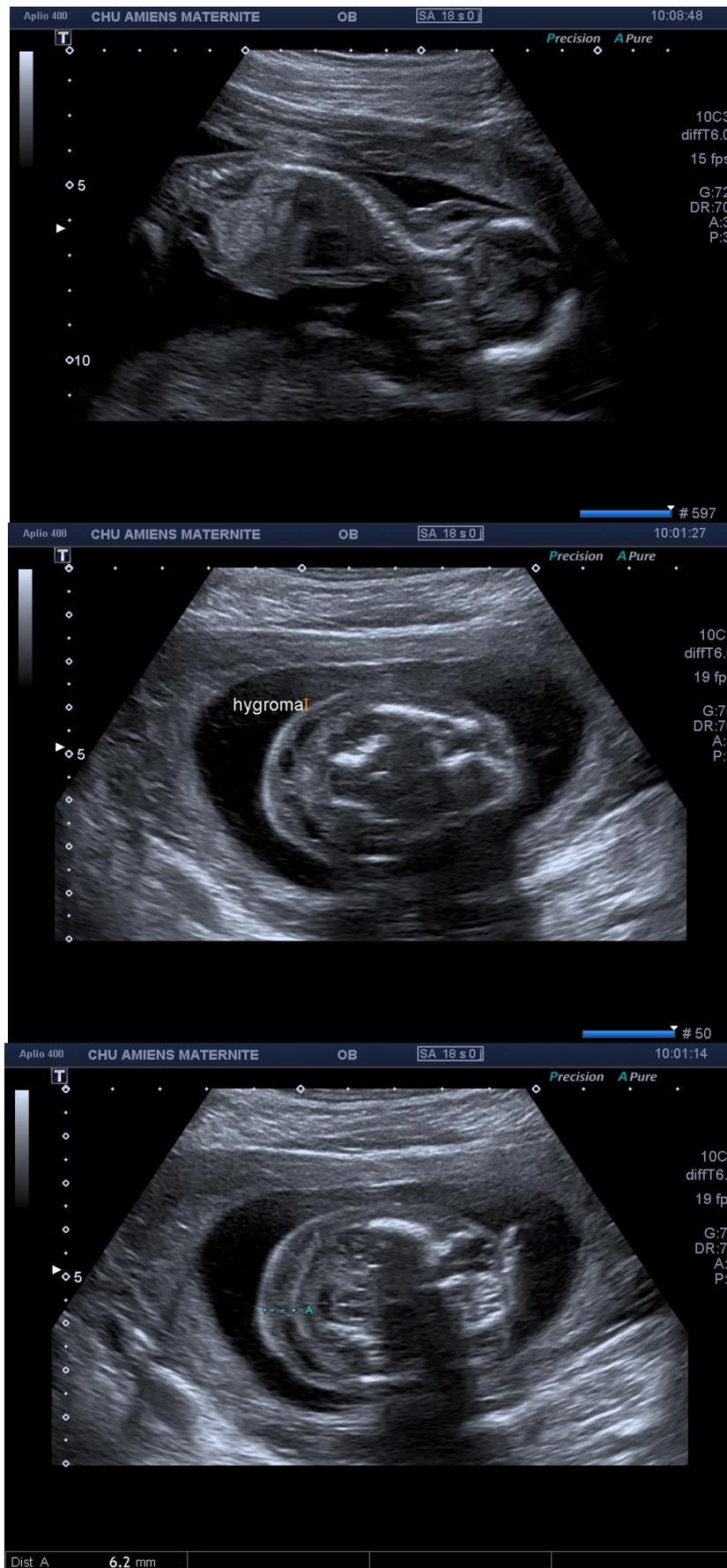
**Annexe 7 :** Ponction de villosité choriale par voie haute



**Annexe 8** : Ponction de liquide amniotique



**Annexe 9 :** Images échographiques du syndrome de Jacobsen à 19SA



**Annexe 10 :** Images échographiques de la trisomie partielle du chromosome 4 à 18SA

Clarté nucale initiale	CGH-array	Echographie de contrôle à 18SA	Echocardiographie pédiatrique	Devenir de la grossesse
7,9mm	Anormale: duplication terminale en miroir du bras long d'un chromosome 4	Persistance d'un hygroma colli >6mm	Non faite	IMG
4,0mm	Normale	CIV	Confirmation CIV musculieuse	Accouchement d'un enfant sans autre anomalie, CIV fermée à 6 mois
5,0mm	Anormale: délétion pathogène télomérique du bras long du chromosome 11, en 11q23.3q25, d'environ 15,8 Mb	Dilatation des bassinets, fémurs courts, déséquilibre des cavités cardiaques, œdème préfrontal	Non faite	IMG
5,3mm	Normale	CIV haute	Absence de CIV constatée lors du contrôle à 20SA et de 24SA	Accouchement d'un enfant sans anomalie décelée à la naissance
6,0mm	Normale	Hépatocèle, laparoschisis, pied varus unilatéral, angulation rachidienne dorso-lombaire à 90°, aspect kystique de la région occipitale	Non faite	IMG
5,7mm	Normale	CIV	Confirmation CIV membraneuse	Accouchement d'un enfant sans autre anomalie, CIV fermée à 1 mois
9,0mm	Normale	Malposition des 4 membres, rachis anormalement court, lymphoedème généralisé	Non faite	IMG

**Annexe 11 : Récapitulatif des 7 échographies de contrôle anormales**



## L'APPORT DE LA CGH-ARRAY DANS LA PRISE EN CHARGE DES HYPERCLARTES NUCALES

**Introduction:** Hyperclarté nucale et hygroma colli ont un pronostic néonatal, lorsque le caryotype est normal, qui dépend de ce qui sera découvert lors du suivi médical. La CGH-array a été systématiquement incorporé à ce suivi par les équipes de Diagnostic Anténatal. Il n'existe pas de recommandation et peu de données dans la littérature sur les avantages à réaliser cet examen de façon systématique. L'objectif de notre étude est d'évaluer l'apport de la CGH-array dans ce suivi.

**Matériel et Méthodes:** 60 patientes ont été incluses sur 18 mois et suivies jusqu'au dénouement de leur grossesse aux centres de Diagnostic Anténatal de Brest et d'Amiens. Le critère d'inclusion était une hyperclarté nucale > 3,5mm en échographie du 1<sup>er</sup> trimestre. Des analyses d'ADN fœtal par ChromoQuant et CGH-array effectuées sur ponction de villosité chorale, une échographie à 18SA étaient réalisées durant ce suivi.

**Résultats :** La CGH-array n'a été déterminante qu'à 2 reprises. L'échographie à 18SA semble plus sensible dans le dépistage d'une anomalie. Lorsque la CGH-array révélait une anomalie, l'échographie permettait d'envisager la présence d'une malformation. Dans 10 cas, la CGH-array n'a pu être interprétée sur la ponction de villosité chorale. Dans 9 cas, une amniocentèse a été réalisée afin d'obtenir ce résultat.

**Conclusion:** Au vu des résultats de cette étude la CGH-array est peu souvent déterminante dans la réalisation d'une IMG. Ces éléments nous amènent à réfléchir à la nécessité de maintenir cet examen avant 14SA ou bien de le proposer en seconde intention après apparition de signes échographiques à 18SA.

**Mots Clés:** Mesure de la clarté nucale, Hygroma kystique, Analyse du caryotype sur puce à ADN, Prélèvement de villosité chorale, Diagnostic échographique prénatal

## CONTRIBUTION OF ARRAY-CGH IN THE MANAGEMENT OF FETAL INCREASED NUCHAL TRANSLUCENCY

**Introduction:** Increased nuchal translucency and cystic hygroma have a neonatal prognosis, when the karyotype is normal, which depends on the findings during the medical follow-up. Array comparative genomic hybridization (aCGH) has been systematically included in this follow-up by prenatal diagnosis teams. There are no guidelines and little information on the advantages of carrying out this test systematically. The aim of our study is to evaluate the contribution of the aCGH in the medical follow-up.

**Material and Methods:** 60 patients were included during 18 months and followed till the end of their pregnancy in prenatal diagnosis centers in Brest and Amiens. Inclusion criterion was a nuchal translucency above 3,5mm on the first trimester ultrasound. A fetal DNA ChromoQuant and aCGH analysis on chorionic villi sampling, and an ultrasound at 18 weeks of gestation were performed during the follow-up.

**Results:** The aCGH was decisive in only 2 cases. The ultrasound at 18 weeks gestation seemed to be more sensible in the detection of an abnormality. When the aCGH relieved an abnormality, the ultrasound permitted already to detect the presence of a deformity. In 10 cases, the aCGH could not be interpreted on the chorionic villi sampling. In 9 cases, an amniocentesis was performed in order to obtain this result.

**Conclusion:** Given the results of this study, the aCGH was rarely determinant on the realization of a therapeutic abortion. These elements make us reflect on the necessity of maintaining this test before 14 weeks of gestation or propose it as a second-line test after the ultrasound shows signs at 18 weeks of gestation.

**Keywords:** Nuchal translucency measurement, Cystic hygroma, Karyotyping on DNA array, Chorionic villi sampling, Ultrasonic prenatal diagnosis