



HAL
open science

Performances du test par ADN libre circulant (ADNIcT21) pour le dépistage de la trisomie 21 en cas d'obésité maternelle

Loriane Franchinard

► **To cite this version:**

Loriane Franchinard. Performances du test par ADN libre circulant (ADNIcT21) pour le dépistage de la trisomie 21 en cas d'obésité maternelle. Gynécologie et obstétrique. 2018. dumas-02481842

HAL Id: dumas-02481842

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02481842>

Submitted on 3 Feb 2021

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 DES ANTILLES
2018

FACULTE DE MEDECINE
HYACINTHE BASTARAUD
N° 2018ANTI0378

**PERFORMANCES DU TEST PAR ADN LIBRE
CIRCULANT (ADNlcT21)
POUR LE DEPISTAGE DE LA TRISOMIE 21
EN CAS D'OBESITE MATERNELLE**

THESE

Présentée et soutenue publiquement à la Faculté de Médecine de l'Université de Paris
Sud pour le compte de la Faculté de Médecine Hyacinthe BASTARAUD de
l'Université des Antilles
Et examinée par les Enseignants des dites Facultés

Le 04 octobre 2018

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MEDECINE

Par

Loriane FRANCHINARD

Dirigée par Madame le Docteur Alexandra LETOURNEAU

Examineurs de la thèse :

Monsieur le Professeur Eustase JANKY

Président du Jury

Madame le Professeur Alexandra BENACHI

Membre du Jury

Monsieur le Professeur Philippe KHADEL

Membre du Jury

Monsieur le Docteur Alexandre VIVANTI

Membre du Jury

UNIVERSITE DES ANTILLES
2018

FACULTE DE MEDECINE
HYACINTHE BASTARAUD
N° 2018ANTI0378

**PERFORMANCES DU TEST PAR ADN LIBRE
CIRCULANT (ADNlcT21)
POUR LE DEPISTAGE DE LA TRISOMIE 21
EN CAS D'OBESITE MATERNELLE**

THESE

Présentée et soutenue publiquement à la Faculté de Médecine de l'Université de Paris
Sud pour le compte de la Faculté de Médecine Hyacinthe BASTARAUD de
l'Université des Antilles
Et examinée par les Enseignants des dites Facultés

Le 04 octobre 2018

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MEDECINE

Par

Loriane FRANCHINARD

Dirigée par Madame le Docteur Alexandra LETOURNEAU

Examineurs de la thèse :

Monsieur le Professeur Eustase JANKY

Président du Jury

Madame le Professeur Alexandra BENACHI

Membre du Jury

Monsieur le Professeur Philippe KHADEL

Membre du Jury

Monsieur le Docteur Alexandre VIVANTI

Membre du Jury



Président de l'Université : Pr Eustase JANKY

Doyen de la Faculté de Médecine : Pr Raymond CESAIRE

Vice-Doyen de la Faculté de Médecine: Pr Suzy DUFLO

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Bruno HOEN

Maladies Infectieuses

CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes

Tel : 05 90 89 15 45

Pascal BLANCHET

Chirurgie Urologique

CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes

Tel : 05 90 89 13 95

André-Pierre UZEL

Chirurgie Orthopédique et Traumatologie

CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes

Tel : 05 90 89 14 66

Pierre COUPPIE

Dermatologie

CH « Andrée Rosemon » de Cayenne

Tel : 05 94 39 53 39

Thierry DAVID

Ophthalmologie

CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes

Tel : 05 90 89 14 55

Suzy DUFLO

ORL – Chirurgie Cervico-faciale

CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes

Tel : 05 90 93 46 16

Eustase JANKY

Gynécologie-Obstétrique

CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes

Tel 05 90 89 13 89

François ROQUES

Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire

CHU de Martinique

Tel : 05 96 55 22 71

Jean ROUDIE

Chirurgie Digestive

CHU de Martinique

Tel : 05 96 55 21 01 - Tel : 05 96 55 22 71

Jean-Louis ROUVILLAIN

Chirurgie Orthopédique

CHU de Martinique

Tel : 05 96 55 22 28

André CABIE

Maladies Infectieuses

CHU de Martinique

Tel : 05 96 55 23 01

Philippe CABRE

Neurologie

CHU de Martinique

Tel : 05 96 55 22 61

Raymond CESAIRE

Bactériologie-Virologie-Hygiène

CHU de Martinique

Tel : 05 96 55 24 11

Maryvonne DUEYMES-BODENES

Immunologie

CHU de Martinique

Tel : 05 96 55 24 24

Régis DUVAUFERRIER

Radiologie et imagerie Médicale

CHU de Martinique

Tel : 05 96 55 21 84

Annie LANNUZEL

Neurologie

CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes

Tel : 05 90 89 14 13

Louis JEHEL

Psychiatrie Adulte

CHU de Martinique

Tel : 05 96 55 20 44

Mathieu NACHER

Epidémiologie, Economie de la Santé et

Prévention

CH « Andrée Rosemon » de Cayenne

Tel : 05 94 93 50 24

Guillaume THIERY

Réanimation
 CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes
 Tel : 05 90 89 17 74

Magalie DEMAR - PIERRE

Parasitologie et Infectiologie
 CH « Andrée Rosemon » de CAYENNE
 Tel : 05 94 39 53 09

Vincent MOLINIE

Anatomie Cytologie Pathologique
 CHU de Martinique
 Tel : 05 96 55 20 85/55 23 50

Philippe KADHEL

Gynécologie-Obstétrique
 CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes
 Tel : 05 90 89 13 20

Michel DEBANDT

Rhumatologie
 CHU de Martinique
 Tel : 05 96 55 23 52

Jeannie HELENE-PELAGE

Médecine Générale
 CHU de Pointe-à-Pitre / Cabinet libéral
 Tel : 05 90 84 44 40

Karim FARID

Médecine Nucléaire
 CHU de Martinique
 Tel : 05 96 55 21 67

Mehdi MEJDOUBI

Radiodiagnostic et imagerie Médicale
 CHU de Martinique
 Tel : 05 96 55 21 84

Rémi NEVIERE

Physiologie
 CHU de Martinique
 Tel : 05 96 55 20 00

Christian SAINTE-ROSE

Radiodiagnostic et imagerie Médicale
 CHU de Martinique
 Tel : 05 96 55 20 00

Sébastien BREUREC

Bactériologie & Vénérologie
 CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes
 Tel : 05 90 89 12 80

Félix DJOSSOU

Maladies infectieuses et tropicales
CH « Andrée Rosemon » de Cayenne
Tel : 05 94 39 50 50

Nicolas VENISSAC

Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
CHU de Martinique
Tel : 05 96 55 20 00

Professeurs Associés de Médecine Générale

Franciane GANE-TROPLENT

Médecine générale
Cabinet libéral les Abymes
Tel : 05 90 20 39 37

Maître de Conférences des Universités - Praticiens Hospitaliers

Christophe DELIGNY

Médecine Interne
CHU de Martinique
Tel : 05 96 55 22 55

Jocelyn INAMO

Cardiologie
CHU de Martinique
Tel : 05 96 55 23 72 - Fax : 05 96 75 84 38

**Fritz-Line VELAYOUDOM épouse
CEPHISE**

Endocrinologie
CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes
Tel : 05 90 89 13 03

Marie-Laure LALANNE-MISTRIH

Nutrition
CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes
Tel : 05 90 89 13 00

Narcisse ELENGA

Pédiatrie
CH « Andrée Rosemon » de Cayenne
Tel : 05 94 39 77 37

Moana GELU-SIMEON

Gastroentérologie hépatologie
CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes
Tel : 05 90 89 10 10

Maturin TABUE TEGUO

**Médecine interne : Gériatrie et Biologie
du vieillissement**

CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes
Tel : 05 90 89 10 10

BACCINI Véronique

Hématologie

CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes
Tel : 05 90 89 10 10

Chefs de Clinique des Universités - Assistants des Hôpitaux

BANCEL Paul

ORL/Chirurgie maxillo faciale

CHU de Pointe-à-Pitre
Tél. : Tél. : 0590 89 14 60

BORJA DE MOZOTA Daphné

Gynécologie-Obstétrique

CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes
Tél. : 0590 89 19 80

DARCHE Louis

Chirurgie Digestive et Viscérale

CHU de Martinique
Tél. : 0596 55

DE RIVOYRE Benoit

Ophtalmologie

CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes
Tél. : 0590 89 14 50

DEBBAGH Hassan

Chirurgie thoracique

CHU de Martinique
Tél. : 0596 55 22 71

DOURNON Nathalie

Maladies infectieuses

CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes
Tel : 05 90 89 10 10

GALLI-DARCHE Paola

Neurologie

CHU de Martinique
Tél. : 0596 55 20 00

GHASSANI Ali

Gynécologie-Obstétrique
CHU de Pointe-à-Pitre/Abymes
Tél. : 0590 89 19 89

CHARMILLON Alexandre

Anesthésie-Réanimation
CHU de Pointe-à-Pitre
Tél. : 0590 89 11 82

MARY Julia

Rhumatologie
CHU de Martinique
Tél. : 0596 55 23 52

MOINET Florence

Rhumatologie-médecine interne
CHU de Martinique
Tél. : 0596 55 22 55

MONFORT Astrid

Cardiologie
CHU de Martinique
Tél. : 0596 55 23 72

MOUREAUX Clément

Urologie
CHU de Pointe-à-Pitre
Tél. : 0590 89 13 95

NABET Cécile

Parasitologie et Mycologie
CH "Andrée Rosemon" de Cayenne
Tél. : 0594 39 53 59

PARIS Eric

Réanimation
CHU de Pointe-à-Pitre
Tél. : 0590 89 10 10

PIERRE-JUSTIN Aurélie

Neurologie
CHU de Pointe-à-Pitre
Tél. : 0590 89 13 40

SAJIN Ana Maria

Psychiatrie
CHU de Martinique
Tél. : 0596 55 20 44

SEVERYNS Mathieu

Chirurgie orthopédique
CHU de Martinique
Tél. : 0596 55 22 21

Chefs de Clinique des Universités – Médecine Générale**CARRERE Philippe****Médecine Générale**
CHU de Pointe-à-Pitre /Cabinet
Tél. : 0590 8084 05 /Fax : 0590 99 33 07**PLACIDE Axiane****Médecine Générale**
CHU de Martinique / Cabinet
Tél. : 05 96 75 48 27**NIEMETZKI Florence****Médecine Générale**
CH « Andrée Rosemon » de Cayenne/Cabinet
Tél. : 05 94 39 50 50 poste 59 28**MOUNSAMY Josué****Médecine Générale**
CHU de Pointe-à-Pitre /Cabinet**Professeurs EMERITES****Georges JEAN-BAPTISTE****Rhumatologie**
CHU de Fort-de-France
Tel : 05 96 55 23 52 - Fax : 05 96 75 84 44**Serge ARFI****Médecine interne**
CHU de Fort-de-France
Tel : 05 96 55 22 55 - Fax : 05 96 75 84 45**Bernard CARME****Parasitologie**
CH « Andrée Rosemon » de Cayenne/Cabinet
Tél. : 05 94 39 50 50

REMERCIEMENTS

A mon directeur de thèse

Alexandra, je te remercie de m'avoir accompagnée pendant ces longs mois à la rédaction de cette thèse et à la publication de l'article. Je voudrais aussi te remercier pour tout ce que j'ai appris à tes côtés à Antoine Béclère. Ta gentillesse, ta bonne humeur et ta motivation constante font de toi un exemple pour moi.

A mon Jury

Pr Janky, je vous remercie d'avoir accepté de présider le jury de la thèse. Vous nous avez accompagnés, mes co-internes et moi, pendant ces années d'internat. Vous avez su nous inculquer de grandes valeurs et nous apprendre à ne pas baisser les bras. Je vous remercie pour la qualité de la formation que vous avez instaurée aux Antilles et pour le regard bienveillant que vous avez toujours posé sur moi. Recevez ici, toute ma reconnaissance et l'expression de mon plus profond respect.

Pr Benachi, je vous remercie de m'avoir donné ce sujet de thèse. Je vous remercie également pour votre disponibilité, votre amabilité et votre simplicité qui font de vous une personne exemplaire. L'année passée à Antoine Béclère était sûrement la plus riche et je suis ravie de tout ce que j'ai appris.

Pr Kadhel, je vous remercie de m'avoir dit un jour dans le couloir « il faut que tu publies ta thèse » et de m'avoir poussé dans mes derniers retranchements. Au début de l'internat, je ne comprenais pas pourquoi vous vouliez qu'on fasse des études et des articles. Je crois maintenant que je ferai comme vous avec mes jeunes internes.

Dr Vivanti, nous n'avons jamais eu l'occasion de travailler ensemble mais j'ai longuement entendu parler de vous en bien. C'est sur ces bons conseils que je me suis tournée vers vous et je vous remercie d'avoir accepté de faire partie du jury.

A mes autres professeurs

Pr Jouannic, je vous remercie de me donner toutes mes chances et d'avoir choisi de poursuivre avec moi. J'ai avancé avec vous en Médecine fœtale et je continuerai d'avancer sur cette voie pour arriver à ce que j'ai toujours eu envie de faire.

Pr Blanchet, je vous remercie pour votre rigueur et votre implication auprès de votre équipe et de vos internes. Je vous remercie également pour votre dévouement et votre engagement auprès du CHU de Pointe-à-Pître.

Pr Deffieux, je vous remercie pour votre patience et votre écoute. Vous avez cru en moi et m'avez redonné goût à la chirurgie.

Pr Tsatsaris, je vous remercie pour votre accueil à Paris. Vous vous êtes montré bienveillant envers nous et nous vous en sommes reconnaissants.

Pr Roudié, Pr Oury, Pr Sibony, Pr Kayem, je vous remercie pour les enseignements que vous m'avez apportés tant sur le plan clinique qu'universitaire.

Dr Voluménié, vous n'êtes pas professeur mais je ne peux envisager de vous mettre ailleurs. A mes yeux, vous êtes parmi les plus brillants, tout en restant modeste, sympathique et ouvert. Je vous remercie pour la médecine de qualité que vous apportez à la Gynécologie-obstétrique en Martinique. Je continuerai à apprendre dans l'espoir de pouvoir revenir avec plein de nouvelles connaissances.

A mes autres chefs et chefs de clinique-assistants

Je vous remercie tous pour votre accompagnement et votre enseignement. Je ne pourrai citer tout le monde sinon ces remerciements seraient interminables. Vous avez tous mis un peu d'eau pour faire pousser la plante que je suis devenue.

Yvonne, je te remercie pour ton soutien infailible dans les coups durs et pour toute la confiance que tu as mise en moi. Je suis « la gynéco qui aurait dû être chirurgien sauf qu'elle ne le sait pas encore ».

Mehdi, Rémi, Laurent, Gilles, Momo, Sarah, Johanne, Anne-Laure et Caroline, je vous remercie de m'avoir laissé opérer. J'ai apprécié la chirurgie à vos côtés.

Fatiha, Stéphanie, Sophie, Emeline, Julien, Anne-Gael, je vous remercie de m'avoir appris à manier une sonde d'échographie. Je ferai tout pour être digne de ce que vous m'avez enseigné.

Hélène, Xavier, Raphaëlle, Lucie, Henriette, Sarah, je vous remercie pour tout ce que vous m'avez appris aux Antilles. Je ne vous oublie pas.

A mes co-internes

Je vous remercie tous pour cette bonne humeur. On a su s'entraider dans les bons et dans les mauvais moments. J'ai une pensée particulière pour chacun d'entre vous mais je voudrais remercier plus particulièrement certains.

Aude, je te remercie pour ta gentillesse, ta bonté et ta force. On peut toujours compter sur toi et c'est un véritable bonheur de travailler avec toi.

Grégoire, je te remercie pour ta sympathie. On a passé de bons moments ensemble et surtout durant les heures passées à envoyer tous ces questionnaires sur le test ADNlc.

La Team Uro (Maxime, Sofiane, Julie, Pierre-Gilles) the best ! Les meilleurs souvenirs sont avec vous malgré un semestre difficile. Jamais de prise de tête et toujours au taquet. 20 greffes rénales en 1 mois, on l'a fait !

Aux sages-femmes

Je vous remercie de m'avoir transmis votre savoir. C'est auprès de vous qu'on commence petit et qu'on devient grand. Je ressens envers vous un profond respect.

A ma famille

Maman, je te remercie pour l'éducation et toutes les valeurs que tu m'as inculquée. Merci d'avoir toujours été présente et de m'avoir toujours soutenue. Sans toi, je ne serais jamais arrivée jusque là. Tu es un modèle pour moi.

Romain, je te remercie de faire partie de ma vie. Merci d'avoir supporté ces deux dernières années d'internat qui ont mis notre couple à rude épreuve. Merci de croire en moi et de me répéter tous les jours que je suis la meilleure. Etre la meilleure pour toi et notre fils est devenu l'objectif de ma vie.

Liam, notre fils, notre petit prince, je t'aime déjà plus que tout.

Christophe, Rodrigue, Cindy et Clarisse, je vous remercie de faire que notre famille soit soudée. Et merci pour ces neveux et nièces que j'adore. Je repense souvent à ce jour où j'ai mis Alycia au monde à Bécélère... !

Mes oncles et tantes, cousins et cousines, je vous remercie pour tous vos messages d'encouragement et la fierté que je lis dans vos yeux.

Ma belle-famille, je vous remercie tous pour votre présence et votre soutien pendant ces années.

A mes amis

Jessica, je te remercie d'avoir toujours été là depuis nos 15 ans. Merci pour ces moments de folie, ce soutien sans faille et cette complicité.

Solène, Claudia et Mélissa, même si on s'est un petit peu dispersées après l'externat à Bordeaux, quand on se retrouve, c'est comme si on ne s'était jamais quittées.

Gladys, je te remercie de m'avoir accompagnée pendant l'internat Antilles-Guyane et de m'avoir guidée dans cette thèse.

Sévrine, je te remercie de rester une amie présente sur qui je peux toujours compter. Vingt-quatre ans d'amitié, ça n'a pas de prix.

Jennifer, Cécile, Florent, Marie, vous avez été les plus belles rencontres de cet internat.

Elodie, Alexia et Alexia, merci pour votre compréhension et votre soutien à la coloc'.

Choisissez un travail que vous aimez
Et vous n'aurez pas à travailler un seul jour de votre vie.
Confucius

Table des matières

I.	INTRODUCTION GENERALE	16
1.	Etat des lieux du dépistage prénatal de la trisomie 21	16
1.1.	Généralités	16
1.2.	Recommandations de bonne pratique clinique	16
1.3.	Performances du dépistage des aneuploïdies par analyse de l'ADN fœtal libre circulant.....	18
2.	Objectifs de l'étude.....	20
II.	ARTICLE	21
1.	Introduction	23
2.	Matériel et méthodes.....	25
2.1.	Schéma d'étude et population.....	25
2.2.	Modalités de réalisation du test	26
2.3.	Critères d'évaluation et analyse statistique	26
3.	Résultats	29
3.1.	Caractéristiques de la population.....	29
3.2.	Sensibilité et spécificité, VPP et VPN, Taux de non-rendus.....	31
3.3.	Influence de l'IMC sur la fraction fœtale	33
3.4.	Influence du transport des échantillons sur la fraction fœtale	36
4.	Discussion	37
5.	Conclusion.....	43
6.	Références	44
III.	DISCUSSION GENERALE	48
1.	L'obésité, un problème de santé publique	48
2.	Obésité maternelle et diagnostic prénatal	49
3.	Quelques considérations techniques	51
IV.	CONCLUSION	53
V.	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	54

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADNlcT21 : ADN libre circulant dans le sang maternel pour le dépistage de la trisomie 21 fœtale

BhCG : Hormone chorionique gonadotrope

FF : Fraction fœtale

HAS : Haute Autorité de Santé

IMC : Indice de masse corporelle

PAPP-A : Pregnancy associated Plasma Protein-A

SA : Semaine d'aménorrhée

SNP : Single nucleotide polymorphism

VPN : Valeur prédictive négative

VPP : Valeur prédictive positive

I. INTRODUCTION GENERALE

1. Etats des lieux du dépistage prénatal de la trisomie 21

1.1.Généralités

La trisomie 21 ou syndrome de Down est la plus fréquente des anomalies chromosomiques et la première cause de déficience intellectuelle d'origine génétique avec une incidence de 1,3/1000¹⁻³. Sa prévalence, en l'absence de dépistage, augmente avec l'âge maternel. Elle est caractérisée par la présence d'un chromosome 21 surnuméraire selon 3 types de mécanismes : la trisomie 21 libre et homogène (95%), la translocation robertsonienne (4%) et la trisomie en mosaïque (1%).

La présentation clinique de la trisomie 21 n'est pas uniforme et peut être frustrante en anténatal. Une épaisseur de la clarté nucale supérieure au 95e percentile est un signe évocateur classique d'une aneuploïdie⁴⁻⁷. D'autres signes échographiques peuvent constituer plus tardivement un élément de dépistage de la trisomie 21 : l'absence d'ossification des os propres du nez, une pyélectasie, une hyperéchogénicité intestinale, des os longs de taille inférieure à la normale pour le terme...⁸⁻⁹. Ces signes d'appel échographiques, non spécifiques, seront recherchés lors de l'échographie morphologique du 2^{ème} trimestre, aux environs de la 22ème semaine d'aménorrhée.

1.2. Recommandations de bonne pratique clinique

Une politique de dépistage prénatal de la trisomie 21 a été instaurée en France depuis 1997. Les modalités ont été définies par de nombreux textes législatifs dont l'arrêté de 2009¹⁰⁻¹³ qui a mis en place le dépistage combiné au premier trimestre.

Toutes les femmes enceintes doivent être informées de la possibilité de recourir au dépistage de la trisomie 21 entre 11 semaines d'aménorrhée (SA) et 13 SA + 6 jours. Ce dépistage combine l'âge maternel, un examen échographique comprenant la mesure de la clarté nucale selon la longueur crânio-caudale, et une analyse des marqueurs sériques maternels (BhCG et PAPP-A)¹⁴⁻¹⁶. Lorsque ce dépistage n'a pas pu être réalisé au premier trimestre, il est possible de proposer un dosage des marqueurs sériques au deuxième trimestre (BhCG et alphafoetoprotéine)¹⁷⁻¹⁸.

Jusqu'en 2017, l'établissement du caryotype fœtal par un prélèvement invasif (biopsie de trophoblaste ou amniocentèse) était proposé à la femme enceinte en cas de risque supérieur ou égal à 1/250 à l'issue du dépistage, moyennant un risque de fausse-couche de l'ordre de 0,5 à 1%¹⁹. Le développement de techniques de dépistage de la trisomie 21 par l'analyse de l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel a fait évoluer les pratiques.

Le Collège national des gynécologues-obstétriciens de France (CNGOF), conjointement avec l'Association des cytogénéticiens de langue française (ACLF), ont émis en Juin 2016 de nouvelles recommandations²⁰. Après information de la patiente, le test de dépistage de la trisomie 21 fœtale par analyse de l'ADN fœtal libre circulant dans le sang maternel (ADNlcT21) peut être proposé en l'absence d'anomalie échographique, aux patientes considérées comme à risque ($\geq 1/1000$) après le dépistage par les marqueurs sériques, aux patientes de plus de 38 ans n'ayant bénéficié d'aucun dépistage, aux couples dont l'un des parents est porteur d'une translocation robertsonienne impliquant un chromosome 21, aux patientes ayant un antécédent de grossesse avec un fœtus porteur de trisomie 21 et aux patientes pour qui les marqueurs ne sont pas fiables (grossesse gémellaire, marqueurs sériques hors bornes).

Depuis mai 2017, la Haute Autorité de Santé (HAS) recommande la réalisation du test ADNlcT21 pour les patientes présentant un risque entre 1/51 et 1/1000²¹. Le choix entre la réalisation de ce test ou l'établissement du caryotype fœtal par un geste invasif est laissé aux patientes avec un risque $\geq 1/50$.

Dans tous les cas, un geste invasif reste indiqué en cas de test ADNlcT21 positif.

1.3. Performances du dépistage des aneuploïdies par analyse de l'ADN fœtal libre circulant

Les techniques du test ADNlcT21 reposent sur l'analyse de l'ADN fœtal libre circulant dans la circulation sanguine maternelle. Cet ADN fœtal libre circulant est majoritairement issu des cellules trophoblastiques et est détectable dès les 5^e - 6^e semaines d'aménorrhée²²⁻²⁴. Cette technique a été initialement appliquée à la détermination du sexe fœtal dans la prise en charge des femmes à risque de transmission de maladies génétiques liées à l'X²⁵, à la détermination du rhésus fœtal D dans la prévention de l'allo-immunisation fœto-maternelle²⁶⁻²⁷ et à la recherche de maladies monogéniques fœtales comme les mutations du gène FGFR3²⁸. Dans le cadre du dépistage des aneuploïdies, le principe du test est d'identifier une surreprésentation de l'ADN du chromosome impliqué par des techniques d'amplification et de quantification de l'ADN fœtal dans le sang maternel²⁹.

Les objectifs principaux du test ADNlcT21 sont d'améliorer la sensibilité et la spécificité du dépistage des aneuploïdies tout en diminuant le recours aux gestes invasifs indus et les pertes fœtales qui y sont liées (estimées entre 110 et 330 par an). Le dépistage combiné au premier trimestre permet de détecter 85 à 90% des fœtus porteurs

de trisomie 21 pour un taux de faux positifs de 5%³⁰⁻³². Avec une valeur prédictive positive (VPP) de 4%, le dépistage combiné a déjà permis de diminuer de façon très importante le taux de prélèvements invasifs en ciblant de façon plus précise les patientes à risque³³.

Dans la littérature internationale, de nombreuses études ont montré que le test ADNlcT21 a une meilleure valeur prédictive positive et moins de faux positifs que le dépistage combiné standard en population à haut risque et en population générale³⁴⁻³⁵. En France en 2015, une étude multicentrique prospective menée par le groupe SEHDA dans une population de patientes à haut risque d'aneuploïdie a confirmé pour la première fois les bonnes performances du test ADNlcT21 réalisé au sein d'un laboratoire français avec une sensibilité et une spécificité globales respectivement de 100% et 99,9% pour le dépistage de la trisomie 21 en l'absence d'anomalie échographique visible³⁶. Le projet de recherche clinique DEPOSA a eu pour objet d'évaluer la performance d'une procédure de dépistage de la trisomie 21 intégrant les tests ADNlcT21 quelque soit le niveau de risque. Dans une étude prospective interventionnelle, les performances du test ADNlcT21 ont été comparées à celles du dépistage combiné au premier trimestre. Le taux de faux-positif était moindre (0% versus 6,6%) et la VPP était plus élevée (100% versus 8,8%) avec le test ADNlc. Une réduction du nombre de gestes invasifs de 78,5% a été observée³⁷. Cette diminution du recours aux gestes invasifs a également été évoquée dans une étude espagnole. Elle était de 73% dans une population à haut risque définie par un risque combiné $> 1/250$ ³⁸.

Le dépistage des aneuploïdies par l'ADN foetal circulant reste donc à l'heure actuelle un outil supplémentaire pour le dépistage de la trisomie 21 chez les patientes à risque à l'issue du dépistage par les marqueurs sériques.

2. Objectifs de l'étude

De nombreuses études ont montré que certains facteurs maternels ou techniques pouvaient influencer sur les performances du test ADNlcT21, au premier rang desquels une obésité maternelle ou une fraction fœtale basse³⁹⁻⁴¹. En effet, il est aujourd'hui connu que la fraction fœtale d'ADN diminue avec le poids maternel. Or, la prévalence de l'obésité maternelle est forte au sein des populations des îles comme la Polynésie française et les Antilles françaises. Ainsi, l'objectif principal de cette étude est d'évaluer les performances du test en cas d'obésité maternelle en étudiant en particulier la population polynésienne.

Par ailleurs, l'éloignement géographique impose un transport et un traitement des prélèvements en France métropolitaine. Les contraintes techniques liées à ce transport ont permis l'analyse des variations de la fraction fœtale avant et après leur acheminement afin de valider la faisabilité du test ADNlcT21 dans ces conditions.

II. ARTICLE

ARTICLE ORIGINAL

Performances du test par ADN libre circulant (ADNlcT21) pour le dépistage de la trisomie 21 en cas d'obésité maternelle :

Analyse d'une population en Polynésie française et étude de la variation de la fraction fœtale en fonction de l'IMC

Résumé

Introduction. Les performances du test par ADN libre circulant (ADNlcT21) pour le dépistage de la trisomie 21 peuvent être altérées par une fraction fœtale (FF) basse. La probabilité d'une FF inférieure à 4% augmente avec le poids maternel.

Objectif. Evaluer les performances du test ADNlcT21 et étudier les variations de la FF en fonction de l'IMC maternel dans une population de patientes ayant une forte prévalence de l'obésité.

Méthodes. Pendant deux ans, toutes les patientes ayant une grossesse singleton et une indication au test ADNlc ont été incluses, à l'exception des fœtus présentant une anomalie morphologique. Les performances globales du test (sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positive et négative, taux de non rendus) ont été déterminées. Les patientes ont été classées en fonction de l'IMC pour une analyse en sous-groupe de la mesure de la FF.

Résultats. Au total, 270 patientes ont été incluses et 42,6% d'entre elles avaient un IMC > 30 kg/m². La sensibilité du test était de 100% et sa spécificité de 99,6% pour le

dépistage de la trisomie 21. Les VPP et VPN étaient respectivement de 75 et 100%. Le taux de non-rendus était de 0,74% au premier prélèvement et nul après le second. Les médianes de la FF en fonction de l'IMC diminuaient significativement chez les patientes obèses par rapport aux patientes non obèses ($p < 0.001$).

Conclusion. Le test ADNlcT21 est faisable dans une population de patientes obèses à haut risque d'aneuploïdie. La répétition du prélèvement permettra d'obtenir un résultat en cas de non-rendu du fait d'une FF trop basse.

Mots-clés. ADNlcT21, trisomie 21, dépistage prénatal, fraction fœtale, obésité maternelle, indice de masse corporelle

1. Introduction

La découverte de l'ADN fœtal circulant en 1997 par D. Lo¹ a permis de proposer un nouveau test de dépistage de la trisomie 21. Ce test est recommandé actuellement par de nombreuses sociétés savantes internationales, le plus souvent en seconde ligne chez les patientes à haut risque mais de plus en plus comme test de premier recours²⁻⁴. Ce dépistage des aneuploïdies basé sur l'analyse de l'ADN fœtal libre circulant dans le sang maternel (ADNlcT21) a montré sa supériorité par rapport au dépistage classique par les marqueurs sériques dans une population de patientes à haut et à bas risque présentant une grossesse singleton. La sensibilité et la spécificité globale du test sont supérieures à 99% pour les trisomies 21 et 18, un peu moindres pour la trisomie 13⁵⁻⁶.

Le principe du test ADNlc est d'identifier une surreprésentation de l'ADN du chromosome surnuméraire fœtal. Il nécessite la quantification d'un grand nombre de molécules d'ADN circulant afin de discriminer les fœtus euploïdes des fœtus porteurs d'aneuploïdies. La mesure de la fraction fœtale (FF) d'ADN plasmatique est un élément clé de la performance du test. Malgré des évolutions technologiques majeures ces dernières années, le résultat ne peut parfois pas être rendu du fait d'une fraction fœtale trop basse. Une fraction fœtale basse remet en cause les performances du test et entraîne aussi une augmentation du taux de faux négatifs.

Les facteurs impactant les variations de la fraction fœtale peuvent être d'ordre physiopathologique ou relever des procédures pré-analytiques. L'âge gestationnel est l'un des principaux facteurs influençant la mesure de la fraction fœtale. De nombreuses études évoquent les limites du test en cas d'obésité maternelle⁷⁻¹⁰. La probabilité d'une fraction fœtale inférieure à 4% (seuil le plus souvent retenu pour la validation du test)

augmente avec le poids maternel. A ce jour, les performances statistiques du test de dépistage des trisomies par analyse de l'ADN fœtal libre circulant dans le sang maternel dans une population de patientes obèses ne sont pas connues.

Dans notre étude, nous rapportons deux années d'expérience de test ADNlcT21 appliqué à une population de patientes polynésiennes, dans laquelle la prévalence de l'obésité est élevée, et présentant une grossesse singleton. L'objectif est d'évaluer les performances du test en cas d'obésité maternelle et d'étudier les variations de la mesure de la fraction fœtale en fonction de l'indice de masse corporelle.

2. Matériel et méthodes

2.1. *Schéma d'étude et population*

L'arrêté du 9 juillet 2015 inscrit le test génétique de dépistage des trisomies 21 et autres aneuploïdies ADNlc dans la nomenclature des actes de biologie médicale de la Polynésie française¹¹. Avant la date d'entrée en vigueur fixée au 3 août 2015, le coût du test n'était pas pris en charge par l'Assurance Maladie (tout comme en France métropolitaine). Dans une étude observationnelle, non interventionnelle, prospective, nous évaluons l'intégration du test dans la stratégie de dépistage prénatal de la trisomie 21 mise en place dans l'archipel.

Du 1^{er} décembre 2013 au 31 octobre 2015, toutes les patientes présentant une grossesse singleton, spontanée ou issue d'une assistance médicale à la procréation et ayant bénéficié du test ADNlcT21 ont été incluses. Le test était proposé aux patientes présentant un risque accru de trisomie 21 (supérieur ou égal à 1/250) après un test de dépistage sérique, aux patientes ayant un antécédent de grossesse avec aneuploïdie fœtale, aux couples dont l'un des membres est porteur d'une translocation robertsonienne impliquant un chromosome 13 ou 21, aux patientes âgées de plus de 38 ans et enfin à celles n'ayant pu bénéficier d'une évaluation du risque d'aneuploïdie fœtale par un test de dépistage sérique. Certaines patientes souhaitant réaliser ce test dans le cadre d'un dépistage primaire ont également été incluses. Les patientes présentant une grossesse gémellaire ou dont le fœtus était porteur d'une anomalie morphologique (y compris une hyperclarté nucale supérieure au 95^{ème} percentile) ont été exclues de l'étude. Tous les prélèvements ont été réalisés à un terme supérieur à 10 semaines d'aménorrhée (SA).

2.2. Modalités de réalisation du test

Le test a été réalisé au sein du laboratoire Cerba selon la méthode décrite par Benachi et al¹². Le consentement écrit, signé et éclairé des patientes a été obtenu. Le test ADNlcT21 a été réalisé par séquençage massif à haut débit avec une approche globale dite pangénomique. Le sang maternel a été prélevé dans 2 tubes cell-free DNA BCT Streck (10mL pour chacun) et envoyé à température ambiante au laboratoire sur le territoire français. Les échantillons de 40 patientes ont été analysés sur place et transférés en France métropolitaine pour une analyse comparative. Le plasma a été préparé par une double centrifugation et stocké à -70°C jusqu'à la réalisation de l'analyse. L'ADN total a été extrait après décongélation et centrifugation des échantillons. Les fragments d'ADN obtenus ont été amplifiés puis séquencés à partir de la librairie d'ADN. Pour chaque analyse, un échantillon de contrôle positif et un échantillon de contrôle négatif ont été inclus et traités en parallèle. La proportion de chromosomes 21, 18 ou 13 était comparée aux valeurs de référence des génomes euploïdes. L'excès était quantifié en Z-score, dont la valeur seuil était fixée à 3 pour le chromosome 21 et à 3,95 pour les chromosomes 13 et 18. Le résultat était exprimé comme « positif », « négatif » ou « ininterprétable » en fonction du Z-score et après validation des critères suivants : concentration de la librairie $\geq 7,5$ nM, nombre total de séquences ≥ 9 millions, pas de biais GC d'amplification et fraction d'ADN fœtal $\geq 4\%$.

2.3. Critères d'évaluation et analyse statistique

Le critère de jugement principal était la détermination des performances globales du test ADNlcT21 dans une population de patientes présentant une forte prévalence de l'obésité (définie par un IMC $> 30\text{kg/m}^2$) en termes de sensibilité, de spécificité, de

valeur prédictive positive (VPP), de valeur prédictive négative (VPN), et de taux de non rendus. Un geste invasif (choriocentèse ou amniocentèse) a été réalisé en cas de test positif ou pour une autre indication. Le résultat du test ADNlc était comparé au résultat de l'examen néonatal, de l'examen fœtopathologique ou du caryotype fœtal après prélèvement invasif.

Les données obstétricales et néonatales ont été obtenues auprès des gynécologues-obstétriciens référents des différentes patientes et ont été chargées sur un fichier Excel (Microsoft® Office 2016). Les données colligées pour chaque patiente comprenaient l'âge maternel et l'âge gestationnel au prélèvement, l'indication de celui-ci ainsi que la taille et le poids maternels (permettant le calcul de l'IMC). Sur le plan technique, les données suivantes ont été relevées : le nombre de jours entre la date de prélèvement et la date de congélation, la présence d'une hémolyse, la concentration de la librairie, le nombre total de séquences, la présence d'un biais GC d'amplification, et la valeur de la fraction fœtale d'ADN.

Les résultats étaient exprimés en pourcentage pour les variables catégorielles, en moyenne avec déviation standard et en médiane avec minimum-maximum pour les variables quantitatives.

Secondairement, l'analyse des données a porté sur la variation de la fraction fœtale en fonction de l'IMC maternel. Les patientes ont été classées en fonction de l'IMC selon la classification définie par l'Organisation Mondiale de la Santé. Une comparaison de la fraction fœtale entre les patientes obèses et non obèses a été réalisée avec un test

de χ^2 et une analyse en sous-groupe de la mesure de la fraction fœtale a été réalisée par la méthode ANOVA avec Stata 13.1, StataCorp, Texas, USA.

Une analyse complémentaire de l'influence du transport sur la fraction fœtale a été réalisée pour s'assurer du maintien de la qualité de l'ADN fœtal après l'acheminement. Un test de Student a été appliqué pour les 40 échantillons qui ont reçu une double analyse sur place et après transfert.

Une différence significative était observée pour un $p < 0,05$.

3. Résultats

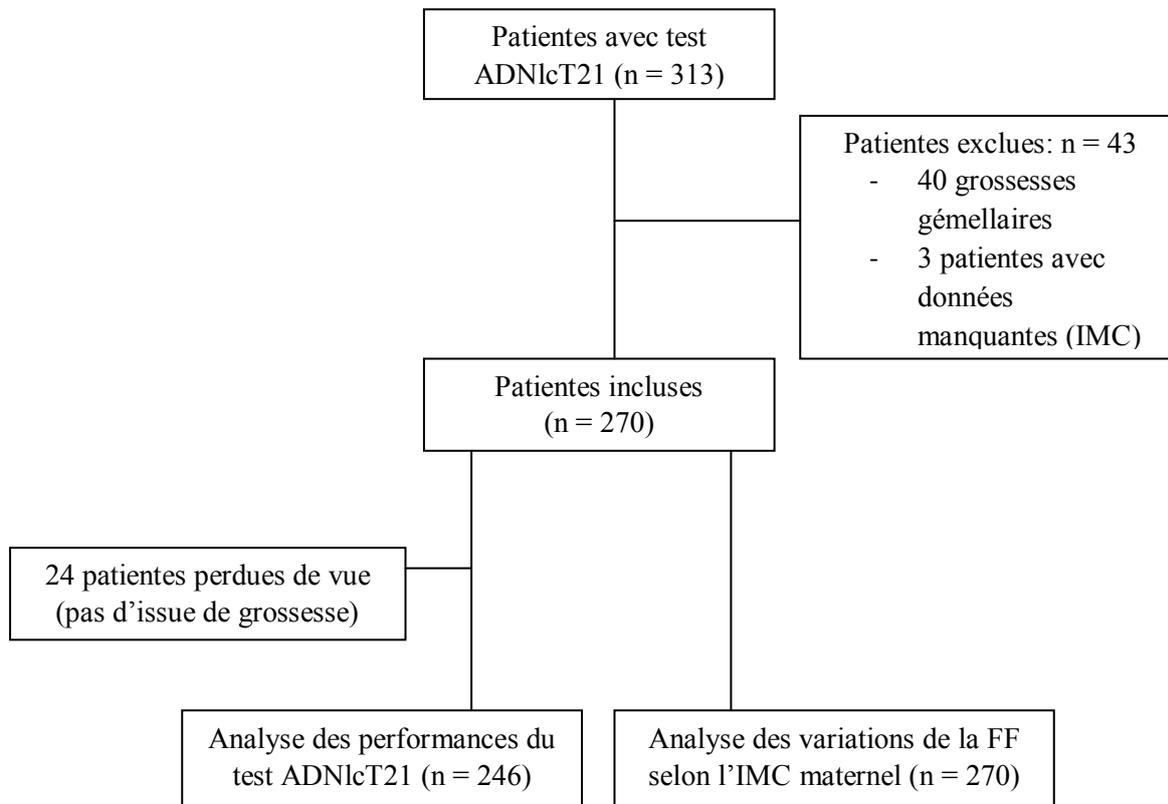
3.1. *Caractéristiques de la population*

Le test de dépistage des trisomies 21, 18 et 13 par l'analyse de l'ADN fœtal circulant a été réalisé chez 313 patientes sur la période d'inclusion selon les indications décrites précédemment. Aucun test n'a été réalisé en cas d'anomalie fœtale à l'échographie, y compris en cas d'hyperclarté nucale. Après exclusion des grossesses gémellaires et de trois patientes pour lesquelles les données étaient insuffisantes, 270 patientes ont été incluses (Figure 1). Dans cette cohorte, 115 patientes (soit 42,6%) avaient un IMC supérieur à 30 kg/m². Les caractéristiques de la population sont détaillées dans le Tableau 1.

L'âge moyen des patientes au moment du test était de 37 ans et la médiane de 39 (17-46) ans. L'IMC médian était de 28,5 kg/m². Le terme médian au prélèvement du test ADNlcT21 était de 18,3 SA.

La médiane de la fraction fœtale était de 9,3% (4,8-35,4%). Les performances du test ont été évaluées chez les 246 patientes pour qui l'issue de grossesse était disponible (Figure 1).

Figure 1. Flow-chart de l'étude



IMC : Indice de masse corporelle
FF : Fraction foetale

Tableau 1. Caractéristiques de la population (N = 270)

Age maternel (années)*	39 [17 - 46]
Indice de masse corporelle (kg/m²)*	28,5 [15,6 - 56,1]
IMC > 30 **	115 (42,6 %)
Terme au prélèvement (SA)*	18,3 [10,6 - 37,4]
Indications du test ADNlcT21**	
Age maternel > 38 ans	131 (48,5 %)
MSM \geq 1/250	126 (46,7 %)
Antécédent personnel de trisomie 21	5 (1,8 %)
Dépistage primaire	8 (3,0 %)
Translocation robertsonienne	0
Fraction fœtale (%)*	9,3 [4,8 - 35,4]

Les données sont exprimées en médiane [min - max]* ou en n (%)**.

IMC : Indice de masse corporelle

SA : semaines d'aménorrhées

MSM : Marqueurs sériques maternels

3.2. *Sensibilité et spécificité, VPP et VPN, Taux de non rendus*

Les performances du test ADNlcT21 sont détaillées dans le tableau 2. Le test était positif pour la trisomie 21 pour 4 patientes, soit 1,63% de tests positifs dans cette population. Deux patientes ont bénéficié d'une amniocentèse confirmant une trisomie 21 fœtale et ont formulé une demande d'interruption médicale de grossesse. La troisième patiente n'a pas souhaité la réalisation d'un geste invasif et a donné naissance à un enfant atteint de la trisomie 21. Pour la quatrième patiente, le caryotype fœtal après amniocentèse était normal : il s'agit d'un faux positif.

Au total, la sensibilité du test dans cette population était de 100% et sa spécificité de 99,6% pour le dépistage de la trisomie 21. Le taux de faux positif était de 0,41% et il

n'y a eu aucun faux négatif. Les valeurs prédictives positive et négative étaient respectivement de 75% et de 100%. Aucun test n'est revenu positif pour les trisomies 13 et 18 et aucun nouveau-né ne présentait ces anomalies.

Deux patientes ont bénéficié d'un second prélèvement pour un résultat rendu ininterprétable sur l'ensemble de la cohorte. Le taux de non rendus était de 0,74% au terme des premiers prélèvements. Après un second prélèvement, tous les tests ont pu être rendus.

La première patiente présentait un IMC à 41,8 kg/m². Elle a été prélevée pour la 1^{ère} fois à 16 SA, avec une FF à 3,9%. Un second test a été réalisé sur le second échantillon prélevé au même terme, avec une FF à 4,8%. Ce test a permis de rendre un résultat négatif. Elle a donné naissance à terme à un enfant bien portant.

La seconde patiente présentait un IMC à 29,7 kg/m² et une insuffisance rénale terminale dialysée. Lors du premier prélèvement à 19 SA, la FF était à 12%. Le test n'était pas interprétable en raison de Z-scores élevés pour les trisomies 13 et 21 (4,38 et 6,21 respectivement). Un second prélèvement a été fait à 23 SA. La FF était à 10,4% et des Z-scores normaux ont permis de rendre un résultat négatif. Le fœtus est décédé *in utero* à 29 SA. Il présentait un retard de croissance intra-utérin sévère.

Tableau 2 : Performances du test ADNlcT21 (n = 246 grossesses)

Type d'aneuploïdie	Test positif	Aneuploïdie confirmée par prélèvement invasif ou à la naissance	VPP (%)	VPN (%)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
Trisomie 21	4 (1,63%)	3 (1,22%)	75	100	100	99,6
Trisomie 18	0	0				
Trisomie 13	0	0				

3.3. Influence de l'IMC sur la fraction fœtale

Dans notre cohorte, on retrouve 115 patientes obèses avec une fraction fœtale médiane à 8,2% versus 155 patientes non obèses avec une fraction fœtale médiane à 10,2%. A âge gestationnel égal, on retrouve une différence significative de la médiane de la fraction fœtale entre ces 2 groupes. L'analyse des médianes de la FF en fonction de l'IMC montre une diminution significative chez les patientes avec un IMC > 30 kg/m² par rapport aux patientes non obèses (p < 0,001). Ces résultats sont détaillés dans le Tableau 3 et la Figure 2.

Une seule patiente de notre étude avait une fraction fœtale inférieure à 4% (soit 3,9%) pour un IMC à 41,8 kg/m² au terme de 16,3 SA. Le taux de FF basse représente 0,37% de la cohorte et 0,87% des patientes obèses. Un résultat négatif a pu être rendu pour cette patiente, sur le second échantillon prélevé au même terme avec une FF à 4,8%.

Tableau 3 : Médiane de la fraction fœtale en fonction de l'IMC maternel (n = 270 grossesses), p < 0,001

IMC (kg/m²)	N (%)	Médiane de la fraction fœtale en % [min - max]
Normal < 25	82 (30,4)	11,4 [4,6 – 24,5]
Surpoids [25 - 30[73 (27,0)	9,0 [4,2 – 35,4]
Obésité légère [30 - 35[58 (21,5)	8,8 [4,9 – 21,2]
Obésité modérée [35 - 40[27 (10,0)	8,2 [4,4 – 16,4]
Obésité sévère ≥ 40	30 (11,1)	7,0 [4,8 – 29,2]

Figure 2a : Variation de la fraction fœtale en fonction de l'IMC maternel : Analyse en sous-groupes, $p < 0,001$

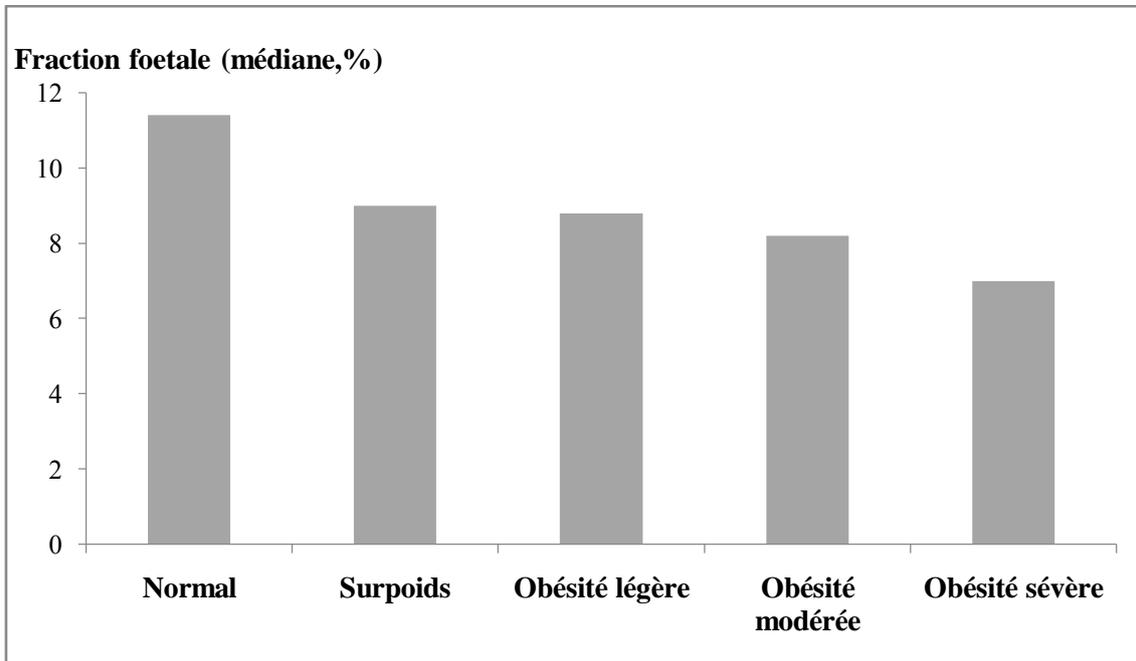
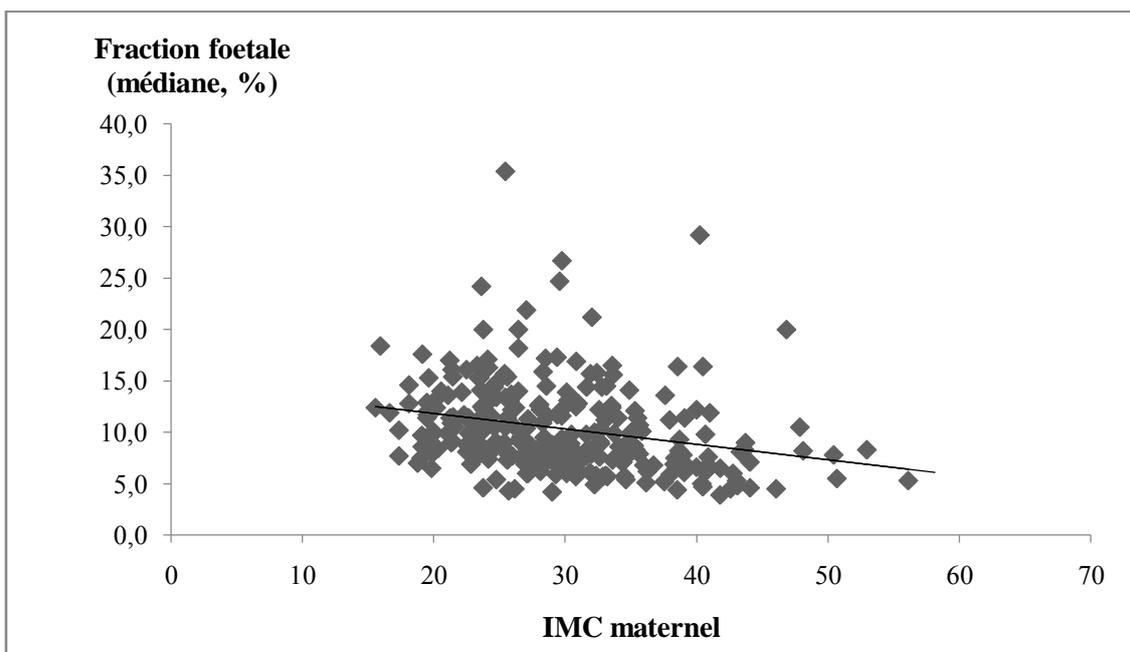


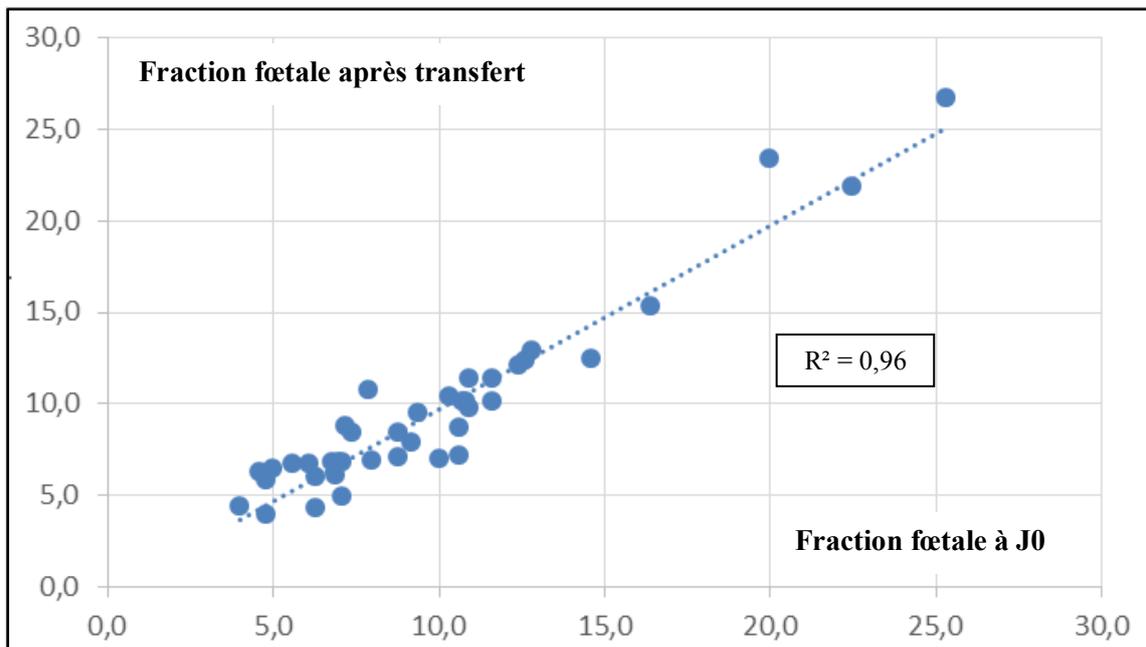
Figure 2b : Variation de la fraction fœtale en fonction de l'IMC maternel : Analyse globale



3.4. Influence du transport des échantillons sur la fraction fœtale

Le délai moyen entre le prélèvement du test ADNlcT21 et la congélation du plasma pour analyse était de 4 jours dans l'ensemble de la cohorte et de 6 jours pour les 40 patientes ayant eu 2 analyses (une sur place à J0 et une au sein du laboratoire Cerba après transfert). La valeur moyenne de la FF était respectivement de 9,8% à J0 et de 9,6% après transfert. Cette différence n'était pas significative. Les fractions fœtales à J0 et après transfert étaient fortement corrélées : $R^2 = 0,96$ ($p < 0,001$) (Figure 3).

Figure 3 : Relation entre la fraction fœtale à J0 et la fraction fœtale après transfert (n = 40 prélèvements)



4. Discussion

Les résultats de l'étude montrent de très bonnes performances du test ADNlcT21 avec une sensibilité de 100% et une spécificité de 99,6% pour le dépistage de la trisomie 21 dans cette population de patientes ayant un taux d'obésité de 42,6%. Ils sont comparables à ceux retrouvés dans des populations de patientes à risque d'aneuploïdie avec une prévalence moins forte de l'obésité¹³⁻¹⁴. Dans l'étude multicentrique SEHDA¹⁴ menée pour évaluer les performances du test ADNlcT21 dans une population française à haut risque d'aneuploïdie, le test était réalisé selon la même technique et au sein du même laboratoire que notre étude. Dans cette cohorte, seules 16,3% des patientes présentaient un IMC ≥ 30 kg/m² et la sensibilité et la spécificité globales du test étaient respectivement de 100% et de 99,9% pour la trisomie 21, ce qui est comparable aux résultats de notre étude.

La valeur prédictive positive du test de 75% pour le dépistage de la trisomie 21 dans notre population affirme la nécessité à l'heure actuelle de confirmer un résultat positif par la réalisation d'un geste invasif afin d'établir le caryotype fœtal. Seul un prélèvement invasif a été généré de façon indue par un résultat faussement positif du test ADNlcT21. Le taux de faux positif (0,41%) reste faible et conforme aux données de la littérature.

La prévalence de la trisomie 21 dans cette cohorte (110 pour 10000) est plus élevée que dans la population générale¹⁵. Ceci s'explique par le fait qu'il s'agit d'une population très majoritairement à risque accru d'aneuploïdie. Le test a été essentiellement réalisé pour un âge maternel supérieur à 38 ans ou pour un risque élevé

à l'issue du dépistage par les marqueurs sériques maternels. Seules 3% des patientes ont bénéficié du test en dépistage primaire.

Le faible effectif de notre population ne permet pas de calculer les performances du test pour le dépistage des trisomies 13 et 18. Néanmoins, aucun faux positif ni faux négatif n'a été mis en évidence.

Vingt-quatre patientes, soit 8,9% de la population, ont été exclues de cette analyse alors que le résultat du test et l'IMC maternel étaient disponibles, car l'issue de grossesse n'était pas connue. En effet, la Polynésie française est un territoire épars avec des difficultés de centralisation de la prise en charge. Du fait de l'étendue du territoire et du peu de ressources disponibles, peu de patientes peuvent bénéficier d'un suivi régulier du début de la grossesse jusqu'à l'accouchement.

L'accès au dépistage de la trisomie 21 au premier trimestre est un challenge dans cet archipel. Peu de patientes ont accès à une consultation au premier trimestre de la grossesse pour une échographie avec mesure de la clarté nucale. Dans notre étude, 126 patientes (40,2%) avaient bénéficié d'un dépistage de la trisomie 21 par les marqueurs sériques, mais pour 96% d'entre elles il s'agissait de marqueurs du deuxième trimestre. Le programme de dépistage recommandé à l'heure actuelle et reposant sur l'échographie du premier trimestre et l'étude des marqueurs sériques au premier trimestre semble difficile à mettre en place en pratique dans cette population. Or, il est démontré maintenant que les performances du dépistage par les marqueurs sériques au deuxième trimestre sont moins bonnes, avec plus de faux positifs et donc une augmentation du taux de prélèvements invasifs¹⁶. Le test ADNlcT21 pourrait donc trouver sa place en deuxième ligne, afin de limiter le recours au prélèvement invasif,

voire en première ligne chez les patientes n'ayant pu bénéficier d'un dépistage au premier trimestre.

L'autre objectif de cette étude était de s'intéresser aux facteurs de risque d'échec des tests de dépistage des aneuploïdies par analyse de l'ADN libre circulant. Plusieurs causes peuvent être à l'origine du non rendu d'un résultat que ce soit en phase pré-analytique (lors de la collection, le transport et la réception du prélèvement au laboratoire) ou en phase analytique (problème d'amplification ou de séquençage, fraction fœtale trop basse en rapport avec l'âge gestationnel ou l'IMC)¹⁷.

Dans notre étude, seuls deux tests n'ont pu être rendus après un prélèvement, soit un taux de non-rendus de 0,74% : un test pour une fraction fœtale basse et l'autre pour un Z-score atypique. La première hypothèse pour expliquer les résultats de la deuxième patiente est celle d'un problème technique ponctuel puisque non retrouvé sur le second prélèvement. Une deuxième hypothèse peut également être évoquée. En l'absence de triploïdie, l'augmentation du Z-score pour plusieurs chromosomes peut provenir d'une augmentation des phénomènes d'apoptose cellulaire au niveau du placenta. L'apoptose cellulaire et le relargage d'ADN dans la circulation sont des phénomènes physiologiques favorisés par les épisodes de stress aigu (infection, inflammation, ischémie) ou par un stress oxydatif chronique (cancer, insuffisance rénale)¹⁸⁻²⁰. Chez les patients hémodialysés, on retrouve une quantité plus importante d'ADN libre circulant. Le placenta est un organe partagé par la mère et le fœtus pouvant subir ces mêmes phénomènes d'apoptose. Les concentrations d'ADN fœtal et maternel augmentent simultanément dans le sang maternel, pouvant expliquer les résultats observés lors du premier prélèvement.

Finalement, le taux de non rendus n'est pas plus élevé que celui retrouvé dans la littérature pour des populations de patientes à haut risque d'aneuploïdie, y compris lorsque la prévalence de l'obésité maternelle est moins importante. Dans la méta-analyse de Gil et al¹⁷, le taux de non rendus était compris entre 0,0 et 12,2% pour 35 études. Onze études ont évoqué une fraction fœtale trop basse comme étant la cause d'un taux élevé de non rendus. L'IMC médian de la population n'est pas mentionné pour ces études. Dans l'étude SEHDA¹⁴ avec 16,3% d'obésité, le résultat n'a pu être rendu pour 0,7% des patientes soit parce que la FF d'ADN était inférieure à 4%, soit parce que le résultat était atypique (Z-score positif pour plus d'un chromosome par exemple).

Norton et al²¹, dans l'étude NEXT, a étudié les performances du test par ADNlc dans le dépistage de routine des trisomies 13, 18 et 21 en population générale. Parmi 16 329 femmes éligibles, 488 (3%) ont été exclues pour un résultat non rendu et 192 d'entre elles (39% des patientes exclues et 1,2% des patientes éligibles) avaient une fraction fœtale inférieure à 4%. La médiane du poids maternel était de 93,7 kg dans le groupe ayant une FF basse contre 65,8 kg pour les patientes ayant un résultat interprétable ($p < 0,001$). Ces résultats suggèrent une influence du poids sur la valeur de la FF.

Une analyse de la variation de la fraction fœtale en fonction de l'IMC maternel a été réalisée dans notre étude. Il est retrouvé une diminution significative de la FF avec l'augmentation de l'IMC maternel concordant avec les données de la littérature⁷⁻¹⁰.

Ashoor et al.⁷ ont montré que la probabilité d'une fraction fœtale inférieure à 4% augmentait avec le poids maternel, passant de 0,7% à 60 kg, à 7,1% à 100 kg et à 51,1%

à 160 kg. Dans notre étude, la FF au premier prélèvement était $< 4\%$ pour 0,87% des patientes avec un IMC $> 30 \text{ kg/m}^2$ et 2% des patientes de plus de 100 kg. Ces bons résultats peuvent s'expliquer par l'âge gestationnel au prélèvement qui est l'autre facteur pouvant fortement influencer la FF. Dans l'étude d'Ashoor⁷, le test de dépistage a été réalisé pour des âges gestationnels compris entre 11 SA et 14 SA alors que dans notre étude l'âge gestationnel médian au premier prélèvement est plus élevé (18,4 SA, soit un prélèvement réalisé au deuxième trimestre de la grossesse). Wang et al.⁹ ont montré qu'entre 10 et 21 SA, la FF augmente avec le terme de la grossesse de l'ordre de 0,1% par semaine. Durant cette période, 2% des patientes ont une FF $< 4\%$. Après 21 SA, cette augmentation de la FF est de l'ordre de 1% par semaine.

Dans cette même étude⁹, le taux de non rendu était de 1,9% après un premier prélèvement. La fraction fœtale était insuffisante pour 25% des patientes avec un résultat non rendu, due à un âge gestationnel plus précoce (13,9 SA vs 15,8 SA, $p < 0,0001$) ou à un poids maternel plus élevé (103 kg vs 73 kg, $p < 0,0001$) que les patientes ayant eu un résultat interprétable. Ces patientes ont nécessité un second prélèvement à 3,6 semaines d'intervalle et 56% d'entre elles ont eu une fraction fœtale supérieure à 4% après ce deuxième examen. Au total le taux de non rendus après 2 prélèvements était de 1,2% dans cette étude. Ils ont observé un gain moyen de 1% de la valeur de la fraction fœtale entre les 2 prélèvements. En ajustant sur l'âge gestationnel, il n'y avait plus de différence significative entre les 2 prélèvements ($p = 0,76$) pour le même poids maternel. Ils suggèrent alors que l'âge gestationnel peut au moins en partie compenser le faible pourcentage de la fraction fœtale liée à un poids maternel élevé.

Sur cette même voie, Livergood et al.²² ont montré qu'en cas d'obésité maternelle modérée ou sévère, avec un IMC > 35 , le taux de non rendu n'est plus

supérieur à celui des patientes non obèses lorsque le test est réalisé à partir de 21 SA. Entre 8 et 16 SA, la probabilité d'avoir un test non rendu chez une patiente obèse diminue de 4,5%.

Ces résultats ainsi que ceux de notre étude suggèrent de décaler le terme auquel le test ADNlcT21 pourrait être réalisé chez les patientes obèses, ou au moins de proposer un second prélèvement au deuxième trimestre en cas de test non rendu au premier trimestre chez ces patientes.

Enfin, la fraction fœtale d'ADN plasmatique est restée stable après transfert des prélèvements malgré une distance de plus de 15 000 kilomètres entre la Polynésie française et le territoire français métropolitain. Les tubes cell free DNA BCT Streck ont montré leur capacité à conserver l'ADN circulant pendant au moins 7 jours à température ambiante. Au-delà de 14 jours, il y a un risque plus important de lyse cellulaire des globules blancs avec relargage d'ADN maternel et dégradation de l'ADN⁸. Le délai moyen de transport dans notre étude respecte cette norme.

5. Conclusion

La Haute Autorité de Santé a édité des recommandations quant aux indications du test ADNlcT21. Actuellement, il trouve sa place en seconde intention dans la stratégie de dépistage de la trisomie 21, chez des patientes à haut risque.

L'ensemble de ces résultats démontre la faisabilité analytique du test ADNlcT21 dans une population à haut risque d'aneuploïdie et présentant une forte prévalence de l'obésité maternelle. Notre étude montre que cette population peut bénéficier du test ADNlcT21. En cas d'impossibilité de rendre un résultat au premier trimestre du fait d'une FF trop basse, la répétition du prélèvement au deuxième trimestre permettra d'obtenir un résultat dans l'immense majorité des cas.

6. Références

1. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, and Wainscoat JS. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997 Aug 16; 350 (9076): 485-7.
2. International Federation of Gynecology and Obstetrics. Screening for chromosomal abnormalities and non invasive prenatal diagnosis and testing. FIGO good practice advice. London: FIGO; 2014. http://www.sego.es/Content/pdf/Best_practice_adviceJuly_2014.pdf.
3. Society of Obstetricians and Gynecologists of Canada. Current status of non-invasive prenatal screening for Down syndrome, Trisomy 18 and Trisomy 13 using cell-free DNA in maternal plasma. *J Obstet Gynaecol Can* 2013; 35 (2 Suppl): S1-S6.
4. Royal College of Obstetricians and Gynecologists. Non-invasive prenatal testing for chromosomal abnormality using maternal plasma DNA. Scientific impact paper No. 15. London: RCOG; 2014. https://www.rcog.org.uk/globalassets/documents/guidelines/sip_15_04032014.pdf.
5. Bianchi DW, Rava RP, Sehnert AJ. DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening. *N Engl J Med*. 2014; August 7, 371 (6): 578.
6. Norton ME, Baer RJ, Wapner RJ, Kuppermann M, Jelliffe-Pawlowski LL, Currier RJ. Cell free DNA vs Sequential Screening for the Detection of Fetal Chromosomal Abnormalities. *Am J Obstet Gynecol*. 2016 Jun; 214(6): 727.

7. Ashoor G, Syngelaki A, Poon LC, Rezende JC, Nicolaides KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation: maternal relationship and fetal characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013 Jan; 41(1): 26-32.
8. Poon LC, Musci T, Song K, Syngelaki A, Nicolaides KH. Maternal Plasma Cell-Free Fetal and Maternal DNA at 11-13 Weeks' Gestation: Relation to Fetal and Maternal Characteristics and Pregnancy Outcomes. *Fetal Diagn Ther* 2013; 33(4): 215-23.
9. Wang E, Batey A, Struble C, Musci T, Song K, Oliphant A. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free maternal DNA plasma. *Prenat Diagn.* 2013 Jul; 33(7): 662-6.
10. Zozzaro-Smith P, Gray LM, Bacak SJ, and Thornburg LL. Limitations of Aneuploidy and Anomaly Detection in the Obese Patient. *J Clin Med.* 2014 July 17; 3(3): 795,808.
11. Order No. 932 CM of 9 July 2015 amending Order No. 42 CM of 12 January 2012, as amended, fixing the nomenclature of medical biology acts of French Polynesia.
12. Benachi A, Letourneau A, Kleinfinger P, Senat MV, Gautier E, Favre R, Bidat L, Houfflin-Debarge V, Bouyer J, Costa JM. Collaborative Sequençage a Haut Debit et Aneuploidies (SEHDA) Study Group. Cell-free DNA analysis in maternal plasma in ultrasound examination. *Obstet Gynecol.* 2015 Jun; 125(6): 1330-7.
13. Porreco RP, Garite TJ, Maurel K, Marusiak B, Obstetrix Collaborative Research Network, Ehrich M, van den Boom D, Deciu C4, Bombard A. Non-invasive prenatal screening for fetal trisomies 21, 18, 13 and the common sex

- chromosome aneuploidies from maternal blood using massively parallel genomic sequencing of DNA. *Am J Obstet Gynecol* 2014 Oct; 211(4): 365.e1-12.
14. Benachi A, Letourneau A, Kleinfinger P, Senat MV, Gautier E, Favre R, Bidat L, Houfflin-Debargue V, Querol V, Bouyer J, Costa JM. Performance and indication of detection of trisomies 21, 18 and 13 in France by the analysis of fetal DNA in maternal blood. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2015 Oct; 45 (6): 633-40.
15. Rousseau T, Amar E, Ferdynus C, Thauvin-Tap C, Gouyon JB, Sagot P. Variations in the prevalence of Down syndrome in the French population between 1978 and 2005. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2010 Jun; 39 (4): 290-6.
16. Malone F, Canick JA, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Bukowski RB, Berkowitz RL, Gross SJ, Dugoff L, Craigo SD, Timor-Tritsch IE, Carr SR and D'Alton ME. First-trimester or second-trimester screening, or both, for Down's syndrome. *N Engl J Med* 2005 Nov; 353: 2001-11.
17. Gil MM, Quezada MS, Revello R, Akolekar R, and Nicolaides KH. Analysis of Cell-Free DNA in Maternal Blood Screening for Fetal Aneuploidies: Updated Meta-Analysis. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 2015 Mar; 45(3):249-66.
18. Mandel P, Metais P. The nucleic acids of blood plasma in humans. *CR Academic Paris* 142: 241-243, 1948.
19. Korabecna M, Opatrna S, Wirth J, Rulcova K, Eiselt J, Sefrna F, Horinekba A: Cell-free plasma DNA during peritoneal dialysis and hemodialysis in patients with chronic kidney disease. *Ann NY Acad Sci* 2008 Aug; 1137: 296-301.

20. Schwarzenbach H, Hoon DS, Pantel K: Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients. *Nat Rev Cancer*. 2011 Jun; 11: 426-37.
21. Norton ME, Jacobsson B, Swamy GK, Laurent LC, Ranzini AC. Cell-free DNA analysis for noninvasive examination of trisomy. *N Engl J Med*. 2015 Apr 23; 372(17): 1589-97.
22. Livergood TM, LeChien KA, Trudell AS. Obesity and cell-free DNA "no calls": is there an optimal gestational age at time of sampling? *Am J Obstet Gynecol*. 2017 Apr; 216(4): 413.e1-9.

III. DISCUSSION GENERALE

Cette étude a été menée dans le but d'évaluer les performances du test ADNlcT21 au sein d'une population de patientes présentant une forte prévalence de l'obésité. Il s'agit de la première étude sur le sol français évaluant les performances du test dans une population à haut risque d'aneuploïdie et axée sur l'obésité maternelle.

1. L'obésité, un problème de santé publique

Le test de dépistage ADNlcT21 montre d'excellents résultats dans notre population mais cette étude confirme néanmoins que la valeur de la fraction fœtale diminue chez les patientes obèses. Or dans de nombreux pays développés, l'obésité est en constante augmentation depuis plusieurs années et est devenue un véritable problème de santé publique. La population polynésienne que nous étudions ici est le reflet de ce fléau avec 42,6% de patientes ayant un IMC supérieur à 30 kg/m².

En France, 6,5 millions de personnes sont considérées comme obèses (soit 15% de la population adulte) alors que 32% de la population est en surpoids. La proportion de personnes obèses est passée de 8,5% à 15% entre 1997 et 2012. L'obésité touche toutes les tranches d'âge de la population et semble un peu plus importante chez les femmes (15,1%) que chez les hommes (13,9%)⁴². Le surpoids et l'obésité atteignent des niveaux record dans les départements d'outremer en comparaison à la France métropolitaine avec plus de la moitié de la population en surpoids ou obèse. Ainsi, en Martinique 26,8% des femmes seraient obèses, 27,2% des femmes en Guadeloupe et 36,9% des femmes en Polynésie française d'après l'étude PODIUM⁴³.

Chez la femme enceinte, la prévalence de l'obésité varie entre 6 et 25% dans le monde selon les études⁴⁴. Elle toucherait environ un quart des femmes enceintes aux Antilles. Dans une étude sud-basse-terrienne en Guadeloupe, la prévalence de l'obésité chez la femme enceinte était de 20,2% et 23,2% des femmes enceintes étaient en surpoids⁴⁵. Un grand nombre de femmes enceintes obèses sera donc concerné par la réalisation de ce test.

Les études épidémiologiques ont montré que la prévalence de l'obésité chez la femme augmente avec l'âge. En France métropolitaine, elle touche 6% des 18 - 24 ans, 11,1% des 25 - 34 ans, 15,5% des 35 - 44 ans⁴². Or l'âge maternel est un facteur de risque d'anomalies chromosomiques. Ainsi, alors que l'obésité n'est pas un facteur de risque d'aneuploïdie, l'augmentation de la prévalence de l'obésité chez la femme enceinte se fait en parallèle de l'augmentation de l'âge maternel moyen lequel est clairement associé à une augmentation du risque d'aneuploïdies⁴⁶.

2. Obésité maternelle et diagnostic prénatal

L'obésité diminue les performances de toutes les techniques de recherche de malformations fœtales et d'anomalies chromosomiques⁴⁷. De nombreuses études ont montré que l'obésité diminue la capacité à réaliser un examen échographique complet et de bonne qualité. De ce fait, le taux de détection d'une anomalie fœtale diminue avec l'augmentation de l'IMC maternel⁴⁸.

De même, l'association de la mesure de la clarté nucale et du dosage des marqueurs sériques dans le dépistage de la trisomie 21 a également montré ses limites en cas d'obésité maternelle. En effet, l'augmentation de l'IMC maternel est corrélée au

risque d'échec de mesure de la clarté nucale en échographie et à la nécessité de devoir reproduire l'examen ou d'utiliser la voie vaginale⁴⁹⁻⁵⁰.

Par ailleurs, les fractions de BhCG libre et de PAPP-A diminuent lorsque l'IMC maternel augmente, probablement du fait de l'augmentation des volumes plasmatiques entraînant un effet de dilution⁵¹. L'obésité maternelle peut donc induire une augmentation du taux de faux positifs et par conséquent du nombre de gestes invasifs dans le dépistage des aneuploïdies. Le dépistage par les marqueurs sériques doit prendre en compte le poids parmi d'autres facteurs (comme l'ethnie et de l'existence d'un diabète ou d'un tabagisme actif) pour le calcul de risque de la trisomie 21⁵².

Le développement du test ADNlcT21 dans cette population peut améliorer le dépistage des aneuploïdies chez la femme enceinte obèse. Notre étude a montré de bonnes performances du test dans une population de patientes à haut risque d'aneuploïdie et présentant une forte prévalence de l'obésité (plus de 40% de patientes avaient un IMC supérieur à 30kg/m²). Malgré la confirmation d'une diminution de la fraction fœtale avec l'augmentation de l'IMC maternel, le taux de non rendus reste très faible comparé aux données de la littérature évaluant les performances du test dans des populations avec un IMC normal.

La répétition du test ADNlcT21 diminue le risque d'échec de la technique, parfois au prix d'un prélèvement plus tardif. La fraction fœtale augmente clairement avec l'âge gestationnel⁴¹. L'âge gestationnel joue probablement un rôle dans l'amélioration des résultats à la répétition du test à quelques semaines d'intervalle. Un second prélèvement peut être proposé à la patiente 4 semaines plus tard en cas de fraction fœtale trop basse lors du premier prélèvement. Cependant, il faut prendre en

compte que ce délai peut entraîner une angoisse supplémentaire pour les couples et qu'en cas de test positif au second prélèvement la prise en charge d'une interruption médicale de grossesse après confirmation par un geste invasif serait également plus tardive.

3. Quelques considérations techniques

Dans notre étude, la technique utilisée pour le test ADNlcT21 est celle du séquençage massif en parallèle dite pangénomique, avec un seuil de fraction fœtale de 4% pour pouvoir rendre un résultat. Une étude italienne⁵³ a analysé les performances de cette méthode dans la recherche d'aneuploïdies sur 7103 échantillons lorsque la fraction fœtale est inférieure à 4%. Sur 105 grossesses présentant des anomalies chromosomiques, seules 25 (23,8%) ont été détectées par le test. Cette étude démontre l'importance de respecter un seuil de fraction fœtale pour pouvoir rendre un résultat, avec dans le cas contraire un risque de méconnaître une aneuploïdie.

Il existe d'autres méthodes d'analyse de l'ADN fœtal dans le sang maternel dont une technique utilisant le SNP (Single nucleotide polymorphism)⁵⁴. Cette technique basée sur le calcul des rapports des haplotypes des séquences SNP combinée à une technologie de mesure de l'ADN a été décrite par Ghanta et al.⁵⁵ comme pouvant donner des résultats satisfaisants même avec une fraction fœtale d'ADN plasmatique autour de 2%. Aucune étude n'a pour le moment confirmé cette théorie.

Enfin, notre étude a permis de vérifier la qualité de l'acheminement des prélèvements entre la Polynésie française et la France métropolitaine avec les tubes

BCT Streck cell-free DNA à température ambiante. La fraction fœtale d'ADN plasmatique était stable après transfert en comparant 40 échantillons traités en Polynésie et en France métropolitaine (coefficient de corrélation $R^2 = 0,96$, $p < 0,001$), malgré les 15 000 kilomètres séparant les 2 territoires. En utilisant les tubes appropriés et en respectant les conditions de transport, le test ADNlcT21 peut être proposé aux patientes des Antilles françaises en toute sécurité.

IV. CONCLUSION

Le test ADN libre circulant dans le sang maternel pour le dépistage des trisomies 13, 18 et 21 peut être utilisé chez la patiente obèse à haut risque d'aneuploïdie avec des performances qui restent satisfaisantes par rapport à celles retrouvées chez la patiente non obèse, en gardant à l'esprit qu'en cas de test non rendu au premier trimestre le fait de réaliser un second test plus tardivement permet d'obtenir un résultat dans la grande majorité des cas.

Conformément aux recommandations de la HAS, le test ADNlcT21 peut être proposé à la patiente obèse avec un risque $\geq 1/1000$. La patiente doit tout de même être informée du risque d'échec de la technique qui augmente avec l'IMC maternel. Un second prélèvement est à discuter avec la patiente si un résultat n'a pu être rendu au premier prélèvement.

Afin de garantir le meilleur accompagnement des femmes enceintes dans le cas où deux tests ADNlcT21 consécutifs ne permettraient pas d'obtenir un résultat interprétable, la HAS considère que la conduite à tenir doit être la même quel que soit le niveau de risque entre 1/1 000 et 1/51 à l'issue du dépistage par dosage des marqueurs sériques (à titre principal, dépistage combiné du premier trimestre) : un avis d'un centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal pour la réalisation d'un geste invasif et une orientation des femmes enceintes ou des couples vers un conseil génétique selon les résultats du caryotype fœtal. Dans ce cas particulier, la prise en charge par l'Assurance maladie du caryotype fœtal devra être possible pour les femmes enceintes avec un risque de trisomie 21 fœtale estimé supérieur ou égal à 1/1 000.

V. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Down JLH. Observations on an ethnic Classification of idiots. *London Hospital Reports*. 3rd ed. 1866; 259–62.
2. Roizen NJ, Patterson D. Down's syndrome. *Lancet*. 2003 Apr 12; 361(9365):1281–9.
3. Sherman SL, Allen EG, Bean LH, Freeman SB. Epidemiology of Down syndrome. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*. 2007; 13(3):221–7.
4. Nicolaides KH, Brizot ML, Snijders RJ. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for fetal trisomy in the first trimester of pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1994; 101:782-786.
5. Pandya PP, Snijders RJ, Johnson SP. Screening for fetal trisomies by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10 to 14 weeks of gestation. *Br J Obstet Gynaecol* 1995; 102:957-962.
6. Nicolaides KH, Snijders RJ, Gosden CM. Ultrasonographically detectable markers of fetal chromosomal abnormalities. *Lancet* 1992; 340:704-707.
7. Snijders RJ, Noble P, Sebire N, Souka A, Nicolaides KH. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. Fetal Medicine Foundation First Trimester Screening Group. *Lancet*. 1998 Aug 1; 352(9125):343–6.

8. Agathokleous M, Chaveeva P, Poon LCY, Kosinski P, Nicolaides KH. Meta- analysis of second- trimester markers for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013; 41(3):247-61.
9. Nyberg DA, Souter VL, El-Bastawissi A, Young S, Luthhardt F, Luthy DA. Isolated sonographic markers for detection of fetal Down syndrome in the second trimester of pregnancy. *Ultrasound.* 2001; 20(10):1053-63.
10. Arrêté du 23 juin 2009 fixant les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21. *Journal Officiel* 2009;3 juillet(152).
11. Arrêté du 23 juin 2009 relatif à l'information, à la demande et au consentement de la femme enceinte à la réalisation d'une analyse portant sur les marqueurs sériques maternels et à la réalisation du prélèvement et des analyses en vue d'un diagnostic prénatal in utero prévues à l'article R. 2131-1 du code de la santé publique. *Journal officiel* 2009;3 juillet(152).
12. Arrêté du 19 février 2010 modifiant l'arrêté du 23 juin 2009 relatif à l'information, à la demande et au consentement de la femme enceinte à la réalisation d'une analyse portant sur les marqueurs sériques maternels et à la réalisation du prélèvement et des analyses en vue d'établir un diagnostic prénatal in utero prévues à l'article R. 2131-1 du code de la santé publique. *Journal officiel* 2010;2 mars(51).
13. Arrêté du 19 février 2010 modifiant l'arrêté du 23 juin 2009 fixant les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatals avec

- utilisation des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21. *Journal officiel* 2010;3 mars(52).
14. Spencer K, Macri JN, Aitken DA, Connor JM. Free beta-hCG as first-trimester marker for fetal trisomy. *Lancet*. 1992 Jun 13; 339(8807):1480.
 15. Macri JN, Spencer K, Garver K, Buchanan PD, Say B, Carpenter NJ. Maternal serum free beta hCG screening: results of studies including 480 cases of Down syndrome. *Prenat Diagn*. 1994 Feb; 14(2):97–103.
 16. Muller F, Benattar C, Audibert F, Roussel N, Dreux S, Cuckle H. First-trimester screening for Down syndrome in France combining fetal nuchal translucency measurement and biochemical markers. *Prenat Diagn*. 2003 Oct; 23(10):833–6.
 17. Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, Johnson WE. An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol*. 1984 Apr 1; 148(7):886–94.
 18. Cuckle HS, Wald NJ, Thompson SG. Estimating a woman's risk of having a pregnancy associated with Down's syndrome using her age and serum alpha-fetoprotein level. *Br J Obstet Gynaecol*. 1987 May; 94(5):387–402.
 19. Société des obstétriciens et gynécologues du Canada. Interventions et techniques de diagnostic prénatal visant l'obtention d'un prélèvement foetal à des fins diagnostiques : risques et avantages pour la mère et le fœtus. *J Obstet Gynaecol Can* 2015; 37(7):s1-7.

20. Communiqué du CNGOF du 17 juin 2016. Recommandations pour l'utilisation de l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel pour le dépistage de la trisomie 21.
21. Haute Autorité de Santé. Place des tests ADN libre circulant dans le sang maternel dans le dépistage de la trisomie 21 fœtale. Mai 2017.
22. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, Wainscoat JS. Presence of Fetal DNA in Maternal Plasma and Serum. *Lancet*. 1997 Aug; 350(9076):485-87.
23. Flori E, Doray B, Gautier E. Circulating cell-free fetal DNA in maternal serum appears to originate from cyto- and syncytio-trophoblastic cells. Case report. *Hum Reprod* 2004; 19:723–724.
24. Alberry M, Maddocks D, Jones M. Free fetal DNA in maternal plasma in anembryonic pregnancies: confirmation that the origin is the trophoblast. *Prenat Diagn* 2007; 27:415–8
25. Costa J-M, Benachi A, Gautier E. New strategy for prenatal diagnosis of X-linked disorders. *N Engl J Med*. 2002 May 9; 346(19):1502.
26. Lo YM, Hjelm NM, Fidler C, Sargent IL, Murphy MF, Chamberlain PF. Prenatal diagnosis of fetal RhD status by molecular analysis of maternal plasma. *N Engl J Med*. 1998 Dec 10; 339(24):1734–8.
27. Bianchi DW, Avent ND, Costa JM, van der Schoot CE. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal Rhesus D: ready for Prime(r) Time. *Obstet Gynecol* 2005; 106:841-4.

28. Lim JH, Kim MJ, Kim SY, Kim HO. Non-invasive prenatal detection of achondroplasia using circulating fetal DNA in maternal plasma. *J Assist Reprod Genet* 2011 Feb; 28(2):167-72.
29. Jensen TJ, Zwiefelhofer T, Tim RC, Dzakula Z, Kim SK, Mazloom AR. High-throughput massively parallel sequencing for fetal aneuploidy detection from maternal plasma. *PloS One* 2013; 8:e57381.
30. Spencer K, Souter V, Tul N, Snijders R, Nicolaides KH. A screening program for trisomy 21 at 10-14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1999 Apr; 13(4):231–7.
31. Wald NJ, Hackshaw AK. Combining ultrasound and biochemistry in first-trimester screening for Down's syndrome. *Prenat Diagn.* 1997 Sep; 17(9):821–9.
32. Wapner R, Thom E, Simpson JL, Pergament E, Silver R, Filkins K. First-trimester screening for trisomies 21 and 18. *N Engl J Med.* 2003 Oct 9; 349(15):1405–13.
33. Agence de la biomédecine. Diagnostic prénatal 2013. Rapport médical et scientifique de l'assistance médicale à la procréation et de la génétique humaine en France. Saint-Denis La Plaine: ABM; 2014. http://www.agencebiomedecine.fr/annexes/bilan2014/donnees/diagprenat/01-diag_prenat/pdf/dpn.pdf.
34. Bianchi DW, Rava RP, Sehnert AJ. DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening. *N Engl J Med.* 7 août 2014; 371(6):578.

35. Norton ME, Baer RJ, Wapner RJ, Kuppermann M, Jelliffe-Pawlowski LL, Currier RJ. Cell free DNA versus Sequential Screening for the Detection of Fetal Chromosomal Abnormalities. *Am J Obstet Gynecol*. 2016; 214 :727.e1-6.
36. Benachi A, Letourneau A, Kleinfinger P, Senat M-V, Gautier E, Favre R, Bidat L, Houfflin-Debarge V, Querol V, Bouyer J, Costa J-M, pour le groupe SEHDA. Performance et indication du dépistage des trisomies 21, 18 et 13 en France par l'analyse de l'ADN fœtal dans le sang maternel. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*. 2016; 45(6):633-40.
37. Costa JM, Letourneau A, Favre R, Bidat L, Belaisch-Allart J, Jouannic JM, Quarello E, Senat MV, Broussin B, Tsatsaris V, Demain A, Kleinfinger P, Lohmann L, Agostini H, Bouyer J, Benachi A. Cell-free fetal DNA versus maternal serum screening for trisomy 21 in pregnant women with and without assisted reproduction technology : a prospective interventional study. *Genet Med*. 2018 Mar 1; doi:10.1038/gim.2018.4.
38. Gil MM, Brik M, Casanova C, Martin-Alonso R, Verdejo R, Ramirez E, Santacruz B. Screening for trisomies 21 and 18 in a Spanish public hospital : from the combined test to the cell free DNA test. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2016, 1-7.
39. Ashoor G, Syngelaki A, Poon LCY, Rezende J, Nicolaides KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11–13 weeks' gestation: relation to maternal and fetal characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 41:26–32.
40. Poon LCY, Musci T, Song K, Syngelaki A, Nicolaides KH. Maternal Plasma Cell-Free Fetal and Maternal DNA at 11–13 Weeks' Gestation: Relation to Fetal

- and Maternal Characteristics and Pregnancy Outcomes. *Fetal Diagn Ther* 2013; 33:215–223.
41. Wang E, Batey A, Struble C, Musci T, Song K, Oliphant A. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA maternal plasma. *Prenat Diagn* 2013; 33: 662-666.
42. Le Goff C, Eschwege E, Charles M-A, Basdevant A. ObEpi 2012 : Enquête épidémiologique nationale sur le surpoids et l'obésité. www.roche.fr/content/dam/roche_france/fr_FR/doc/obepi_2012.pdf
43. Daigre J-L, Atallah A, Boissin J-L, Jean-Baptiste G, Kangambega P, Chevalier H, et al. The prevalence of overweight and obesity, and distribution of waist circumference, in adults and children in the French Overseas Territories: the PODIUM survey. *Diabetes Metab.* nov 2012;38(5):404- 11.
44. Hamon C, Fanello S, Catala L, Parot E. Maternal obesity: effects on labor and delivery: Excluding other diseases that might modify obstetrical management. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2005 Apr; 34(2): 109-14.
45. Partyka T. Prévalence de l'obésité chez les femmes enceintes et les implications sur le déroulement de la grossesse dans la population sud-basse-terrienne : étude descriptive, rétrospective. Gynécologie et obstétrique. Université des Antilles et de la Guyane. 2015.
46. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin No. 88, December 2007. Invasive prenatal testing for aneuploidy. *Obstet. Gynecol.* 2007; 110: 1459-1467.
47. Rose N, Genetic Screening and the Obese Gravida. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 2016; 59: 140-147

48. Thornburg L, Tsai L, Pressman L, Ho M. Rates of completion of sonographic aneuploidy screening in obese gravidas. *Am Journ. of Obstet. and Gynecol.*, 2007; 197, (Suppl) S54
49. Gandhi M, Fox,NS, Russo-Stielglitz K, Hanley ME, Matthews G, Rebarber A. Effect of increased body mass index on first-trimester ultrasound examination for aneuploidy risk assessment. *Obstet. Gynecol.* 2009; 114: 856-859.
50. Thronburg LL, Mulconry M, Post A, Carpenter A, Grace D, Pressman EK. Fetal nuchal translucency thickness evaluation in the overweight and obese gravid. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2009; 33: 665-669.
51. Krantz DA, Hallahan TW, Macri VJ, Macri NJ. Maternal weight and ethnic adjustment within a first-trimester Down syndrome and trisomy 18 screening program. *Prenat. Diagn.* 2005; 25: 635-640.
52. Neveux LM, Palomaki GE, Larrivee DA, Knight GJ, Haddow JE. Refinements in managing maternal weight adjustment for interpreting prenatal screening results. *Prenat. Diagn.* 1996; 16: 1115-1119.
53. Fiorentino F, Bono S, Pizzuti F, Mariano M, Polverari A, Duca S, Sessa M, Baldi M, Diano L, Spinella F. The importance of determining the limit of detection of non invasive prenatal testing methods. *Prenat. Diagn.* 2016; 36: 304-311.
54. Benn P., Cuckle H., Pergament E., Non invasive prenatal testing for aneuploidy : current status and future prospects. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2013; 42: 15-33.

55. Ghanta S, Mitchell M, Ames M, Hidestrand M, Simpson P, Goetsch M, Thilly W, Struble C, Tomita-Mitchell A. Non invasive prenatal detection of trisomy 21 using tandem signe nucleotide polymorphisms. *PLoS One* 2010, 5 e13184.

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis à exercer la médecine, en présence des maîtres de cette école et de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité qui la régissent.

Mon premier souci sera, de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous les éléments physiques et mentaux, individuels collectifs et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients de décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer leurs consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai influencer ni par la recherche du gain ni par la recherche de la gloire.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers. Et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances, sans acharnement. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément. Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Que je sois modéré en tout, mais insatiable de mon amour de la science. Je n'entreprendrai rien qui ne dépasse mes compétences ; je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité. Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, Que je sois déshonoré et méprisé si j'y manque.

FRANCHINARD Loriane

SUJET DE LA THESE : PERFORMANCES DU TEST PAR ADN LIBRE CIRCULANT (ADNlcT21) POUR LE DEPISTAGE DE LA TRISOMIE 21 EN CAS D'OBESITE MATERNELLE

THESE : Médecine – Université des Antilles et de la Guyane

Qualification : Médecine Spécialisée

ANNEE : 2018

NUMERO D'IDENTIFICATION : 2018ANTI0378

MOTS CLEFS : ADNlcT21, trisomie 21, dépistage prénatal, fraction fœtale, obésité maternelle, indice de masse corporelle

Résumé

Introduction. Les performances du test par ADN libre circulant (ADNlcT21) pour le dépistage de la trisomie 21 peuvent être altérées par une fraction fœtale (FF) basse. La probabilité d'une FF inférieure à 4% augmente avec le poids maternel.

Objectif. Evaluer les performances du test ADNlcT21 et étudier les variations de la FF en fonction de l'IMC maternel dans une population de patientes ayant une forte prévalence de l'obésité.

Méthodes. Pendant deux ans, toutes les patientes ayant une grossesse singleton et une indication au test ADNlc ont été incluses, à l'exception des fœtus présentant une anomalie morphologique. Les performances globales du test (sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positive et négative, taux de non rendus) ont été déterminées. Les patientes ont été classées en fonction de l'IMC pour une analyse en sous-groupe de la mesure de la FF.

Résultats. Au total, 270 patientes ont été incluses et 42,6% d'entre elles avaient un IMC > 30 kg/m². La sensibilité du test était de 100% et sa spécificité de 99,6% pour le dépistage de la trisomie 21. Les VPP et VPN étaient respectivement de 75 et 100%. Le taux de non-rendus était de 0,74% au premier prélèvement et nul après le second. Les médianes de la FF en fonction de l'IMC diminuaient significativement chez les patientes obèses par rapport aux patientes non obèses ($p < 0,001$).

Conclusion. Le test ADNlcT21 est faisable dans une population de patientes obèses à haut risque d'aneuploïdie. La répétition du prélèvement permettra d'obtenir un résultat en cas de non rendu du fait d'une FF trop basse.

JURY : Président : Monsieur le Professeur Eustase JANKY

Juges : Madame le Professeur Alexandra BENACHI

Monsieur le Professeur Philippe KADHEL

Monsieur le Docteur Alexandre VIVANTI

Directeur : Madame le Docteur Alexandra LETOURNEAU
