



**HAL**  
open science

# Dépistage de la trisomie 21 sur l'ADN libre circulant au Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes : étude des performances statistiques, prévalence des échecs et impact de l'indice de masse corporelle

Emeline Gaudin

## ► To cite this version:

Emeline Gaudin. Dépistage de la trisomie 21 sur l'ADN libre circulant au Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes : étude des performances statistiques, prévalence des échecs et impact de l'indice de masse corporelle. Gynécologie et obstétrique. 2020. dumas-03053619

**HAL Id: dumas-03053619**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03053619v1>**

Submitted on 11 Dec 2020

**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.

## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance.

La propriété intellectuelle du document reste entièrement celle du ou des auteurs. Les utilisateurs doivent respecter le droit d'auteur selon la législation en vigueur, et sont soumis aux règles habituelles du bon usage, comme pour les publications sur papier : respect des travaux originaux, citation, interdiction du pillage intellectuel, etc.

Il est mis à disposition de toute personne intéressée par l'intermédiaire de [l'archive ouverte DUMAS](#) (Dépôt Universitaire de Mémoires Après Soutenance).

Si vous désirez contacter son ou ses auteurs, nous vous invitons à consulter la page de DUMAS présentant le document. Si l'auteur l'a autorisé, son adresse mail apparaîtra lorsque vous cliquerez sur le bouton « Détails » (à droite du nom).

Dans le cas contraire, vous pouvez consulter en ligne les annuaires de l'ordre des médecins, des pharmaciens et des sages-femmes.

Contact à la Bibliothèque universitaire de Médecine  
Pharmacie de Grenoble :  
[bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr)

UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES  
U.F.R DE MÉDECINE DE GRENOBLE  
**DÉPARTEMENT DE MAÏEUTIQUE**

**Dépistage de la trisomie 21 sur l'ADN libre circulant  
au Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes:**

**Étude des performances statistiques,  
Prévalence des échecs et impact de l'Indice de Masse Corporelle.**

Par GAUDIN Emeline

[Données à caractère personnel]

Mémoire soutenu le : 01/09/2020

En vue de l'obtention du diplôme d'Etat de Sage-Femme

Année universitaire 2019/2020

## **REMERCIEMENTS**

Je remercie les membres du jury :

Mme **Chrystèle CHAVATTE**, sage-femme enseignante au Département de maïeutique de l'UFR de médecine de Grenoble UGA, présidente du jury ;

Dr **Véronique EQUY**, Praticien Hospitalier en Gynécologie-Obstétrique au CHUGA, co-présidente du jury ;

Mme **Jocelyne DUJOURDIL**, sage-femme libérale ;

Dr **Florence AMBLARD**, PH médecin cytogénéticien, Directrice de ce mémoire ;

Mme **Claire BAUDON**, sage-femme enseignante au Département de maïeutique de l'UFR de médecine de Grenoble UGA, Co-directrice de ce mémoire.

Je remercie plus particulièrement :

Dr Florence AMBLARD, PH médecin cytogénéticien, Directrice de ce mémoire ;

*Pour s'être grandement impliquée dans ce mémoire, ses nombreuses relectures et sa disponibilité.*

Mme Claire BAUDON, sage-femme enseignante au Département de maïeutique de l'UFR de médecine de Grenoble, Co-directrice de ce mémoire ;

*Pour son aide, son soutien et sa disponibilité.*

Mme Anne-Marie DOLS, Assistante hospitalo-universitaire au CHUGA, et Mme Lucie TERRIER, Sage-femme diplômée d'Etat ;

*Pour leurs conseils et aide concernant la réalisation de ma base de donnée et son analyse.*

Le secrétariat du Laboratoire de Génétique Chromosomique du CHUGA ;

*Pour leur aide lors de la recherche dans les archives du laboratoire.*

Je remercie également :

Mme Chrystele CHAVATTE, sage-femme enseignante au Département de maïeutique de l'UFR de médecine de Grenoble ;

*Pour son soutien durant ces années d'études.*

Ma famille, mes amis et mon compagnon ;

*Pour leur soutien au quotidien.*

Mme Sherilyn LAPORTE, sage-femme diplômée d'état ;

*Pour sa présence si précieuse pendant ces années d'études, pour tous ces moments passés ensemble et aux prochains à venir.*

## TABLE DES MATIERES

ABREVIATIONS .....	5
RESUME .....	6
ABSTRACT .....	7
I. INTRODUCTION.....	8
II. MATERIELS ET METHODES.....	13
1) Type d'étude.....	13
2) Population d'étude.....	13
3) Recueil des données .....	14
4) Critères de jugement.....	14
5) Variables recueillies .....	15
6) Traitement des données et analyse statistique.....	16
III. RESULTATS .....	18
1) Diagramme d'inclusion .....	18
2) Caractéristiques de la population .....	19
3) Performances statistiques de l'ADNlcT21 au CHUGA.....	20
4) Prévalence des échecs de l'ADNlcT21 .....	22
5) Impact de l'IMC sur les échecs pour fraction fœtale insuffisante .....	23
IV. DISCUSSION .....	24
1) Force, limites et biais de l'étude.....	24
2) Discussion des résultats.....	26
V. CONCLUSION .....	32
VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	33

## **ABREVIATIONS**

ACLF : Association des Cytogénéticiens de Langue Française

ADN : acide désoxyribonucléique

ADNlcT21 : ADN libre circulant pour le dépistage de la trisomie 21

CHUGA : Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes

CNAM : Caisse Nationale d'Assurance Maladie

HAS : Haute Autorité de Santé

HR : Hors Recommandations

IC : Intervalle de Confiance

IMC : Indice de Masse Corporel

IMG : Interruption Médicale de Grossesse

MPS : séquençage massif en parallèle

MSM : Marqueurs Sériques Maternels

RIHN : Référentiel des Actes Innovants Hors Nomenclature

SA : Semaines d'Aménorrhée

Se : sensibilité

Sp : spécificité

VPN : Valeur Prédictive Négative

VPP : Valeur Prédictive Positive

## **RESUME**

OBJECTIFS : Evaluer les performances statistiques du test de dépistage de la trisomie 21 par l'ADN libre circulant au Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes, estimer la prévalence des différents types d'échecs du test en fonction des années et de l'Indice de Masse Corporelle, comparer les pourcentages d'échecs pour fraction fœtale insuffisante chez les patientes ayant un Indice de Masse Corporelle normal par rapport aux patientes en surpoids et en obésité.

METHODES : Il s'agit d'une étude descriptive et rétrospective réalisée chez les patientes ayant bénéficié d'un test ADNlcT21 au laboratoire de génétique chromosomique du CHUGA pour les années 2016, 2017 et 2019. Les données ont été recueillies à partir du logiciel DEFGEN. Les critères de jugement principaux sont : la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et négative du test. Les critères de jugement secondaires sont le taux d'échecs total, le taux d'échecs techniques et le taux d'échecs pour fraction fœtale insuffisante ; ainsi que le pourcentage d'échec pour fraction fœtale insuffisante en fonction de l'Indice de Masse Corporelle des patientes.

RESULTATS : 5192 dossiers ont été étudiés. L'ADNlcT21 avait une sensibilité de 100%, une spécificité de 99,9%, une Valeur Prédictive Positive de 92,3% et un taux d'échecs de 4,3%. Il existait une augmentation statistiquement significative du pourcentage d'échecs pour fraction fœtale insuffisante chez les femmes en surpoids ( $p = 0,006$ ) et en obésité ( $p < 0,001$ ) par rapport aux femmes ayant un Indice de Masse Corporelle normal.

CONCLUSION : L'ADNlcT21 au Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes a d'excellentes performances statistiques. Le taux d'échecs pour fraction fœtale insuffisante augmente avec l'Indice de Masse Corporelle.

Mots clés : Dépistage prénatal non invasif, ADN libre circulant, trisomie 21, IMC.



## **ABSTRACT**

**OBJECTIVES:** Evaluate the statistical performance of Cell-free DNA screening for detection of trisomy 21 at the Grenoble Alpes University Hospital Center (CHUGA), estimate the prevalence of the different types of failures rate by years and BMI, compare the percentages of failures rate for the insufficient fetal fraction in patients with a normal BMI compared to overweight and obese patients.

**METHODS:** This is a descriptive and retrospective study in patients who underwent a cfDNA screening at the CHUGA's chromosomal genetics laboratory in 2016, 2017 and 2019. The data was collected from the DEFGEN software. The main outcomes are the sensitivity, specificity, positive and negative predictive value of the test. Secondary outcomes are the total failure rate, the technical failure rate, the failure rate for insufficient fetal fraction and the percentage of failure rate for insufficient fetal fraction according to the patient's BMI.

**RESULTS:** 5,192 files were studied. CfDNA screening for detection of trisomy 21 had a sensitivity of 100%, a specificity of 99.9%, a PPV of 92.3% and a failure rate of 4.3%. There was a statistically significant increase for the percentage of failures rate for insufficient fetal fraction in overweight women ( $p = 0.006$ ) and obese women ( $p < 0.001$ ) compared to women with normal BMI.

**CONCLUSION:** The cfDNA screening at the CHUGA has excellent statistical performance. The failure rate for insufficient fetal fraction increases with BMI.

**Key words:** Non-invasive prenatal testing, cell-free DNA, trisomy 21, BMI.

## **I. INTRODUCTION**

La trisomie 21 (ou syndrome de Down) est l'aneuploïdie la plus fréquemment rencontrée dans l'espèce humaine. C'est une aneuploïdie autosomique, observée dans environ 27,3 grossesses sur 10 000 [1]. Elle est la première cause de retard mental dans les pays développés avec une morbi-mortalité associée importante. L'âge maternel au moment de la fécondation est le principal facteur de risque de trisomie 21. C'est pourquoi sa prévalence croît exponentiellement avec l'âge maternel et cette augmentation est très rapide après 35 ans. Le risque d'avoir un enfant trisomique 21 est d'environ 1/1 500 à 20 ans pour atteindre 1/100 à 40 ans [1].

Deux autres trisomies autosomiques sont viables sous une forme homogène dans l'espèce humaine, il s'agit des trisomies 13 et 18. Selon une étude réalisée à partir des données de plusieurs pays, leur prévalence serait respectivement de 1,68 et 4,08 pour 10 000 naissances [2]. Leur dépistage peut être associé à celui de la trisomie 21 mais des signes d'appels échographiques précoces et plus fréquents que la trisomie 21 orientent plus facilement leur diagnostic [3]

En France, le dépistage prénatal de la trisomie 21 a débuté en 1977 avec la prise en charge financière du caryotype fœtal chez les femmes enceintes de 40 ans et plus. Grâce au développement de l'échographie, en particulier de la mesure de la clarté nucale au premier trimestre, à l'inscription des marqueurs sériques maternels (MSM) à la nomenclature des actes de biologie médicale associés à l'âge maternel, la Haute Autorité de Santé (HAS) a pu mettre en place en 2007 une procédure de dépistage harmonisée [4–6].

La découverte de la présence de l'acide désoxyribonucléique (ADN) fœtal libre circulant dans le sang maternel au cours de la grossesse date de 1997, mais ce n'est pourtant qu'en 2008 que les tests sur l'ADN libre circulant se sont développés grâce à la mise au point des nouvelles techniques de séquençage haut débit (séquençage massif en parallèle ou MPS) et au

développement de la bio-informatique. Ces avancées technologiques ont permis de proposer un nouveau test de dépistage prénatal non invasif, nommé ADN libre circulant pour le dépistage de la trisomie 21 ou ADNlcT21 qui est pris en charge par la Caisse Nationale d'Assurance Maladie (CNAM) depuis Janvier 2019 [1,3,7].

L'ADNlcT21 repose sur l'analyse de l'ADN libre présent dans le sang maternel qui est un ADN acellulaire, fragmenté et de petite taille [1,8]. Après fixation de balises sur l'échantillon, le nombre d'étiquettes sur un chromosome donné est ensuite compté et comparé aux valeurs de références obtenues à partir d'un génome humain normal. Le test ADNlcT21 permet donc de mettre en évidence une surreprésentation statistiquement significative de fragments d'ADN dérivés du chromosome 21 comparativement à d'autres chromosomes « contrôles ». Un excès ou une insuffisance du nombre de comptage, exprimé en z-score ou en valeur chromosomique normalisée implique une aneuploïdie pour ce chromosome [3,8]. L'analyse n'est cependant pas spécifique de l'ADN fœtal car les fragments de chromosomes proviennent également de l'ADN maternel [3,8]. L'évaluation de la proportion d'ADN fœtal, ou fraction fœtale, est une mesure indispensable à l'interprétation des résultats. La fraction fœtale est la quantité d'ADN libre fœtal divisé par l'ADN libre total [8]. L'ADN circulant total est composé essentiellement d'ADN maternel, c'est pourquoi la fraction fœtale ne représente en moyenne que 10 à 15% de l'ADN libre circulant total mais peut varier allant parfois jusqu'à 30% [9–11]. Bien qu'il soit appelé ADN fœtal, l'ADN fœtal libre circulant est majoritairement issu des cellules apoptotiques du cytotrophoblaste placentaire et dans une moindre mesure de l'apoptose des cellules fœtales passées dans la circulation maternelle [1,12]. Il est présent très précocement au début de la grossesse dès 6 semaines d'aménorrhée (SA), puis son taux plasmatique augmente régulièrement au cours de la grossesse et disparaît quelques heures après l'accouchement [3]

Le test ADNlcT21 est fait après un prélèvement veineux périphérique chez une femme enceinte après la mesure de la clarté nucale lors de l'échographie du 1er trimestre c'est-à-dire à partir de 11 SA.

Il fait suite, dans la plupart des cas, au dosage des MSM dont le résultat est associé à l'âge maternel permettant un calcul de risque de trisomie 21. Si le risque est compris entre 1/51 et 1/1000 un examen de dépistage ADNlcT21 est proposé à la femme. Par ailleurs, un dépistage par ADNlcT21 est proposé sans avoir recours au dosage des MSM en cas de grossesses gémeillaires, d'antécédent de grossesse avec trisomie 21 ou si un parent est porteur d'une translocation robertsonnienne impliquant un chromosome 21 [13].

Le test ADNlcT21 n'est pas un test diagnostique. Selon une méta-analyse de l'HAS réalisée en 2015, la sensibilité et la spécificité de l'ADNlcT21 sont élevées : la sensibilité globale est estimée à 98,0 % [Intervalle de confiance (IC)95 % : 97,1 %- 98,6 %] et la spécificité globale à 99,9 % [IC95 % : 99,8 %-99,9 %]. Chez les femmes à haut risque, la sensibilité est estimée à 98,4% [IC 95 % : 97,6 %-98,9 %] et la spécificité à 99,8 % [IC95 % : 99,6 %-99,9 %] et en population générale, la sensibilité est estimée à 96,9 % [IC95 % : 94,1 %-98,4 %] et la spécificité à 99,9% [IC95 % : 99,9 %-100 %][14]. La valeur prédictive positive serait de 99,44% pour la trisomie 21 [3]. Les valeurs pour la trisomie 18 et 13 sont légèrement plus faibles avec une sensibilité de 97,4% pour chacune et une spécificité de 99,92% et 99,54% respectivement[3]. Le taux d'échecs serait compris entre 0 à 5,4%. [14]

L'ADNlcT21 peut être négatif, dans ce cas le risque résiduel est faible et il n'est pas préconisé de réaliser un prélèvement invasif, la femme aura un suivi de grossesse habituel. En revanche, en cas de test positif, le diagnostic d'aneuploïdie sera posé par la réalisation du seul test diagnostique : le caryotype. Celui-ci sera réalisé après un prélèvement invasif par amniocentèse. Il est obligatoire pour la réalisation d'une éventuelle interruption de grossesse et permettre de préciser la forme cytogénétique de la trisomie afin de délivrer un conseil génétique adapté [13].

Un prélèvement invasif à visée diagnostic doit être proposé par un médecin si le risque obtenu avec les MSM est supérieur ou égal à 1/50, si deux examens consécutifs par l'ADNlcT21 ne permettent pas d'obtenir un résultat interprétable, si le dépistage par ADNlcT21 rend un résultat positif et en cas de signe d'appel échographique quel que soit le terme de la grossesse y compris en cas de clarté nucale supérieure ou égale à 3,5 mm au premier trimestre de la grossesse [13].

Le résultat du test ADNlcT21 peut également être ininterprétable du fait de problèmes techniques (échec de préparation des librairies, échec de séquençage) ou d'une fraction fœtale insuffisante [1]. Lorsque le fœtus est trisomique 21, la proportion de chromosome 21 augmente de façon modérée. La capacité de détecter cette petite augmentation dans le plasma maternel est directement liée à la fraction fœtale, si celle-ci est inférieure à 4%, le test ADNlcT21 n'est pas interprétable [15].

Le poids maternel influence considérablement la fraction d'ADN fœtal circulant : le taux d'échecs chez la femme obèse est plus élevé, d'environ 24% et pouvant aller jusqu'à 50% avec un Indice de Masse Corporel (IMC) supérieur ou égal à 40 kg/m<sup>2</sup>[16]. L'ADN libre en circulation chez l'adulte en bonne santé provient principalement de l'apoptose des cellules hématopoïétiques mais chez la femme obèse, l'ADN libre maternel provient en plus de l'apoptose et de la nécrose du tissu adipeux [17]. L'ADN libre total circulant est donc proportionnellement augmenté chez les femmes enceintes en fonction de l'IMC [18,19]. L'ADN fœtal n'est pas affecté, mais l'augmentation de l'ADN libre maternel entraîne proportionnellement une baisse globale de la fraction fœtale. Il y a donc plus d'échecs de l'ADNlcT21 chez les femmes obèses et plus de faux négatifs [9,10,15,20].

Les grossesses multiples influencent également la fraction fœtale. Bien que celle-ci soit significativement plus élevée dans les grossesses multiples par rapport aux singletons, les grossesses multiples peuvent être à l'origine d'une performance moindre du test ADNlcT21 [21,22].

Si les deux jumeaux sont tous les deux porteurs de l'anomalie, l'efficacité est similaire à celle d'une grossesse singleton. La difficulté survient lorsque les jumeaux sont discordants pour l'aneuploïdie, ce qui est le cas le plus fréquent. En effet la fraction fœtale par fœtus est réduite par rapport aux singletons et chaque jumeau a une contribution différente à l'ADN libre circulant. Avec une fraction fœtale faible, il y a un risque de faux négatif si le jumeau présentant l'aneuploïdie contribue moins à la fraction fœtale que le jumeau non atteint [8,21–23]. D'autres facteurs maternels pourront fausser les résultats : mosaïcisme, cancers, variantes génétiques, traitements [20,24].

Nous nous sommes demandés quelle était l'efficacité du test ADNlcT21 au Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes (CHUGA) et quelles pourraient être les causes d'échecs de ce test. Le CHUGA réalise le test ADNlcT21 pour les départements suivants : Savoie, Haute-Savoie, Isère, une partie de la Drôme, la ville de Roanne, ainsi que les patientes suivies à Chambéry provenant de l'Ain. Une convention existe avec les laboratoires privés du groupe Oriade Noviale et le centre hospitalier d'Annecy qui envoient leurs prélèvements au CHUGA.

Cette étude a donc pour **objectif principal** d'évaluer les performances statistiques du test de dépistage de la trisomie 21 par l'ADN libre circulant au CHUGA. Notre **objectif secondaire** est de décrire la prévalence des différents types d'échecs du test en fonction des années et de l'IMC et notre **objectif tertiaire** est de comparer les pourcentages d'échecs pour fraction fœtale insuffisante chez les patientes ayant un IMC normal par rapport aux patientes en surpoids et en obésité.

## **II. MATERIELS ET METHODES**

### 1) Type d'étude

Il s'agit d'une étude quantitative, descriptive, rétrospective, non contrôlée, mono centrique, n'impliquant pas la personne humaine réalisée au laboratoire de génétique chromosomique du CHUGA entre le 1<sup>er</sup> Janvier 2016 et le 31 Décembre 2017 et du 1<sup>er</sup> Janvier 2019 au 31 Décembre 2019.

L'année 2018 n'a pas été analysée du fait d'une différence d'accès au test. En effet, en 2016 et 2017 le test ADNlcT21 était réalisé en France au titre du référentiel des actes innovants hors nomenclature (RIHN) ce qui permettait sa prise en charge dans certaines conditions. En 2018 le test était à la charge financière de la patiente pouvant potentiellement être à l'origine d'une sélection des patientes ayant une catégorie socio-professionnelle élevée. Depuis Janvier 2019 l'ADNlcT21 est pris en charge par la CNAM.

### 2) Population d'étude

Pour être éligibles à l'étude, les patientes devaient correspondre au critère suivant :

-Femmes ayant bénéficié de l'ADNlcT21 au CHUGA sur la période d'étude.

N'ont pas été incluses :

-Les femmes ayant moins de 18 ans au moment du dépistage

-Les femmes dont le fœtus présentait une clarté nucale supérieure ou égale à 3,5mm et/ou d'autres anomalies échographiques pour lesquelles l'ADNlcT21 est contre indiqué.

Parmi les femmes incluent dans l'étude, trois groupes ont été sélectionnés en fonction de l'IMC afin de comparer leur taux d'échecs. Le premier concerne les femmes ayant un IMC normal, c'est-à-dire supérieur ou égal à 18,5 et inférieur à 25, un second groupe comprenant les femmes

avec un IMC supérieur ou égal à 25 et inférieur à 30 représentant les femmes en surpoids et un troisième groupe supérieur ou égal à 30 représentant les femmes obèses.

### 3) Recueil des données

Une base de données a été obtenue en faisant une requête pour les années 2016, 2017 et 2019 sur le logiciel DEFGEN utilisé par le laboratoire de génétique du CHUGA. Nous avons pu obtenir des tableaux Excel disposant du résultat de l'ADNlcT21, de l'indication du test et de l'IMC qui ont été par la suite anonymisés par le Dr Florence AMBLARD. Les tableaux Excel n'étant pas adaptés aux logiciels d'analyse des données, un nouveau fichier Excel a été créé avec les variables d'intérêts.

Les résultats de caryotype ont été obtenus grâce au logiciel DEFGEN. Les résultats manquants pour les patientes de Savoie et Haute-Savoie ont été cherchés sur la base de données du Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, enfin des mails ont été envoyés aux différents laboratoires de cytogénétique de la région Auvergne Rhône Alpes. La présence d'enfant ayant bénéficié d'un ADNlcT21 et dont le diagnostic de trisomie 21 a été réalisé en post-natal a été obtenu par les rapports annuels d'activité en génétique constitutionnelle post-natal de l'agence de biomédecine.

Les données manquantes ont été recherchées dans les dossiers papiers dans les archives du laboratoire.

### 4) Critères de jugement

Les critères de jugement principaux étaient : la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et négative du test.

Les critères de jugement secondaires étaient : le taux d'échecs total, le taux d'échecs techniques et le taux d'échecs pour fraction fœtale insuffisante ; ainsi que le pourcentage d'échecs pour fraction fœtale insuffisante en fonction de l'IMC des patientes.



## 5) Variables recueillies

Les variables recueillies étaient :

- Le résultat de l'ADNlcT21. Il est obtenu après prélèvement d'un échantillon de sang maternel qui sera analysé par séquençage haut débit grâce à un séquenceur de la société Illumina. Pour les années 2016 et 2017 le procédé bio-informatique qui analyse les données issues du séquenceur permettait d'étudier 16 patients à la fois. Il a été modifié pour l'année 2019 permettant ainsi d'étudier 47 patientes et un témoin.

Les résultats obtenus sont soit positif, c'est-à-dire que l'analyse de l'ADN plasmatique de l'échantillon maternel montre une surreprésentation de séquences ADN dérivées des chromosomes 21 pouvant faire évoquer une aneuploïdie complète et homogène du chromosome. Soit négatif, c'est-à-dire que l'analyse de l'ADN plasmatique de l'échantillon maternel ne montre pas une surreprésentation de séquences ADN dérivées du chromosome 21. Soit un échec, c'est-à-dire que le séquenceur n'a pas pu rendre de résultats.

- Le type d'échecs de l'ADNlcT21. Il peut s'agir soit d'un échec technique (échec de préparation des librairies, échec de séquençage), soit d'un échec pour fraction fœtale insuffisante si celle-ci est inférieure à 4%.
- La présence ou non de trisomie 21. Elle est confirmée par un caryotype réalisé à partir d'une amniocentèse en cas de résultat positif de l'ADNlcT21. Le caryotype est soit anormal, c'est-à-dire que le caryotype du fœtus montre la présence d'un chromosome 21 surnuméraire. Soit normal, c'est-à-dire que le fœtus possède deux chromosomes 21, il n'est donc pas atteint de Trisomie 21.

Si le test ADNlcT21 rend un résultat négatif, le suivi échographique de la grossesse est poursuivi. L'examen clinique à la naissance permettra éventuellement de mettre en

évidence des signes évocateurs de trisomie 21 ; si tel est le cas, un caryotype sera prescrit.

- L'Indice de Masse Corporel ( $IMC = \text{poids}/\text{taille}^2$ ). Il est classé en sous poids s'il est inférieur à 18,5 ; en corpulence normale s'il est supérieur ou égal à 18,5 et inférieur à 25 ; en surpoids s'il est supérieur ou égal à 25 et inférieur à 30 ; en obésité de type I s'il est supérieur ou égal à 30 et inférieur à 35 ; en obésité de type II s'il est supérieur ou égal à 35 et inférieur à 40 et en obésité de type III s'il est supérieur ou égal à 40.
- L'indication de l'ADNlcT21. Elle est classée en risque accru de trisomie 21 après dosage des MSM entre 1/51 et 1/1000, risque élevée s'il est supérieur ou égal à 1/50, grossesse multiple, antécédent de grossesse avec trisomie 13, 18 et/ou 21, translocation impliquant le chromosome 21 ou 13, âge maternel supérieur à 38ans, MSM hors bornage, hors recommandation.

#### 6) Traitement des données et analyse statistique

Une fois le recueil des données réalisé, une analyse statistique descriptive quantitative a été effectuée grâce à l'importation de la base de données sur le logiciel R4web. Les variables qualitatives ont été décrites par l'effectif et les pourcentages.

A partir des résultats de l'ADNlcT21 et des résultats des caryotypes, nous avons déterminé les performances statistiques de l'ADNlcT21 au CHUGA. Nous avons obtenu la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et négative, ainsi qu'un taux d'échecs.

Une comparaison des pourcentages a été réalisée grâce au test du Chi2. Nous retiendrons  $\alpha = 0,05$  comme seuil de significativité.

**Tableau I- Les performances statistiques d'un test**

	<b>Sain</b>	<b>Atteint</b>	
<b>Test -</b>	VN	FN	<b>VPN</b> VN/(VN+FN)
<b>Test +</b>	FP	VP	<b>VPP</b> VP/(VP+FP)
	<b>Sp</b> VN/(VN+FP)	<b>Se</b> VP/(VP+FN)	

**Vrai négatif (VN) :** personne ayant un test négatif et qui n'est pas atteinte de l'affection.

**Faux négatif (FN) :** personne ayant un test négatif mais étant atteinte de l'affection.

**Vrai positif (VP) :** personne ayant un test positif et atteinte de l'affection.

**Faux positif (FP) :** personne ayant un test positif mais n'étant pas atteinte de l'affection.

**Sensibilité (Se) :** probabilité que le test soit positif quand la personne est atteinte.

**Spécificité (Sp) :** probabilité que le test soit négatif quand la personne n'est pas atteinte.

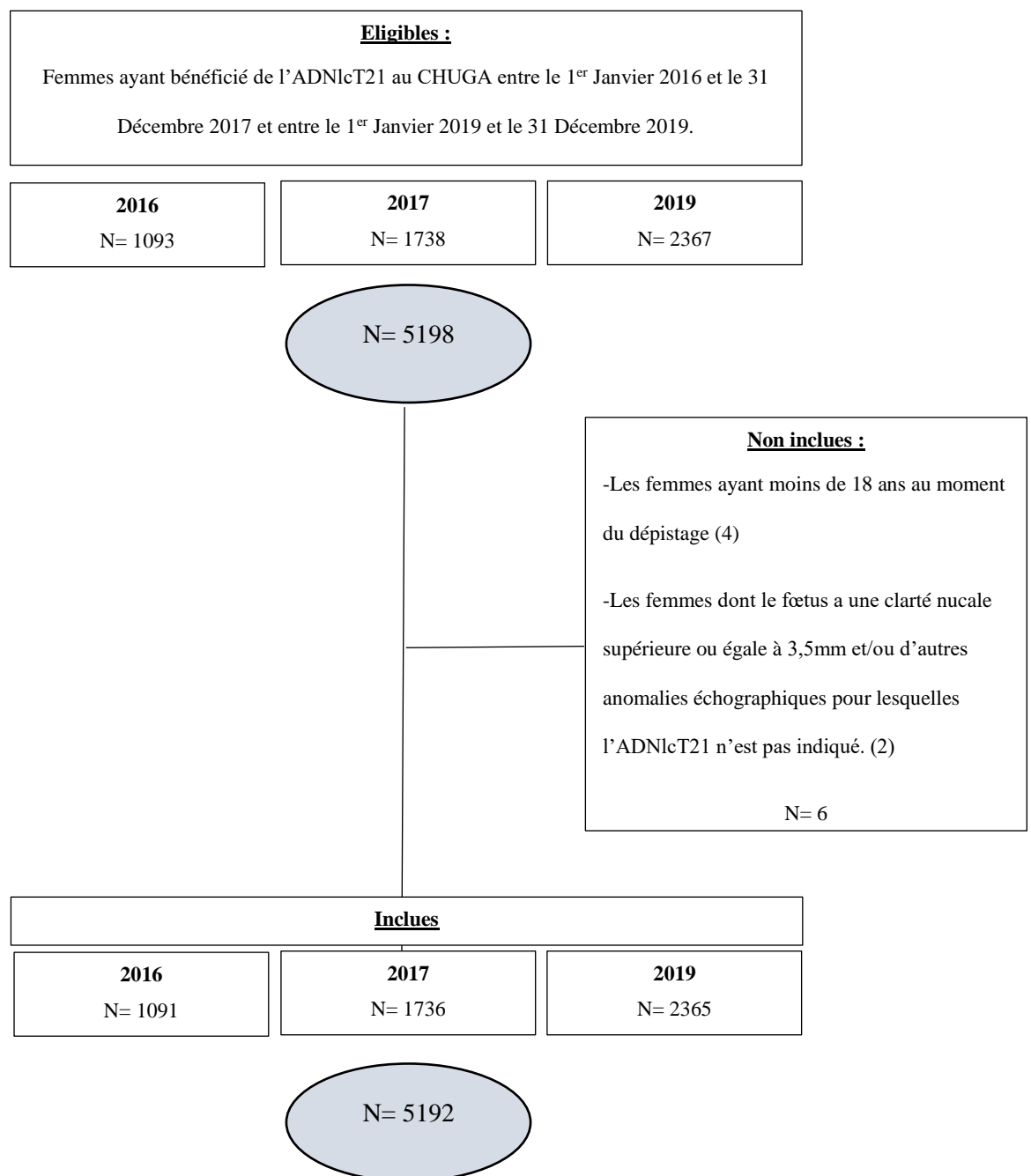
**Valeur prédictive positive (VPP) :** probabilité qu'une personne soit atteinte quand le test est positif.

**Valeur prédictive négative (VPN) :** probabilité qu'une personne ne soit pas atteinte quand le test est négatif.

### III. RESULTATS

#### 1) Diagramme d'inclusion

**Figure 1 – Diagramme d'inclusion (Flow Chart)**



Un total de 5198 ADNlcT21 a été réalisé sur les années 2016, 2017 et 2019 au CHUGA. Quatre patientes étaient mineures et deux patientes avaient des anomalies échographiques pour lesquelles l'ADNlcT21 n'est pas indiqué. Six patientes n'ont donc pas été incluses.

La population finale était constituée de 5192 ADNlcT21 dont 1091 pour l'année 2016, 1736 pour l'année 2017 et 2365 pour l'année 2019.

## 2) Caractéristiques de la population

**Tableau II – Caractéristiques de la population**

	2016 N,(%)	2017 N,(%)	2019 N,(%)	TOTAL N,(%)
ADNlcT21 réalisés	1091	1736	2365	5192
ADNlcT21 +				
total	16 (1,5)	26 (1,5)	24 (1)	66 (1,3)
Trisomie 13	1	1	1	3 (4,5)
Trisomie 18	2	1	3	6 (9,1)
Trisomie 21	13	24	20	57 (86,4)
ADNlcT21 –	1045 (95,8)	1653 (95,2)	2207 (93,3)	4905 (94,4)
Caryotype anormal				
Total	13 (86,7)	21 (100)	18 (81,8)	52 (89,7)
Trisomie 13	0	0	0	0
Trisomie 18	1	0	3	4
Trisomie 21	12	21	15	48
Caryotype normal	2 (13,3)	0 (0)	4 (18,2)	6 (10,3)
IMC				
Sous poids	54 (5,6)	55 (3,6)	63 (3,8)	172 (4,2)
Normal	576 (59,6)	946 (62,2)	961 (58,4)	2483 (60,1)
Surpoids	207 (21,4)	321 (21,1)	378 (23)	906 (21,9)
Obésité totale	130 (13,4)	198 (13,1)	243 (14,8)	571 (13,8)
Obésité I	88 (9,1)	137 (9,1)	151 (9,2)	376 (9,1)
Obésité II	29 (3)	42 (2,8)	64 (3,9)	135 (3,3)
Obésité III	13 (1,3)	19 (1,2)	28 (1,7)	60 (1,4)

Indications	
Risque accru	4257 (82)
Risque élevé	114 (2,2)
Age>38ans	44 (0,8)
Antécédents	98 (1,9)
Grossesse multiple	486 (9,4)
Translocation	4 (0,1)
Hors Bornage	55 (1,1)
HR	130 (2,5)

\*Les données étaient manquantes pour le résultat de l'ADNlcT21 (ADNlcT21 + ; ADNlcT21 - ; échecs) chez n= 0 patiente ; pour le résultat du caryotype (Caryotype anormal ; Caryotype normal) chez n= 8 patientes ; pour l'IMC chez n= 1060 patientes ; pour l'indication du test chez n= 4 patientes.

N, n = effectif ; % = pourcentage, HR= hors recommandation

Pendant ces trois années, 4905 ADNlcT21 sont revenus négatifs soit 94,4% et 66 sont revenus positifs soit 1,3%. Parmi les 66 ADNlcT21 positifs, trois étaient positifs pour la trisomie 13, six pour la trisomie 18 et 57 pour la trisomie 21.

Au total, 52 anomalies chromosomiques ont été diagnostiquées soit 89,7% dont aucune trisomie 13, quatre trisomies 18 et 48 trisomies 21. Six caryotypes sont revenus normaux soit 10,3%.

Le taux de patientes en sous poids était compris entre 3,6% et 5,6% ; le taux d'IMC normal était compris entre 58,4% et 62,2% ; le taux de surpoids était compris entre 21,1% et 23% ; le taux d'obésité de type I était compris entre 9,1% et 9,2% ; le taux d'obésité de type II était compris entre 2,8% et 3,9% ; le taux d'obésité de type III était compris entre 1,2% et 1,7% et le taux d'obésité totale était compris entre 13,1% et 14,8%.

### 3) Performances statistiques de l'ADNlcT21 au CHUGA

Les performances statistiques de l'ADNlcT21 au CHUGA ont été calculées sans distinction de population. Les calculs n'ont été réalisés que pour la trisomie 21 ; les trisomies 13 et 18 n'ont pas été prises en compte.

**Tableau III – Tableau statistique du test de dépistage ADNlcT21 quand le gold standard est le caryotype**

	Caryotype normal	Caryotype anormal	
ADNlcT21 -	4905	0	VPN 100
ADNlcT21 +	4	48	VPP 92,3
	Sp 99,9	Se 100	

\*Les données étaient manquantes pour le résultat de l'ADNlcT21 (ADNlcT21 + ; ADNlcT21 - ; échecs) chez n= 0 patiente ; pour le résultat du caryotype (Caryotype anormal ; Caryotype normal) chez n= 5 patientes.

Dans cette étude nous avons eu : 4905 vrais négatifs, zéro faux négatif, 48 vrais positifs et quatre faux positifs.

**Les tests ADNlcT21 au CHUGA avait donc :**

**Une sensibilité de 100%**, c'est-à-dire que 100% des femmes portant un fœtus trisomiques 21 ont eu un ADNlcT21 positif.

**Une spécificité de 99,9%**, c'est-à-dire que 99,9% des femmes portant un fœtus sain ont un ADNlcT21 négatif.

**Une VPP de 92,3%**, c'est-à-dire que 92,3% des patientes avec un ADNlcT21 positif étaient porteuses d'un fœtus trisomique 21.

**Une VPN de 100%**, c'est-à-dire que 100% des patientes avec un ADNlcT21 négatif étaient porteuses d'un fœtus sain.

#### 4) Prévalence des échecs de l'ADNlcT21

**Tableau IV – Tableau de prévalence des échecs de l'ADNlcT21 par années**

	2016 N, (%)	2017 N, (%)	2019 N, (%)	TOTAL N, (%)
Echecs				
Total	30 (2,7)	57 (3,3)	134 (5,7)	221 (4,3)
Technique n, (%)	18 (60)	16 (28,1)	100 (74,6)	134 (61)
Fraction insuffisante n,(%)	12 (40)	41 (71,9)	34 (25,4)	87 (39)

N, n = effectif, % = pourcentage

Deux cent vingt et un résultats n'ont pu être rendus soit 4,3% dont 61% pour échec technique et 39% pour fraction fœtale insuffisante. Le taux d'échecs total a augmenté au fil des années avec 2,7% d'échecs en 2016, 3,3% en 2017 et 5,7% en 2019. Le pourcentage d'échecs pour fraction fœtale insuffisante a été plus élevé en 2017 avec un taux de 71,9% contre 40% en 2016 et 25,4% en 2019. Le pourcentage d'échecs techniques a été plus élevé en 2019 avec un taux de 74,6% contre 60% en 2016 et 28,1% en 2017.

**Tableau V- Tableau de prévalence des échecs en fonction de l'IMC**

	Sous poids N,(%)	Normal N,(%)	Surpoids N,(%)	Type I N,(%)	Type II N,(%)	Type III N,(%)	Obésité N,(%)
ADNlcT21	172	2483	906	376	135	60	571
Echecs							
Total	7 (4,1)	87 (3,5)	46 (5,1)	21 (5,6)	7 (5,2)	10 (16,7)	38 (6,7)
Fraction	0 (0)	25 (1)	21 (2,3)	13 (3,5)	5 (3,7)	9 (15)	27 (4,7)
Technique	7 (4,1)	62 (2,5)	25 (2,8)	8 (2,1)	2 (1,5)	1 (1,7)	11 (2)

\*Les données étaient manquantes pour le résultat de l'IMC chez n = 43 patientes ayant eu un échec de l'ADNlcT21.

Le taux d'échecs total était de 4,1% pour les femmes en sous poids, 3,5% pour les femmes ayant un IMC normal, entre 5,1% et 5,6% pour les femmes en surpoids et en obésité de type I et II mais était de 16,7% pour les femmes étant en obésité de type III.

Le taux d'échecs pour fraction fœtale insuffisante était croissant avec l'IMC : 0% pour les femmes en sous poids, 1% pour les femmes avec un IMC normal, 2,3% pour les femmes en



surpoids, 3,5% pour les femmes en obésité de type I, 3,7% pour les femmes en obésité de type II, 15% pour les femmes en obésité de type III.

5) Impact de l'IMC sur les échecs pour fraction fœtale insuffisante

Les femmes en surpoids avaient significativement plus d'échecs pour fraction fœtale insuffisante que les femmes ayant un IMC normal ( $p = 0,006$ ) et les femmes en obésité avaient significativement plus d'échecs pour fraction fœtale insuffisante que les femmes ayant un IMC normal ( $p < 0,001$ ).

#### IV. DISCUSSION

##### 1) Force, limites et biais de l'étude

La principale force de cette étude est sa puissance. En effet, suite à la non inclusion de seulement six dossiers parmi les patientes ayant réalisé un ADNlcT21, nous avons obtenu une population de 5192 patientes. L'étude est réalisée sur la quasi-totalité de la population qui a reçu le test sur les trois années étudiées. Elle est ainsi représentative pour les femmes de l'Arc Alpin. En revanche, elle ne permet pas d'extrapoler les résultats à la population française.

Pour obtenir nos résultats, la réalisation d'une étude descriptive et rétrospective était la plus adaptée. Aucun autre type d'étude n'aurait pu être choisi afin d'obtenir les performances statistiques du test.

Des changements d'indication au test ont eu lieu pour l'année 2019. Les antécédents de trisomie ou de translocation autre que pour le chromosome 21 ne sont plus des indications pour réaliser en première intention un ADNlcT21. Les trisomies 13 et 18 ont une sensibilité plus faible, ils n'ont donc pas été pris en compte pour le calcul de performances statistique du test. Les patientes ayant plus de 38 ans ne sont plus orientées en première intention vers l'ADNlcT21, l'âge maternel qui est pris en compte dans le calcul de risque, n'est désormais plus une indication à lui seul. La proportion de femmes de plus de 38ans était donc certainement plus importante pour les années 2016 et 2017. De plus, pour les années 2016 et 2017, la patiente pouvait choisir entre l'ADNlcT21 et un caryotype si son risque était supérieur à 1/250. Pour l'année 2019, ce seuil est passé à 1/50. En effet, le caryotype est conseillé chez les femmes ayant un risque supérieur ou égal 1/50 mais si celles-ci ne souhaitent pas un geste invasif, un test par ADNlcT21 leur est proposé. Nous avons supposé que ces modifications d'indications n'auraient pas d'impact sur nos résultats mais il aurait fallu calculer la sensibilité, la spécificité,

la VPP et la VPN pour chaque année afin de montrer l'absence de différence des performances statistiques du test avec la mise en place des nouvelles indications.

L'année 2018 n'a pas été sélectionnée pour l'étude du fait d'une différence d'accès financier au test. Pour les années 2016 et 2017 l'ADNlcT21 était réalisé en France au titre du référentiel des actes innovants hors nomenclature (RIHN) ce qui permettait sa prise en charge financière et depuis Janvier 2019 l'ADNlcT21 est pris en charge par la CNAM. Durant l'année 2018 le test était à la charge de la patiente. Ceci aurait pu donner lieu à une sélection des patientes ayant une catégorie socio-professionnelle élevée pouvant payer le test pour convenance et ainsi faire une sélection de patientes à bas risque. Comme on peut le voir dans la méta-analyse de la HAS, la sensibilité de l'ADNlcT21 est légèrement plus faible dans la population générale et aurait donc pu influencer nos résultats. [14]

Le recueil de données a été réalisé par moi-même à partir d'une requête faite sur le logiciel, il est donc possible d'avoir des erreurs dans la retranscription. Ceci peut donner lieu à une surestimation ou à une sous-estimation, selon l'erreur et ainsi une perte de précision. Le recueil de données a été réalisé par une seule et même personne, ce qui limite tout de même ce risque d'erreur.

Le principal biais de cette étude est un biais de vérification. Le test de référence, le caryotype, n'a pas été réalisé pour toutes les patientes. Il n'a été appliqué qu'aux patientes dont l'ADNlcT21 est revenu positif. On ne peut pas exclure que les femmes ayant un ADNlc négatif puissent avoir un caryotype positif, diminuant ainsi la puissance de la sensibilité et de la VPN.

Un second biais peut être dû aux résultats ininterprétables. En effet, 4,3% des tests n'ont pas pu rendre de résultat du fait d'un échec technique ou d'un échec pour fraction foétale insuffisante. Parmi ces tests, des fœtus avec une trisomie 21 auraient pu être présents et ne pas être dépistés. Ceci pourrait être responsable d'une surestimation de la validité du test. Mais lorsque le test est

rendu ininterprétable deux fois pour la même patiente, un caryotype fœtal lui est proposé et sera pris en charge par la CNAM. De plus, si la patiente fait le choix de ne pas réaliser le caryotype, le suivi échographique se poursuit permettant d'identifier si le fœtus présente des signes échographiques de trisomie. L'échec n'est pas toujours synonyme de perte de chance pour le dépistage de la trisomie 21, il peut cependant retarder le terme auquel le diagnostic est réalisé.

## 2) Discussion des résultats

### **Caractéristiques de la population**

Dans cette étude peu de caractéristiques de la population ont été recueillies.

Les patientes étaient légèrement plus en obésité et en surpoids comparé à l'enquête nationale périnatale de 2016 avec 21,9% des patientes en surpoids contre 20% au niveau national et 13,8% des patientes étaient en obésité contre 11,8% des patientes pour les données nationales de 2016. [25]. Il aurait pu être intéressant d'avoir notamment l'âge des patientes et le terme où a été réalisé le test.

Concernant l'ADNlcT21, on peut remarquer que le nombre de test a augmenté au fil des années en passant de 1091 en 2016, à 1736 en 2017, et à 2365 en 2019. On pourrait se dire que l'augmentation entre 2016 et 2017 peut être due à une meilleure information des professionnels de santé. En 2016, le test étant nouveau, les professionnels n'étaient peut-être pas nécessairement informés de son existence ou pouvaient être méfiants quant à l'arrivée d'un nouveau test. Cependant, en 2016, le test a été mis en place que le 27 Juin, soit à la moitié de l'année. En considérant que le même nombre de tests aurait été réalisé sur la première moitié de l'année, le nombre d'ADNlcT21 pour l'année 2016 serait plus proche de l'année 2019. Néanmoins, des patientes dont le début de grossesse était en fin 2015 et début 2016 ont réalisé l'ADNlcT21 à sa mise en place. Des patientes en fin de grossesse ont ainsi pu bénéficier du

test. Le nombre d'ADNlcT21 pour l'année 2016 n'est donc pas interprétable. En 2019 le test est passé à la nomenclature des actes de biologie médicale et était donc remboursé par la CNAM, il a été inclus dans la procédure de dépistage de la trisomie 21 et les professionnels le proposaient depuis trois ans à leur patiente ce qui a pu favoriser l'accès au test.

### **Objectif principal**

Les performances statistiques de l'ADNlcT21 au CHUGA ont été calculées sans distinction de population. Malgré un risque plus élevé de faux négatifs, les grossesses multiples ont été admises ainsi que les ADNlcT21 réalisés par convenance. Les résultats que nous avons obtenus étaient donc comparables aux résultats de la HAS qui ont été réalisés sans distinction de population pour la trisomie 21. Ainsi nous avons obtenu une sensibilité de 100%, plus élevée que la sensibilité globale estimée à 98,0 % [IC95 % : 97,1 % - 98,6 %] par la HAS et une spécificité de 99,9%, identique à la spécificité globale de 99,9 % [IC95 % : 99,8 % - 99,9 %] estimée par la méta-analyse de la HAS.[14]

Notre VPP était cependant plus faible avec une valeur de 92,3% contre 99,4% selon l'Association des Cytogénéticiens de Langue Française (ACLF) [3]. Une VPP plus faible est due aux faux positifs. La principale cause des faux positifs est la présence de mosaïque confinée au placenta. Dans cette situation, le fœtus a un caryotype normal mais le placenta possède trois chromosomes 21. Comme pour l'étude du caryotype à l'examen direct d'un prélèvement de villosités chorales, l'ADNlcT21 analyse l'ADN issu du cytotrophoblaste et retrouvera donc un résultat positif pour la trisomie 21 alors que le fœtus n'est pas malade. C'est pour redresser les faux positifs liés aux mosaïques confinées au placenta que le caryotype fœtal doit être réalisé sur une ponction de liquide amniotique et non un prélèvement de villosités chorales après un test d'ADNlc positif. Le taux de mosaïque confiné au placenta est de 1/1000 environ, il est

difficile d'imaginer que l'ensemble des faux positifs soient tous des mosaïques confinées au placenta. Nous n'en connaissons pas la véritable cause.

Le test ADNlcT21 avait donc d'excellentes performances statistiques au CHUGA. Une femme ayant un test négatif avait 100% de chance d'avoir un enfant sain. Mais une femme portant un enfant sain avait 99,9% d'obtenir un test négatif et 0,1% de risque d'obtenir un test positif.

Une femme ayant un enfant trisomique 21 avait 100% de chance d'obtenir un résultat du test positif mais un résultat du test positif ne signifiait que l'enfant était trisomique dans 92,3% des cas. Le test ADNlcT21 n'est donc pas un test diagnostique ; c'est pourquoi une interruption médicale de grossesse n'est possible qu'après confirmation par le caryotype.

Dans cette étude, le caryotype était manquant chez 9,6% des patientes ayant un ADNlcT21 positif. La cause n'a pas été recherchée : la patiente a pu refuser le caryotype et poursuivre sa grossesse, la grossesse a pu s'arrêter spontanément, le caryotype a pu être réalisé mais manquant au dossier. Le caryotype n'a pas été fait chez les patientes ayant eu un ADNlcT21 négatif et l'issue de toutes les grossesses n'avait pas été recherchée (grossesse arrêtée, IMG, signes échographiques, examen clinique de l'enfant, etc.). Ceci n'a pas été pris en compte lors du calcul des performances du test ce qui pourrait influencer notamment le nombre de faux négatif et donc diminuer la sensibilité et la valeur prédictive négative.

Afin de renforcer la robustesse de l'étude, il aurait fallu connaître toutes les issues de grossesse et réaliser un caryotype pour toutes les patientes ayant réalisé un ADNlcT21 afin d'avoir un gold standard permettant de rendre un diagnostic sûr. Ceci ne peut être envisageable au niveau éthique car le caryotype est obtenu après amniocentèse qui est un geste invasif à l'origine de complications comme les fausses couches.

Ces résultats restent cependant interprétables. En effet si un enfant trisomique n'avait pas été diagnostiqué par l'ADNlcT21, le laboratoire de génétique du CHUGA en aurait été informé. Il

aurait dans la plupart des cas réalisé le caryotype à la naissance car c'est le seul laboratoire qui est autorisé à pratiquer cet examen dans l'Isère. Et pour les caryotypes non réalisés en Isère, les autres laboratoires de la région Auvergne-Rhône-Alpes font parvenir le résultat au CHUGA. Les rapports annuels d'activité de l'agence de biomédecine en génétique constitutionnelle post-natal précisent qu'il n'y a eu aucun faux négatif pour la trisomie 21.

### **Objectifs secondaire et tertiaire**

La prévalence moyenne des échecs sur ces trois années était de 4,3%, ce qui coïncide avec les résultats retrouvés dans la méta-analyse de la HAS où 13 études mentionnaient un taux d'échecs allant de 0 à 5,4%. [14]

Dans cette étude, on peut remarquer que le taux d'échecs total de l'ADNlcT21 au CHUGA augmente avec les années. En effet, en 2016 il y avait 2,7% d'échecs, en 2017 il y avait 3,3% d'échecs et en 2019 il y avait 5,7% d'échecs. Le procédé bio-informatique qui analyse les données issues du séquenceur permettait d'étudier 16 patients à la fois pour les années 2016 et 2017. Il a été modifié pour l'année 2019 permettant ainsi d'étudier 47 patients et un témoin. Cette deuxième version a été à l'origine d'une augmentation du taux d'échecs techniques représentant 74,6% des échecs totaux. C'est pourquoi une troisième version du procédé bio-informatique a été mise en place depuis début 2020. Il semblerait que le taux d'échec soit moindre avec cette nouvelle version.

En 2017, il y a eu plus d'échecs pour fraction fœtale insuffisante (71,9%) que d'échecs techniques. Ceci aurait pu être dû à une augmentation du taux de personnes en surpoids ou en obésité mais ceux-ci restent comparables à ceux des autres années. Il aurait été intéressant d'avoir le terme auquel le test a été réalisé. En effet, le test peut être réalisé à partir de 10SA mais plus le terme est avancé, plus la fraction fœtale augmente et moins il y a d'échecs pour fraction fœtale insuffisante. En 2016, la mise en place s'étant effectuée qu'en Juin, certains tests

ont été réalisés à des termes plus avancés pendant la grossesse pouvant ainsi diminuer le taux d'échecs pour fraction fœtale insuffisante. Pour l'année 2019, le taux d'échecs techniques à sensiblement augmenté du fait de la nouvelle analyse bio-informatique. Ceci pourrait expliquer les différences de pourcentages en fonction des années.

Le pourcentage d'échecs pour fraction fœtale insuffisante augmentait avec l'IMC, allant de 0% pour les patientes en sous poids et jusqu'à 3,7% pour les patientes obèses de type II. L'augmentation du nombre d'échecs est plus important chez les patientes en obésité de type III. En effet, il y avait 16,7% d'échecs totaux et 15% d'échecs pour fraction fœtale insuffisante. Le taux d'échecs techniques (1,7%) restait quant à lui assez similaire au taux d'échecs techniques chez les patientes avec un IMC normal (2,5%). Les femmes en surpoids avaient significativement plus d'échecs pour fraction fœtale insuffisante que les femmes ayant un IMC normal ( $p = 0,006$ ) et les femmes en obésité avaient significativement plus d'échecs pour fraction fœtale insuffisante que les femmes ayant un IMC normal ( $p < 0,001$ ). Nos taux d'échecs en fonction de l'IMC étaient inférieurs à ceux de l'étude de Yared et al : 6,7% contre 24,3% pour l'obésité totale, et 16,7% contre 50% pour l'obésité de type III. Le taux d'échecs pour les femmes ayant un IMC normal était similaire (3,5% VS 3,7%). Malgré la différence de taux, nos deux études sont en accords sur le fait qu'il y a une association statistiquement significative entre augmentation de l'IMC et l'augmentation du taux d'échecs de l'ADNlcT21 [16].

L'IMC n'était pas renseigné chez environ 20% des patientes ce qui diminue nettement la précision des objectifs secondaire et tertiaire. De plus, il y a une différence d'effectif importante entre les catégories d'IMC, principalement pour l'obésité de type III. Les résultats incluant l'obésité de type III ont donc une puissance plus faible que les autres dans cette étude.



Suite à nos résultats et à ceux des autres études, on peut se demander quelle est la pertinence de ce test chez les femmes en obésité, principalement chez les femmes en obésité de type III chez qui la probabilité de ne pas obtenir de résultat peut atteindre 50% [16]. Les échecs peuvent être source d'anxiété pour la patiente avec un retard au diagnostic. De ce fait, il est important de les informer des limites de ce test dans leur cas. Une prise en charge plus tardive n'est pas légère en conséquence que ce soit au niveau psychologique, émotionnel ou obstétrical. La succession de deux échecs puis d'une amniocentèse a également un impact financier et une charge administrative importante. C'est pourquoi il pourrait être intéressant de faire une étude de coût-utilité dans cette population afin de déterminer quelle prise en charge serait la plus adaptée. Des études récentes recherchent à améliorer le dépistage dans cette population sans avoir recours à des gestes invasifs [26,27].

## V. CONCLUSION

Nous avons atteint nos objectifs pour cette étude. Le test ADNlcT21 a de bonnes performances statistiques pour l'Arc Alpin, qui sont proches des données nationales. Il y a cependant une augmentation du taux d'échecs au fil des années. La mise en place début 2020 d'une nouvelle version de l'analyse bio-informatique semble diminuer ce taux.

Notre étude a montré que la prévalence d'échecs pour fraction fœtale insuffisante augmentait avec l'IMC et qu'il y avait une augmentation statistiquement significative entre le pourcentage d'échecs pour fraction fœtale insuffisante chez les femmes ayant un IMC normal par rapport aux femmes en surpoids et en obésité.

Les femmes obèses, principalement les femmes en obésité de type III, ont beaucoup plus de risque d'avoir un échec du test de dépistage par l'ADNlc du fait d'une fraction fœtale insuffisante. De plus, dans cette population, l'échographie est moins performante et la réalisation d'une amniocentèse est beaucoup plus difficile ce qui est un réel problème en terme de santé public. En effet, après deux échecs du test une amniocentèse est proposée à la patiente. Celle-ci sera moins aisée que chez une patiente ayant un IMC normal du fait de la paroi abdominale importante. Le suivi échographique sera lui aussi moins aisée avec une sous-estimation des malformations fœtales. L'amniocentèse ou l'échographie sont des éléments importants du dépistage, que ce soit pour le dépistage de la trisomie 21 ou pour toute autre malformation fœtale. Il serait important d'informer les femmes en amont de ces problèmes afin qu'elles puissent avoir une information la plus loyale possible et ce sans stigmatisation.

Avec des complications maternelles, fœtales et obstétricales, l'obésité est un réel enjeu de santé publique. Il pourrait être intéressant d'adapter nos pratiques à cette population et réaliser, par exemple, le test de dépistage à un terme plus avancé dans la grossesse afin que la fraction fœtale soit plus élevée.

## VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Sambuc C, Scemama O, Cognet M, Cohen-Akenine A, Delaveyne R, Druais S, et al. Haute Autorité de santé. Recommandations en santé publique. Place des tests ADN libre circulant dans le sang maternel dans le dépistage de la trisomie 21 fœtale [Internet]. 2017 [consulté le 8 août 2020]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2017-05/dir42/recommandation\\_en\\_sante\\_publicue\\_\\_place\\_des\\_tests\\_adn\\_libre\\_circulant\\_dans\\_le\\_sang\\_maternel\\_dans\\_le\\_depistage\\_de\\_la\\_trisomie.pdf](https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2017-05/dir42/recommandation_en_sante_publicue__place_des_tests_adn_libre_circulant_dans_le_sang_maternel_dans_le_depistage_de_la_trisomie.pdf)
- [2] Goel N, Morris JK, Tucker D, De Walle HEK, Bakker MK, Kancherla V, et al. Trisomy 13 and 18—Prevalence and mortality—A multi-registry population based analysis. *Am J Med Genet A* [Internet]. 2019 [consulté le 8 août 2020]; 179(12):2382-92. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31566869/>
- [3] Association des Cytogénéticiens de Langue Française. Recommandations pour le dépistage des anomalies chromosomiques fœtales par l'étude de l'ADN libre circulant (ADNlc) [Internet]. 2017 [consulté le 8 août 2020]. Disponible sur: [http://www.eaclf.org/docs/GBP\\_ADNlc\\_version3.pdf](http://www.eaclf.org/docs/GBP_ADNlc_version3.pdf)
- [4] Haute Autorité de Santé. Recommandation en santé publique. Évaluation des Stratégies de dépistage de la trisomie 21 [Internet]. 2007 [consulté le 8 août 2020]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/jcms/c\\_540874/fr/evaluation-des-strategies-de-depistage-de-la-trisomie-21](https://www.has-sante.fr/jcms/c_540874/fr/evaluation-des-strategies-de-depistage-de-la-trisomie-21)
- [5] Goujard J. La mesure de la clarté nucale et le dosage des marqueurs sériques commencent-ils à modifier l'incidence de la trisomie 21 en France? *Gynécologie Obstétrique Fertil* [Internet]. 2004 [consulté le 8 août 2020]; 32(6):496-501. Disponible sur: <https://www-em-premium-com.gaelnomade-2.grenet.fr/article/25828/resultatrecherche/1>
- [6] Briet R, Girard J. Arrêté du 23 janvier 1997 modifiant l'arrêté du 3 avril 1985 fixant la Nomenclature des actes de biologie médicale [Internet]. *Journal Officiel de la République Française* n°22 du 26 Janvier 1997. p. 1365. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000198115&categorieLien=id>
- [7] Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* [Internet]. 1997 [consulté le 8 août 2020]; 350(9076):485-7. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9274585>

- [8] Bianchi DW, Wilkins-Haug L. Integration of Noninvasive DNA Testing for Aneuploidy into Prenatal Care: What Has Happened Since the Rubber Met the Road? *Clin Chem* [Internet]. 2014 [consulté le 8 août 2020]; 60(1):78-87. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4827766/>
- [9] Canick JA, Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE. The impact of maternal plasma DNA fetal fraction on next generation sequencing tests for common fetal aneuploidies. *Prenat Diagn* [Internet]. 2013 [consulté le 8 août 2020]; 33(7):667-74. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23592541/>
- [10] Zimmermann B, Hill M, Gemelos G, Demko Z, Banjevic M, Baner J, et al. Noninvasive prenatal aneuploidy testing of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y, using targeted sequencing of polymorphic loci. *Prenat Diagn* [Internet]. 2012 [consulté le 8 août 2020]; 32(13):1233-41. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23108718>
- [11] Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE, Neveux LM, Ehrich M, et al. DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: an international clinical validation study. *Genet Med* [Internet]. 2011 [consulté le 8 août 2020]; 13(11):913-20. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22005709>
- [12] Alberry M, Maddocks D, Jones M, Abdel Hadi M, Abdel-Fattah S, Avent N, et al. Free fetal DNA in maternal plasma in anembryonic pregnancies: confirmation that the origin is the trophoblast. *Prenat Diagn* [Internet]. 2007 [consulté le 8 août 2020]; 27(5):415-8. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17286310/>
- [13] Salomon J. Arrêté du 14 décembre 2018 modifiant l'arrêté du 23 juin 2009 modifié fixant les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de trisomie 21 [Internet]. JORF, texte n°33 du 20 Décembre 2018. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000037833062&dateTexte=&categorieLien=id>
- [14] Cohen-Akenine A, Delaveyne R, Pibouleau L. Haute Autorité de Santé. Recommandation en santé publique. Les performances des tests ADN libre circulant pour le dépistage de la trisomie 21 fœtale (Volet 1) [Internet]. 2015 [consulté le 8 août 2020]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2015-11/recommandation\\_trisomie\\_21.pdf](https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2015-11/recommandation_trisomie_21.pdf)
- [15] Ashoor G, Syngelaki A, Poon LCY, Rezende JC, Nicolaidis KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation: relation to maternal and fetal characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol* [Internet]. 2013 [consulté le 8 août 2020]; 41(1):26-32. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23108725>

- [16] Yared E, Dinsmoor MJ, Endres LK, Vanden Berg MJ, Maier Hoell CJ, Lapin B, et al. Obesity increases the risk of failure of noninvasive prenatal screening regardless of gestational age. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2016 [consulté le 8 août 2020]; 215(3):370.e1-6. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26996988>
- [17] Haghiac M, Vora NL, Basu S, Johnson KL, Presley L, Bianchi DW, et al. Increased death of adipose cells, a path to release cell free DNA into systemic circulation of obese women. *Obes Silver Spring Md* [Internet]. 2012 [consulté le 8 août 2020]; 20(11):2213-9. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3483388/>
- [18] Lapaire O, Volgmann T, Grill S, Hösli I, Zanetti-Daellenbach R, Zhong XY, et al. Significant Correlation Between Maternal Body Mass Index at Delivery and in the Second Trimester, and Second Trimester Circulating Total Cell-free DNA Levels. *Reprod Sci* [Internet]. 2009 [consulté le 8 août 2020]; 16(3):274-9. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19087977>
- [19] Vora NL, Johnson KL, Basu S, Catalano PM, Hauguel-De Mouzon S, Bianchi DW. A multifactorial relationship exists between total circulating cell-free DNA levels and maternal BMI. *Prenat Diagn* [Internet]. 2012 [consulté le 8 août 2020]; 32(9):912-4. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22717986>
- [20] Bianchi DW, Chiu RWK. Sequencing of Circulating Cell-free DNA during Pregnancy. *N Engl J Med* [Internet]. 2018 [consulté le 8 août 2020]; 379(5):464-73. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30067923>
- [21] Canick JA, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE, Ehrich M, van den Boom D, et al. DNA sequencing of maternal plasma to identify Down syndrome and other trisomies in multiple gestations. *Prenat Diagn* [Internet]. 2012 [consulté le 8 août 2020]; 32(8):730-4. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22585317>
- [22] Bevilacqua E, Gil MM, Nicolaides KH, Ordoñez E, Cirigliano V, Dierickx H, et al. Performance of screening for aneuploidies by cell-free DNA analysis of maternal blood in twin pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* [Internet]. 2015 [consulté le 8 août 2020]; 45(1):61-6. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25297464>
- [23] Del Mar Gil M, Quezada MS, Bregant B, Syngelaki A, Nicolaides KH. Cell-free DNA analysis for trisomy risk assessment in first-trimester twin pregnancies. *Fetal Diagn Ther* [Internet]. 2014 [consulté le 8 août 2020]; 35(3):204-11. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24247435>
- [24] Hartwig TS, Ambye L, Sørensen S, Jørgensen FS. Discordant non-invasive prenatal testing (NIPT) - a systematic review. *Prenat Diagn* [Internet]. 2017 [consulté le 8 août 2020]; 37(6):527-39. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28382695>

- [25] INSERM, DREES. Enquête nationale périnatale, Rapport 2016, les naissances et les établissements, situations et évolutions depuis 2010 [Internet]. 2017 [consulté le 8 août 2020]. Disponible sur: [https://drees.solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/rapport\\_enp\\_2016.pdf](https://drees.solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/rapport_enp_2016.pdf)
- [26] Qiao L, Zhang Q, Liang Y, Gao A, Ding Y, Zhao N, et al. Sequencing of short cfDNA fragments in NIPT improves fetal fraction with higher maternal BMI and early gestational age. *Am J Transl Res* [Internet]. 2019 [consulté le 8 août 2020]; 11(7):4450-9. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6684886/>
- [27] Muzzey D, Goldberg JD, Haverty C. Noninvasive prenatal screening for patients with high body mass index: Evaluating the impact of a customized whole genome sequencing workflow on sensitivity and residual risk. *Prenat Diagn* [Internet]. 2020 [consulté le 8 août 2020]; 40(3):333-41. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7065115/>

## **RESUME**

OBJECTIFS : Evaluer les performances statistiques du test de dépistage de la trisomie 21 par l'ADN libre circulant au Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes, estimer la prévalence des différents types d'échecs du test en fonction des années et de l'Indice de Masse Corporelle, comparer les pourcentages d'échecs pour fraction fœtale insuffisante chez les patientes ayant un Indice de Masse Corporelle normal par rapport aux patientes en surpoids et en obésité.

METHODES : Il s'agit d'une étude descriptive et rétrospective réalisée chez les patientes ayant bénéficié d'un test ADNlcT21 au laboratoire de génétique chromosomique du CHUGA pour les années 2016, 2017 et 2019. Les données ont été recueillies à partir du logiciel DEFGEN. Les critères de jugement principaux sont : la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et négative du test. Les critères de jugement secondaires sont le taux d'échecs total, le taux d'échecs techniques et le taux d'échecs pour fraction fœtale insuffisante ; ainsi que le pourcentage d'échec pour fraction fœtale insuffisante en fonction de l'Indice de Masse Corporelle des patientes.

RESULTATS : 5192 dossiers ont été étudiés. L'ADNlcT21 avait une sensibilité de 100%, une spécificité de 99,9%, une Valeur Prédictive Positive de 92,3% et un taux d'échecs de 4,3%. Il existait une augmentation statistiquement significative du pourcentage d'échecs pour fraction fœtale insuffisante chez les femmes en surpoids ( $p = 0,006$ ) et en obésité ( $p < 0,001$ ) par rapport aux femmes ayant un Indice de Masse Corporelle normal.

CONCLUSION : L'ADNlcT21 au Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes a d'excellentes performances statistiques. Le taux d'échecs pour fraction fœtale insuffisante augmente avec l'Indice de Masse Corporelle.

Mots clés : Dépistage prénatal non invasif, ADN libre circulant, trisomie 21, IMC.