HAL
open science

Dépistage combiné de la trisomie 21 au premier trimestre de la grossesse : Evaluation des résultats de la première année de mise en place de la nouvelle démarche

Céline Rouison

To cite this version:

Céline Rouison. Dépistage combiné de la trisomie 21 au premier trimestre de la grossesse : Evaluation des résultats de la première année de mise en place de la nouvelle démarche. Sciences pharmaceutiques. 2011. hal-01732844

HAL Id: hal-01732844

https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01732844

Submitted on 14 Mar 2018

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.

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

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

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

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY I
2011

FACULTE DE PHARMACIE

MEMOIRE DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
DE BIOLOGIE MEDICALE

Soutenu devant le Jury Interrégional

Le lundi 7 novembre 2011

Par Mademoiselle Céline ROUISON
Née le 17 mai 1984 à Gap (05)

Conformément aux dispositions de l'arrêté du 4 octobre 1988 tient lieu de

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Dépistage combiné de la trisomie 21 au premier trimestre de grossesse :

Evaluation des résultats de la première année de mise en place de la nouvelle démarche

Membres du Jury

Président :	Pr Brigitte LEININGER,	Professeur à la faculté de Pharmacie de Nancy
Juges :	Pr Jean Luc OLIVIER,	Professeur à la faculté de médecine de Nancy
Directeur :	Dr Patricia FRANCK,	Biologiste médical, MRU
Juges :	Dr Jeanne FRESSON,	Pédiatre, MRU
	Dr Alain MITON,	Gynéco-obstétricien, MRU

UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY I
2011

FACULTE DE PHARMACIE

MEMOIRE DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
DE BIOLOGIE MEDICALE

Soutenu devant le Jury Interrégional

Le lundi 7 novembre 2011

Par Mademoiselle Céline ROUISON
Née le 17 mai 1984 à Gap (05)

Conformément aux dispositions de l'arrêté du 4 octobre 1988 tient lieu de

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Dépistage combiné de la trisomie 21 au premier trimestre de grossesse :

Evaluation des résultats de la première année de mise en place de la nouvelle démarche

---

Membres du Jury

Président :	Pr Brigitte LEININGER,	Professeur à la faculté de Pharmacie de Nancy
Juges :	Pr Jean Luc OLIVIER,	Professeur à la faculté de médecine de Nancy
Directeur :	Dr Patricia FRANCK,	Biologiste médical, MRU
Juges :	Dr Jeanne FRESSON,	Pédiatre, MRU
	Dr Alain MITON,	Gynéco-obstétricien, MRU

UNIVERSITÉ Henri Poincaré, NANCY 1
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2010-2011

DOYEN
Francine PAULUS
Vice-Doyen
Francine KEDZIEREWICZ
Directeur des Etudes
Virginie PICHON
Président du Conseil de la Pédagogie
Bertrand RIHN
Président de la Commission de la Recherche
Christophe GANTZER
Président de la Commission Prospective Facultaire
Jean-Yves JOUZEAU
Responsable de la Cellule de Formations Continue et Individuelle
Béatrice FAIVRE

Responsable ERASMUS :	Francine KEDZIEREWICZ
Responsable de la filière Officine :	Francine PAULUS
Responsables de la filière Industrie :	Isabelle LARTAUD, Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable du Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier :	Jean-Michel SIMON
Responsable Pharma Plus E.N.S.I.C. :	Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable Pharma Plus E.N.S.A.I.A. :	Bertrand RIHN

DOYENS HONORAIRES

Chantal FINANCE
Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES
Jeffrey ATKINSON
Marie-Madeleine GALTEAU
Gérard SIEST
Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES

Roger BONALY
Pierre DIXNEUF
Thérèse GIRARD
Maurice HOFFMANN
Michel JACQUE
Lucien LALLOZ
Pierre LECTARD
Vincent LOPPINET
Marcel MIRJOLET
François MORTIER
Maurice PIERFITTE
Janine SCHWARTZBROD
Louis SCHWARTZBROD

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES

Monique ALBERT
Gérald CATAU
Jean-Claude CHEVIN
Jocelyne COLLOMB
Bernard DANGIEN
Marie-Claude FUZELLIER
Françoise HINZELIN
Marie-Hélène LIVERTOUX
Bernard MIGNOT
Jean-Louis MONAL
Dominique NOTTER
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Maria WELLMAN-ROUSSEAU

ASSISTANT HONORAIRE

Marie-Catherine BERTHE
Annie PAVIS

Faculté de Pharmacie **Présentation**

ENSEIGNANTS	*Section CNU**	*Discipline d'enseignement*
PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS		
Chantal FINANCE	*82*	*Virologie, Immunologie*
Jean-Yves JOUZEAU	*80*	*Bioanalyse du médicament*
Jean-Michel SIMON	*81*	*Economie de la santé, Législation pharmaceutique*
PROFESSEURS DES UNIVERSITES		
Gilles AULAGNER	*86*	*Pharmacie clinique*
Jean-Claude BLOCK	*87*	*Santé publique*
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	*86*	*Pharmacologie*
Pascale FRIANT-MICHEL	*85*	*Mathématiques, Physique*
Christophe GANTZER	*87*	*Microbiologie*
Max HENRY	*87*	*Botanique, Mycologie*
Pierre LABRUDE	*86*	*Physiologie, Orthopédie, Maintien à domicile*
Isabelle LARTAUD	*86*	*Pharmacologie*
Dominique LAURAIN-MATTAR	*86*	*Pharmacognosie*
Brigitte LEININGER-MULLER	*87*	*Biochimie*
Pierre LEROY	*85*	*Chimie physique*
Philippe MAINCENT	*85*	*Pharmacie galénique*
Alain MARSURA	*32*	*Chimie organique*
Patrick MENU	*86*	*Physiologie*
Jean-Louis MERLIN	*87*	*Biologie cellulaire*
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	*86*	*Chimie thérapeutique*
Bertrand RIHN	*87*	*Biochimie, Biologie moléculaire*
MAITRES DE CONFÉRENCES - PRATICIENS HOSPITALIERS		
Béatrice DEMORE	*81*	*Pharmacie clinique*
Nathalie THILLY	*81*	*Santé publique*
MAITRES DE CONFÉRENCES		
Sandrine BANAS	*87*	*Parasitologie*
Mariette BEAUD	*87*	*Biologie cellulaire*
Emmanuelle BENOIT	*86*	*Communication et santé*
Isabelle BERTRAND	*87*	*Microbiologie*

Michel BOISBRUN	*86*	*Chimie thérapeutique*
François BONNEAUX	*86*	*Chimie thérapeutique*
Ariane BOUDIER	*85*	*Chimie Physique*
Cédric BOURA	*86*	*Physiologie*
Igor CLAROT	*85*	*Chimie analytique*
Joël COULON	*87*	*Biochimie*
Sébastien DADE	*85*	*Bio-informatique*
Dominique DECOLIN	*85*	*Chimie analytique*
Roudayna DIAB	*85*	*Pharmacie clinique*
Joël DUCOURNEAU	*85*	*Biophysique, Acoustique*
Florence DUMARCAY	*86*	*Chimie thérapeutique*
François DUPUIS	*86*	*Pharmacologie*

ENSEIGNANTS (suite)	*Section CNU**	*Discipline d'enseignement*
Raphaël DUVAL	*87*	*Microbiologie*
Béatrice FAIVRE	*87*	*Hématologie*
Adil FAIZ	*85*	*Biophysique, Acoustique*
Luc FERRARI	*86*	*Toxicologie*
Caroline GAUCHER-DI STASIO	*85/86*	*Chimie physique, Pharmacologie*
Stéphane GIBAUD	*86*	*Pharmacie clinique*
Thierry HUMBERT	*86*	*Chimie organique*
Frédéric JORAND	*87*	*Santé publique*
Olivier JOUBERT	*86*	*Toxicologie*
Francine KEDZIEREWICZ	*85*	*Pharmacie galénique*
Alexandrine LAMBERT	*85*	*Informatique, Biostatistiques*
Faten MERHI-SOUSSI	*87*	*Hématologie*
Christophe MERLIN	*87*	*Microbiologie*
Blandine MOREAU	*86*	*Pharmacognosie*
Maxime MOURER	*86*	*Chimie organique*
Francine PAULUS	*85*	*Informatique*
Christine PERDICAKIS	*86*	*Chimie organique*
Caroline PERRIN-SARRADO	*86*	*Pharmacologie*
Virginie PICHON	*85*	*Biophysique*
Anne SAPIN-MINET	*85*	*Pharmacie galénique*
Marie-Paule SAUDER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Gabriel TROCKLE	*86*	*Pharmacologie*
Marie-Noëlle VAULTIER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Mohamed ZAIOU	*87*	*Biochimie et Biologie moléculaire*
Colette ZINUTTI	*85*	*Pharmacie galénique*

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER	*86*	*Sémiologie*

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD	*11*	*Anglais*

**Discipline du Conseil National des Universités :*
80ème et 85ème : Sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé
81ème et 86ème : Sciences du médicament et des autres produits de santé
82ème et 87ème : Sciences biologiques, fondamentales et cliniques

32ème : Chimie organique, minérale, industrielle

11ème : Langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

Serment Des Apothicaires

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels. Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

A Madame le Professeur Brigitte LEININGER-MULLER

Professeur de biochimie à la faculté de Pharmacie de Nancy

Vous me faites l'honneur d'accepter la présidence de ce jury.

Veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude et de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Jean Luc OLIVIER

Professeur de biochimie à la faculté de Médecine de Nancy

Vous m'avez fait l'honneur de juger ce travail.

Veuillez trouver ici le témoignage de mon très grand respect
et l'expression de mes remerciements sincères.

A Madame le Docteur Patricia FRANCK,

Docteur en Biologie Médicale à la Maternité Régionale Universitaire

Je vous remercie pour votre aide précieuse, votre patience et votre implication en tant que directrice de thèse. Merci pour tous les précieux conseils que vous m'avez prodigués tout au long de ce travail.

Soyez assurée de ma sincère reconnaissance.

A Madame le Docteur Jeanne FRESSON

Docteur à la Maternité Régionale Universitaire

Je vous suis reconnaissante de l'intérêt et du soutien que vous avez porté sur ce travail. Vous me faites l'honneur de participer à ce jury.

Veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude et de mon profond respect.

A Monsieur le Docteur Alain MITON

Gynéco-obstétricien à la Maternité Régionale Universitaire

Vous avez accepté de participer à ce travail et d'en juger le contenu.

Soyez assuré de ma profonde reconnaissance.

A l'ensemble des Biologistes du laboratoire de la maternité

Pour votre accueil et votre pédagogie

A Marie-Christine Przybylski

Pour ton implication dans ce travail. Pour ton sourire et ta bonne humeur

A l'ensemble du personnel du laboratoire de la maternité

Pour votre accueil et votre soutien technique

A Madame le Docteur Nadia Dandachi

Pour votre gentillesse et votre disponibilité

A l'ensemble du personnel des laboratoires

Pour votre accueil chaleureux. Pour avoir participé à ma formation

A mes parents, Thierry et Patricia

Je vous remercie pour tout l'amour que vous me portez, pour m'avoir toujours soutenue, pour votre fierté.

A ma sœur Olivia et son ami Christophe

A ma petite sœur Marie,

Merci pour ta gentillesse, ta joie de vivre, ton amour inconditionnel

A mes grands-parents

Merci pour votre soutien, pour votre présence, et pour avoir passé des vacances inoubliables à vos cotés

A Liam, mon filleul

A mes amies

Votre présence m'a tant manquée toutes ces années

A mes co-internes et copains

TABLES DES MATIERES

Sommaire

Liste des tableaux 21
Liste des figures 22
Liste des abréviations 24

INTRODUCTION 25

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES 28
I. GENERALITES SUR LA TRISOMIE 21 29
A. Historique 29
B. Epidémiologie 29
C. Aspects cliniques et sociaux 31
1. Le diagnostic clinique 31
2. Le retard mental 31
3. Les pathologies les plus fréquemment rencontrées 32
4. La prise en charge de la trisomie 21 32
5. Evolution de la maladie 33
D. Aspects génétiques 34
1. Le chromosome 21 34
2. La trisomie libre et homogène 34
3. La trisomie 21 en mosaïque 37
4. La trisomie 21 par translocation 37
E. Le diagnostic de certitude : le caryotype fœtal 38
1. Les indications du caryotype fœtal (depuis juin 2009) 39
2. Les différents types de prélèvements 40
3. Les autres techniques 42
II. LA MISE EN PLACE DU DEPISTAGE DE LA TRISOMIE 21 43
A. Historique du dépistage de la trisomie 21 43
B. Les recommandations faites par l'HAS en 2007 47
1. Critères d'évaluation des stratégies 47
2. Les stratégies évaluées par l'HAS 48
3. Les stratégies recommandées par l'HAS 51

C. Présentation des arrêtés du 23 juin 2009, modifié en février 2010 52
D. Dépistage de la trisomie 21 et loi de la bioéthique 58
III. LE DEPISTAGE DE LA TRISOMIE 21 58
A. L'âge maternel 58
B. Les paramètres échographiques 59
1. La longueur cranio-caudale (LCC) 59
2. La clarté nucale (CN) 62
C. Les marqueurs sériques maternels 71
1. L'hCG totale et la sous-unité β hCG libre 71
2. La Pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A) 80
3. L'alpha foetoprotéine (AFP) 82
4. L'oestriol non conjugué (uE3) 83
D. Paramètres du calcul de risque de trisomie 21 83
1. La datation de la grossesse 83
2. La médiane 83
3. Le multiple de la médiane (MoM) 85
4. La notion de MoM brut et MoM corrigé 85
5. Le rapport de vraisemblance ou le likelihood ratio (LR) 86
E. Le calcul de risque de trisomie 21 87
1. Définition d'un risque 87
2. Définition du dépistage de la trisomie 21 87
3. Principe du calcul de risque du dépistage de la trisomie 21 89
4. Les facteurs influençant le calcul de risque 89

PARTIE EXPERIMENTALE 95
IV. LES OBJECTIFS 96
V. MISE EN PLACE DU DEPISTAGE A LA MRU 96
VI. ORGANISATION DU DEPISTAGE A LA MRU 96
VII. MATERIELS ET METHODES 97
A. Le dépistage de la trisomie 21 97
1. Les patientes 97
2. Mesure échographique de la LCC et de la CN 97
3. Dosage des marqueurs sériques maternels 97
4. Le calcul de risque 98
5. Les issues de grossesse 99
B. La démarche qualité du dépistage de la trisomie 21 101

1. Evaluation des pratiques professionnelles des prescriptions du dépistage de la trisomie 21 101
2. Calcul de la médiane des MoM de la CN par échographiste 103
3. Le suivi de la médiane des MoM des marqueurs sériques 103
VIII. RESULTATS 103
A. Résultats du dépistage de la trisomie 21 103
1. Les patientes 103
2. Proportion de risque accru 105
3. Résultats des issues de grossesse 105
4. Présentation des cas de trisomie 21 110
5. Caractéristiques des différents dépistages 111
6. Comparaison des stratégies de dépistage 111
B. La démarche qualité au cours du dépistage 112
1. EPP des prescriptions 112
2. La médiane des MoM de la CN par échographiste 118
3. Le suivi des médianes des marqueurs sériques 119

DISCUSSION- CONCLUSION 122

BIBLIOGRAPHIE 130

ANNEXES 142

Liste des tableaux

Tableau I. Proportion des anomalies chromosomiques identifiées en France en 2005 30

Tableau II. Risque estimé de récurrence de la trisomie 21 en fonction de l'âge maternel 36

Tableau III. Chronologie des évènements marquants le dépistage de la trisomie 21 46

Tableau IV. Points essentiels des arrêtés parus le 23 juin 2009 57

Tableau V. Valeur médiane (en MoM) de la LCC mesurée lors de diverses aneuploïdies 61

Tableau VI. Impact d'une erreur de mesure de la LCC sur le risque de trisomie 21 62

Tableau VII. Etudes évaluant la performance de la mesure de la CN dans le dépistage de la trisomie 21 66

Tableau VIII. Nombre d'aneuploïdies détectées selon diverses stratégies 67

Tableau IX. Influence de certains facteurs sur les concentrations des marqueurs sériques..... 94

Tableau X. Caractéristiques cliniques des patientes dépistées à la MRU en 2010..... 104

Tableau XI. Structure en âge de la population pour chaque type de dépistage..... 105

Tableau XII. Proportion (en %) de patientes à risque accru par type de dépistage..... 105

Tableau XIII. Issues de grossesse des patientes à faible risque dépistées au premier trimestre 106

Tableau XIV. Issues de grossesse des patientes à risque élevé dépistées au premier trimestre 107

Tableau XV. Dépistage du second trimestre intégré : issues de grossesse des patientes à risque faible 108

Tableau XVI. Issues de grossesse pour le dépistage du second trimestre intégré (risque accru) 108

Tableau XVII. Dépistage du second trimestre sérique : issues de grossesse des patientes à risque accru 109

Tableau XVIII. Issues de grossesse pour le second trimestre sérique 110

Tableau XIX. Détails du dépistage des patientes porteuses d'un fœtus/enfant trisomique..... 110

Tableau XX. Taux de détection et pourcentage de faux positif pour chaque stratégie de dépistage 111

Tableau XXI. Comparaison des stratégies de dépistage du premier trimestre au dépistage du second trimestre 112

Tableau XXII. Comparaison du dépistage du second trimestre sérique au second trimestre intégré 112

Tableau XXIII. Prescriptions non calculables par le logiciel de calcul Prisca 4.0 ® 117

Tableau XXIV. Prescriptions conformes à l'Arrêté du 23 juin 2009 ou l'accréditation 118

Liste des figures

Figure 1. Risque relatif d'anomalies chromosomiques en fonction de l'âge gestationnel 30

Figure 2. Prévalence (%) de la trisomie 21 à la naissance en fonction de l'âge maternel 35

Figure 3. Exemple de caryotype d'une trisomie 21 libre et homogène 38

Figure 4. Prélèvement de cellules trophoblastiques par biopsie du trophoblaste 40

Figure 5. Prélèvement de cellules fœtales par amniocentèse 41

Figure 6. Prélèvement de sang fœtal par ponction du cordon ombilical 41

Figure 7. Parcours schématique du diagnostic prénatal recommandé par l'HAS en juin 2007 52

Figure 8. Exemple de mesure de la LCC 59

Figure 9. Détermination de l'âge gestationnel en fonction de la LCC par la courbe de Robinson ou par la courbe de Wisser 60

Figure 10. Exemple de mesure de la CN 63

Figure 11. Valeur de la CN en fonction de l'âge gestationnel évaluée par la LCC 65

Figure 12. a) Variation du taux de détection en fonction de la déviation de la mesure de la CN médiane. b) Variation du taux de faux positif en fonction de la variation de la médiane de CN 68

Figure 13. Critères du score d'Herman 70

Figure 14. Représentation schématique des différentes formes moléculaires de l'hCG 72

Figure 15. Profil de sécrétion de l'hCG et de ses 2 sous-unités au cours de la grossesse 73

Figure 16. Classification des sites antigéniques présents à la surface de l'hCG 76

Figure 17. Structure glycanique de l'hCG normale et de l'hCG hyperglycosylée lors de trisomie 21..... 77

Figure 18 a : Nombre de cas de trisomie 21 détecté par l'utilisation de la β hCG et l'hCG totale

b : Perte iatrogène évitée par l'utilisation de la β hCG libre versus l'hCG totale 79

Figure 19. Structure hétérotétramérique de la PAPP-A 80

Figure 20. Détermination de la médiane en AFP à 16 SA 84

Figure 21. Exemple de médiane de référence de l'AFP 85

Figure 22. Exemple de rapport de vraisemblance pour l'hCG totale 86

Figure 23. Principe de dosage des marqueurs sériques 98

Figure 24. Présentation de la configuration du calcul de risque du logiciel Prisca 4.0 ®..... 98

Figure 25. Schéma d'organisation informatique du calcul du risque à la MRU 99

Figure 26. Présentation de l'onglet "caryotype" du logiciel Statiss ®..... 100

Figure 27. Présentation de l'onglet " issue de grossesse" du logiciel Statiss ®..... 101

Figure 28. Proportion (en %) des paramètres correctement renseignés sur l'ordonnance 113

Figure 29. Paramètres du consentement écrit de la patiente correctement renseignés 114

Figure 30. Renseignements échographiques correctement renseignés 115

Figure 31. Renseignements cliniques correctement renseignés 115

Figure 32. Proportion (en %) des renseignements cliniques correctement renseignés 116

Figure 33. Médiane des MoM de la CN par échographiste 119

Figure 34. Suivi des médianes des MoM pour la béta hCG libre 120

Figure 35. Suivi des médianes des MoM pour la PAPP-A 120

Figure 36. Suivi des médianes des MoM pour l'AFP 121

Figure 37. Suivi des médianes des MoM pour l'hCG totale 121

Liste des abréviations

ABA : association des biologistes agréés pour le dépistage de la trisomie 21

ABM : agence de la biomédecine

Ac : anticorps

ADN : acide désoxyribonucleique

AFP : alpha foetoprotéine

AFSSAPS : agence française de sécurité sanitaire des produits de santé

hCG : hormone chorionique gonadotrope

β hCG : bêta hormone chorionique gonadotrope

CE : communauté européenne

CN : clarté nucale

CPDPN : centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal

CQ : contrôle de la qualité

DDG : date de début de grossesse

EPP : évaluation des pratiques professionnelles

FIV : fécondation *in vitro*

FSH : hormone folliculo-stimulante

HAS : haute autorité de santé

IGF: Insulin-like Growth Factor

IGFBP-4: Insulin-like Growth Factor Binding Protein-4

LCC : longueur cranio-caudale

LR : likelihood ratio

MRU : maternité régionale universitaire

MoM : multiple de la médiane

PAPP-A : pregnancy-associated plasma protein A

PCR : polymerase chain reaction

SA : semaine d'aménorrhée

uE3 : l'estriol non conjugué

INTRODUCTION

La trisomie 21, aussi appelée Syndrome de Down, est l'anomalie chromosomique la plus fréquente [17]. Elle résulte de la présence d'un chromosome 21 surnuméraire. La trisomie 21 se traduit par de multiples malformations anatomiques, un aspect morphologique particulier et un retard mental constant plus ou moins sévère [97]. En France, seul le caryotype fœtal, réalisé à partir d'un prélèvement de cellules fœtales, permet d'affirmer le diagnostic de trisomie 21.

Depuis les années trente, il a été clairement établi que la prévalence de la trisomie 21 augmente avec l'âge maternel [50]. C'est pourquoi, en France, depuis la fin des années 1970, le caryotype fœtal était proposé systématiquement à toutes femmes enceintes âgées de trente-huit ans au moment de leur grossesse. Cette stratégie permettait de détecter environ 30 % des grossesses avec un fœtus atteint de trisomie 21. Cependant, cette stratégie excluait les femmes plus jeunes qui présentaient, certes un risque plus faible de survenue de trisomie 21, mais chez qui survenaient 70 % des grossesses avec un fœtus atteint de trisomie 21[17, 40]. Toutefois, en raison des risques associés aux techniques de prélèvement de cellules fœtales (perte fœtale essentiellement), du nombre limité de laboratoire de cytogénétique et du coût des examens, le diagnostic prénatal de la trisomie 21 n'a pas été proposé de façon systématique à toutes les femmes enceintes. Le dépistage prénatal a alors été développé [97].

En France, l'arrêté du 23 janvier 1997 [3] légalise le dépistage prénatal de la trisomie 21. A cette époque, le dépistage reposait sur le dosage d'au moins deux marqueurs sériques maternels réalisé entre la quinzième et la dix-huitième semaine d'aménorrhée (SA). Les pratiques de dépistage se sont progressivement diversifiées avec l'utilisation de la mesure échographique de la clarté nucale (CN) mesurée au premier trimestre. La coexistence de différentes stratégies de dépistage conduit à un taux d'amniocentèse de l'ordre de 11% [17, 97].

En juin 2007, la Haute Autorité de Santé (HAS) publie un rapport sur le dépistage de la trisomie 21 et propose une évolution des stratégies. L'objectif est d'obtenir des taux de détection plus élevés tout en limitant les taux de faux positifs, de façon à réduire le nombre d'actes invasifs nécessaires. L'arrêté du 23 juin 2009 [8] officialise les différentes stratégies de dépistage. Le dépistage devient réalisable à partir du premier trimestre de grossesse (de la

onzième jusqu'à la treizième SA et six jours). Le dépistage du premier trimestre repose à la fois sur le dosage de deux marqueurs sériques (Pregnancy-Associated Plasma Protein A (PAPP-A) et fraction libre de l'hormone bêta chorionique gonadotrope (β hCG)), combiné à la mesure échographique de la CN. La valeur du seuil de risque potentiel reste toujours fixée à 1/250. Au-delà de ce seuil (> 1/250), il est proposé à la femme enceinte une étude du caryotype fœtal.

Depuis le 11 janvier 2010, le dépistage de la trisomie 21 a été mis en place au sein du laboratoire de biologie médicale de la Maternité Régionale Universitaire (MRU). Le premier objectif de ce travail était d'analyser les résultats du dépistage sur l'ensemble de l'année 2010 à partir du recueil des issues de grossesse, et de comparer les différentes stratégies actuellement proposées. Le second objectif a été d'évaluer la qualité au cours du processus de dépistage au travers d'évaluation des pratiques professionnelles (EPP) portant sur les prescriptions, et au travers du suivi des médianes de la CN et des marqueurs sériques.

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

I. GENERALITES SUR LA TRISOMIE 21

A. Historique

C’est en 1846 que le Docteur Edouard Séguin décrit pour la première fois le visage très caractéristique des individus trisomiques. En 1866, le chirurgien britannique John Down fait une description clinique détaillée des personnes trisomiques d'où le nom de syndrome de Down. C'est à lui que l’on doit aussi les termes de "mongolien et mongolisme" car il a observé que les trisomiques ressemblaient étrangement aux peuples de Mongolie. C’est seulement un siècle après, en 1959, que les Docteurs Lejeune, Gautier et Turpin mettent en évidence la présence d’un chromosome 21 surnuméraire chez un enfant « mongolien » [32, 78].

B. Epidémiologie

Les aneuploïdies sont observées dans environ 5 % des grossesses [17]. Le risque d’anomalie chromosomique augmente avec l’âge maternel, mais il diminue avec l’âge gestationnel. Les fœtus porteurs d’une anomalie chromosomique ont un risque plus élevé de donner lieu à une fausse couche que les fœtus sains [83]. Ainsi, plus de 98 % des fœtus aneuploïdes meurent *in utero* [91].

La trisomie 21, quant à elle, est responsable d’une fausse couche spontanée sur 43 au premier trimestre [40]. Au cours de la grossesse, la mort fœtale *in utero* se retrouve après le premier trimestre, où la fréquence de trisomie 21 à 16 SA est de 25 % supérieure à celle observée à terme [40] (Figure 1).

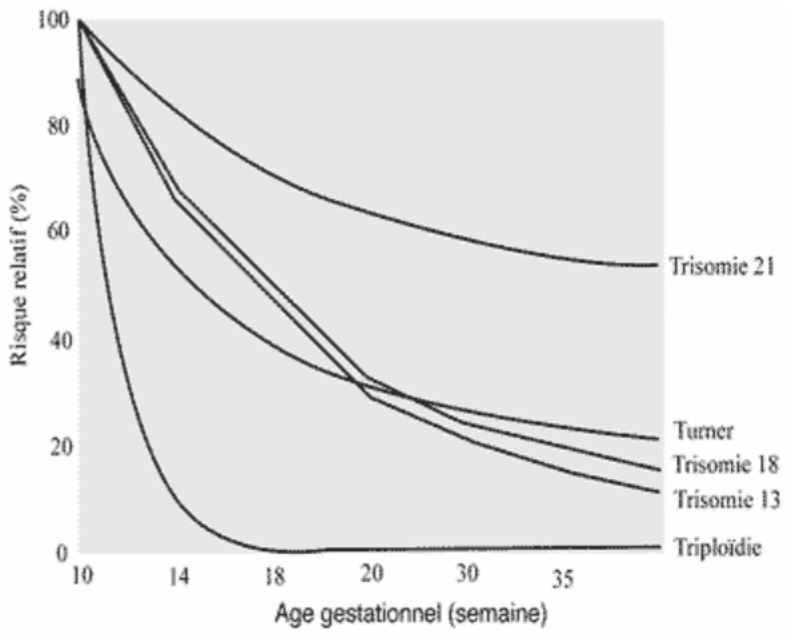


Figure 1. Risque relatif d'anomalies chromosomiques en fonction de l'âge gestationnel [83]

Parmi les grossesses aboutissant à une naissance, la trisomie 21 représente la principale étiologie d'anomalie chromosomique identifiée en France, soit plus de 40 % des aneuploïdies (Tableau I). La prévalence actuelle de la maladie est estimée à 1/700 naissances vivantes, avec un sex-ratio de trois garçons pour deux filles **[17]**. La fréquence de la trisomie 21 est constante dans tous les groupes géographiques et dans tous les groupes sociaux économiques [19].

Tableau I. Proportion des anomalies chromosomiques identifiées en France en 2005 [17]

Anomalie chromosomique	Proportion (en %) *
Trisomie 21	41
Trisomie 18	12,6
Trisomie 13	4,7
Syndrome de Turner et associés	6,8
Syndrome de Klinefelter et associés	2,3
Trisomie X	1,5
Autres anomalies déséquilibrées	15,1
Anomalies équilibrées	16

* soit 4494 anomalies chromosomiques pour 88 273 caryotypes réalisés

C. Aspects cliniques et sociaux

1. Le diagnostic clinique

Chez le nourrisson et le grand enfant, le diagnostic clinique est basé sur la dysmorphie craniofaciale caractéristique de la trisomie 21 [78]. En effet, le crâne est petit, l'occiput est plat (87 %), ce qui confère au visage une forme ronde et plate. De même, la racine du nez est plate ; le nez est court. Les patients atteints de trisomie 21 présentent souvent des anomalies au niveau de l'oreille : elles sont petites et rondes, bas implantées, avec le bord supérieur mal ourlé, replié vers l'avant, avec un lobule parfois hypotrophique et adhérant. Au niveau des yeux, la présence de petites taches blanchâtres à la périphérie de l'iris (aussi appelées taches de Brushfield) est caractéristique. La bouche est petite, et renferme une langue grosse et protruse [43]. L'aspect de la nuque, courte, plate et large, avec un excès de peau, représente un élément de grande valeur diagnostique chez un nouveau-né (60%). Les mains sont larges et trapues, ne présentant qu'un seul pli palmaire transverse (33%). Il peut exister une brachymésophalangie qui se traduit par le raccourcissement de la phalange médiane par rapport à la troisième. De même, une clinodactylie correspondant à une déviation latérale interne des cinquièmes doigts peut être observée. Ces deux anomalies touchent environ 60 % des enfants trisomiques 21. Les pieds sont larges, petits et plats ; les orteils sont courts et les deux premiers sont trop espacés. Les organes génitaux sont normaux [43]. Le diagnostic clinique est quelquefois délicat chez le nouveau-né et le prématuré ou chez les enfants d'origine africaine ou asiatique. C'est surtout l'hypotonie marquée qui peut conduire le clinicien à rechercher quelques signes évocateurs.

2. Le retard mental

Le retard mental est constant mais d'intensité variable en fonction de la qualité de la prise en charge des enfants atteints (en particulier familial). Le quotient intellectuel diminue dans les premières dizaines d'années de vie [78]. Il est en moyenne de 50 à 5 ans et de 38 vers 15 ans (avec des extrêmes allant de 38 à 80). Les facultés de raisonnement abstrait sont les plus touchées, alors que l'affectivité et la sociabilité sont relativement bien conservées [19].

3. Les pathologies les plus fréquemment rencontrées

Les pathologies les plus fréquentes sont souvent secondaires à l'hypotonie et à l'hyperlaxité ligamentaire. Les malformations cardiaques sont les plus fréquentes, retrouvées chez 50 % des trisomiques [43]. L'atteinte au niveau du canal atrio-ventriculaire (45 %) est souvent à l'origine d'un décès néonatal [78]. Des problèmes auditifs surviennent dans 38 à 78 % des cas [78]. En effet, les fréquentes otites séreuses asymptomatiques peuvent conduire précocement une surdité. Les manifestations ophtalmologiques augmentent avec l'âge. En effet, 38 % des enfants présentent des troubles ophtalmiques avant leur première année de vie, contre 80 % à l'âge de 5 à 12 ans. Les atteintes les plus fréquentes sont le strabisme (27 à 57 %) et le nystagmus (20%) [78].

Les malformations digestives comportent essentiellement la sténose duodénale (une sur trois se retrouve chez le sujet trisomique). Les apnées du sommeil ne sont pas rares même chez le jeune. Les déséquilibres thyroïdiens sont souvent d'origine auto-immune en particulier l'hypothyroïdie (15 %). Les symptômes ressemblent aux manifestations de la trisomie 21 et peuvent être masqués. L'existence de variations dans le fonctionnement du système immunitaire rend les personnes trisomiques plus fragiles aux infections et aux maladies auto-immunes. La peau est souvent sèche et fragile. A l'adolescence, des folliculites et des mycoses sont fréquentes dans les régions des plis. Les leucémies aigues sont vingt fois plus fréquentes que dans la population ordinaire, en particulier la leucémie aigue mégacaryocytaire qui est plus fréquente entre 1 et 3 ans [78].

4. La prise en charge de la trisomie 21

Une prise en charge globale et précoce de l'enfant est primordiale sur le plan médical, paramédical et psychologique. La prise en charge médicale doit comprendre [78] :

- **A la naissance** : il est important de réaliser un bilan malformatif en particulier au niveau cardiaque, digestif, urologique, endocrinien et hématologique (polyglobulie chez 64 % des cas, macrocytose dans 66 % des cas, désordre myéloprolifératif transitoire tel que la leucémie aiguë myéloïde ou lymphoïde qui régressent spontanément à l'âge de 2 à 3 mois). Il est nécessaire de pratiquer également un examen oculaire et auditif.

- **Chez le nourrisson et l'enfant** : un suivi régulier doit comporter un bilan annuel ophtalmologique et auditif, un bilan annuel stomatologique, un bilan annuel musculo-squelettique, une surveillance digestive attentive, un bilan endocrinien annuel ainsi qu'un bilan hématologique annuel (hémopathies). Il faut aussi essayer de prévenir l'obésité car les patients atteints de trisomie 21 ont un métabolisme ralenti.

- **Chez l'adolescent**: l'attention doit porter sur le déroulement du développement pubertaire qui débute le plus souvent aux âges habituels. La fertilité des filles est habituellement normale et la mise en place d'une méthode contraceptive doit être discutée. Les garçons présentent habituellement une insuffisance gonadique entraînant une stérilité.

- **Chez l'adulte**: l'évolution clinique est marquée par un vieillissement prématuré nécessitant une surveillance cardio-vasculaire, sensorielle ainsi que neurologique.

La prise en charge paramédicale comporte :

- Une **kinésithérapie** qui doit être mise en place précocement en raison de l'hypotonie.
- Une **orthophonie** précoce et adaptée, afin de lutter contre l'hypotonie buccolinguale habituelle et de guider l'apprentissage du langage [19].

5. Evolution de la maladie

L'amélioration de la prise en charge multidisciplinaire a permis une augmentation de l'espérance de vie, qui est passée de 25 ans en 1983 à 49 ans en 1997 [78]. Le pronostic vital reste toutefois conditionné par l'existence des diverses malformations, la sensibilité aux infections, sans oublier le risque accru de leucémies chez les sujets trisomiques [19].

Avec l'âge, la dysmorphie se modifie, surtout du fait du vieillissement précoce. Une hypothyroïdie peut apparaître. Il existe souvent une cataracte. Le handicap mental s'aggrave du fait principalement de l'apparition d'une démence proche de celle de la maladie d'Alzheimer pouvant débuter à l'âge de 35 ans (75 % après l'âge de 60 ans) [17, 78].

D. Aspects génétiques

La trisomie 21 est due à la présence d'un chromosome 21 surnuméraire. En 1959, l'équipe du docteur Lejeune met en évidence cette anomalie. Il existe trois sous types de trisomie 21 : la trisomie 21 libre et homogène, par translocation, par mosaïque.

1. Le chromosome 21

Le chromosome 21 est l'un des plus petits du génome humain comptant environ quarante-sept mégabases. Il possède un bras court 21p mal connu et un bras long 21q qui est complètement séquencé (constitué de 33,6 mégabases, il représente environ 1 % du génome humain). Deux cent quatre-vingt-seize gènes ont déjà été identifiés [17].

La présence de trois chromosomes 21 provoque l'expression anormale de protéines issues de gènes situés sur le chromosome 21. L'anomalie globale est d'ordre quantitatif [17]. L'étude du chromosome 21 a mis en évidence qu'un ensemble de gènes étaient impliqués dans les mêmes voies métaboliques ou systèmes biologiques. En effet, seize gènes participeraient à la production d'énergie mitochondriale et dans la production de radicaux libres. Il existe un lien entre le dysfonctionnement mitochondrial et la maladie d'Alzheimer fréquemment rencontrée au cours de la trisomie 21 [78].

2. La trisomie libre et homogène

La trisomie 21 libre et homogène correspond à la présence d'un chromosome 21 surnuméraire dans toutes les cellules de l'organisme. Elle est responsable du syndrome dans 93 % des cas [40].

a) Le mécanisme de non-disjonction méiotique

L'origine du chromosome surnuméraire est due à une non-disjonction méiotique. L'erreur de répartition des chromosomes peut survenir au cours de la première ou deuxième division de méiose. Elle conduit à la formation de gamètes à 24 ou 22 chromosomes. Après fécondation par un gamète normal, il y a formation d'un zygote aneuploïde à 47 ou à 45 chromosomes (situation létale le plus souvent) [40].

Dans plus de 90 % des cas de trisomie 21, le chromosome 21 supplémentaire est d'origine maternelle [65, 91]. La non-disjonction a lieu le plus souvent à la première division de méiose [39, 50, 65]. Dans 5 % des cas, la non-disjonction méiotique est paternelle et a lieu en deuxième division [19, 65]. La fréquence et le mécanisme de non-disjonction varient en fonction du contexte génétique puisque dans l'ovocyte une erreur de première division méiotique est trois fois plus fréquente qu'une erreur de deuxième division méiotique tandis qu'elles sont de fréquence égale dans les spermatocytes [91].

b) Effet de l'âge maternel

En 1933, les travaux de Penrose [73] ont permis de démontrer l'étroite relation entre l'augmentation de fréquence de trisomie 21 et l'âge maternel. Son importance est considérable. En effet, la prévalence de naissances trisomiques 21 augmente de façon exponentielle à l'âge de 35 ans (Figure 2). La diminution avec l'âge maternel du pool des oocytes matures est un facteur de prédisposition de la trisomie 21 [91]. L'âge maternel a d'ailleurs constitué une première forme de dépistage : à la fin des années 1970, une étude du caryotype fœtal est proposée à toute femme enceinte âgée d'au moins 38 ans.

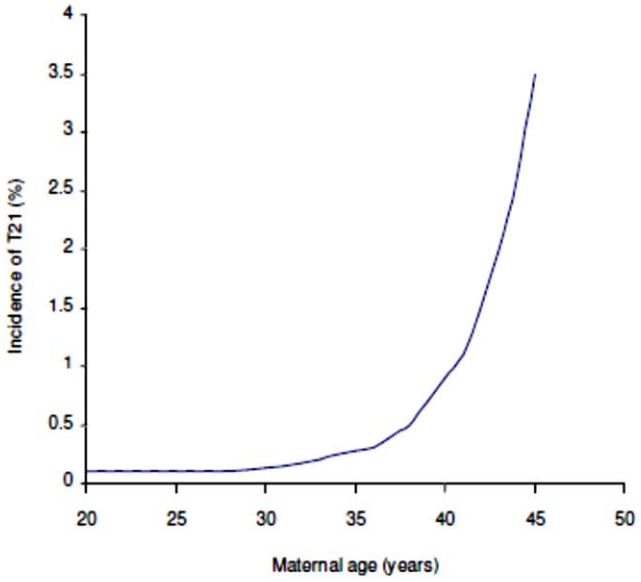


Figure 2. Prévalence (%) de la trisomie 21 à la naissance en fonction de l'âge maternel [50]

c) La récurrence de la trisomie 21 libre et homogène

Si un couple a donné naissance à un enfant atteint de trisomie 21 libre et homogène, le risque de récurrence dépend à la fois de l'âge de la mère lors de la naissance de l'enfant et de son âge actuel (Tableau II) [40]. Par exemple, si la mère est âgée de moins de 30 ans à la naissance de l'enfant trisomique et si elle envisage une nouvelle grossesse avant l'âge de 30 ans, le risque de récurrence est celui lié à l'âge maternel multiplié par 8 [65].

Tableau II. Risque estimé de récurrence de la trisomie 21 en fonction de l'âge maternel [65]

Age de la mère	Risque de récurrence
Cas index < 30 Grossesse ultérieure < 30 ans (n=2083)	Risque lié à l'âge X 8
Cas index < 30 ans Grossesse ultérieure > 30 ans (n=1051)	Risque lié à l'âge X 2,2
Cas index > 30 ans (n=1722)	Risque lié à l'âge X 1,6

n= nombre de cas

d) La trisomie 21 chez un apparenté

Lorsque la trisomie 21 libre et homogène est présente chez un apparenté, aucun argument concluant n'est en faveur de l'augmentation du risque pour les autres membres de la famille. Toutefois, il reste important et indispensable de connaître la forme cytogénétique du cas familial afin de vérifier qu'il ne s'agit pas d'une translocation familiale [40].

e) La descendance des parents atteints de trisomie 21

Les hommes atteints de trisomie 21 libre et homogène étant stériles, aucun cas de descendance n'a encore été décrit. Quant aux femmes, la fertilité semble conservée, elles peuvent donner naissance aussi bien à des enfants atteints de trisomie 21 qu'à des enfants non atteints [19]. Dans une série de 25 enfants nés de mère trisomiques 21, 10 étaient atteints et 15 avaient un caryotype normal [40].

3. La trisomie 21 en mosaïque

Seulement 3% des sujets trisomiques ont une trisomie 21 en mosaïque. Une mosaïque survient lorsque la non-disjonction se produit non pas lors de la méiose mais lors des premières divisions mitotiques [19]. Deux populations cellulaires coexistent : l'une normale, l'autre avec trois chromosomes 21 en proportion variable d'un tissu à l'autre. La gravité du syndrome dépend de la quantité de cellules anormales et surtout de leurs localisations tissulaires : c'est pourquoi le pourcentage de cellules atteintes dans le caryotype ne permet pas d'émettre un pronostic [40].

4. La trisomie 21 par translocation

Les translocations sont à l'origine de moins de 5 % des trisomies. Elles sont *de novo* le plus souvent. Dans les translocations *de novo*, les deux parents ont un caryotype normal : la translocation survient comme un événement sporadique sans risque particulier de récidive. Dans les translocations héritées, le risque de récurrence est élevé dans la descendance de celui qui porte le remaniement équilibré et dépend du type de translocation [40]. Il existe deux types de translocations : les translocations réciproques et les translocations robertsoniennes.

a) La translocation réciproque

La translocation réciproque correspond à 5 % des trisomies 21 par translocation. Elles résultent de l'échange de fragments chromosomiques entre deux chromosomes non homologues à la suite d'une cassure sur un bras de chaque chromosome. Les fragments chromosomiques distaux aux points de cassure échangent leur position [19].

f) La translocation robertsonienne

Cette forme de translocation est retrouvée dans la majorité des cas (soit 95 % des translocations). Couramment appelées par fusion centrométrique, elles résultent de la translocation du chromosome 21 sur un autre chromosome acrocentrique. La translocation a lieu au niveau du centromère ou au niveau du bras court. Les chromosomes appartiennent soit au groupe D (chromosomes 13,14,15) soit au groupe G (chromosomes 21,22). La translocation la plus souvent observée est la t(14-21). Le risque de trisomie 21 est important

lorsque la translocation [t(14 ;21) ou t(21 ;22)] est maternelle. Le risque de trisomie 21 est de 10 à 15 %. Lorsque la translocation est présente chez le père, le risque est 2 à 5 %. Lors d'une translocation entre deux chromosomes 21, le couple ne peut avoir qu'un enfant trisomique 21 [19].

E. Le diagnostic de certitude : le caryotype fœtal

Le diagnostic de trisomie 21 repose sur l'établissement du caryotype fœtal. La technique s'est standardisée au cours des années 1960 à partir du prélèvement de liquide amniotique. Le premier diagnostic prénatal de trisomie 21 fut réalisé en 1968.

Le caryotype fœtal permet la représentation et la classification des chromosomes lors de la métaphase au cours de la mitose. Trois étapes sont nécessaires à sa réalisation : obtenir des cellules en division par la mise en culture, puis l'obtention de métaphases, et enfin identification des chromosomes. En moyenne, un délai de 14 jours de culture est nécessaire pour effectuer un caryotype (que ce soit pour un liquide amniotique ou une biopsie des villosité choriales) [17]. Le caryotype fœtal met en évidence dans le cas de la trisomie 21 libre et homogène, la présence de 47 chromosomes avec trois chromosomes 21 indépendants dans toutes les cellules (Figure 3).

Figure 3. Exemple de caryotype d'une trisomie 21 libre et homogène [40]

1. Les indications du caryotype fœtal (depuis juin 2009)

En France, le caryotype fœtal était pris en charge par l'Assurance Maladie à la fin des années 1970 pour toute femme âgée de plus de 40 ans. Par la suite, cette limite d'âge a été abaissée à 38 ans. Depuis la parution de l'arrêté du 23 juin 2009 [8], le caryotype fœtal peut être réalisé dans les circonstances suivantes [30] :

- **Le remaniement chromosomique parental** : Dans le cas de la trisomie 21, la situation la plus fréquente correspond à la translocation robertsonienne entre un chromosome 14 et un chromosome 21 chez l'un des parents. On retrouve également tous les types de translocations, robertsoniennes ou non, impliquant le chromosome 21. D'une manière générale, tout remaniement chromosomique parental conduit à proposer un diagnostic prénatal.

- **Les antécédents pour le couple de grossesse(s) avec caryotype anormal** : Le risque de récurrence de la trisomie 21 lorsque les caryotypes parentaux sont normaux est estimé à 1%. Cette élévation du risque peut être en rapport avec un faible mosaïsme de trisomie 21 chez l'un des parents mais peut être aussi en rapport avec une prédisposition à la production de gamètes déséquilibrés.

- **Les marqueurs sériques maternels** : Un diagnostic prénatal est proposé lorsque le risque estimé par le dépistage de la trisomie 21, réalisé au premier comme au second trimestre, est supérieur ou égal à 1/250.

- **Signes d'appel échographiques** : Lors de l'examen échographique du premier trimestre, les anomalies du développement ou de malformations spécifiques de la trisomie 21 sont actuellement détectables. Un signe majeur est représenté par l'augmentation de la CN. L'échographie précoce permet aussi parfois de retrouver des anomalies cardiaques très évocatrices de trisomie 21. L'échographie morphologique du deuxième trimestre permet de dépister principalement des malformations cardiaques et des malformations digestives.

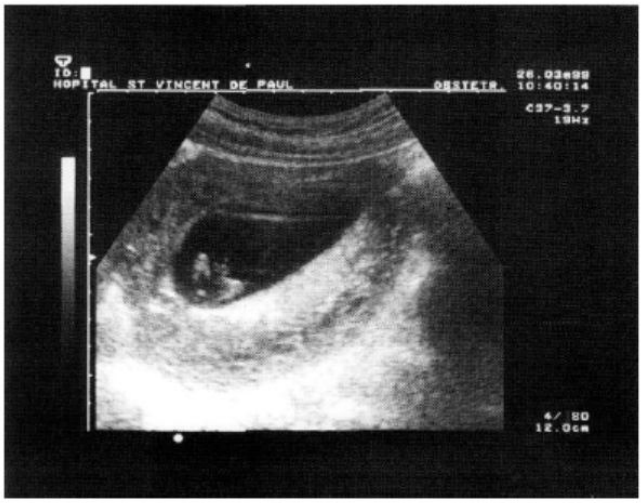
- **Uniquement à titre exceptionnel** : un âge maternel supérieur ou égal à 38 ans au moment à la date du prélèvement, si la patiente n'a pas pu bénéficier d'aucun dépistage de la trisomie 21.

- **Diagnostic de sexe** : réalisé pour les maladies liées au sexe

2. Les différents types de prélèvements

Selon l'arrêté du 23 juin 2009 [8], le caryotype fœtal peut être réalisé à partir de divers types de prélèvements. Le choix de la technique dépend à la fois de l'indication et du terme. Ces prélèvements sont précédés d'une consultation spécifique de discussion et d'information au cours de laquelle est obtenu le consentement écrit de la patiente. Tous ces gestes sont réalisés sous échoguidage. Trois types de prélèvements fœtaux sont possibles :

- Des **cellules trophoblastiques** obtenues par biopsie du trophoblaste (ou prélèvement des villosités choriales) (Figure 4). Cette technique a été instaurée en France en 1982. Elle permet l'obtention d'un diagnostic précoce. En effet le prélèvement est effectué habituellement entre 10 et 13 SA. Le risque de fausse couche est estimé de 0,5 à 1 %. Ce risque semble être significativement moins important que celui d'une amniocentèse précoce [59].



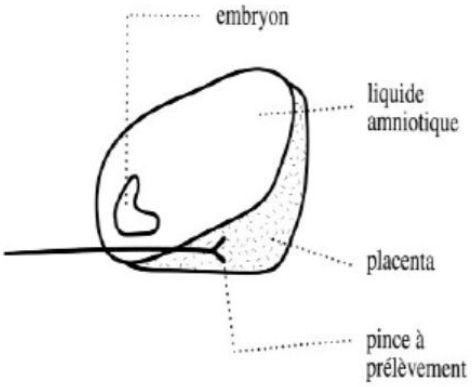


Figure 4. Prélèvement de cellules trophoblastiques par biopsie du trophoblaste [40]

- Des **cellules fœtales** du liquide amniotique prélevé par amniocentèse (Figure 5). Cette technique s'est développée en France en 1973. Le terme classique de sa réalisation se situe entre 15 et 17 SA. L'amniocentèse reste possible avant ce terme (dès 11 à 12 SA) mais le risque de fausse couche semble alors majoré. Les fausses couches constituent le risque le plus fréquent. Le taux est estimé à 0,5 à 1 %. Dans les équipes spécialisées en médecine fœtale, le

risque est légèrement inférieur et se situe entre 0,2 à 0,5 %. Les fausses couches surviennent le plus souvent dans la semaine suivant le prélèvement [59].

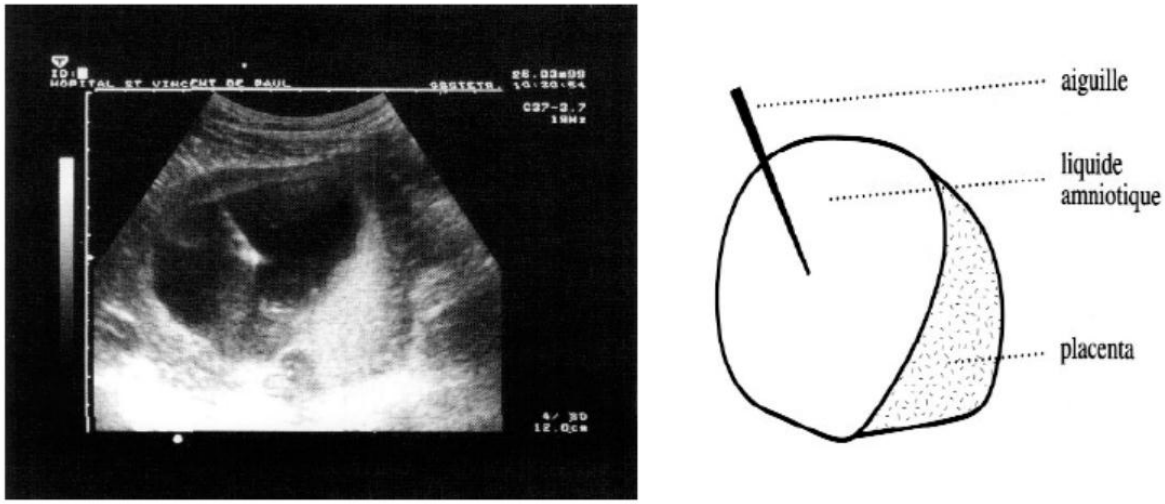


Figure 5. Prélèvement de cellules fœtales par amniocentèse [40]

- Du **sang fœtal** par ponction du cordon ombilical guidée par échographie est réalisable dès 18 SA et jusqu'au terme (Figure 6). Le caryotype est obtenu en quatre à cinq jours. Le taux de complication imputable à cette technique est voisin des 1% [59].

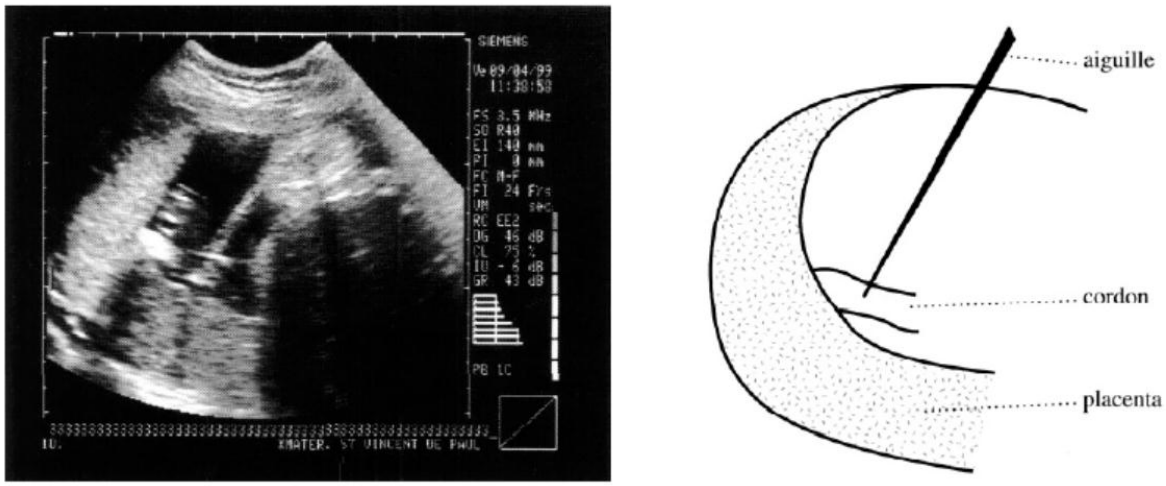


Figure 6. Prélèvement de sang fœtal par ponction du cordon ombilical [40]

3. Les autres techniques

A l'heure actuelle, en France, le caryotype reste la technique de référence qui permet l'identification et la confirmation de l'éventuelle trisomie 21. Le long délai et la mise en culture pour la réalisation du caryotype ont conduit à une discussion sur la place d'autres techniques telle que le FISH ou la biologie moléculaire [17].

a) La cytogénétique moléculaire

La technique de cytogénétique moléculaire la plus fréquemment utilisée en diagnostic prénatal est l'hybridation *in situ* révélée par fluorescence (FISH). Cette technique permet de visualiser sur les métaphases ou les noyaux interphasiques, une région ou un site chromosomique donné. Pour cela, on dispose d'une sonde d'ADN (séquence nucléotidique) qui est spécifique d'un locus ou du chromosome à étudier. L'ADN de la sonde et l'ADN du patient sont dénaturés puis incubés ensembles. Si les deux brins sont partiellement ou complètement complémentaires, il y a formation d'hybride d'ADN/ADN. Les sondes sont détectées par fluorescence grâce à un système d'anticorps couplés à un fluorochrome.

Les techniques de FISH sur les noyaux interphasiques permettent de faire un diagnostic d'anomalie du nombre de chromosomes [19], dans un délai très court (inférieur à 24 heures). Cependant, les risques de faux négatifs liés à la contamination maternelle, le caractère ciblé de l'examen (études des aneuploïdies des chromosomes 21, 13,18, X et Y) font que cette technique ne peut être qu'une technique de criblage et ne peut dans aucun cas être dissociée d'une étude cytogénétique classique.

b) La PCR fluorescente quantitative

La biologie moléculaire est considérée comme un test rapide de diagnostic (délai de 24 à 72 heures). Contrairement au caryotype, elle ne détecte pas toutes les anomalies mais uniquement celles recherchées à savoir essentiellement la trisomie 21 et plus rarement les trisomies 13 et 18. Toutefois, le caryotype reste indispensable car il existe certaines situations où il est impossible de trancher (en cas de mosaïsme, de contamination par les cellules maternelles lors de prélèvements sanglants, de non amplification d'un des deux allèles) [17].

Cette technique de biologie moléculaire consiste à amplifier des séquences courtes et répétées d'ADN. Ces séquences sont les Short tandem repeats (STRs). Elles sont hautement polymorphiques et stables. Elles peuvent être tri, tétra ou pentanucléotidiques. L'ADN extrait des cellules fœtales contenues dans le liquide amniotique ou issues des villosités choriales, est amplifié par PCR à l'aide d'amorces dont une est marquée par un fluorophore. Une fois que l'échantillon a été amplifié, il est déposé le plus souvent dans un automate de séquence. Après migration par électrophorèse capillaire, les pics de fluorescence sont mesurés et analysés à l'aide de logiciels spécifiques. Chaque pic correspond chez un sujet normal à un allèle. Chaque allèle a une taille différente s'il est polymorphique. Si le sujet est trisomique, soit un allèle supplémentaire est présent, soit un des deux allèles a une surface ou hauteur deux fois plus importante que l'autre l'allèle [17].

II. LA MISE EN PLACE DU DEPISTAGE DE LA TRISOMIE 21

Les années 1960 marquent une standardisation de la technique des caryotypes fœtaux. Compte tenu des risques associés aux techniques de prélèvement pour la réalisation du diagnostic, du nombre limité de laboratoires de cytogénétique et du coût des examens, le diagnostic prénatal de la trisomie 21 n'a été proposé de façon systématique à toutes les femmes enceintes dans aucun pays : le dépistage prénatal a alors été développé [97].

A. Historique du dépistage de la trisomie 21

Le dépistage de la trisomie 21 a évolué au fil du temps en fonction des découvertes et des pratiques. L'ensemble des évènements marquants de l'évolution du dépistage est résumé dans le Tableau III.

- Première stratégie de dépistage : l'âge maternel

En 1933, le lien entre l'âge maternel et le risque de trisomie 21 est établi. Cette relation est à l'origine d'une première forme de dépistage fondé sur l'âge maternel. Sur ce principe, la plupart des pays développés ont mis en place, à partir des années 1970, une politique de dépistage proposant l'accès au diagnostic prénatal. C'est ainsi qu'en **1973**, la France fixe le remboursement des caryotypes par la Sécurité Sociale pour les femmes enceintes âgées de quarante ans. Cette limite d'âge a été progressivement abaissée à trente-huit ans en 1980 [31].

- Utilisation des marqueurs sériques et premiers modèles mathématiques

En **1984**, Merkatz et al. [63] font la découverte d'un premier marqueur sérique : l'AFP est diminué chez les femmes dont le fœtus est atteint de trisomie 21. En **1985**, l'échographie obstétricale connaît de réels progrès, ce qui lui a permis de s'inscrire dans la stratégie de dépistage des anomalies chromosomiques. En **1987**, l'équipe de Bogart [16] démontre l'élévation de l'hCG chez les femmes porteuses d'un fœtus trisomique. En **1988,** la baisse de l'estriol non conjugué (uE3) est rapportée par l'équipe de Canick [23]. La même année, Wald [92] propose un modèle mathématique utilisant l'âge maternel et les taux sériques des marqueurs AFP, hCG et uE3 afin d'évaluer le risque de trisomie 21. En **1990**, Macri [62], puis Spencer, ont proposé le remplacement de l'hCG totale par la β hCG [17, 97].

- Légalisation du dépistage en France à partir de 1997

L'année 1997 a marqué un tournant important dans l'histoire du dépistage de la trisomie 21. En effet, l'arrêté du **23 janvier 1997** [3] intitulé « *Analyses de biochimie portant sur les marqueurs sériques d'origine embryonnaire ou fœtale, dans le sang maternel, de risque accru de trisomie 21 fœtale* » a permis une harmonisation des pratiques. Cet arrêté stipule que pendant une période probatoire de deux ans, le dépistage de la trisomie 21, par les marqueurs sériques maternels réalisé au cours du second trimestre de grossesse, doit être proposé à toutes femmes enceintes quel que soit son âge. Le dosage d'au moins deux marqueurs sériques, dont l'hCG, doit être réalisé entre la 15 ^{ième} et 17 ^{ième} SA révolue. Les sérums permettant la détermination des marqueurs sériques maternels doivent être conservés congelés un an à moins 18°C. Lorsque le risque estimé de trisomie 21 est supérieur ou égal à 1/250 par le dépistage, un prélèvement pour caryotype fœtal est proposé. L'arrêté du **27 mai 1997** [4] fixe les conditions particulières d'évaluation et d'utilisation des réactifs de dosages des marqueurs sériques prédictifs de la trisomie 21. Tout laboratoire, public ou privé effectuant des analyses de biochimie portant sur les marqueurs sériques maternels lors d'un dépistage de la trisomie 21, doit utiliser un réactif enregistré par l'Agence du médicament. Le réactif doit porter l'indication « dosage des marqueurs sériques prédictifs de la trisomie fœtale ». Le dosage s'effectue sur l'hCG ou la β hCG et l'AFP ou l'uE3. L'utilisation du réactif doit être couplée à celle d'un système analytique et d'un logiciel d'interprétation des résultats spécifiquement adapté au dépistage de la trisomie 21.

L'arrêté du **30 septembre 1997** [5] concerne le consentement écrit de la femme enceinte à la réalisation du dépistage de la trisomie 21. Au cours de la consultation médicale, toute patiente

désirant effectuer un dépistage du risque de trisomie 21 par analyse des marqueurs sériques maternels doit donner son consentement écrit à partir du formulaire type fourni en annexe du présent l'arrêté. Dans le formulaire type, il est précisé qu'en cas de risque élevé, il est proposé à la patiente un prélèvement de liquide amniotique pour la réalisation d'un caryotype.

- Mise en place de l'ABA, clubs utilisateurs

La mise en place de ce dépistage a conduit les biologistes à s'organiser en association nommée l'Association des Biologistes Agréés pour le dépistage de la trisomie 21 (ABA). L'ABA regroupe l'ensemble des laboratoires publics et privés autorisés pour le dosage des marqueurs sériques du dépistage de la trisomie 21. Cette association a pour but d'homogénéiser à la fois les pratiques et les comptes rendus, de rassembler tous les résultats pour une analyse nationale [97].

- Modification des arrêtés parus au cours de l'année 1997

L'arrêté du **11 février 1999** [6] rend définitives les dispositions de l'arrêté du 23 janvier 1997. Il est permis d'allonger la période durant laquelle les analyses des marqueurs sériques peuvent être réalisés : le dosage peut être effectué de la 15 ième à la 18 ième SA. Le compte rendu du dépistage ne peut être remis à la femme enceinte que par l'intermédiaire du médecin prescripteur.

L'arrêté du **1ier juillet 2005** [7] spécifie que tout établissement public ou privé réalisant des analyses des marqueurs sériques maternels prédictifs de la trisomie 21 doit utiliser des réactifs et produits marqués Communauté Européenne (CE), y compris les réactifs permettant l'étalonnage et les contrôles. Le calcul de risque doit être effectué par un logiciel d'interprétation marqué CE et doit être spécifiquement adapté au dépistage de la trisomie 21.

- Recommandations faites par l'HAS

En **juin 2007**, l'HAS fait un état des lieux des résultats obtenus par le dépistage du second trimestre et explore de nouvelles stratégies. L'HAS publie de nouvelles recommandations concernant les stratégies de dépistage de la trisomie 21.

- Le dépistage de la trisomie 21 devient réalisable au premier trimestre

L'arrêté du **23 juin 2009** fixe les règles de bonnes pratiques en matière de diagnostic et de dépistage prénatal avec l'utilisation des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21 dès le premier trimestre de grossesse.

Tableau III. Chronologie des évènements marquants le dépistage de la trisomie 21

Dates	Evènements marquants du dépistage de la trisomie 21
1933	Penrose fait le lien entre le risque de trisomie 21 et l'âge maternel
1973	Remboursement des caryotypes fœtaux pour les femmes âgées de plus 40 ans
1980	Remboursement des caryotypes fœtaux pour les femmes âgées de plus 38 ans
1984	Utilisation de l'AFP comme marqueur sérique au second trimestre
1987	Utilisation de l'hCG comme marqueur sérique au second trimestre
1988	Utilisation de l'uE3 comme marqueur sérique au second trimestre
1988	Premier modèle mathématique comprenant la combinaison de l'âge maternel et les dosages de l'AFP, β hCG et uE3
Arrêté du 23 janvier 1997	Période probatoire de deux ans pendant lesquelles le dépistage peut être proposé au second trimestre entre la 15 et 17 SA +6 jours
Arrêté du 2 mai 1997	Les réactifs enregistrés par l'agence du médicament. Le laboratoire doit utiliser un logiciel d'interprétation des résultats qui soit adapté au dépistage de la trisomie 21
Arrêté du 30 septembre 1997	Consentement écrit de la patiente est obligatoire
Arrêté du 11 février 1999	Réalisation du dépistage de la 15 à 18 SA +6 jours
Arrêté du 1 juillet 2005	Les réactifs, contrôles et logiciels doivent être marqués CE
Juin 2007	Recommandations faites par l'HAS
Arrêté du 23 juin 2009	Autorise le dépistage à partir du premier trimestre de grossesse

B. Les recommandations faites par l'HAS en 2007

La demande d'évaluation des stratégies de dépistage de la trisomie 21 émanait de la Direction générale de la santé, du Collectif interassociatif autour de la naissance et du Collège national des gynécologues et obstétriciens Français. L'objectif était d'améliorer la qualité du dépistage et si nécessaire d'adapter la réglementation. Deux principaux axes ont été étudiés : la place des stratégies de dépistage lors du premier trimestre incluant la mesure de la CN et l'optimisation des taux d'amniocentèses.

La réalisation de ce document a nécessité la collaboration d'un groupe de travail pluridisciplinaire composé de dix-neuf experts qui se sont réunis à quatre reprises. La méthode de travail de l'HAS s'est fondée sur la revue systématique et critique de la littérature. L'étude s'est déroulée sur une période de huit ans (de l'année 1998 à 2006), au cours de laquelle 581 articles ont été analysés, parmi lesquels 229 ont été cités dans les recommandations. La recherche bibliographique était basée sur l'ensemble des thématiques relatives au dépistage de la trisomie 21.

Ce document n'aborde pas les questions relatives au handicap, ni la prise en charge de la trisomie 21. Il ne considère pas non plus le cas du dépistage de la trisomie 21 dans les grossesses multiples et les grossesses obtenues par assistance médicale à la procréation. Une fois finalisé, ce document a été soumis à un groupe de lecture de cinquante personnes, extérieur au groupe de travail, qui a apprécié la qualité du rapport sur le fond et dans la forme.

1. Critères d'évaluation des stratégies

Les stratégies de dépistage ont été évaluées selon les critères suivants [97] :

- L'efficacité du dépistage prénatal est définie comme la capacité d'une stratégie à identifier les fœtus atteints de trisomie 21 chez les femmes qui le souhaitent. Elle est déterminée à partir des taux de détection et des faux positifs.

- La sécurité d'une stratégie qui correspond au nombre de pertes fœtales engendrées lors d'actes invasifs de diagnostic. Ce nombre est lié à la fois au taux de faux positifs de la stratégie ainsi qu'au taux de pertes fœtales engendrée par chaque technique de prélèvement.

- L'efficience a été évaluée grâce à une simulation des coûts associés aux stratégies de dépistage ainsi que le nombre de cas diagnostiqués. La simulation des coûts a été évaluée dans le contexte français et dans l'étude d'une revue de la littérature internationale portant sur l'impact médico-économique des stratégies de dépistage. Les résultats ont été présentés sous forme de ratio coût par cas diagnostiqué.

- **Les préférences des femmes** concernant le moment du dépistage, les paramètres cliniques des différentes stratégies et l'arbitrage entre le risque de perte fœtale lié à l'amniocentèse et la naissance d'un enfant trisomique ont été prises en compte.

- **La disponibilité des ressources humaines et matérielles** qui sont nécessaires au dépistage et au diagnostic pour chaque stratégie de dépistage.

2. Les stratégies évaluées par l'HAS

Au cours de son évaluation, l'HAS a étudié plusieurs stratégies de dépistages possibles [97] :

- **Dépistage combiné du premier trimestre :** le calcul de risque repose sur la mesure de la CN et des marqueurs sériques (PAPP-A, sous unité libre de la β hCG) entre 11 et 13 SA et 6 jours.

Les vingt-cinq études analysées ont montré que le taux de détection variait entre 77 et 100 % pour un taux de faux positifs compris entre 2,1 et 7,8 %, selon le seuil de risque choisi et la structure d'âge de la population d'étude. Les trois études ayant comparé différentes stratégies de dépistage de la trisomie 21 retrouvaient un taux de détection compris entre 80 et 87 % pour un taux de faux positifs de 5 %. En tenant compte des incertitudes liées aux pertes fœtales spontanées survenant entre le premier et second trimestre de la grossesse, la performance du dépistage combiné de la trisomie 21 au premier trimestre apparaît ainsi supérieure à celle reposant sur le dosage des marqueurs sériques du second trimestre (double ou triple test).

De par sa simplicité, cette stratégie a le plus souvent la faveur des femmes. Par contre, cette stratégie présente une faiblesse en terme de reproductibilité de la mesure de la CN. Ceci implique donc la mise en place d'une démarche d'assurance qualité à la fois qualitative et

quantitative (par le suivi des distributions des mesures de la CN par échographiste). Un autre inconvénient de cette stratégie est la perte de bénéfice du dépistage du défaut de non fermeture du tube neural grâce au dosage de l'AFP au second trimestre. Toutefois, l'échographie du second trimestre offre la possibilité de détecter certaines anomalies. Enfin, le diagnostic précoce confronte les femmes à la décision d'une interruption médicale de grossesse alors qu'un certain nombre se serait spontanément interrompu.

- **Dépistage séquentiel** : Il comporte la réalisation de tests du premier trimestre (CN ± marqueurs sériques) et du dosage des marqueurs sériques maternels au deuxième trimestre avec rendu du résultat du test combiné, de sorte que la patiente peut décider en fonction de ces résultats. Il y a trois approches pour le dépistage séquentiel : indépendant, en deux étapes, ou conditionnel.

- **Le dépistage séquentiel indépendant** comporte l'interprétation indépendante des tests du premier trimestre et du deuxième trimestre. Le résultat du test combiné est fourni à la patiente et le dépistage du deuxième trimestre est réalisé à moins que la patiente ait recours au caryotype fœtal. Cependant, le test du deuxième trimestre est interprété sans tenir compte des résultats du test combiné du premier trimestre. Cette stratégie permet lorsque seule la mesure de la CN est réalisée, des taux de détection variant de 81 à 91,4 % mais avec des taux de faux positifs de 7 ,2 à 8,6 %.

- **Dans le dépistage séquentiel en deux étapes** : le caryotype est proposé si le résultat du test combiné du premier trimestre est au-delà d'un seuil spécifié. Si le résultat du dépistage du premier trimestre est en dessous du seuil, le dosage des marqueurs sériques maternels au deuxième trimestre est proposé à la patiente, et le risque final est déterminé en intégrant les résultats des marqueurs sériques maternels au deuxième trimestre aux résultats du test combiné du premier trimestre.

Dans le cas où la mesure de la CN est associée au dosage des marqueurs sériques du premier trimestre, le taux de détection varie de 90 à 95 % pour un taux de faux positifs de 5 %. Seules deux études ont évalué la performance du dépistage séquentiel en deux temps avec au premier trimestre la mesure de la CN seule : le taux de détection était compris entre 80,6 et 88 % pour un taux de faux positif de 4,8 à 5, 3 %.

Cette stratégie tient compte également des pertes fœtales spontanées survenant entre le premier et second trimestre de la grossesse. D'un point de vue médico-économique, cette stratégie présente un rapport taux de perte fœtal/trisomie 21 diagnostiqué faible. Par contre, reposant également sur la mesure de la CN, cette stratégie est confrontée à la mise en place d'un système d'assurance qualité et à respect d'une fenêtre temporelle stricte. Comme toute stratégie longue se déroulant en plusieurs étapes, le risque d'abandon subsiste toujours.

- **Le dépistage séquentiel conditionnel :** il commence également par la réalisation de tests du premier trimestre (CN ± marqueurs sériques). En fonction des résultats du test combiné, les femmes sont classées dans un des trois groupes de risque suivants : risque élevé, intermédiaire ou faible. Les seuils de risque au sein de ces groupes varient en fonction de la définition des groupes de risque. La réalisation d'un caryotype fœtal précoce est proposée aux femmes appartenant au groupe à risque élevé après test combiné (défini, par exemple, par un risque de trisomie 21 supérieur ou égal à 1/81). Les femmes du groupe à risque faible après test combiné (défini, par exemple, par un risque de trisomie 21 inférieur à 1/1 500) sont rassurées et le double, triple ou quadruple test ne leur est pas proposé. En revanche, le dosage des marqueurs sériques du deuxième trimestre est proposé aux femmes appartenant au groupe à risque intermédiaire (entre 1/82 et 1/1 500) et le risque final comporte l'intégration du résultat du test combiné au résultat du double, triple ou quadruple test.

Cette stratégie présente les bénéfices théoriques les plus importants. En effet les performances modélisées ont mis en évidence des taux de détection de 85 à 91,6 % pour un taux de faux positifs allant de 1,3 à 3,1 %. Cette stratégie assure également la possibilité d'un diagnostic précoce et d'une rapidité du processus pour la majorité des femmes. Cependant, cette stratégie reste la plus complexe à organiser et la plus difficile à comprendre. De plus, l'absence d'études en population générale la rend fictive et ne permet pas de conclure avec assurance.

- **Dépistage intégré par mesure de la CN, des marqueurs sériques au premier trimestre et des marqueurs sériques au deuxième trimestre.** C'est l'intégration du double, du triple ou du quadruple test réalisé au deuxième trimestre de la grossesse au dépistage combiné du premier trimestre. Les résultats du test combiné ne sont pas communiqués à la patiente. Lorsque le double, triple ou quadruple test est réalisé, ses résultats sont intégrés à ceux du test combiné pour fournir un calcul du risque unique au second

trimestre. Lorsque la mesure de la clarté nucale n'est pas intégrée au calcul de risque, il s'agit du dépistage sérique intégré.

Cette stratégie possède les performances les plus élevées. En effet, les taux de détection sont compris entre 94 et 95 % pour un taux de faux positifs de 5 %. Elle présente également l'avantage de dépister d'autres anomalies chromosomiques, malformations anatomiques, la non fermeture du tube neural. L'estimation du risque de trisomie 21 assure la prise en compte des pertes fœtale spontanées. Outre ces excellents résultats, cette stratégie ne permet pas une détection précoce, et se révèle être une démarche assez longue imposant la réalisation de deux séquences de test de dépistage. Il plane donc un risque d'abandon en cours de dépistage et de perdues de vue entre les deux séquences. Le rapport coût/efficacité ne tranche pas en faveur de cette stratégie non plus.

3. Les stratégies recommandées par l'HAS

Les recommandations faites par l'HAS rendent possibles la réalisation du dépistage de la trisomie 21 au premier trimestre de grossesse (soit de 11 SA jusqu'à 13 SA et 6 jours). Ce dépistage repose sur l'association de l'âge maternel, de la mesure de la CN en fonction de la LCC et le dosage de marqueurs sériques (PAPP-A et la fraction libre de la β hCG) (Figure 7). La mise en place de ce dépistage nécessite le développement d'un programme d'assurance qualité concernant la mesure de la CN. Le système d'assurance qualité doit s'appuyer sur une formation des professionnels, ainsi qu'un contrôle de qualité au minium qualitatif et quantitatif par un suivi des distributions des mesures de CN.

Les femmes doivent être en mesure de choisir, sur les conseils du praticien, la technique de prélèvement fœtal (soit prélèvement des villosités choriales à partir de 11 SA soit amniocentèse à partir de 15 SA) pour l'élaboration d'un diagnostic.

Les recommandations permettent la réalisation d'un dépistage séquentiel en deux temps au second trimestre lorsque le dosage des marqueurs sériques au premier trimestre n'a pu être fait. De ce fait, le dépistage repose sur la mesure de la CN au premier trimestre couplée au dosage des marqueurs sériques maternels du second trimestre (Figure 7). La réalisation du diagnostic prénatal d'emblée pour les femmes de 38 ans ou plus, sans offre de recours au préalable au dépistage n'est plus justifiée.

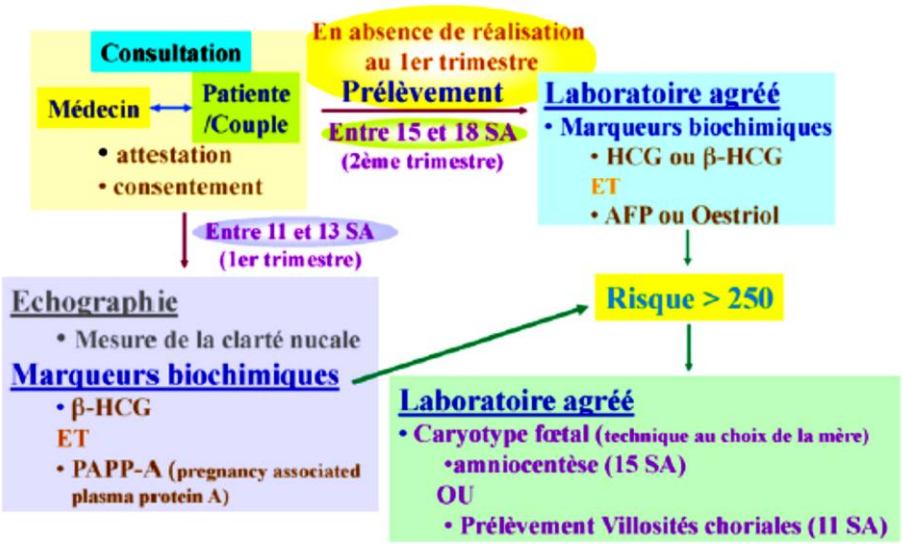


Figure 7. Parcours schématique du diagnostic prénatal recommandé par l'HAS en juin 2007 [17]

C. Présentation des arrêtés du 23 juin 2009, modifié en février 2010

L'arrêté du 23 juin 2009 intitulé « *Les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21* » généralise le dépistage précoce de la trisomie 21 tout en maintenant possibles les investigations plus tardives [8] (Annexe 1). Cet arrêté définit par ailleurs un ensemble de règles de bonnes pratiques auxquelles sont soumis les professionnels qui concourent au dépistage et au diagnostic prénatal [31].

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'un diagnostic prénatal in utero* » fournit en annexe des formulaires types du consentement écrit de la patiente [9] (Annexe 2).

- Concernant le dépistage, plusieurs points sont exposés :

- Les modalités du dépistage : Le dépistage est proposé à toute femme enceinte, quel que soit son âge, à plusieurs stades de la grossesse. La femme enceinte est d'abord informée lors d'une consultation médicale de la possibilité de recourir en première intention à un dépistage combiné du premier trimestre. Toutefois, si le dépistage combiné du premier trimestre n'a pu être réalisé, la femme enceinte dispose de la possibilité de recourir à un

dépistage séquentiel intégré du second trimestre. En dernier recours, si l'un et l'autre des deux dépistages n'ont pu être réalisés, la femme enceinte peut recourir à un dépistage par les seuls marqueurs sériques de second trimestre [8]. Une patiente est considérée comme ayant un risque élevé d'avoir un enfant atteint de trisomie 21 lorsque le risque est supérieur à 1/250 [8]. Il est alors proposé à la femme enceinte de faire un prélèvement (liquide amniotique, villosités choriales ou sang fœtal) dans le cadre d'une démarche diagnostique lorsque le risque d'avoir un enfant atteint de trisomie 21 est élevé [8].

- **Les règles de bonnes pratiques** : L'ensemble des professionnels de santé participant au dépistage doit adhérer à un réseau de périnatalité associé à un ou plusieurs centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal. Le réseau de périnatalité coordonne les professionnels participant au dépistage. Le réseau de périnatalité délivre un identifiant unique à chaque échographiste qui y adhère. L'échographiste doit adhérer à un programme d'assurance qualité dans le cadre d'évaluation des pratiques professionnelles [8].

- **L'information et le consentement de la femme enceinte** : Au cours d'une consultation médicale individuelle, l'information concernant le dépistage de la trisomie 21 est délivrée à la femme enceinte. La notion de dépistage doit être clairement expliquée en comparaison à celle de diagnostic. Des consultations ultérieures peuvent être proposées, avec le cas échéant désignation d'une personne ressource (sages-femmes…). L'information doit être claire, adaptée et lui permettre de choisir librement de pratiquer ou pas le dépistage et/ou au diagnostic prénatal. Elle peut à tout moment révoquer son consentement à la réalisation de ces examens. Une information claire doit également être donnée sur la mesure de la CN [8]. A l'issue de la consultation médicale, la femme enceinte peut demander la réalisation du dépistage par écrit en suivant un formulaire type figurant en annexe I du présent arrêté [9].

- **La mesure de la CN et LCC** : Ces mesures doivent être effectuées entre 11 SA et 13 SA + 6 jours (soit une LCC comprise entre 45 et 84 mm). Les mesures des deux paramètres doivent être rendues en millimètres et en dixième de millimètres. Les valeurs de la LCC et de la CN doivent figurées sur un compte rendu daté, signé par l'échographiste qui doit indiquer son nom et son numéro de réseau périnatalité. Les échographes doivent adhérer à un programme d'assurance qualité portant sur la mesure de la CN et de la LCC dans le cadre des pratiques professionnelles. Les médecins spécialistes en gynécologie-obstétrique ou en imagerie médicale ainsi que les sages-femmes ayant débuté l'exercice de l'échographie

obstétricale à partir des années 1994-1995 doivent être titulaires du diplôme universitaire d'échographie en gynécologie-obstétrique ou de l'attestation en échographie obstétricale pour les sages-femmes. Le contrôle qualité des mesures de la CN repose également sur le suivi des médianes et de la distribution des mesures de la CN [8].

- **Le prélèvement sanguin** doit être réalisé entre 11 SA + 0 jour et 13 SA + 6 jours pour la réalisation du dépistage du premier trimestre. Pour le dépistage du second trimestre, le prélèvement doit être réalisé entre 14 SA + 0 jour et 17 SA + 6 jours [8].

- **La prescription médicale** : Le prélèvement est accompagné d'une prescription médicale sur laquelle doit figurer l'identification et la signature du prescripteur. L'identité de la patiente (nom, prénom, date de naissance) doit également y être présente. Des renseignements cliniques et démographiques permettant d'affiner le calcul de risque (poids de la patiente, gémellité, tabagisme …) doivent également être précisés. La prescription médicale doit être accompagnée du compte rendu de l'examen échographique (donnant accès à la date de l'échographie, à la valeur de la CN et de la LCC, ainsi que le numéro identifiant échographiste). Le formulaire type attestant de l'information délivrée à la patiente et de son consentement écrit doit également être joint à la prescription [8].

- **Le dosage biochimique des marqueurs sériques maternels** : Pour le dépistage du premier trimestre, les marqueurs sériques dosés sont la PAPP-A et de la fraction libre de la β HCG. Pour le dépistage du second trimestre, les marqueurs sériques dosés sont l'hCG totale ou la β hCG et l'AFP ou l'uE3. Tous les dosages doivent être effectués avec des réactifs marqués CE, y compris les réactifs permettant l'étalonnage et les contrôles. L'expression du dosage de chacun des paramètres doit être exprimée en multiple de la médiane (MoM) ou en degré d'extrême par un logiciel marqué CE spécialement adapté aux réactifs utilisés [8].

- **Le calcul de risque** : Le calcul de risque doit être réalisé par un praticien agréé pour réaliser les analyses de biochimie des marqueurs sériques maternels. Toutefois une convention au sein du réseau périnatalité peut prévoir que le calcul de risque sera effectué par le praticien mesurant la CN. Le calcul de risque doit être effectué par un logiciel d'évaluation du risque marqué CE spécifiquement adapté aux réactifs utilisés. Le calcul de risque du dépistage du premier trimestre et du second trimestre intégré doit être effectué en seul temps. Le calcul de risque pour le dépistage du premier trimestre ne doit pas être réalisé lorsque une

ou plusieurs données sont manquantes, lorsqu' il existe un doute sur la qualité d'au moins une des données, lorsqu'il est techniquement impossible d'obtenir une mesure de la CN ou de la LCC, et qu'enfin l'échographiste n'est pas identifié au sein du réseau périnatalité. Le prescripteur est informé de l'impossibilité de réaliser le calcul de risque du premier trimestre, et propose à la femme enceinte d'effectuer un dépistage séquentiel intégré du second trimestre lorsque les mesures de la CN et de la LCC sont disponibles, ou le cas échéant, un dépistage basé sur les marqueurs sériques du second trimestre seuls [8].

- **Le rendu des résultats** : Le résultat du calcul du risque doit être clairement formalisé et séparé des éléments de calcul. Le compte rendu doit comporter un commentaire du calcul du risque. Le commentaire du calcul du risque et les limites à ce calcul doivent être clairement explicités. Le compte rendu doit préciser les divers renseignements cliniques voire échographiques participant au calcul de risque, ainsi que le résultat des dosages des marqueurs sériques (exprimés en concentrations et en MoM ou en degré d'extrême). Le nom commercial des réactifs et logiciel utilisés ou la référence de la publication scientifique utilisée pour le calcul doivent également figurés sur le compte rendu. Le compte rendu du résultat du calcul de risque est adressé au médecin prescripteur ainsi qu'à celui ayant mesuré la CN [8]. Un exemple du rendu de résultats de dépistage réalisé à la MRU figure en annexe 3.

- **Le suivi des résultats** : Le professionnel agréé pour effectuer des analyses doit être en mesure de fournir le pourcentage de femmes considérées à risque (risque supérieur à 1/250) ainsi que la structure de l'âge de la population testée. Le professionnel doit également pourvoir fournir la valeur prédictive positive du test de dépistage, les médianes et la distribution de chacun des marqueurs biochimiques. Enfin, le professionnel doit être en mesure de fournir les médianes et la distribution de la CN par échographe et le suivi des issues de grossesse, y compris de taux de « perdues de vue » [8].

- **Conservation des échantillons et documents** : Le formulaire type comportant l'information, la demande et le consentement de la femme enceinte à la réalisation d'une analyse portant les marqueurs sériques maternels doit être conservé pendant une période de cinq ans par le laboratoire. Les sérums sont conservés congelés à moins 20 °C pendant un an après la date de prélèvement [8].

- **Concernant le diagnostic prénatal *in utero*, plusieurs points sont exposés** [8] **:**

- **Le consentement écrit** : Toute prescription dans le cadre de la réalisation d'analyses pour établir un diagnostic prénatal *in utero* est précédée d'une information de la patiente. Lorsque la patiente consent à réaliser un diagnostic prénatal *in utero*, le recueil de son consentement écrit est obligatoire. Un formulaire type est fourni en annexe II de l'arrêté [8].

- **L'information à la patiente** : Au préalable, la patiente est informée des caractéristiques et du risque pour l'enfant à naître d'être atteint d'une affection. La patiente est également informée des moyens d'en faire le diagnostic, des possibilités thérapeutiques, mais aussi les risques et les contraintes liés aux techniques de prélèvement [8].

- **Choix du prélèvement** : La femme enceinte est associée au choix de la technique du prélèvement permettant la réalisation du diagnostic prénatal [8].

- **Le laboratoire de cytogénétique** : Il doit mettre en œuvre une technique diagnostic dont il a la maîtrise et pour laquelle il peut rendre compte d'une démarche qualité. Le laboratoire doit organiser un contrôle de qualité interne et participer à un contrôle de qualité externe. Il doit mettre à la disposition des différents acteurs du dépistage (biologistes, échographistes, prescripteurs) les résultats du caryotype fœtal et assurer le recueil des issues de grossesse.

Depuis la parution de l'arrêté du 23 juin 2009, deux nouveaux arrêtés ont été publiés au Journal Officiel de la République Française. Le premier arrêté datant du 19 février 2010 (texte 35 sur 142) modifie les règles de bonnes pratiques du dépistage de la trisomie 21. En effet, il stipule que les médecins spécialistes en radiologie et en imagerie médicale ayant débuté l'exercice de l'échographie obstétricale à partir de l'année **1997** (au lieu des années 1994-1955) doivent être titulaires du diplôme interuniversitaire d'échographie en gynécologie obstétrique ou doivent avoir validé le module optionnel du diplôme interuniversitaire d'échographie générale. Il précise secondairement que la patiente peut recourir à une démarche diagnostique dès que le calcul de risque est supérieur ou **égal** à 1/250 au moment du prélèvement [10]. Le 19 février 2010, paraît également un arrêté qui modifie l'arrêté du 23 juin 2009 relatif à l'information et au consentement de la femme enceinte à la réalisation d'une analyse sur les marqueurs sériques maternels. Il modifie le fait que l'original du document doit être conservé dans le dossier médical de la patiente [11].

Tableau IV. Points essentiels des arrêtés parus le 23 juin 2009

	Points clés
Modalité du dépistage	- dépistage proposé quel que soit l'âge maternel * - différents dépistages possibles * - caryotype fœtal si risque élevé (≥ 1/250)
Les règles de bonnes pratiques	- professionnel de santé doivent adhérer au réseau * de périnatalité associée à un CPDPN - identifiant unique à chaque échographiste * - échographiste passe une EPP *
Information et consentement femme enceinte	- consultation médicale individuelle - information dépistage/diagnostic - consentement écrit
Mesure de la CN et LCC	- entre 11 et 13 SA + 6 jours - LCC comprise entre 45 à 84 mm - Figuré sur ordonnance du dépistage
Le prélèvement sanguin	- entre 11 +0 et 13 SA+ 6 jours : premier trimestre * - entre 14 + 0 et 17 SA + 6 jours: second trimestre
Prescription médicale	- identification, signature du prescripteur - identité patiente, renseignement divers (tabac, poids.. .). - CR échographique (LCC, CN ….). * - Consentement écrit de la patiente
Le dosage biochimique des marqueurs sériques maternels	- 1 ier trimestre : PAPP-A et β hCG * - 2 nd trimestre : β hCG/ hCG et AFP ou uE3 - marquage CE des réactifs et logiciel - expression des résultats en MoM ou en degré d'extrême
Le calcul de risque	- réalisé par un praticien agrée - réalisé par un logiciel de calcul marqué CE - effectué en un seul temps
Le compte rendu	- résultat séparé des éléments de calculs - précise les différents renseignements cliniques, échographiques, dosage … - adressé au médecin prescripteur et échographe
Le suivi des résultats	- pourcentage de femmes considérées à risque - structure d'âge de la population - valeur prédictive positive du test - médiane et distributions des marqueurs biochimiques - médianes et distribution des CN par échographe - suivi des issues de grossesse
Conservation des échantillons et documents	- conservation 5 ans de la prescription médicale par le laboratoire - conservation à – 20 °C pendant un an des sérums

* correspond aux nouveautés engendrées par les arrêtés du 23 juin 2009

D. Dépistage de la trisomie 21 et loi de la bioéthique

Selon l'arrêté du 23 juin 2009 [8], toute femme enceinte, quel que soit son âge, est informée de la possibilité de recourir à un dépistage de la trisomie 21 lors d'une consultation médicale individuelle. Cette situation soulève des problèmes éthiques de la part des groupes de pensée. Le médecin doit donner une information objective sans influencer la décision de la patiente. La représentation du handicap, le statut du fœtus, la fiabilité du test interviennent dans la communication médecin/ patiente. Le médecin a l'obligation de donner une information claire et appropriée tout en appliquant le principe de bienveillance pour le fœtus, pour les parents et le principe d'autonomie. La patiente ne peut prendre une décision que si l'information a été bien comprise [37].

Le 7 juillet 2011, la loi de Bioéthique, concernant entre autre le diagnostic prénatal, bouleverse le processus du dépistage de la trisomie 21. En effet, il est mentionné dans l'Article 20, que « *toute femme enceinte reçoit lors d'une consultation médicale, une information loyale, claire et* ***adaptée à sa situation*** *sur la possibilité de recourir, à sa demande, à des examens de biologie médicale …* ». Par conséquent, le prescripteur, médecin ou sage-femme, n'est plus tenu d'informer obligatoirement la patiente sur la possibilité de réaliser un dépistage de la trisomie 21 [61].

III. LE DEPISTAGE DE LA TRISOMIE 21

En France, depuis la parution de l'Arrêté du 23 juin 2009 [8], trois stratégies de dépistage de la trisomie 21 sont réalisables. Quel que soit le dépistage, le calcul de risque tient compte de l'âge maternel et du dosage des marqueurs sériques. Le dépistage du premier trimestre combiné et du second trimestre intégré utilisent également les marqueurs échographiques.

A. L'âge maternel

A l'étranger, les modèles mathématiques donnent un calcul de risque de trisomie 21 lié à l'âge maternel au moment de la naissance. En France, le risque de trisomie 21 lié à l'âge maternel est celui correspondant au moment du prélèvement [64, 66]. Les tables de fréquence les plus souvent utilisées pour l'estimation du risque lié à l'âge, sont celles issues des travaux de Cuckle et al [27]. D'autres tables peuvent être utilisées comme celle établit par Hook [48, 64].

B. Les paramètres échographiques

1. La longueur cranio-caudale (LCC)

Dans 10 à 45 % des grossesses, les femmes sont incertaines sur la date exacte de leur période menstruelle, ont des cycles irréguliers ou tombent enceintes assez rapidement après l'arrêt de la pilule contraceptive. Dans environ 10 % des cas, il y a une différence supérieure à 7 jours entre la date de début de grossesse (DDG) calculée à partir de la date des dernières règles et celle obtenue à partir de l'échographie [57]. La détermination de l'âge gestationnel par échographie utilise la mesure de la LCC.

a) Principe de mesure et détermination de l'âge gestationnel par échographie

- Principe de mesure

La mesure de la LCC représente le paramètre qui permet d'obtenir la meilleure précision pour évaluer l'âge embryofœtal [1, 42, 81]. Par conséquent, la mesure de la LCC doit être effectuée de la manière la plus rigoureuse possible. Pour cela, la mesure doit être établie à partir d'une coupe sagittale médiane stricte passant simultanément par le milieu de la face et le tubercule génital. Le fœtus doit être en flexion intermédiaire, avec la tête dans l'axe du tronc (Figure 8) [1].

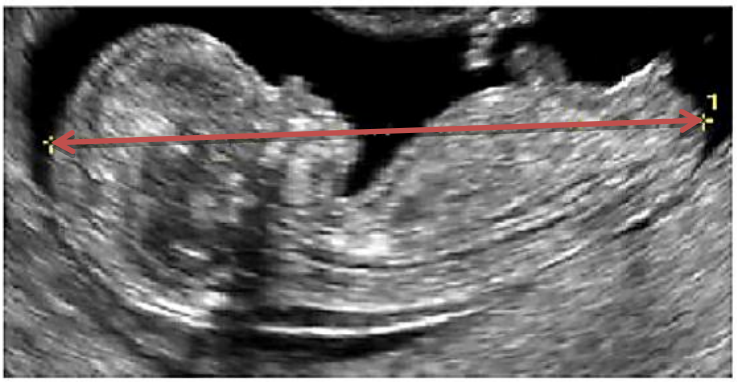


Figure 8. Exemple de mesure de la LCC [1]

- Les courbes de détermination de l'âge gestationnel

L'estimation de l'âge gestationnel, déterminée à partir de la mesure de la LCC, a donné lieu à la construction de plusieurs courbes dans la littérature. En 1973, Robinson [77] établit la corrélation entre la LCC et l'âge gestationnel exprimé en SA (Figure 9). Cette courbe reste la

plus utilisée en France [42]. Pour la réalisation de cette courbe, Robinson a sélectionné une population de patientes qui connaissaient avec exactitude la date de leurs dernières règles et qui avaient des cycles menstruels réguliers [42]. Par la suite, les travaux d'élaboration de courbe de référence se sont appuyés sur des populations issues de programme de fécondation *in vitro* (FIV) permettant une connaissance plus précise de la DDG. L'étude la plus importante, avec la méthodologie la plus rigoureuse, est celle menée par Wisser en 1994 [42, 96].

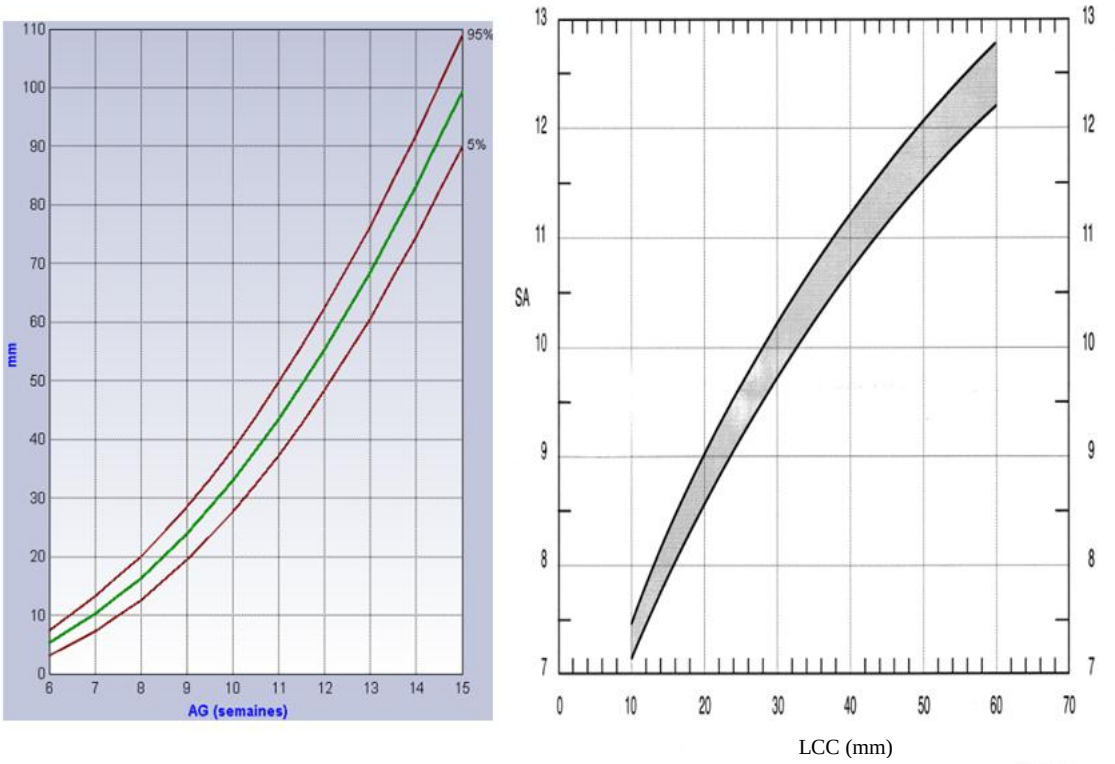


Figure 9. Détermination de l'âge gestationnel en fonction de la LCC par la courbe de Robinson [77] (à gauche) ou la courbe de Wisser [96] (à droite)

b) Utilisation de la LCC dans le dépistage de la trisomie 21

- Variation de la LCC en cas de trisomie 21

Lors d'une étude rétrospective, Kuhn et al. [57] ont déterminé de quelle façon variait la LCC mesurée entre 10 et 13 SA en présence de diverses anomalies chromosomiques. La valeur médiane de la LCC est diminuée lors de trisomie 18 par rapport à celle mesurée chez les enfants sans anomalies chromosomiques. Par contre, il n'existe statiquement pas différente de médiane de la LCC lors d'autre aneuploïdie, notamment lors de trisomie 21 (Tableau V). Des

résultats similaires ont été rapportés dans la littérature par Wald [93]. Il observe que la médiane de la LCC chez 55 enfants trisomiques était identique à celle de 275 fœtus non atteint de trisomie21.

Tableau V. Valeur médiane (en MoM) de la LCC mesurée lors de diverses aneuploïdies [57]

Caryotype	No.	LCC (médiane et intervalle)	t
Trisomie 21	72	1.003 (0.907-1.086)	0.88 (NS)
Trisomie 18	32	0.957 (0.907-1.019)	6.74 (p< 0.0001)
Trisomie 13	11	0.985 (0.925-1.028)	1.93 (NS)
47,XXX	6	0.991 (0.946-1.025)	*
47,XXY	6	1.025 (0.963-1.039)	*
45,X	5	1.030 (0.995-1.033)	*
Triploïdie	3	0.961 (0.901-0.992)	*

No. : Nombre de cas t : test de Student NS : pas de différence significative

* : Nombre trop réduit pour un analyse statistique

- Impact de la mesure de la LCC dans le calcul de risque de la trisomie 21

La mesure de la LCC n'intervient pas directement dans le calcul de risque de la trisomie 21. Pourtant, une erreur de mesure de la LCC conduit à une erreur de calcul du risque. En 2009, Salomon [81] montre lors d'une simulation, l'importance de la mesure exacte de le LCC lors du dépistage de la trisomie 21.Au cours de cette étude, ils observent qu'une erreur de mesure de 5 mm de la LCC peut entraîner des variations du rapport risque erroné (risque avec erreur de mesure de la LCC) sur risque initial (risque avec la bonne valeur de LCC). Le rapport du risque erroné varie de 0, 53 à 2, 14. Autrement dit, une variation de la LCC de plus ou moins 5 mm peut diviser ou multiplier le vrai risque jusqu'à un facteur 2. Certains cas conduisent même à une erreur de classification du risque : une patiente devant normalement appartenir au groupe à risque élevé se retrouve dans le groupe à risque faible et vice versa. Au total, 112 cas correspondent à une situation où la femme enceinte n'appartiendrait pas au bon groupe à risque (Tableau VI).

Tableau VI. Impact d'une erreur de mesure de la LCC sur le risque de trisomie 21 [81]

	Nuchal Translucency Thickness					
MERR (Re /Ri)	1 mm (n=640)	1.5mm (n=640)	2 mm (n=640)	2.5mm (n=640)	3 mm (n=640)	All (n=3200)
< 0.8	222 (34.7)	117 (18.3)	41 (6.4)	8 (1.2)	51 (8.0)	439 (13.7)
> 1.2	298 (46.6)	251 (39.2)	199 (31.1)	83 (13.0)	121 (18.9)	952 (29.7)
< 0.66	18 (2.8)	10 (1.6)	2 (0.3)	0	3 (0.5)	33 (1.0)
> 1.33	184 (28.7)	125 (19.5)	138 (21.6)	53 (8.3)	53 (8.3)	553 (17.3)
Misclassed	26 (4.1)	25 (3.9)	25 (6.4)	20 (3.1)	0	112 (3.5)

MERR : measurement error-related risk ratio = Re (risque erroné)/ Ri (risque initial)

2. La clarté nucale (CN)

a) Définition

La CN est définie en échographie comme l'espace normal sous cutané, situé entre la peau et les tissus mous recouvrant la nuque du fœtus (Figure 10) [83, 95] . C'est une structure physiologique qui peut se voir chez tous les embryons. En effet, au cours du premier trimestre de la grossesse, une petite quantité de liquide s'accumule sous la peau de la nuque du fœtus avant d'être évacuée par la suite par le système lymphatique en maturation [82].

La CN est donc un phénomène transitoire qui régresse spontanément dès le début du deuxième trimestre chez tous les fœtus, même en cas d'anomalies chromosomiques [55, 21, 95]. La CN peut être augmentée dans certaines situations entrainant une accumulation de liquide lymphatique. Elle est alors dénommée hyperclarté nucale. En l'absence d'anomalie du caryotype, une hyperclarté nucale est associée à un risque élevé de pertes fœtales, de malformations cardiaques, squelettiques ou pulmonaires, de syndromes génétiques et de pathologies à révélations postnatales [95].

Il n'existe pas de différence significative de la mesure de la CN en fonction de l'origine géographique, de tabagisme, d'un éventuel diabète, de la conception par procréation médicalement assistée ou du sexe fœtal [95].

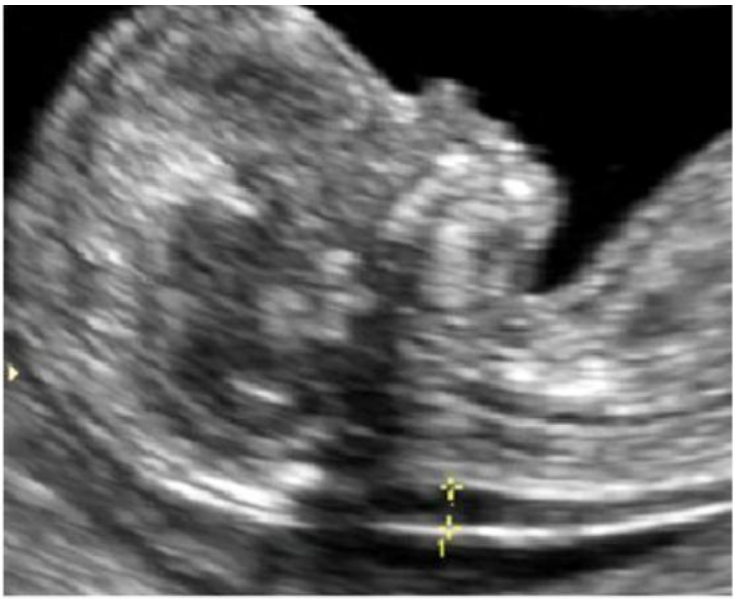


Figure 10. Exemple de mesure de la CN [1]

b) Principe de mesure de la CN par échographie

La mesure de la CN est souvent simple et rapide. Seuls les opérateurs entraînés obtiennent une mesure adéquate et reproductible. Le choix de la sonde abdominale ou vaginale va dépendre à la fois de l'âge gestationnel, de l'expérience de l'opérateur mais également des difficultés techniques (notamment chez les patientes obèses). La voie abdominale a tendance à surestimer la CN de 0,1 mm par rapport à la voie vaginale [80, 83]. Il est indispensable d'utiliser un appareil échographique qui permet d'effectuer des mesures au dixième de millimètre près [21, 95].

La période optimale de mesure se situe entre 11 et 13 SA + 6 jours. La LCC mesurée au cours de cette période doit par conséquent être comprise entre 45 mm et 84 mm. Les raisons qui ont poussé à utiliser de telles limites sont les suivantes : l'ensemble des courbes permettant le calcul de risque a été réalisé pour cet intervalle. De plus, le taux de réussite de la mesure est de 98 à 100% entre 10 et 13 SA, elle diminue ensuite à 90 % à 14 SA, du fait de la position fœtale qui le plus souvent verticale et augmente la difficulté d'obtenir une image adéquate [68, 95]. Nicolaides fut le premier à définir une méthode qui permette d'optimiser la reproductibilité de la mesure de la CN.

Selon Nicolaides [68], la mesure de la CN doit s'effectuer de la façon suivante :

- La mesure de la CN doit s'effectuer en coupe médiosagittale complète de l'embryon (du pôle céphalique de profil au pôle caudal), en position intermédiaire. L'image du fœtus doit occuper au moins les trois quarts de l'écran. La nuque du fœtus doit être en position neutre. En effet, l'hyperextension de la nuque surestime la CN de 0,62 mm. A l'inverse, l'hyperflexion de la nuque sous-estime de 0,40 mm la valeur de la CN. Par contre, la position dos antérieur ou dos postérieur ne modifie pas la valeur de la mesure.

- Il faut distinguer la peau de l'amnios. A cette période, la membrane amniotique est presque toujours incomplètement accolée créant ainsi un espace anéchogène qui peut être pris à défaut pour la CN [21]. Lorsque le doute persiste, il est préférable d'attendre des mouvements fœtaux ou de les solliciter en exerçant une légère stimulation à l'aide de la sonde. L'amnios reste fixe alors que la peau suit naturellement les déplacements de la tête et du tronc [1].

- Il faut utiliser des marqueurs en forme de croix (aussi appelés calipers). La méthode la plus courante de placement des calipers sur l'image est en « on to on » c'est à dire que les deux calipers sont placés sur le bord intérieur des lignes blanches en marge de la CN [82]. Trois mesures successives sont recommandées, il faut retenir la mesure dont valeur est la plus importante.

- Le cordon ombilical peut se localiser autour du cou fœtal dans 5 à 10 % des grossesses. Ce cas peut surestimer la mesure d'environ 0,8 mm et provoquer une hyperclarté nucale. Il est par conséquent préconisé d'utiliser le Doppler couleur afin de s'affranchir de la présence éventuel du cordon [68, 95].

Les variations de mesure de la CN pour un même opérateur sont de 0,54 mm et pour des opérateurs différents, elles sont de 0,62 mm. Les variations ont étaient établies à partir de 1200 mesures de la CN (variant de 0,8 à 4,5 mm) [18, 72].

c) Apport de la mesure de la CN dans le dépistage de la trisomie 21

La prise en compte de la mesure de la CN dans le cadre du dépistage de la trisomie 21 a nécessité plusieurs étapes.

- La notion d'hyperclarté nucale dans la trisomie 21

Les premières publications concernant la CN remontent à 1992. Tout d'abord, il a été constaté que l'hyperclarté nucale est associée à un large éventail d'anomalies chromosomiques. Lors de trisomie 21, dans approximativement 75 % des cas, le fœtus a une épaisseur de la CN qui est augmentée [68, 82].

- Valeur de la CN attendue en fonction de la LCC

Compte tenu du fait que l'augmentation de la CN lors de trisomie 21, certaines études ont utilisé ce paramètre comme marqueur de dépistage. Cependant, les premières études avaient mesuré la CN sans prendre en compte l'âge gestationnel. Or la CN augmente de façon physiologique avec l'âge gestationnel et donc avec la LCC (Figure 11). Il est par conséquent rapidement apparu nécessaire d'ajuster la valeur de la CN en fonction de la LCC [83].

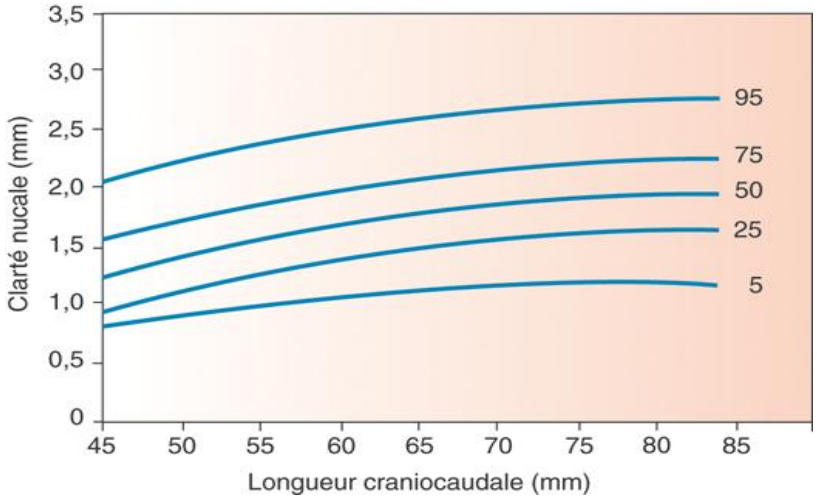


Figure 11. Valeur de la CN en fonction de l'âge gestationnel évaluée par la LCC [83]

- Valeur seuil d'hyperclarté nucale à utiliser pour le dépistage échographique seul

Pour beaucoup d'auteurs, le seuil pathologique pris en compte est de 3 mm ou plus rarement 2,5 mm. Le choix du 95 ^{iem} percentile de la CN en fonction de la LCC, préféré par certains auteurs, a l'avantage d'ajuster le risque à l'âge exact de la grossesse. Le Tableau VII résume l'ensemble des études réalisées entre 1993 et 1999. Ces études ont essayé de déterminer quel

était le « seuil pathologique » à adopter afin d'avoir la meilleure stratégie de détection. Le taux de détection varie de 29 à 100% pour un taux de faux positif de 5 % lorsqu'un seuil de 3 mm ou un seuil supérieur au 95 ième percentile est utilisé [80] Sénat, 2001.

Tableau VII. Etudes évaluant la performance de la mesure de la CN dans le dépistage de la trisomie 21 [80]

Études	Nbre de patient	Cutt off	Terme	Trisomie 21				Sensibilité	Spécificité
				VP	FN	FP	VN	%	%
Savoldelli (1993)	1400	3,0	10–14	15	13	8 (0,57 %)	1364	54	99
Nicolaides (1994)	1273	3,0	10–13	21	4	64 (5,0 %)	1184	84	95
Hafner (1995)	1972	2,5	10–14	2	2	24 (1,2 %)	1944	50	99
Szabo (1995)	3380	3,0	9–15	28	3	68 (2,0 %)	3281	90	98
Pandya (1995)	20381	95e centile	10–13	66	20	978 (4,8 %)	19317	77	95
Bewley (1995)	1127	3,0	8–14	1	2	69 (6,1 %)	1055	33	94
Comas (1995)	481	3,0	9–13	4	3	47 (9,7 %)	427	57	90
Salvesen (1995)	96	3,0	11–14	3	0	7 (7,3 %)	86	100	86
Kornman (1996)	923	3,0	< 10	2	5	34 (3,7 %)	882	29	96
Hewitt (1996)	1312	3,0	9–13	12	9	52 (3,9 %)	1239	57	96
Scott (1996)	445	2,5	10–13	3	7	27 (6,0 %)	408	30	94
Zimmerman (1996)	1151	3,0	10–13	2	2	29 (2,5 %)	1118	50	97
Haddow (1996)	2348	95e centile	10–14	10	20	139 (5,9 %)	2179	33	94
Kadir (1997)	1302	95e centile	10–13	5	1	17 (1,3 %)	1279	83	99
Taipale (1997)	10010	3,0	10–16	7	6	69 (0,7 %)	9928	54	99
D'ottavio (1997)	3509	4,0	13–15	7	3	27 (0,8 %)	3472	70	99
Spencer (1997)	416	95e centile	>10	20	2	38 (9,1 %)	356	91	91
Biagiotti (1997)	3212	3,0	10–13	17	15	212 (6,6 %)	2968	53	93
Martinez (1997)	553	3,5	9–13	4	5	26 (4,7 %)	518	44	95
Borrell (1997)	487	3,0	10–13	8	10	35 (7,2 %)	434	44	93
Orlandi (1997)	744	3,0	9–15	4	3	46 (6,2 %)	691	57	94
Theodoropoulos (1998)	3550	95e centile	10–14	10	1	168 (4,7 %)	3371	91	95
Pajkrt (1998)	1473	3,0	10–14	6	3	32 (2,2 %)	1432	66	98
Hafner (1998)	4233	2,5	10–13	3	4	71 (1,7 %)	4155	43	98
Pajkrt (1998)	2212	3,0	10–14	25	11	91 (4,1 %)	2085	69	95
Snidjers (1998)	96 157	95e centile	10–14	234	92	4438 (4,6 %)	91038	72	95
Schwarzler (1999)	4523	95e centile	10–14	10	2	220 (4,9 %)	4291	83	95

- Utilisation de la CN en association à l'âge maternel

La critique majeure du choix d'un « seuil pathologique » utilisé dans le cadre du dépistage, est qu'il n'intègre pas le risque lié à l'âge maternel [55]. C'est ainsi qu'est apparue la notion de « calcul de risque relatif à la CN corrigé en fonction de l'âge maternel ». En effet, il a été démonté depuis longtemps que le risque de trisomie 21 varie en fonction de l'âge maternel. Ainsi, pour une même valeur de CN mesurée pour une même LCC, le risque est d'autant plus important que l'âge maternel est élevé. Le calcul du risque relatif est basé sur le rapport de la valeur mesurée sur la valeur attendue, qui est exprimé en MoM. A partir d'une table de calcul de risque relatif de trisomie 21 pour une valeur de la CN rapportée à la LCC, on peut obtenir un risque absolu corrigé en multipliant ce premier par le risque absolu lié à l'âge [21]. Ainsi

les tables d'Herman [46] donnent un likelihood ratio obtenu par la mesure de la CN en fonction de la LCC. Ces tables permettent d'obtenir un risque absolu corrigé en fonction de l'âge de la patiente. L'utilisation de table semble être la méthode de choix pour le calcul de risque lié à la CN [55].

Dans une étude multicentrique, Snijders [84] compare le taux de détection de trisomie 21 par la mesure de la CN utilisée seule, versus l'association mesure de la CN et âge maternel. La mesure de la CN était supérieure au 95 ième percentile pour une LCC donnée dans 71,8 % des cas de trisomie 21, pour un taux de faux positif de 4,4 % (Tableau VIII). En utilisant la combinaison âge maternel et CN, la sensibilité du test est de 82,2 % (pour un taux de faux positif de 8,3 %), ce qui ramené à un taux de faux positif de 5 %, donne une sensibilité de 77%.

Tableau VIII. Nombre d'aneuploïdies détectées selon diverses stratégies [84]

Fetal karyotype	Total	Number with NT thickness > 95 th centile	Number with estimed risk 1 in 300 or more
Normal	95476	4209 (4.4%)	7907 (8.3%)
Trisomy 21	326	234 (71.8 %)	268 (82.2%)
Other chromosomal abnormalities			
Trisomy 18	119	89(74.8%)	97(81.5%)
Trisomy 13	46	33(72%)	37(80%)
Turner's syndrome	54	47(87%)	48(89%)
Triploidy	32	19(59%)	20(63%)
Other	74	41(55%)	51(69%)
Total	94127	4767(4.9%)	8428(8.8%)

d) Impact de l'erreur de mesure de la CN dans le dépistage de la trisomie 21

Toute erreur de mesure de la CN par excès ou bien par défaut va avoir un impact sur la valeur risque de trisomie 21. Kogan [54] réalise une simulation du risque obtenu pour des mesures de CN variant de 0,1 à 1 mm. Pour un seuil de positivité fixe (ici à 1/100), une sous-estimation de la valeur de la CN va ainsi réduire le taux de détection. En effet, lorsque le calcul de risque est basé sur l'âge maternel et la mesure de la CN, une sous-estimation de la médiane de la CN de 0,6 mm, diminue le taux de détection de 72 % à 60 % (pour un taux de faux positif de l'ordre de 2 %) (Figure 12 a).

A l'inverse, une surestimation de la mesure de la CN entraîne une augmentation du taux de faux positif. En effet, comme la montre la Figure 12 b, une surestimation de la médiane de la CN de 0,6 mm entraîne une augmentation du taux de faux positif de 2 à 18 % lorsque le risque est estimé par l'âge maternel et la mesure de la CN. Des conclusions similaires ont été obtenues lorsque des simulations ont été réalisées pour des valeurs de CN mesurées à 11 et 13 SA.

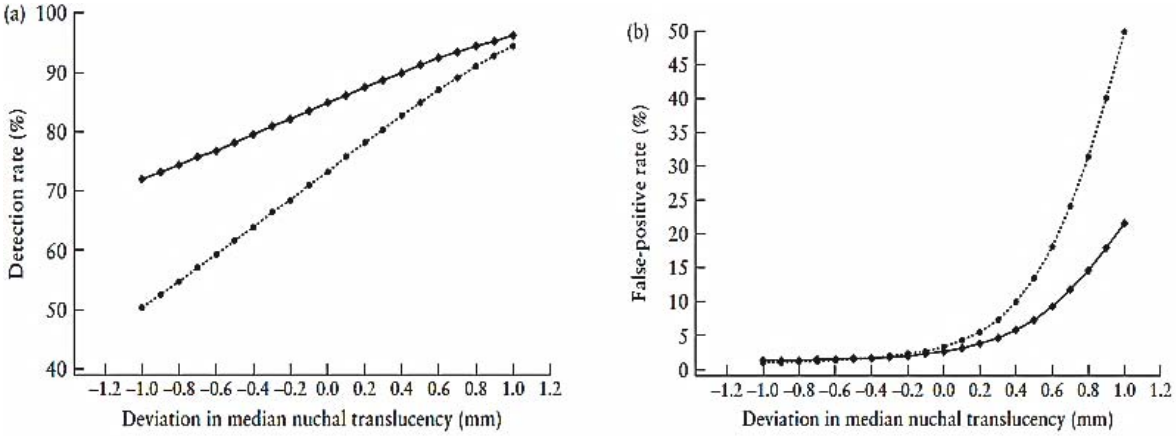


Figure 12. a) Variation du taux de détection en fonction de la déviation de la mesure de la CN médiane. b) Variation du taux de faux positif en fonction de la variation de la médiane de CN [54]

(pointillé : Risque basé sur l'âge maternel + mesure de la CN+ marqueurs sériques ; trait plein : Risque basé sur l'âge maternel + mesure de la CN)

e) Le contrôle qualité

La mesure de la CN n'est pas toujours aisée, elle nécessite un apprentissage adapté et doit s'inscrire dans une démarche qualité. Le contrôle qui doit être mis en place doit être à la fois basé sur un contrôle qualitatif et quantitatif.

- Exemple de contrôle qualitatif : le score d'Herman

Le contrôle « qualitatif » est effectué à l'aide de score(s) établi(s) à partir d'une grille de lecture de façon à améliorer la standardisation d'une mesure donnée. Différents scores sont utilisés pour juger de la qualité des clichés. Le score le plus couramment utilisée est celui établi par Herman.

En 1998, Herman [47] publie une méthode d'évaluation de la qualité du cliché échographique. Pour établir ce score, Herman se base sur des recommandations de la Fetal Medicine Foundation concernant l'utilisation du plan sagittal, le placement des calipers, la taille de l'image et la visualisation de l'amnios. Il tient compte de deux critères supplémentaires pour établir ce score : à savoir la visualisation de la peau et la position de la tête. Le score d'Herman est composé de trois critères majeurs (plan sagittal, position des calipers, visualisation de la peau) auxquels on attribue une valeur de deux points lorsque l'item est validé, ou une valeur de zéro point si l'item n'est pas validé. Les trois critères mineurs (zoom, différenciation entre la peau fœtale et l'amnios, position de la tête) sont cotés de 0 ou 1 point (Figure 13).

Un cliché est défini comme :

- **Excellent** : pour un score de 8 ou 9 (3 critères majeurs et 2 critères mineurs)
- **Acceptable :** pour un score allant de 4 à 7 (composé de deux critères majeurs ou un critère majeur et deux critères mineurs).
- **Intermédiaire :** pour un score de 2 ou 3 (composé d'un critère majeur ou deux critères mineurs).
- **Inacceptable :** pour un score de 0 ou 1.

  Les mesures de la LCC et de la CN ne peuvent être réalisées que lorsque le cliché est coté d'au moins 4 points.

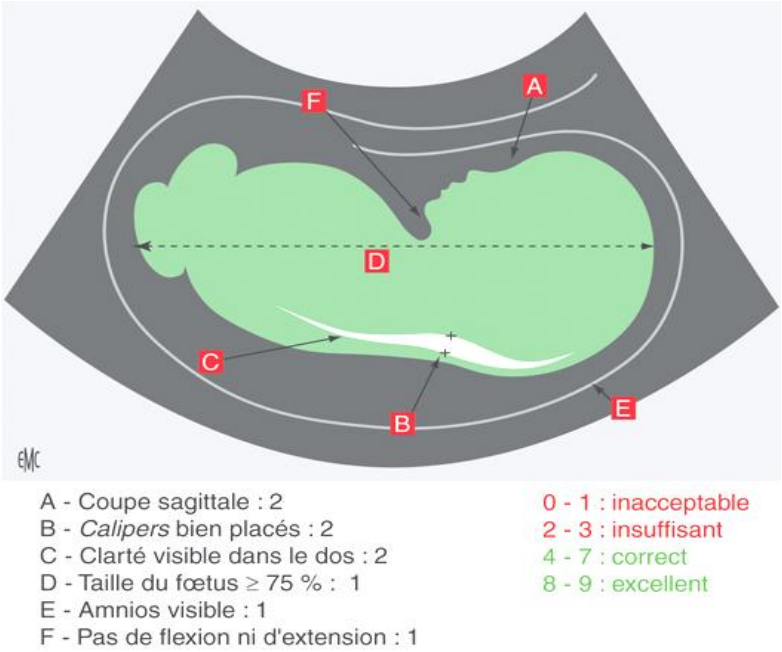


Figure 13. Critères du score d'Herman [95]

- L'EPP et le suivi des MoM de la CN

Pour participer au dépistage de la trisomie 21, les échographistes doivent réaliser une évaluation des pratiques professionnelles (EPP) auprès d'un organisme agréé par la HAS et adhérer à un réseau de périnatalité. Le réseau de périnatalité délivre un numéro identifiant unique composé de treize chiffres. Ce numéro comprend le département du lieu d'installation ou d'exercice, le numéro du réseau, le numéro d'enregistrement de l'échographiste au réseau, le numéro d'attestation délivré par l'organisme d'EPP, le numéro de l'organisme d'EPP. Cet identifiant échographiste doit impérativement être fourni au biologiste, ainsi que le nom et le prénom de l'échographiste pour toute demande de calcul de risque réalisé au premier trimestre ou au second trimestre incluant la CN. Sans cet identifiant, les logiciels de calcul sont bridés et ne peuvent pas calculer le risque. L'EPP est valable pour une durée de 5 ans [76].

Un deuxième contrôle plus quantitatif doit être réalisé. Il est impératif de réaliser le suivi de la distribution des MoM des CN par opérateur. En effet, ce suivi permet d'évaluer les mesures de chaque opérateur en s'affranchissant de l'âge gestationnel. Chaque opérateur doit avoir une médiane des mesures de la CN la plus proche de 1 MoM pour une sensibilité et une spécificité optimales [95].

C. Les marqueurs sériques maternels

1. L'hCG totale et la sous-unité β hCG libre

L'hormone chorionique gonadotrope, encore appelée gonadotrophine chorionique (hCG) appartient à la famille des hormones glycoprotéiques. L'hCG présente une parenté structurale importante avec les trois hormones hypophysaires : l'hormone lutéotrope, l'hormone folliculotrope (FSH) et l'hormone thyréotrope [52].

a) Structure de l'hCG et ses différentes formes moléculaires

Cette hormone se présente sous la forme d'hétérodimères constitués par l'association non covalente de deux sous-unités α et β (Figure 14) [15, 52].

- **La sous-unité α**, commune à tous les membres de cette famille hormonale, est un polypeptide de 92 acides aminés sur lequel viennent se greffer deux oligosaccharides N-liés [45, 52, 75].

- **La sous-unité β**, spécifique de chaque hormone, est un polypeptide de 145 acides aminés dont une séquence de 24 résidus carboxy-terminaux (carboxyl terminal portion ou CTP) est absente sur la chaîne β de l'hormone lutéotrope. La sous-unité β possède six chaînes glucidiques dont deux sont des oligosaccharides N-liés et quatre sont des oligosaccharides O-liés [45, 52, 75].

L'hCG circule majoritairement sous forme intacte. Une fraction de l'hCG est dégradée en hCG tronquée, essentiellement par des protéases placentaires. Ces formes tronquées sont instables et se dissocient rapidement dans la circulation donnant ainsi d'une part une sous-unité α libre tronquée et, d'autre part, une sous-unité β libre tronquée (Figure 14) [52]. Ces deux formes libres tronquées peuvent représenter jusqu'à 25 % de l'hCG totale.

Les sous-unités à l'état libre sont aussi détectables dans le sérum. Leur présence n'est pas liée à la dissociation de l'hCG mais à une biosynthèse indépendante de celle de l'hCG [52]. On retrouve donc dans le sang maternel la sous-unité α libre ainsi que la sous-unité β libre intacte ou tronquée. Ces différentes formes protéiques circulantes constituent la macrohétérogénéité circulante de l'hCG. Elles expliquent en partie les variations observées lors du dosage pondéral de l'hCG selon l'anticorps qui est utilisé [45].

L'hCG subit un catabolisme hépatique et rénal qui aboutit principalement à l'excrétion dans les urines d'un petit fragment de la chaîne β de l'hCG, que l'on appelle le fragment β-core. Le fragment β-core est immédiatement excrété en raison d'une grande instabilité circulante [45, 52].

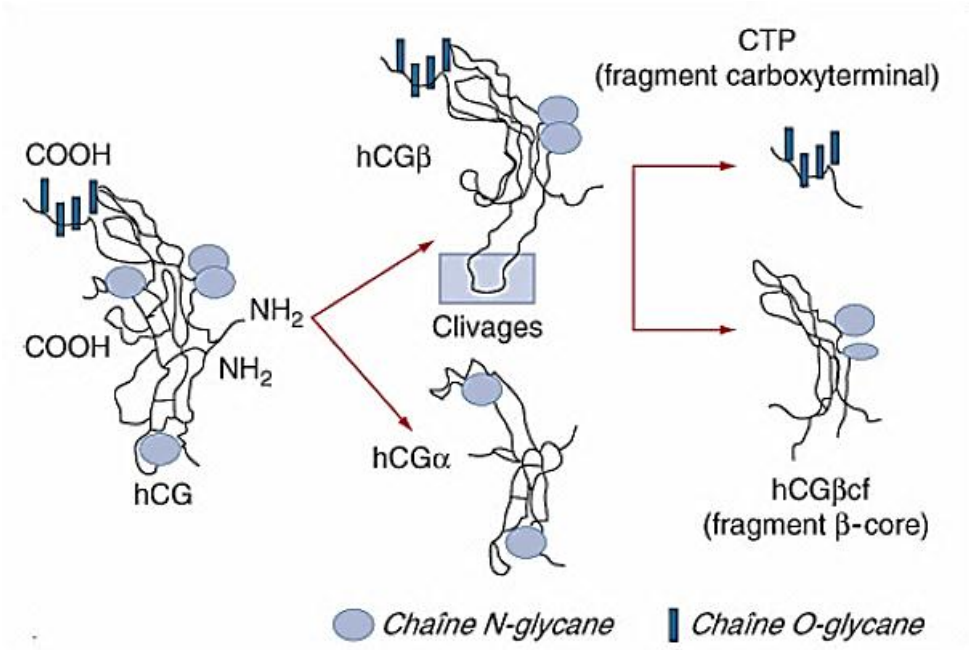


Figure 14. Représentation schématique des différentes formes moléculaires de l'hCG [15]

b) Synthèse de l'hCG et de ses sous-unités

- **Synthèse de l'hCG totale** :

L'hCG s'exprime fortement pendant la grossesse mais aussi physiologiquement hors grossesse à très bas bruit et de façon pathologique en cas de tumeurs [35]. Après association des deux sous-unités, l'hCG est sécrétée sur un mode constitutif par exocytose. La sécrétion de l'hCG totale reflète directement la synthèse de l'hormone [45]. Le dimère d'hCG est exprimé à bas bruit dans différents tissus : testicule, prostate, poumon, hypophyse. La sécrétion est stimulable par la Gonadotrophine Releasing Hormone et freinable par l'estradiol.

Pendant la grossesse, la situation est différente. L'hCG est sécrétée dès le stade blastocyste et gagne la circulation maternelle [35]. Comme toutes les hormones polypeptidiques placentaires, l'hCG est sécrétée à plus de 95 % dans la circulation maternelle. L'hCG totale présente un pic en fin de premier trimestre (vers la 9 ième semaine) (Figure 15) [45].

- **Synthèse de la sous-unité α :**

La sous-unité α est codée par un gène unique situé sur le chromosome 6. Hors grossesse, la sous-unité α libre est exprimée à bas bruit dans l'hypophyse (cellules thyréotropes, gonadotropes). Sa concentration basale circulante est faible (inférieure à 1 µg/L) et varie avec l'âge et le sexe : elle est ainsi plus élevée chez la femme et augmente à la ménopause [35]. Au cours de la grossesse, la sécrétion de la sous-unité α est importante puisqu'elle représente déjà 5 % de l'hCG totale au premier trimestre. Sa sécrétion augmente progressivement jusqu'au terme de la grossesse et peut représenter jusqu'à 50–75 % de l'hCG totale en terme pondéral [45] (Figure 15).

- **Synthèse de la sous-unité β :**

Les gènes de la β hCG, au nombre de 6 (β 1, 2,3, 5,7 8) sont situés sur le chromosome 19. Seuls les gènes β7, 8, 5 et 3 codent la sous-unité β de l'hCG. Le placenta exprime essentiellement les gènes β5, β8 et β3 [15, 45]. La sous-unité β est exprimée à très bas bruit dans la vessie, la surrénale et le colon. Elle ne présente pas de variation ni avec l'âge, ni avec le sexe [35]. A cours de la grossesse, la β hCG présente également un pic sécrétoire à la fin du premier trimestre. La concentration sérique de sous-unité β libre à terme n'excède pas 1 % de l'hCG total en terme pondéral (Figure 15) [45].

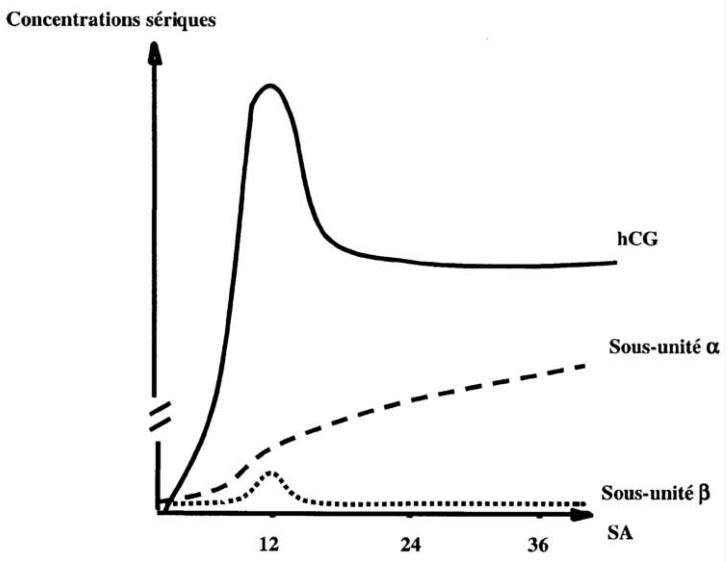


Figure 15. Profil de sécrétion de l'hCG et de ses 2 sous-unités au cours de la grossesse [45]

c) Catabolisme et demi-vie de l'hCG

La majorité de l'hCG circulante (environ 80%) est métabolisée par le foie et le rein par clivages successifs. On retrouve donc au niveau urinaire moins de 20 % d'hCG intacte [45, 52]. La demi-vie de l'hCG sérique est en moyenne de 24 à 36 heures [45, 52]. Son élimination se décompose en plusieurs phases : une rapide (demi-vie de 5 à 6 heures) et une ou deux autres phases plus lentes (demi-vie supérieure à 24 heures).
Les deux sous-unités libres ont des demi-vies beaucoup plus courtes, respectivement 2 heures pour la sous-unité α et 4 heures pour la sous-unité β [15, 45].

d) Effets biologiques de l'hCG

Si la sous-unité β confère une spécificité d'action à l'hCG, elle n'intervient cependant pas isolément dans la liaison au récepteur. Seule la forme dimérique de l'hormone possède une activité biologique. Les formes tronquées de l'hCG se lient également au récepteur mais leur activité sur la stéroïdogénèse est réduite.
Pendant la grossesse, l'hCG régule les fonctions fœtales, placentaires et maternelles et de ce fait joue un rôle essentiel au cours de la gestation. En effet, cette hormone est sécrétée par les cellules trophoblastiques du placenta dès les premiers jours de l'implantation de l'embryon. Elle permet le maintien du corps jaune ovarien. L'hCG stimule la production de progestérone [15, 45]. Elle induit également la stéroidogénèse du testicule fœtal [45].

e) Dosage de l'hCG

Le dosage de l'hCG n'est pas chose facile, compte tenu des formes multiples en présence dans les milieux biologiques divers. On dispose en pratique courante de tests pour détecter la présence d'hCG principalement dans les urines mais aussi pour doser dans le sang les différentes formes circulantes d'hCG (hCG dimérique ; sous unités α et β libres). Pour bien doser ces différentes formes d'hCG, il faut travailler sur un prélèvement adéquat et bien conservé [35]. En effet, la concentration de la β hCG libre augmente d'autant plus que le délai de dosage est long. Ce phénomène s'expliquerait par la dissociation de l'hCG totale entraînant la libération de sous-unité β. Les taux de β hCG libre sont dépendants de la température. Ainsi, à température ambiante (22 °C) et à 30 °C, la β hCG est stable dans le sérum 3 jours et 12 heures respectivement. La concentration en β hCG reste stable dans le sérum pendant 94

jours lorsque celui-ci est conservé au réfrigérateur. Dans le sang total, la concentration en β hCG augmente encore plus rapidement comparé au sérum, spécialement à 30 °C [25].

Toutes les techniques de dosage commercialisées aujourd'hui reposent sur une technique immunologique de type « sandwich » utilisant deux anticorps distincts [35]. Compte tenu des intérêts cliniques respectifs des différentes formes moléculaires de l'hCG, la spécificité des anticorps est le point clé pour la construction des dosages immunologiques. En effet, la reconnaissance des différentes formes moléculaires est variable selon l'immunodosage utilisé. Ainsi, la configuration de l'immunodosage conditionne le résultat obtenu. Le développement des méthodes de dosage de l'hCG et de ses formes a nécessité l'élaboration d'une cartographie rigoureuse des sites antigéniques. La classification des régions antigéniques, presentes à la surface de l'hCG, permet de délimiter sept régions majeures, identifiées en sites I à VII. Les anticorps monoclonaux définissant ces sites sont classés de la façon suivante (Figure 16) [15, 52] :

- **Le site I** : l'anticorps est dirigé contre l'extrémité CTP de la sous-unité β. L'extrémité carboxyterminale de la sous-unité β hCG se révèle être peu antigénique. Des anticorps monoclonaux diriges contre le CTP synthétique sont capables de lier à la fois l'hCG et sa sous-unite β.

- **Le site II** : l'anticorps est dirigé spécifiquement contre le dimère de l'hCG.

- **Le site IIIa** : l'anticorps est dirigé à la fois contre la sous unité α libre et l'hCG dimérique.

- **Le site IIIb** : l'anticorps est dirigé à la fois contre la sous-unité β libre et l'hCG dimérique. Les régions les plus immunogéniques de la sous-unité β résident sur les régions incluses dans le fragment β-core.

- **Le site IVa** : l'anticorps dirigé contre la sous-unité α libre uniquement. Le site IVa est formé par une région de la sous-unité α qui est inaccessible sur l'hormone dimerique.

- **Le site IVb** : l'anticorps est dirigé contre la sous-unité β libre uniquement.

- **Le site V** : l'anticorps est spécifique du fragment β-core. Très peu d'anticorps totalement spécifiques pour le fragment β-core de l'hCG ont été obtenus.

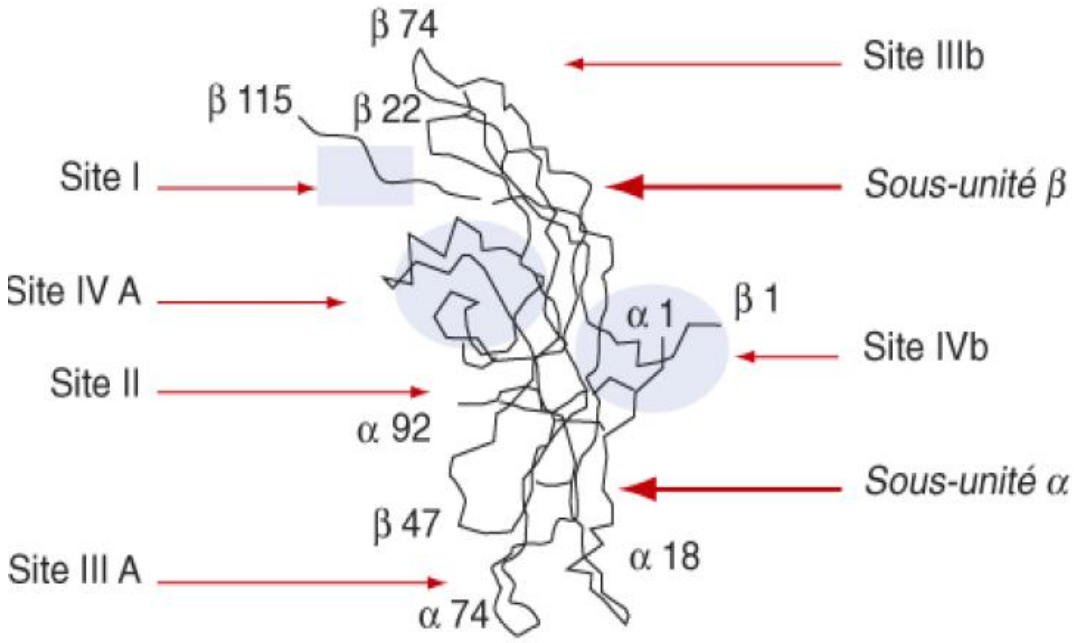


Figure 16. Classification des sites antigéniques présents à la surface de l'hCG [15]

f) Physiopathologie de l'hCG lors de la trisomie 21

Des anomalies de l'hCG ont été décrites dans la trisomie 21 à la fois sur un plan qualitatif et sur un plan quantitatif.

- **Anomalie qualitative : l'hCG hyperglycosylée** [45]

L'hCG circulante présente une glycosylation particulière en cas de trisomie 21 mais également dans les choriocarcinomes. Le sang de femmes porteuses d'un fœtus atteint de trisomie 21 renferme une hCG hyperglycosylée encore appelée invasive trophoblaste antigen (ITA). Sur un plan structural, l' hCG hyperglycosylée présente une augmentation du nombre de chaînes N-glycanniques. Les chaînes O- glycanniques sont plus longues puisqu'elles sont constituées d'au moins quatre oses (Figure 17). La copule glycannique de l'hCG hyperglycosylée est donc quantitativement plus importante par rapport à celle de l'hCG habituellement circulante d'où le terme d'hCG hyperglycosylée. La fraction d'hCG hyperglycosylée n'est pas en soi une forme d'hCG anormale puisqu'on la retrouve physiologiquement en dehors de toute aneuploïdie chez 10 % des femmes enceintes. Elle ne représente qu'une forme minoritaire de l'hCG totale circulante (26 % en début de grossesse ; moins de 3 % au second et troisième trimestre). L'hCG hyperglycosylée est retrouvée plus fréquemment dans le sérum de femme portant un fœtus atteint de trisomie 21 (60 %) où elle y est plus abondante (en moyenne 14 % de l'hCG totale circulante. Lors de trisomie 21, l'hCG

hyperglycosylée ne semble pas avoir une activité biologique différente, que ce soit au premier ou au deuxième trimestre de la grossesse.

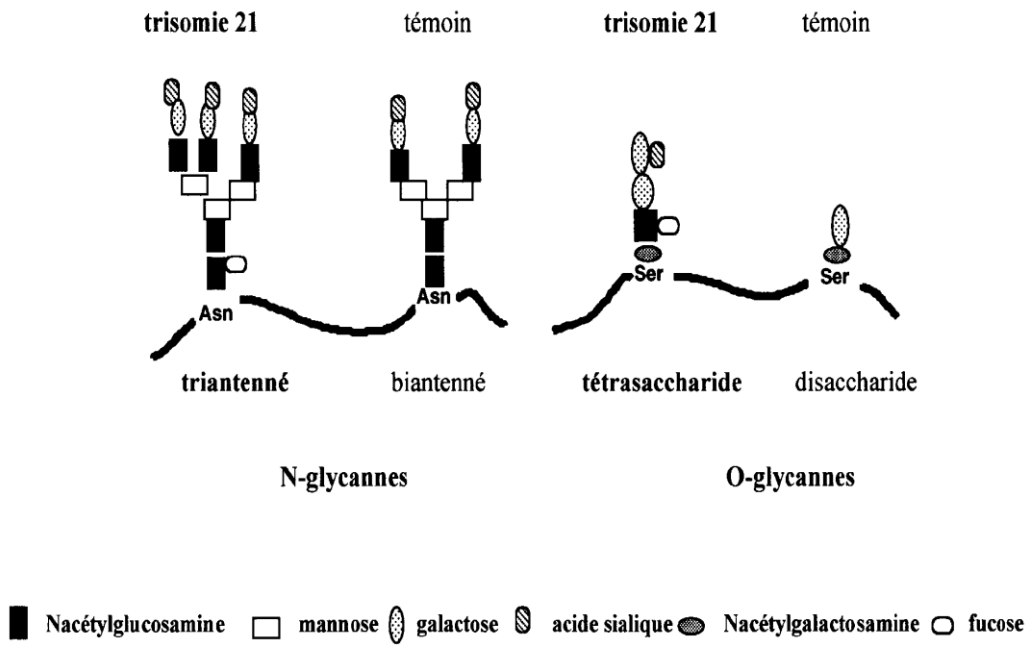


Figure 17. Structure glycanique de l'hCG normale et de l'hCG hyperglycosylée lors de trisomie 21

Asn : asparagine ; Ser : sérine

- Anomalie quantitative : deux hypothèses émises

Lors de grossesses associées à une trisomie 21, le placenta présente des anomalies morphologiques et fonctionnelles, se traduisant par une diminution de la masse syncytiale et par une diminution de la production des hormones associées à la grossesse. Par conséquent chez les femmes enceintes, porteuses d'un fœtus trisomique, il y a une discordance entre le taux d'hCG retrouvé anormalement élevé dans le sérum maternel et le faible taux de synthèse placentaire de l'hCG. Pidoux [75] a émis deux hypothèses pour expliquer ce phénomène :

- La première hypothèse s'appuie sur la différenciation des cytotrophoblastes qui est observée lors d'une trisomie 21. Cette différentiation conduit à un retard de la maturation du placenta, créant ainsi un décalage du pic de sécrétion d'hCG. Hors, Pidoux démontre que l'augmentation de l'hCG se retrouve tout le long de la grossesse et reste constante quel que soit le terme. Il n'existe pas de décalage du pic physiologique de sécrétion d'hCG dans les grossesses trisomiques par rapport aux grossesses normales. L'écart observé entre grossesse normale/ trisomique est de 2,61 MoM et reste le même tout au long de la grossesse.

- La deuxième hypothèse réside dans le fait d'un défaut d'élimination de l'hCG en cas de trisomie 21. En cas de trisomie 21, l'augmentation des concentrations en hCG peut s'expliquer, en partie, par un défaut de dégradation de l'hCG dans le sérum maternel. Il existe également une élimination anormale de l'hCG par le placenta lors de grossesse trisomique. En effet, l'hCG produite par le trophoblaste trisomique a une bioactivité diminuée, entraînant une capacité moindre à stimuler son élimination par le récepteur présent à la surface du placenta.

g) Apport de la β hCG et de l'hCG totale dans le dépistage de la trisomie 21

- Utilisation de l'hCG totale puis de la β hCG au cours du second trimestre

En 1987, Bogart [16] fait le lien entre l'augmentation de l'hCG totale mesurée entre 18 et 25 SA chez des patientes porteuses d'un fœtus trisomique. En effet, 56% des grossesses aneuploïdes ont une hCG totale supérieure à 2,5 MoM. L'utilisation d'une valeur élevée d'hCG totale permet la détection de 68 % de grossesses aneuploïdes.

En 1990, Macri [62] affirme pour la première fois que le taux de β hCG libre permet un taux de détection bien supérieur à celui obtenu avec les dosages de l'hCG totale. En 1991, Spencer [85] confirme cette observation en utilisant une trousse commercialisée pour le dosage. Les grossesses dont le fœtus est atteint de trisomie 21 ont des valeurs de β hCG libre qui sont en moyenne 2,06 fois plus élevées que la moyenne normale, alors que ce rapport est de 1,88 pour l'hCG totale. L'utilisation de la β hCG permet de détecter 4 cas de trisomie 21 supplémentaires par rapport à l'hCG totale. En 1992, Spencer [86] lance une étude multicentrique qui permet d'inclure 90 cas de trisomie 21 avérés. En combinant l'âge maternel avec la mesure de deux ou trois marqueurs, la meilleure association est la β hCG libre + AFP qui permet la détection de 66% des cas de trisomie 21. Le taux de détection passe à 77% si tous les dosages sont effectués précocement (entre 14 et 16 SA, au lieu de 14 et 21 SA dans l'étude). Chez les femmes âgées de moins de 30 ans, la β hCG se démarque le plus : 19 cas sont détectés grâce à l'utilisation de la β hCG, contre 9 par l'hCG totale.

- Utilisation de la β hCG dans le dépistage du premier trimestre

Les auteurs ont ensuite regardé si la β hCG était utilisable au premier trimestre. Wald a montré que les concentrations de β hCG libre mesurées entre 8 et 14 SA restaient élevées, avec une médiane de 1,79 MoM [83]. Evans [34] étudie au cours d'une méta analyse de la

littérature, l'apport de l'utilisation de la β hCG libre versus l'hCG totale dans le cadre du dépistage de la trisomie 21 au premier trimestre (entre 9 et 12 SA). La combinaison β hCG libre/PAPP-A/CN permet d'obtenir des taux de détection plus importants que celle fournie par l'association hCG totale/PAPP-A/CN. Le taux de détection augmente au fil des semaines pour la β hCG libre ainsi que pour l'hCG. Le phénomène inverse se produit pour la PAPP-A. La β hCG libre permet une réduction moyenne de 47% de faux positif alors que l'hCG totale ne permet qu'une réduction de 17%.

Lorsque le dépistage est effectué chez les patientes âgées de moins de 35 ans, l'utilisation de la β hCG libre offre un taux de détection plus important que celui obtenu par l'utilisation de l'hCG totale (Figure 18a). Chez les patientes âgées d'au moins 35 ans, l'utilisation de la β hCG libre dans la stratégie de dépistage permet une diminution du taux de faux positif plus importante que lors de l'utilisation de l'hCG totale (Figure 18b).
A 13 SA, pour un taux de détection fixé à 90 %, la β hCG libre réduit le taux de faux positif de 56 % alors que la hCG totale le réduit de 53%. La β hCG libre constitue un marqueur de choix pour le dépistage du premier trimestre.

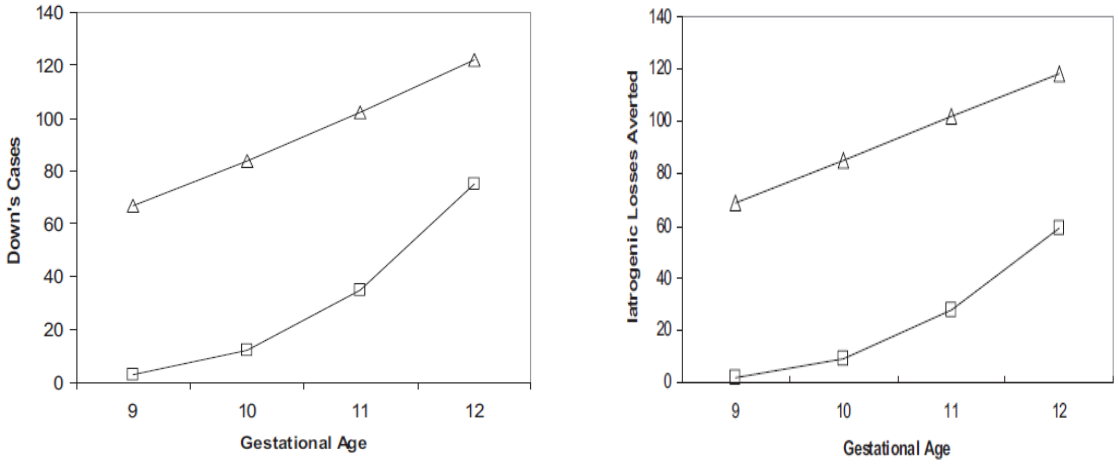


Figure 18 a : Nombre de cas de trisomie 21 détecté par l'utilisation de la β hCG (triangle) et l'hCG totale (carré) b : Perte iatrogène évitée par l'utilisation de la β hCG libre (triangle) versus l'hCG totale (carré)

2. La Pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A)

a) Structure

La PAPP-A a été décrite pour la première fois par Lin et al. [60] en 1974 comme étant un composant sérique de haut poids moléculaire isolé chez des femmes en fin de grossesse. Depuis sa structure a été caractérisée, et montre qu'il s'agit d'une métalloglycoprotéine fortement glycosylée (19 %). La PAPP-A possède une mobilité électrophorétique en α2. La PAPP-A contient un motif zinc qui représente le site actif de la famille des zinc-peptidases [20, 38]. La structure a été établie par Overgaard et al. [70] et comprend une partie N terminale commune à d'autres protéines ; un domaine protéolytique ; deux domaines M1 et M2 en position centrale; des domaines *complement control protein* (CCP) qui permettent l'adhésion aux cellules ; une partie C terminale. Le polypeptide mature contient un site zinc qui se situe entre les acides aminés 482 et 492 [20] (Figure 19).

La PAPP-A est présente dans le sérum de femmes enceintes sous forme hétérotétramérique : deux molécules de PAPP-A s'associent entre elles et à deux molécules de précurseur de la protéine basique majeure du polynucléaire éosinophile (proform of eosinophil major basic protein ou pro-MBP). Les deux sous-unités de PAPP-A sont liées par un pont disulfure au niveau de la cystéine 1130. Chaque sous-unité de PAPP-A est liée à la pro-MBP par l'intermédiaire de deux ponts disulfures et forme un complexe hétérotétramérique de 800 kiloDalton (Figure 19) [20].

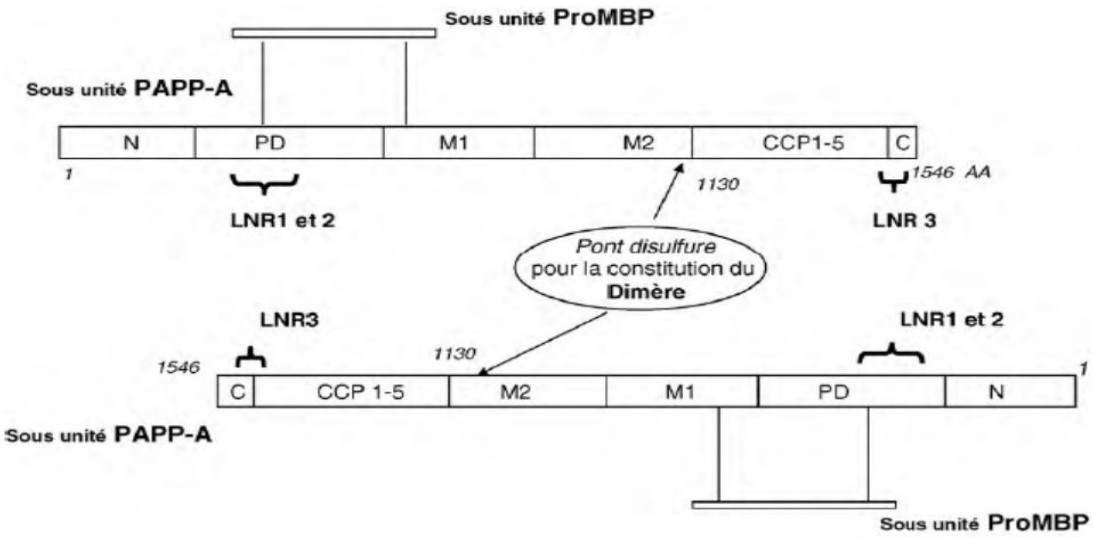


Figure 19. Structure hétérotétramérique de la PAPP-A [20]

N : partie N terminale ; PD : domaine protéolytique ; M: position centrale ; CCP : complement control protein ; C : partie C terminale

b) Synthèse de la PAPP-A

Le gène de la PAPP-A est porté par le chromosome 9. La PAPP-A est produite par le syntiotrophoblaste placentaire sous une forme de précurseur qui a environ 80 acides aminés de plus que la sous-unité mature. Une première traduction permet la formation d'une protéine de 1626 acides aminés, une pré-protéine de 58 résidus et la protéine mature de 1547 acides aminés incluant 82 cystéines [20]. La PAPP-A peut être détectée dès la sixième SA, et sa concentration augmente pendant toute la grossesse [38]. La synthèse de la PAPP-A a été rapportée, chez la femme, en dehors de la grossesse, dans le corps lutéal, les follicules ovariens et les cellules de la granulosa, l'endomètre. Chez l'homme, une synthèse de PAPP-A se fait au niveau de la prostate et des testicules. D'autres tissus peuvent produire de la PAPP-A comme les cellules vasculaires du muscle lisse, le foie, le pancréas, la rate, la moelle osseuse [20]. La pro-MBP est synthétisée dans le cytotrophoblaste des villosités choriales. Le gène codant pour le prépro-MBP est porté par le chromosome 11. Pendant la grossesse, les concentrations de pro-MBP dépassent celles de la PAPP-A de 5 à 10 fois.

c) Le rôle biologique de la PAPP-A

La PAPP-A présente une activité protéolytique vis-à-vis de l'Insulin-like Growth Factor Binding Protein 4 (IGFBP-4) en présence d'IGF (l'Insulin-like Growth Factor). L'IGF et l'IGFBP-4 jouent un rôle dans le développement folliculaire ovarien, en particulier en régulant l'action de la FSH [38]. Les taux élevés d'expression de la PAPP-A au niveau du cytotrophoblaste suggèrent un rôle important au site d'implantation, en contrôlant les processus d'invasion [20]. La PAPP-A a un effet anabolisant *in vivo* sur les ostéoblastes. L'inactivation du gène PAPP-A entraîne un sévère retard de croissance. Après une blessure, la PAPP-A joue un rôle dans les phases de cicatrisation de la peau [20]. Le taux circulant élevé dans la plaque d'athérosclérose instable suggère à la PAPP-A un rôle de marqueur des syndromes coronariens aigus.

d) Le dosage de la PAPP-A

La PAPP-A est une molécule stable et robuste. En effet, il a été démontré que la concentration mesurée en immuno-analyse sur sérum ne changeait pas significativement après 142 jours au réfrigérateur, 37 jours à température ambiante (22 °C), 20 jours à 30 °C. Les concentrations

de PAPP-A restent stables 3 jours sur sang total [25]. Le dosage de la PAPP-A se fait sur sérum. Des valeurs différentes ont été observées entre sérum et plasma (citrate, EDTA). Le dosage doit être effectué sur du sérum, en raison du complexe possible entre le zinc et le calcium de l'EDTA, entrainant une diminution de signal de détection. L'héparine peut se lier à la PAPP-A, mais l'utilisation d'anticorps monoclonaux a minimisé cette réaction croisée [20, 38].

e) Apport de la PAPP-A dans le dépistage de la trisomie 21

Depuis 1992, Wald [94] a démontré que le taux sérique de PAPP-A est inférieur à la normale au premier trimestre seulement et à un âge gestationnel identique, dans les grossesses portant un fœtus atteint de trisomie 21. La médiane moyenne est autour de 0,23 MoM. A l'inverse, au second trimestre, les valeurs en MoM de PAPP-A observées sont les mêmes que la grossesse soit affectée ou non par la trisomie 21, ce qui rend le dosage de la PAPP-A inutilisable au deuxième trimestre de la grossesse [71].

3. L'alpha foetoprotéine (AFP)

L'AFP est une glycoprotéine de masse moléculaire relative 69 kDA, dont la structure est proche de celle de l'albumine. L'AFP est codé par un gène situé sur le chromosome 4. Ce marqueur est constitué par l'association d'une chaîne polypeptidique, comportant 590 acides aminés, et d'une unique chaîne glycanne qui peut être l'objet de modifications structurales, caractérisant ainsi des isoformes différentes [44]. A l'état natif, l'AFP existe sous forme de mono-, bi- et trimère. Les principales fonctions biologiques de l'AFP sont celles de transporteurs, de facteur croissance cellulaire et d'immunorégulateur [76]. L'AFP est synthétisé par les cellules endodermiques de la vésicule vitelline à partir de la troisième semaine de gestation. Après la huitième semaine, la production d'AFP est essentiellement assurée par le foie et elle constitue une des principales protéines circulantes chez le fœtus [44]. Dans le sérum maternel, l'AFP augmente de la 14 ^{ième} à la 30 ^{ième} SA, puis décroit jusqu'à la fin de la grossesse [76].

En 1984, Merkatz et al. [63] montrent que les concentrations en AFP sont plus basses dans le sérum maternel quand le fœtus est atteint de trisomie 21. L'AFP sérique maternelle anormalement élevée permet également le dépistage du défaut de non fermeture du tube

neural. Un seuil de 2,5 MoM est utilisé pour alerter les échographistes et rechercher de manière plus précise cette anomalie [12, 32].

4. L'oestriol non conjugué (uE3)

La production d'oestriol nécessite une coopération foeto-placentaire. Son taux augmente régulièrement de la 14 ième SA jusqu' au terme. L'excrétion a lieu au niveau urinaire. La circulation se fait sous forme conjuguée par le foie majoritairement et sous forme minoritaire non conjuguée. La forme non conjuguée représente l'oestriol libre dosé dans le dépistage de la trisomie 21. Des taux bas sont retrouvés en cas de trisomie 21 au second trimestre [29, 76].

D. Paramètres du calcul de risque de trisomie 21

1. La datation de la grossesse

Quel que soit la méthode de détermination de l'âge gestationnel, tous les logiciels utilisent une datation de la grossesse exprimée en SA révolues [64]. L'âge gestationnel est déterminé à la date du prélèvement réalisé pour le dosage des marqueurs sériques. L'âge gestationnel peut être obtenu à partir de la date des dernières règles, de la date de début de grossesse, ou de la mesure de la LCC.

2. La médiane

La médiane, aussi appelée point médian, correspond à la valeur centrale d'une série d'observations ordonnées par ordre croissant ou décroissant [64, 66]. La médiane offre l'avantage d'une signification simple : elle sépare la série ordonnée en deux sous-ensembles de mêmes effectifs, ce qui fait d'elle un très bon indicateur de position. En effet, elle reste peu sensible aux données extrêmes qui correspondent le plus souvent à des observations issues d'une population autre que celle étudiée [66].

Par exemple, la Figure 20 représente la distribution des fréquences cumulées par ordre croissant des concentrations en AFP observées chez 163 femmes à 16 SA. Pour obtenir la médiane sur cette période, il suffit de regarder quelle est la concentration en AFP qui correspond à 50 % des fréquences cumulées. La médiane en AFP à 16 SA est de 32,6 ng/mL [66].

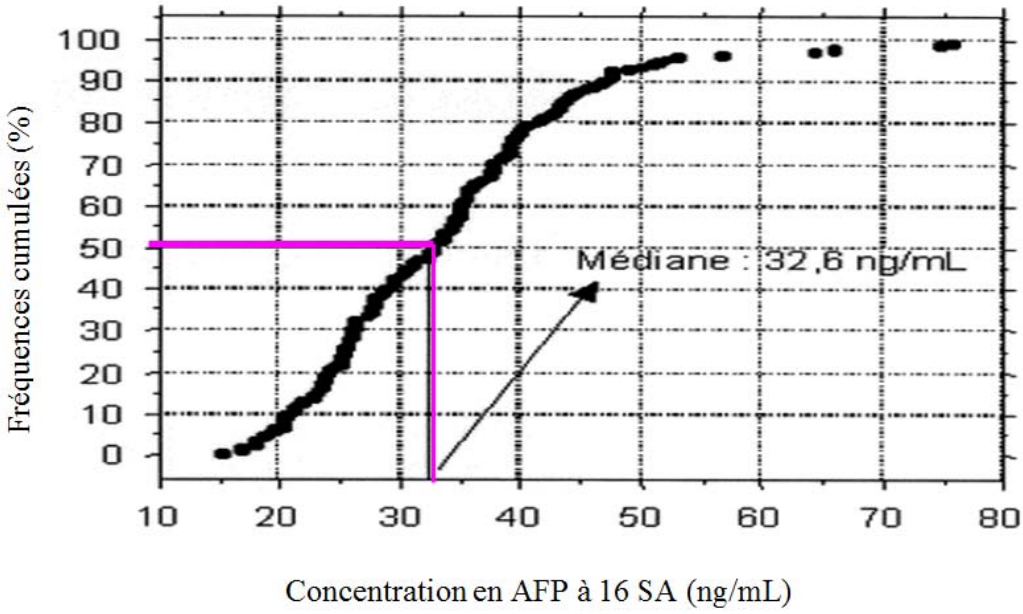


Figure 20. Détermination de la médiane en AFP à 16 SA [66]

A partir d'un très grand nombre de données, des valeurs de références ont été établies pour chaque paramètre biologique, permettant ainsi de définir une valeur médiane dite de référence pour chacun des marqueurs et pour chaque jour de grossesse. La médiane de référence est définie pour l'âge gestationnel auquel se trouve la patiente le jour du prélèvement. La datation de la grossesse doit donc avoir été déterminée avec la plus grande précision possible afin que la médiane de référence utilisée soit la mieux ajustée à l'âge gestationnel [64]. Selon les recommandations de l'AFSSAPS, cinq cents couples de points par SA sont nécessaires pour établir des médianes de référence. Ces couples de points sont obtenus chez des patientes non fumeuses, non diabétiques, et dont le fœtus est non trisomique 21 (issue de grossesse connue) [66]. La détermination de la médiane de référence fait intervenir le logarithme des concentrations (Figure 21). En effet, les logarithmes des concentrations sont pratiquement distribués selon une loi de Gauss et s'adaptent très bien aux exploitations statistiques. Les dates de grossesses sont exprimées en jours. Chaque jour ne comporte pas obligatoirement le même nombre de mesures [66].

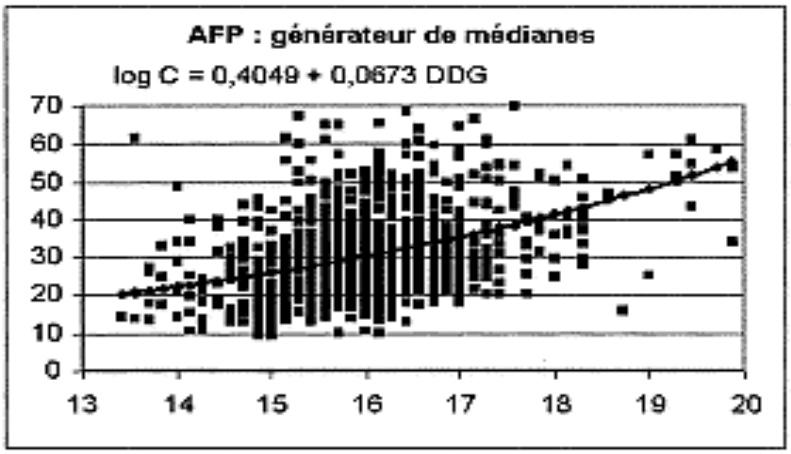


Figure 21. Exemple de médiane de référence de l'AFP [66]

C : concentrations DDG : date de grossesse

3. Le multiple de la médiane (MoM)

La concentration sérique d'un marqueur évolue avec l'âge de la grossesse. Afin de s'affranchir de cette variation, les concentrations sont transformées en MoM. Un MoM est obtenu en divisant la concentration mesurée par la concentration médiane de référence [64]. L'expression des résultats sous la forme de MoM permet d'avoir une unité commune à tous les marqueurs et à chaque SA afin de simplifier l'équation du calcul du risque [64]. La médiane des MoM des marqueurs sériques est par définition égale à 1 MoM dans la population non atteint de trisomie 21 [24, 64]. Pour les fœtus atteint de trisomie 21, la médiane des MoM en AFP, hCG totale, uE3, PAPP-A et β hCG libre sont respectivement de 0,75 MoM [76], 2,2 MoM [76], 0,75 MoM [76], 0,4 MoM [80] et 1,8 MoM [80].

4. La notion de MoM brut et MoM corrigé

On définit par le terme de MoM brut, un MoM dépendant uniquement de la concentration mesurée en fonction de l'AG. On appelle MoM corrigé, le MoM qui est corrigé par certains facteurs, notamment le poids et le tabac, qui peuvent avoir un effet sur la concentration et donc sur le risque calculé. Lors d'un ajustement en fonction du poids, la correction est obtenue en multipliant le MoM brut par un facteur déduit d'une fonction du poids. Concernant la correction du tabagisme, elle résulte d'une multiplication du MoM brut par un facteur constant indépendant de la quantité de tabac consommé [66].

5. Le rapport de vraisemblance ou le likelihood ratio (LR)

Des différences de distribution de la concentration des paramètres biologiques ont été observées entre la population de patientes porteuses d'un fœtus atteint de trisomie 21 et la population contrôle dont les fœtus ne sont pas atteints de trisomie 21. Ces variations biologiques sont indépendantes de l'âge maternel [24]. Le rapport de vraisemblance ou likelihood ratio (LR) correspond au rapport pour une concentration donnée du marqueur, de la fréquence de cette concentration dans la population dite « pathologique » à sa fréquence dans la population dite « normale » [24, 64]. Ainsi la base de données « normales » d'un marqueur est un ensemble de logarithmes de MoM de concentrations obtenues pour un grand nombre de femmes non porteuses d'enfant trisomique 21. La base de données « pathologique » d'un marqueur est un ensemble de logarithmes de MoM de concentrations obtenues pour un grand nombre de femmes porteuses d'enfant trisomique 21 [66]. Lorsqu'on prend l'exemple de la Figure 22, la valeur mesurée dans le sérum de la patiente est de 2,2 MoM pour la β hCG. En reportant cette valeur sur les courbes, on s'aperçoit que cette valeur est quatre fois plus fréquente dans la population trisomique par rapport à la population « normale », ce qui multiplie le risque par 4.

Dans tous les calculs, ce sont les logarithmes des MoM qui sont utilisés. La distribution des valeurs suit la loi de Gauss [64, 66].

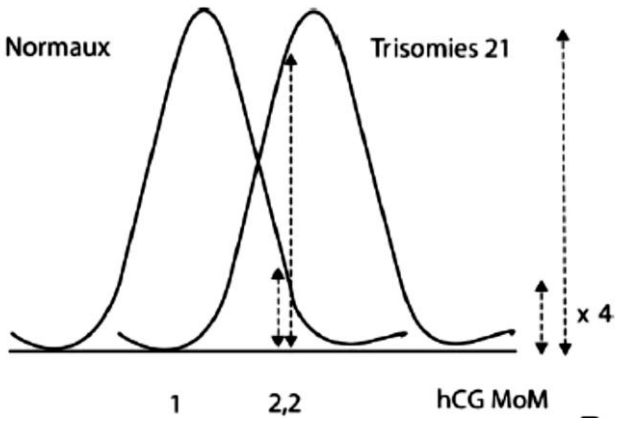


Figure 22. Exemple de rapport de vraisemblance pour l'hCG totale [24]

E. Le calcul de risque de trisomie 21

1. Définition d'un risque

Le risque correspond à la probabilité de survenue d'un événement néfaste. Cette probabilité est estimée par la fréquence de survenue de cet événement [76]. La probabilité peut être à priori, c'est à dire qu'elle est déduite d'une population sur laquelle on dispose d'un minimum de renseignements. Par exemple, si sur 300 000 naissances, on observe 300 trisomies 21, le risque à priori est de 1/1000. La probabilité peut être aussi conditionnelle, c'est à dire lorsque sa valeur est modifiée par la prise en compte de renseignements supplémentaires comme l'âge maternel. Par exemple, si pour 10000 issues de grossesse observées chez des femmes âgées de 20 ans, on dénombre 7 trisomies 21, le risque conditionnel de trisomie 21 à 20 ans est estimé à 1/428. La prise en compte des marqueurs sériques constitue une information supplémentaire qui modifie le risque lié à l'âge maternel : il s'agit du risque conditionnel combiné de l'âge maternel et des marqueurs sériques [64].

2. Définition du dépistage de la trisomie 21

On définit par test de dépistage, un test qui permet de sélectionner dans la population générale les personnes porteuses d'une atteinte définie [64]. Ainsi, le dépistage de la trisomie 21 correspond au processus permettant de détecter les femmes enceintes ayant un risque supérieur à un seuil fixé de donner naissance à un enfant atteint de trisomie 21. En France, dans le cadre de l'estimation du risque de trisomie 21, le seuil fixé est de 1/250 [97]. Le seuil de risque de 1/250 correspond au risque à terme pour un âge maternel de 36 ans et neuf mois [79]. Ainsi un dépistage « positif » (risque estimé supérieur ou égal à un seuil donné) ne signe pas une atteinte fœtale, mais indique simplement l'appartenance à un groupe à risque accru. Seul l'examen diagnostique permettra de conclure. Inversement, un dépistage « négatif » (risque estimé inférieur au même seuil) n'exclut pas la possibilité d'une naissance d'un enfant trisomique, mais place la patiente dans un groupe à risque minoré [64, 97]. Le dépistage va être caractérisé par [64] :

- Le taux de faux négatifs correspond à l'ensemble des femmes dont le fœtus est atteint de trisomie 21 qui n'ont pas été détectées « à risque élevé » lors du dépistage. Le diagnostic de trisomie 21 est posé ultérieurement.

- Le taux de faux positifs correspond à l'ensemble des femmes dont le fœtus n'est pas trisomique mais qui sont détectées « à risque élevé» lors du dépistage. Le diagnostic de trisomie 21 est non confirmé.

	Nombre de T21	Nombre de non T21
Test positif	Vrai positif (VP).	Faux positif (FP).
Test négatif	Faux négatif (FN).	Vrai négatif (VN).

T21 : trisomie 21

- **Le taux de détection** correspond à la sensibilité du test. **La sensibilité** correspond à l'aptitude du test à repérer les malades dans la population. Dans le cas du dépistage de la trisomie 21, la sensibilité correspond au rapport des fœtus trisomiques 21 dépistés sur le nombre total de trisomies 21. C'est à dire :

Sensibilité = VP/ (VP+FN)

- La spécificité correspond à l'aptitude d'un test à repérer les non malades. Dans le cas du dépistage de la trisomie 21, la spécificité est définie par le rapport du nombre de fœtus non trisomiques 21 sur le nombre total de fœtus non atteints de trisomie 21. C'est à dire :

Spécificité = VN/ (VN+FP).

- La valeur prédictive positive correspond à la probabilité d'être atteint quand le test de dépistage est positif. Dans le cadre du dépistage de la trisomie 21, elle est définie par le pourcentage de fœtus atteints de trisomie 21 parmi les patientes dont le test de dépistage est positif. C'est à dire :

Valeur prédictive positive = VP / (VP+FP)

- La valeur prédictive négative est définie par la probabilité de ne pas être atteint de la maladie lorsque le test de dépistage est négatif. Dans le cadre du dépistage de la trisomie

21, elle correspond au pourcentage de fœtus non trisomiques 21 parmi les patientes dont le test de dépistage est négatif, soit :

Valeur prédictive négative = VN / (VN+FN)

3. Principe du calcul de risque du dépistage de la trisomie 21

Wald [92] a proposé un calcul de risque qui est celui utilisé encore aujourd'hui dans tous les logiciels validés en France. Le calcul individuel de risque de trisomie 21 pour chaque femme testée combine le risque lié à l'âge maternel au moment du prélèvement, à d'autres marqueurs, à condition qu'ils soient indépendants. Ces autres marqueurs peuvent être biologiques (ce sont les marqueurs sériques) ou échographiques (la CN). De manière simplifiée, le calcul du risque correspond à [76] :

Risque de trisomie 21 fœtale * = risque lié à l'âge maternel x LR marqueurs sériques x LR CN

* : ce calcul de risque correspond au dépistage du premier trimestre et second trimestre intégré. Pour le second trimestre sérique, il n'y a pas de multiplication par le LR de la CN.
x : multiplié

En France, tous les logiciels utilisés pour le calcul du risque doivent être agréés par l'AFSSAPS [64, 76]. Les biologistes doivent utiliser un couple réactif/logiciel du même fournisseur. La patiente testée est comparée aux médianes enregistrées dans le logiciel qui a utilisé les mêmes réactifs [32, 76].

4. Les facteurs influençant le calcul de risque

Certains facteurs vont avoir une influence sur la distribution des valeurs des marqueurs sériques maternels et par conséquent sur le risque final. C'est le cas du poids maternel, la gémellité, le tabagisme, l'origine géographique, le diabète et des antécédents de trisomie 21. Le Tableau IX résume l'ensemble des variations des marqueurs sériques.

a) La gémellité

A l'heure actuelle, le dépistage de la trisomie 21 en France est mis au point dans les grossesses uniques dans la quasi-totalité des laboratoires agréés. En effet, le dépistage effectué lors d'une grossesse gémellaire existe, il est réalisable uniquement au second trimestre de la grossesse. Le dépistage ne peut être transposé tel quel dans les grossesses gémellaires car les concentrations des marqueurs sériques sont physiologiquement plus élevées. De plus, les dosages sériques reflètent globalement le métabolisme placentaire et fœtal de deux jumeaux ce qui pourrait limiter la sensibilité du dépistage quand un seul fœtus est atteint de trisomie 21. Malheureusement, on ne dispose pas de données reposant sur un grand nombre de cas concernant la distribution des marqueurs dans les grossesses gémellaires avec un ou deux fœtus atteints. De ce fait, la méthode consiste à « normaliser » les concentrations de marqueurs chez les jumeaux en les divisant par la médiane définie sur une population de grossesses gémellaires témoins, puis à utiliser ces valeurs normalisées dans des logiciels qui ont été calibrés pour des grossesses monofœtales. De plus, le dépistage de la trisomie 21 dans les grossesses gémellaires est compliqué par l'estimation du risque lié à l'âge maternel. En effet, si pour les grossesses gémellaires monozygotes, ce risque est identique à celui des grossesses monofoetales, pour les grossesses gémellaires dizygotes, le risque d'avoir au moins un enfant atteint est presque doublé par rapport à une grossesse monofœtale [12, 67].

b) Les antécédents d'aneuploïdie lors de grossesse précédente

En 2005, Cuckle [26] a montré l'impact d'un antécédent d'aneuploïdie lors d'une grossesse antérieure, sur le dépistage de la trisomie 21. Il base son étude sur 303 cas de grossesse avec antécédent de trisomie 21, 63 cas avec antécédents de trisomie 13 et 9 antécédents de trisomie 18. Il met en évidence l'existence d'une différence significative des distributions de la β hCG libre et de la PAPP-A. En effet, en moyenne, les concentrations en β hCG libre sont augmentées de 10 % en cas d'antécédent d'aneuploïdie. Quant à la PAPP-A, les concentrations sont augmentées de 15%. Par contre, pour les marqueurs du second trimestre, aucune différence significative des concentrations n'est observée en cas d'antécédent d'aneuploïdie. En 2009, Spencer [90] réalise une étude similaire en se basant sur une cohorte de plus grande importance (1032 cas d'antécédent de trisomie 21, 293 cas avec antécédent de trisomie 18 et 158 cas avec antécédent de trisomie 13). Il confirme que les valeurs de PAPP-A

sont plus élevées chez les patientes ayant un antécédent de trisomie 21 ou 13 (respectivement de l'ordre de 5% et 16%). Par contre, les concentrations en PAPP-A restent identiques en cas d'antécédent de trisomie 18. A l'inverse de Cuckle, il ne met pas en évidence d'augmentation significative de la β hCG. Selon Spencer, une telle discordance de résultats peut s'expliquer par le fait que Cuckle ne tient pas compte des facteurs correctionnels tel que l'origine géographique, le tabac, ou une FIV.

c) La procréation médicalement assistée

L'hCG totale, mesurée au second trimestre, tend à être augmentée pour un âge gestationnel identique, après FIV par rapport à une grossesse spontanée [13]. Il est même constaté qu'il existe une corrélation entre l'âge gestationnel et l'augmentation de l' hCG totale [41].

Concernant les marqueurs du premier trimestre, des concentrations en PAPP-A significativement plus basses (de l'ordre de 10 %) ont été observées lorsque les grossesses sont conçues par FIV. Inversement, il existe une augmentation significative des concentrations (de l'ordre de 9 %) en β hCG lors de grossesse obtenue par FIV [53, 41, 33]. Avec le temps, les techniques d'aide à la reproduction se diversifiant, les auteurs ont regardé quels étaient les effets sur les marqueurs du premier trimestre. Lors d'injection intra-cytoplasmique de spermatozoïdes, les concentrations en PAPP-A sont significativement plus basses par rapport à celles observées lors d'une grossesse spontanée. Par contre, cette technique n'entraîne aucune différence significative sur les valeurs des MoM pour la β hCG [33, 41]. Hui [49] va même jusqu'à étudier si la congélation de l'embryon a un effet sur les concentrations en marqueurs sériques. Il rapporte que les médianes des MoM de PAPP-A sont significativement réduites pour la technique d'injection intra-cytoplasmique de spermatozoïdes que l'embryon soit frais ou congelé, ainsi que dans le groupe des FIV à embryon frais. La β hCG libre est significativement réduite dans le groupe de FIV à embryon frais. La physiopathologie de la différence de concentrations des marqueurs sériques entre les grossesses spontanées et les grossesses obtenues après aide à la reproduction, reste peu claire. Une explication possible reste la différence de délai de maturation du placenta. En effet, il existe une différence de croissance et de développement à la fois du fœtus et du placenta lors de tel processus [33].

d) Le tabagisme actif

Le tabagisme pendant la grossesse influence les concentrations des marqueurs sériques utilisés dans le dépistage de la trisomie 21. L'étude de l'influence du tabac sur les marqueurs sériques du second trimestre a démontré sans équivoque l'importance de son effet sur l'hCG. En effet, le tabagisme induit une diminution de l'ordre de 18% de taux d'hCG totale chez une patiente fumeuse (médiane moyenne de 0,82 MoM), et de l'ordre de 20 % pour les taux de β hCG libre (médiane moyenne à 0,8 MoM). Les concentrations en AFP sont moins influencées par le tabac, avec une médiane moyenne de 1,05 MoM [12, 14, 28]. L'impact du tabac sur les marqueurs sériques est indépendant du nombre de cigarettes fumées. Il apparaît dès une consommation d'une cigarette par jour [12, 28]. Un sevrage de 15 jours est nécessaire pour considérer une femme comme non fumeuse [12]. Perona [74] conclut également dans son étude à une diminution de 25 % d'hCG et à une augmentation de 3 % pour l'AFP. Il préconise ainsi qu'une correction soit faite pour le tabac, car il met en évidence des taux de détections anormalement plus bas chez les femmes fumeuses sans correction. Ainsi, les taux de détection chez les femmes fumeuses non corrigées sont de 55,6 % contre 83 % chez les non fumeuses. La valeur des médianes des MoM de la β hCG et de la PAPP-A sont significativement plus basses chez les patientes fumeuses comparées aux non fumeuses [2, 14, 53]. Bestwick [14] détermine au cours d'une méta analyse, que la médiane moyenne pour la PAPP-A est de 0,81 MoM et que celle de la β hCG est de 0,94 MoM. Dans son étude, Ardawi [2] étudie l'effet de la Chicha sur les marqueurs sériques du premier trimestre. Il constate que fumer la Chicha provoque les mêmes effets que la cigarette. Les raisons de l'effet de la cigarette sur les marqueurs biochimiques restent peu comprises. La cigarette pourrait causer des dommages sur la barrière placentaire, ce qui perturbe les transferts materno-foetaux de ces marqueurs à travers le placenta [2]. Concernant la CN, les études ont montré que la valeur médiane est augmentée chez les patientes fumeuses [2, 14, 53]. Il est possible que l'augmentation de la CN chez les femmes fumeuses soit la conséquence d'un trouble et/ou un retard du développement du système lymphatique [2].

e) Le poids maternel lors du prélèvement

Les concentrations des marqueurs sériques maternels du second trimestre sont modifiées en fonction du poids maternel à la date du prélèvement. Ainsi, pour une prise de poids de 20 Kg, le taux d'AFP diminue de 17 %, celui de l'hCG de 16% [12, 76]. Des variations des

concentrations en PAPP-A et en β hCG ont également été constatées en fonction du poids maternel. En effet, à la fois la PAPP-A et la β hCG ont des valeurs qui diminuent avec l'augmentation du poids maternel. [2, 56]. Chez les patentes de poids plus élevé, le marqueur est hémodilué, car le volume plasmatique est plus important. Inversement, les marqueurs sériques sont plus concentrés chez les patientes plus légères, car le volume plasmatique y est plus faible [87]. Par exemple, lorsque le poids maternel passe de 55 à 105 Kg, les changements de MoM de la β hCG et de PAPP-A varient de 40 à 55 % [2].

f) L'origine géographique

Des études ont été réalisées afin de déterminer si l'origine géographique de la mère influençait les concentrations des marqueurs sériques. Les concentrations marqueurs sériques du second trimestre sont augmentées dans les populations originaires d'Afrique noire. Chez les patientes d'origine Asiatique, une diminution des concentrations des marqueurs sériques est observée [76]. Pour premier trimestre, les concentrations à la fois en PAPP-A et en β hCG sont influencées par l'origine géographique de la mère. Les concentrations en PAPP-A sont augmentées de 57 % chez les femmes d'origine Afro-antillaise, de 3% chez les femmes d'origine d'Asie du Sud (Inde, Pakistan, Bangladesh), de 9% chez les femmes d'Asie de l'Est (Chine, Corée, Japon). Quant aux concentrations en β hCG, elles sont augmentées de 12 % chez les femmes d'origine Afro-antillaises, de 8 % chez les femmes d'origines d'Asie de l'Est. Par contre, les concentrations en β hCG sont diminuées de 9 % chez les femmes d'origine d'Asie du Sud [53]. Des résultats similaires sont rapportés dans la littérature par Spencer [89] après correction par le poids maternel. Dans son étude sur la population chinoise, Leung [58] montre que les taux de détection sont plus élevés en β hCG et en PAPP-A lorsque le poids maternel est pris en compte. Dans son article, 54 cas de trisomie 21 sont détectés avec des courbes de marqueurs sériques établies sur la population caucasienne, alors que 60 cas sont détectés en utilisant des courbes établies sur la population chinoise.

g) Le diabète

Chez les patientes atteintes de diabète de type I, les concentrations des marqueurs sériques maternels du second trimestre sont diminuées [28]. La méta-analyse de Huttly [51], qui tient compte du poids maternel, met en évidence une diminution significative de 8% du taux d'AFP (médiane à 0,88 MoM) chez les patientes diabétiques de type I, mais aucune différence

significative pour l'hCG totale. En 2005, Spencer [88] étudie l'influence du diabète de type I sur les concentrations des marqueurs sériques utilisés au premier trimestre. Il n'existe aucune différence significative entre les patientes diabétiques de type I et les patients non diabétiques concernant les concentrations en PAPP-A et en β hCG après correction par le poids maternel.

Tableau IX. Influence de certains facteurs sur les concentrations des marqueurs sériques

	PAPP-A	β hCG	AFP	hCG totale
Antécédent d'aneuploïdie	↗	≈	≈	≈
Tabac	↘	↘	Légèrement ↗	↘
Diabète	≈	≈	↘	≈
Origine géographique	Δ selon l'origine	Δ selon l'origine	Δ selon l'origine	Δ selon l'origine
Poids maternel augmenté	↘	↘	↘	↘
PMA	Δ selon technique	Δ selon technique	Δ selon technique	Δ selon technique
Gémellité	Δ selon la gémellité	Δ selon la gémellité	Δ selon la gémellité	Δ selon la gémellité

≈ : pas de modification ↘ : diminuée ↗ : augmentée Δ : variable

PMA : procréation médicalement assistée

PARTIE EXPERIMENTALE

IV. LES OBJECTIFS

L'objectif principal de ce travail consiste à évaluer les premiers résultats de la mise en place du dépistage de la trisomie 21 effectué au cours de l'année 2010 à la Maternité Régionale Universitaire (MRU). L'ensemble de la démarche de la qualité, qui est mise en œuvre à divers échelons du dépistage, est présenté dans une seconde partie.

V. MISE EN PLACE DU DEPISTAGE A LA MRU

La mise en place du dépistage de la trisomie 21 au sein de la MRU a nécessité plusieurs étapes. Tout d'abord, fin de l'année 2007, trois biologistes ont obtenus par l'Agence de la Biomédecine (ABM), un agrément pour pratiquer l'activité de diagnostic prénatal. En décembre 2008, la MRU a obtenu l'autorisation d'exercer l'activité de diagnostic prénatal sous la modalité des analyses de biochimie, y compris les analyses des marqueurs sériques maternels. Cette autorisation a été délivrée par l'Agence Régionale d'Hospitalisation. Entre temps, la parution des Arrêtés du 23 juin 2009, bouleverse toute l'organisation des modalités du dépistage, et repousse la mise en place du dépistage au sein de la MRU. En novembre 2009, l'Agence Régionale d'Hospitalisation fait une visite de conformité du laboratoire. La conformité est obtenue de 24 décembre 2009. La date du 11 janvier 2010 marque le début de la réalisation du dépistage de la trisomie 21 au sein du laboratoire de biologie médicale de la MRU.

VI. ORGANISATION DU DEPISTAGE A LA MRU

Au cours de l'année 2010, toute patiente enceinte suivie à la MRU pour sa grossesse, se voit proposer lors d'une consultation avec un médecin ou une sage-femme, la possibilité de réaliser un dépistage de la trisomie 21. Lorsque la patiente est consentante à la réalisation du dépistage, une prescription pour le dépistage de la trisomie 21 est faite. Deux possibilités s'offrent à la patiente. Tout d'abord, la patiente peut réaliser le dépistage dans sa totalité directement à la MRU. La patiente peut se faire prélever directement au sein du service des consultations. Le dépistage est réalisé au sein du laboratoire de biologie médicale. Sinon, la patiente a aussi la possibilité d'effectuer le dépistage pour la trisomie 21 dans tout autre laboratoire qui possède l'autorisation d'effectuer ce dépistage.

VII. MATERIELS ET METHODES

A. Le dépistage de la trisomie 21

1. Les patientes

Les patientes inclues dans cette étude présentaient les caractéristiques suivantes :

- le calcul de risque du dépistage de la trisomie 21 a été réalisé à la MRU entre le 11 janvier et le 31 décembre 2010
- les patientes étaient enceintes d'une grossesse monofœtale exclusivement
- le dépistage a été réalisé quel que soit l'âge des patientes et après avoir obtenu leur consentement par écrit

La plus part des patientes ont été suivies et prélevées à la MRU. Quelques patientes avaient une prescription extérieure.

2. Mesure échographique de la LCC et de la CN

Au cours de l'année 2010, quatre échographes ont servi à mesurer les paramètres échographiques utilisés dans le dépistage de la trisomie 21. Trois échographes étaient des Xario SSA 660A ® (Toshiba). Les dates de mise en service sont le 31 aout 2007 pour deux échographes. Le troisième a été mis en service le 30 novembre 2007. Le quatrième échographe est un Acuson Sequoia 512 ® (Siemens) (mis en service le 4 mars 2005).

A la MRU, la détermination de l'âge gestationnel par la LCC se fait d'après la courbe de Wisser [96]. La détermination de l'âge gestationnel par un autre paramètre échographique (le diamètre bipariétal par exemple) se fait à partir de courbes établies localement.

3. Dosage des marqueurs sériques maternels

Le prélèvement a été effectué sur tube sec. Le sérum est obtenu après centrifugation à 4000 tours/minute pendant 10 minutes. Les dosages des marqueurs sériques (AFP, hCG totale, β hCG libre et PAPP-A) sont effectués quotidiennement sur un immunoanalyseur Immulite ® 2000 (Siemens, France). Les marqueurs sériques sont quantifiés à l'aide d'un dosage immunométrique séquentiel, chimiluminescent en phase solide (Figure 23).

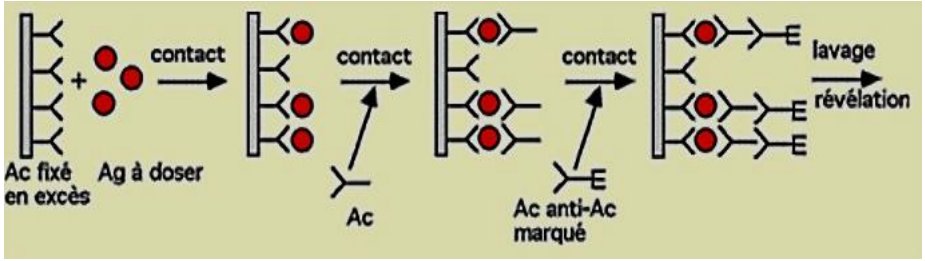


Figure 23. Principe de dosage des marqueurs sériques

4. Le calcul de risque

Le calcul du risque de la trisomie 21 a été effectué sur le logiciel Prisca 4.0 ® (Siemens, France). La détermination de l'AG à partir de la LCC est obtenue grâce à la courbe de Robinson et Fleming [77]. Les médianes de la CN sont obtenues selon l'équation décrite par Nicolaides [69]. Les facteurs correctifs pris en compte pour le calcul du risque sont le poids maternel et le tabagisme actif. Le logiciel est paramétré pour réaliser uniquement le dépistage lors de grossesse monofoetale. En l'absence du numéro identifiant échographiste, le logiciel est bloquant et le calcul de risque ne peut pas être effectué. La figure 24 montre tous les renseignements qui apparaissent à l'écran lors de la validation du calcul de risque. Les formules mathématiques, ainsi que les références bibliographiques utilisées dans le logiciel de calcul, sont répertoriées en annexe 4.

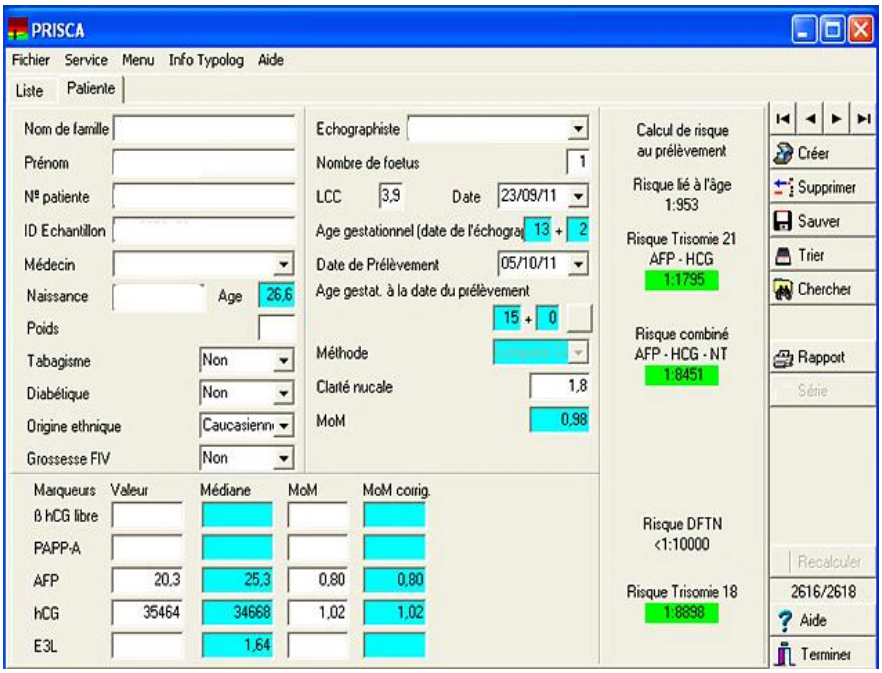


Figure 24. Présentation de la configuration du calcul de risque du logiciel Prisca 4.0 ®

Tous les renseignements présents sur la prescription sont saisis dans le système informatique du laboratoire Biowin® (Biosystem). L'ensemble des données saisies est transféré de Biowin® (Biosystem) à Prisca 4.0 ® (Siemens France) par l'intermédiaire de Prisca Connect® (Siemens, France). Prisca 4.0 ® (Siemens France) calcule le risque, et le transfert à Biowin ® (Biosystem) afin que le dossier soit validé biologiquement, puis édité dans le système informatique du laboratoire (Figure 25).

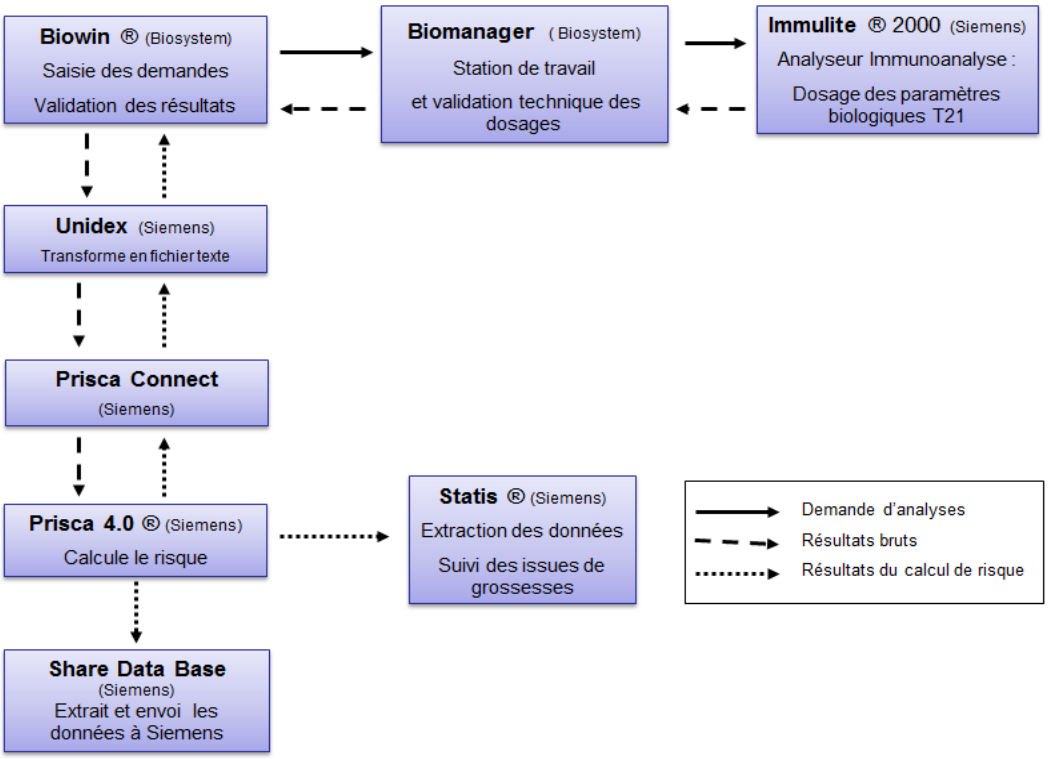


Figure 25. Schéma d'organisation informatique du calcul du risque à la MRU

5. Les issues de grossesse

Les issues de grossesse sont saisies dans le logiciel Statiss ® (Siemens, France). Le logiciel Statiss ® (Siemens, France) permet d'intégrer les données extraites de Prisca 4.0® (Siemens France), et de les compléter avec les données concernant l'accouchement. Le logiciel Statiss® (Siemens, France) permet de fournir les rapports ABA et ABM. L'ensemble des informations est saisi dans deux onglets.

Un premier onglet « caryotype » permet de renseigner (Figure 26) :

- la réalisation éventuelle d'un caryotype prénatal
- l'issue de l'amniocentèse : grossesse sans complication, perte fœtale …
- la réponse du caryotype prénatal : normal, trisomie 21, trisomie 13, trisomie 18 …
- la présence d'anomalie échographique

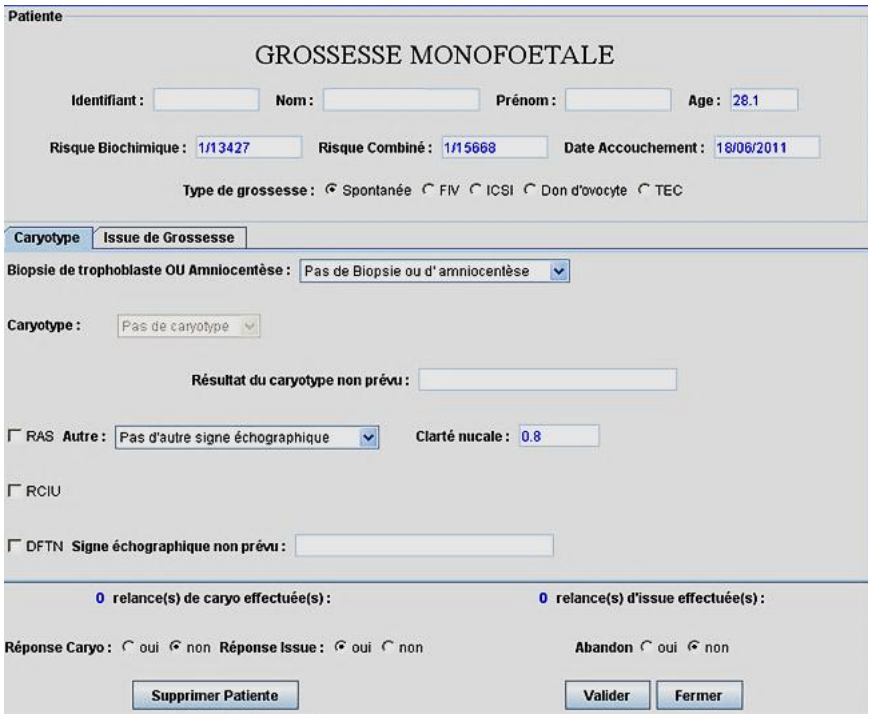


Figure 26. Présentation de l'onglet "caryotype" du logiciel Statiss ®

Le deuxième onglet renseigne l'issue de grossesse, incluant (Figure 27):

- date réelle de l'accouchement
- issue de grossesse : enfant décédé, prématuré, né à terme
- poids de l'enfant
- sexe de l'enfant
- taille de l'enfant
- réalisation d'un caryotype post natal et son résultat
- commentaires libres

Figure 27. Présentation de l'onglet " issue de grossesse" du logiciel Statiss ®

B. La démarche qualité du dépistage de la trisomie 21

1. Evaluation des pratiques professionnelles des prescriptions du dépistage de la trisomie 21

Les prescriptions du dépistage de la trisomie 21 sont réalisées sur un formulaire dédié (annexe 5) accompagnées d'une ordonnance. Durant les périodes du 11 janvier jusqu'au 28 février 2010, puis du 1 aout jusqu'au 30 septembre 2010, toutes les prescriptions ont été évaluées lors de deux évaluations des pratiques professionnelles (EPP). La grille d'évaluation a été réalisée sur un tableur Exel ® (Windows). Une valeur de 1 point a été attribuée lorsque l'information est présente et correcte. Une valeur de 0 point est donnée lorsque l'information est absente ou erronée. Les items étudiés ainsi que leurs critères d'acceptation, sont :

✓ **Pour l'ordonnance** :

- **Date de la prescription**
- **Nom patronymique de la patiente** : nom manuscrit ou nom figurant sur étiquette de consultation
- **Type de dépistage souhaité** : premier trimestre, second trimestre intégré, second trimestre sérique
- **Signature du médecin**

- Nom du préleveur

✓ **Le consentement écrit de la patiente**

- Nom de la patiente : Nom manuscrit de la patiente à l'endroit prévu à cet effet

- Signature de la patiente

- Nom du médecin : Nom manuscrit du médecin à l'endroit prévu à cet effet

- Signature du médecin

✓ **Renseignements échographiques**

- Compte rendu échographique : renseignements manuscrits ou présence d'un compte rendu échographique indiquant la date de l'échographie, LCC, CN, numéro identifiant échographiste, nom échographe

- Date de l'échographie : présence sur le compte rendu échographique ou manuscrite à l'endroit prévu à cet effet

- LCC : une seule valeur de LCC présente sur le compte rendu échographique ou manuscrite à l'endroit prévu à cet effet

- CN : une seule valeur de CN présente sur le compte rendu échographique ou manuscrite à l'endroit prévu à cet effet

- Numéro identifiant échographiste : sous forme de code barre ou de chiffres

- Nom échographiste : nom présent sur le compte rendu échographique ou nom manuscrit sur prescription

✓ **Renseignements divers :**

- Date de naissance de la patiente : inscription manuscrite ou sur l'étiquette de consultation

- Date du prélèvement : écrit manuellement à l'endroit prévu à cet effet ou avec le nom du préleveur

- Date de conception : écrit manuellement à l'endroit prévu à cet effet ou sur le compte rendu échographique

- Nombre de fœtus : écrit manuellement à l'endroit prévu à cet effet ou sur le compte rendu échographique

- Antécédent de trisomie 21 : réponse positive ou négative

- FIV : écrit manuellement à l'endroit prévu à cet effet ou sur le compte rendu échographique

- **Antécédent de non fermeture du tube neural :** réponse positive ou négative
- **Poids de la patiente**
- **Patiente diabétique :** réponse positive ou négative
- **Tabac :** réponse positive ou négative
- **Prise de folates :** réponse positive ou négative
- **L'origine géographique de la patiente** : cocher l'origine géographique correspondante à la patiente parmi quatre possibilités : caucasienne, asiatique, africaine, autre

2. Calcul de la médiane des MoM de la CN par échographiste

En 2010, l'ABM publie un rapport préliminaire concernant la médiane des MoM de la CN par échographiste obtenue à l'échelon national. Afin de pouvoir comparer les valeurs obtenues, nous avons adopté la méthodologie utilisée par l'ABM. Pour cela, il faut que chaque échographiste ait fait, au moins 50 échographies au premier trimestre dans le cadre d'un calcul de risque du premier trimestre ou du second trimestre intégré pour l'année 2010. La médiane des MoM des CN est obtenue individuellement pour chaque numéro échographiste.

3. Le suivi de la médiane des MoM des marqueurs sériques

Les MoM brutes des marqueurs sériques (AFP, hCG totale, β hCG libre et PAPP-A) sont classés chronologiquement en fonction de la date de prélèvement. La médiane des MoM est obtenue pour 100 valeurs de MoM bruts.

VIII. RESULTATS

A. Résultats du dépistage de la trisomie 21

1. Les patientes

Au cours de l'année 2010, 1448 patientes ont été dépistées pour la trisomie 21 à la MRU. Le dépistage combiné du premier trimestre comporte le nombre de patientes dépistées le plus important avec 1059 patientes. Le dépistage du second trimestre intégré et du second trimestre

sérique comptent 216 et 173 patientes respectivement. Plus de la moitié des patientes sont non fumeuses (57,8 à 69%). Moins de 3% des patientes sont diabétiques. Plus de 75% des patientes sont d'origine caucasienne (Tableau X).

Tableau X. Caractéristiques cliniques des patientes dépistées à la MRU en 2010

	1 ier trimestre combiné	2 ième trimestre intégré	2 ième trimestre sérique
Nombre de patientes dépistées	1059	216	173
Age maternel (ans) moyenne ± ET	29,1 ± 5,4	28,5 ± 6,1	28,2 ± 6,1
Poids maternel (Kg) moyenne ± ET	66,6 ± 15,2 (n=841)	64,8 ± 14,4 (n= 174)	66,2 ± 15,6 (n= 141)
Tabac			
Oui (%)	23,9 (n=253)	25 (n=54)	30,6 (n=53)
Non (%)	69 (n=731)	66,6 (n=144)	57,8 (n=100)
NP (%)	7,1 (n=75)	8,4 (n=18)	11,6 (n=20)
Diabétique			
Oui (%)	1,8 (n=19)	0,9 (n=2)	2,3 (n=4)
Non (%)	90,3 (n=956)	88 (n=190)	82,7 (n=143)
NP (%)	7,9 (n=84)	11,1 (n=24)	15 (n=27)
Origine géographique			
Caucasienne (%)	79,0 (n=836)	76,4 (n=165)	75,1 (n=130)
Asiatique (%)	1,6 (n=17)	2,3 (n=5)	0,6 (n=1)
Africaine (%)	8,3 (n=88)	10,2 (n=22)	13,9 (n=24)
Autre (%)	0,6 (n=6)	0,5 (n=1)	1,2 (n=2)
NP (%)	10,5 (n=112)	10,6 (n=23)	9,2 (n=16)

ET : écart type NP : non précisé

Plus de 80 % des patientes testées sont âgées de moins de 34 ans pour les trois types de dépistage. Moins de 10 % des patientes dépistées ont un âge supérieur ou égal à 38 ans (Tableau XI)

Tableau XI. Structure en âge de la population pour chaque type de dépistage

Age maternel au moment du prélèvement	≤ 34 ans	35-37 ans	≥ 38 ans	Total
Nombre de patientes testées				
Premier trimestre (%)	867 (81,9)	120 (11,3)	72 (6,8)	1059
Second trimestre intégré (%)	174 (80,5)	21 (9,7)	21 (9,7)	216
Second trimestre sérique (%)	142 (82,1)	19 (11,0)	12 (7,0)	173

2. Proportion de risque accru

Le dépistage du second trimestre sérique présente le pourcentage le plus élevé des patientes à risque accru de trisomie 21 avec 7.5 % des patientes. Le dépistage du second trimestre intégré présente la proportion la plus basse de patiente à risque accru avec 2.8 %. Le dépistage du premier trimestre combiné se situe entre les deux, avec 4.2 % (Tableau XII)

Tableau XII. Proportion (en %) de patientes à risque accru par type de dépistage

	1 ier trimestre combiné	2 ième trimestre intégré	2 ième trimestre sérique
Nombre de patientes dépistées	1059	216	173
Pourcentage de femmes à risque élevé	4,2 (n=45)	2,8 (n=6)	7,5 (n=13)

3. Résultats des issues de grossesse

Plus de 90 % des issues de grossesse sont connues pour le dépistage du second trimestre intégré et pour le dépistage du second trimestre sérique (soit 93,5 % et 90,7 % respectivement). Les issues de grossesse du dépistage du premier trimestre combiné sont connues à hauteur de 74,4 %.

a) Dépistage du premier trimestre

Au cours de l'année 2010, 1059 patientes ont bénéficié d'un dépistage de la trisomie 21 au premier trimestre de grossesse. Plus de 90 % des patientes appartenaient au groupe à faible risque (Tableau XIII). Parmi toutes les issues de grossesse recueillies, un faux négatif est actuellement connu. Parmi les patientes appartenant au groupe à risque élevé, 2 trisomies 21 ont été détectées (Tableau XIV).

- Patiente à faible risque

Tableau XIII. Issues de grossesse des patientes à faible risque dépistées au premier trimestre

Age maternel au moment du prélèvement	≤ 34 ans	35- 37 ans	≥ 38 ans	Total
Nombre de patientes (%)	843 (97,2)	110 (91,7)	61 (84,7)	1014 (95,7)
Issue de grossesse inconnue (%)	224 (26,6)	29 (26,4)	17 (27,9)	270 (26,6)
Avortement spontané ou MFIU	2	0	0	2
Trisomie 21 à la naissance	**1**	0	0	1

MFIU : mort fœtale *in utero*

- **Patientes à risque élevé**

Tableau XIV. Issues de grossesse des patientes à risque élevé dépistées au premier trimestre

Age maternel au moment du prélèvement	≤ 34 ans	35-37 ans	≥ 38 ans	Total
Nombre de patientes (%)	24 (2,8)	10 (8,3)	11 (15,3)	45 (4,2)
Issue de grossesse inconnue (%)	1 (4,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (2,2)
Caryotypes				
Normaux	20	7	5	32
Trisomie 21	**1**	**1**	0	2
Autre anomalie chromosomique	0	1∞	2*	3
Refus de diagnostic	2	1	3	6
Perte fœtale après caryotype	0	0	0	0
Avortement spontané ou MFIU	0	0	1	1

MFIU : mort fœtale *in utero* ∞ : 45,X * : Trisomie 2 et 47,XY,+ fragment chromosome 13

b) <u>Dépistage du second trimestre intégré</u>

Le dépistage du second trimestre intégré compte 216 patientes dépistées au cours de l'année 2010. Parmi les 97,2 % des patientes appartenant au groupe à faible risque, aucun faux négatif n'est connu (Tableau XV). Seulement 2,8 % des patientes dépistées appartiennent au groupe à risque accru. Parmi ce groupe, un seul vrai positif a été dépisté (Tableau XVI).

- **Patiente à risque faible**

Tableau XV. Dépistage du second trimestre intégré : issues de grossesse des patientes à risque faible

Age maternel au moment du prélèvement	≤ 34 ans	35-37 ans	≥ 38 ans	Total
Nombre de patientes (%)	172 (98,6)	20 (95,2)	18 (85,7)	210 (97,2)
Issue de grossesse inconnue (%)	12 (7,0)	0 (0,0)	2 (11,1)	14 (6,7)
Avortement spontané ou MFIU	0	0	1	1
Trisomie 21 à la naissance	0	0	0	0
Autre anomalie chromosomique	1*	0	0	1

MFIU : mort fœtale *in utero* * : trisomie 18

- **Patientes à risque accru**

Tableau XVI. Issues de grossesse pour le dépistage du second trimestre intégré (risque accru)

Age maternel au moment du prélèvement	≤ 34 ans	35-37 ans	≥ 38 ans	Total
Nombre de patientes (%)	2 (1,4)	1 (4,8)	3 (14,3)	6 (2,8)
Issue de grossesse inconnue	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Caryotypes				
Normaux	1	1	2	4
Trisomie 21	0	0	**1**	1
Autre anomalie chromosomique	0	0	0	0
Refus de diagnostic	1	0	0	1
Perte fœtale après caryotype	0	0	0	0
Avortement spontané ou MFIU	0	0	0	0

MFIU : mort fœtale *in utero*

c) Dépistage du second trimestre sérique

Le dépistage du second trimestre sérique a été effectué sur 173 patientes au cours de l'année 2010. Les patientes à risque faible représentent 92,5 % de la totalité des patientes dépistées. Aucun faux négatif n'a été observé (Tableau XVIII). Parmi les trois types de dépistage possibles, le dépistage du second trimestre sérique est celui qui compte la proportion de patientes à risque élevé le plus important avec 7,5%. Aucun vrai positif n'a été dépisté parmi les patientes appartenant à ce groupe (Tableau XVII).

- Patientes à risque élevé

Tableau XVII. Dépistage du second trimestre sérique : issues de grossesse des patientes à risque accru

Age maternel au moment du prélèvement	≤ 34 ans	35-37 ans	≥ 38 ans	Total
Nombre de patientes (%)	4 (2,8)	5 (26,3)	4 (33,3)	13 (7,5)
Issue de grossesse inconnue	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0(0,0)
Caryotypes				
Normaux	3	5	4	12
Trisomie 21	0	0	0	0
Autre anomalie chromosomique	0	0	0	0
Refus de diagnostic	1	0	0	1
Perte fœtale après caryotype	0	0	0	0
Avortement spontané ou MFIU	0	0	0	0

MFIU : mort fœtale *in utero*

- Patientes à risque faible

Tableau XVIII. Issues de grossesse pour le second trimestre sérique

Age maternel au moment du prélèvement	≤ 34 ans	35-37 ans	≥ 38 ans	Total
Nombre de patientes (%)	138 (97,2)	14 (73,7)	8 (66,7)	160 (92,5)
Issue de grossesse inconnue (%)	15 (10,9)	1 (7,1)	0 (0,0)	16 (10,0)
Avortement spontané ou MFIU	0	1	1	2
Trisomie 21 à la naissance	0	0	0	0

MFIU : mort fœtale *in utero*

4. Présentation des cas de trisomie 21

Le Tableau XIX détaille les caractéristiques des quatre cas de trisomie 21. Le dépistage combiné du premier trimestre a dépisté deux vrais positifs (cas 1 et 2). Une trisomie 21 n'a pas été dépistée au premier trimestre de la grossesse, et constitue un cas de faux négatif parmi les issues de grossesses connues (cas 4). Le dépistage du second trimestre intégré a révélé un cas de trisomie 21 (cas 3).

Tableau XIX. Détails du dépistage des patientes porteuses d'un fœtus/enfant trisomique

	Vrai positif			Faux négatif
	1	**2**	**3**	**4**
Age maternel (ans)	24	36	38	20
AG au moment du dépistage	12 SA 3 j	13 SA 5 j	14 SA 1 j	12 SA 3 j
Type de dépistage	1 ier T	1 ier T	2 ième TI	1 ier T
Risque final	1/50	1/19	1/3	1/18233
Valeur CN (mm)	4,2	2,2	4,4	1,2
Valeurs marqueurs sériques (MoM)	β hCG : 3,78 PAPP-A : 0,994	β hCG : 6,17 PAPP-A : 0,79	hCG T : 1,4 AFP : 0,62	β hCG : 0,94 PAPP-A : 0,69
Type de trisomie 21	libre et homogène	libre et homogène	libre et homogène	Robertsion-nienne

J : jours T : trimestre TI : trimestre intégré

5. Caractéristiques des différents dépistages

Le taux de détection n'a pas pu être établi pour le second trimestre sérique par manque de cas de trisomie 21. Le taux de faux positif (9%) est le plus élevé pour le second trimestre sérique. Le second trimestre intégré présente les meilleurs résultats avec un taux de détection le plus important (100%) pour un taux de faux positif le plus bas (2,5%). Le premier trimestre combiné, est en position intermédiaire avec un taux de détection à 66,6% pour un taux de faux positif de 5,6 % (Tableau XX).

Tableau XX. Taux de détection et pourcentage de faux positif pour chaque stratégie de dépistage

	1 ier Trimestre combiné	2 ième Trimestre Intégré	2 ième Trimestre Sérique
VPP (%)	4,5	16,6	NC
VPN (%)	99,9	100,0	100,0
Taux de détection (%)	66,6	100,0	NC
Taux de Faux positif (%)	5,6	2,5	9,0

VPP : valeur prédictive positive VPN : valeur prédictive négative NC : non calculable

6. Comparaison des stratégies de dépistage

a) Comparaison du dépistage premier trimestre vs. le dépistage du second trimestre

On réalise un dépistage du second trimestre intégré et un dépistage du second trimestre sérique pour 7 patientes, âgées de moins de 34 ans, appartenant au groupe à risque accru, et dont le fœtus a une CN inférieure à 3 mm. On constate que 6 patientes n'auraient pas été dépistées à risque élevé lors d'un dépistage du second trimestre (Tableau XXI).

Tableau XXI. Comparaison des stratégies de dépistage du premier trimestre au dépistage du second trimestre

	Second trimestre intégré		Second trimestre sérique	
	Risque faible	Risque accru	Risque faible	Risque accru
Risque accru 1 ier T	6	1	6	1

1 ier T : dépistage du premier trimestre

b) Comparaison des stratégies de dépistage du second trimestre intégré vs. le second trimestre sérique

Si l'on observe la valeur du risque biochimique (basé sur l'âge maternel et les marqueurs sériques) des 216 dépistages réalisés au cours du second trimestre intégré, on constate que 20 patientes à risque faible pour le dépistage du second trimestre intégré auraient été placées dans le groupe à risque accru lors d'un dépistage sérique. En revanche, les patientes à risque accru sont identifiées par les deux stratégies (Tableau XXII).

Tableau XXII. Comparaison du dépistage du second trimestre sérique au second trimestre intégré

TI / TS	Risque faible	Risque accru	Total
Risque faible	190	0	190
Risque accru	20	6	26
Total	210	6	216

TI : dépistage du second trimestre intégré TS : dépistage du second trimestre sérique

B. La démarche qualité au cours du dépistage

1. EPP des prescriptions

Lors de la première EPP, effectuée entre janvier et février 2010, 202 prescriptions ont été analysées. Il y avait :

- 120 prescriptions pour le dépistage au premier trimestre
- 73 prescriptions pour le dépistage du second trimestre intégré
- 9 prescriptions pour le dépistage du second trimestre biochimique

Lors de la seconde EPP, évaluant les prescriptions des mois d'août et septembre, 271 prescriptions ont été analysées. La répartition est la suivante :

- 206 prescriptions pour le dépistage au premier trimestre
- 50 prescriptions pour le dépistage du second trimestre intégré
- 15 prescriptions pour le dépistage du second trimestre biochimique

L'ensemble des informations correctement renseignées aux cours des deux EPP est présenté sur les diagrammes ci-dessous.

a) L'ordonnance du dépistage

La Figure 28 montre que les informations (date de la prescription, nom de la patiente, type de dépistage, signature du prescripteur et le nom du préleveur) composant l'ordonnance sont renseignées lors des deux EPP à plus de 80 %. Toutefois, la date de prescription est moins souvent renseignée lors de la deuxième EPP (soit 73.4 %).

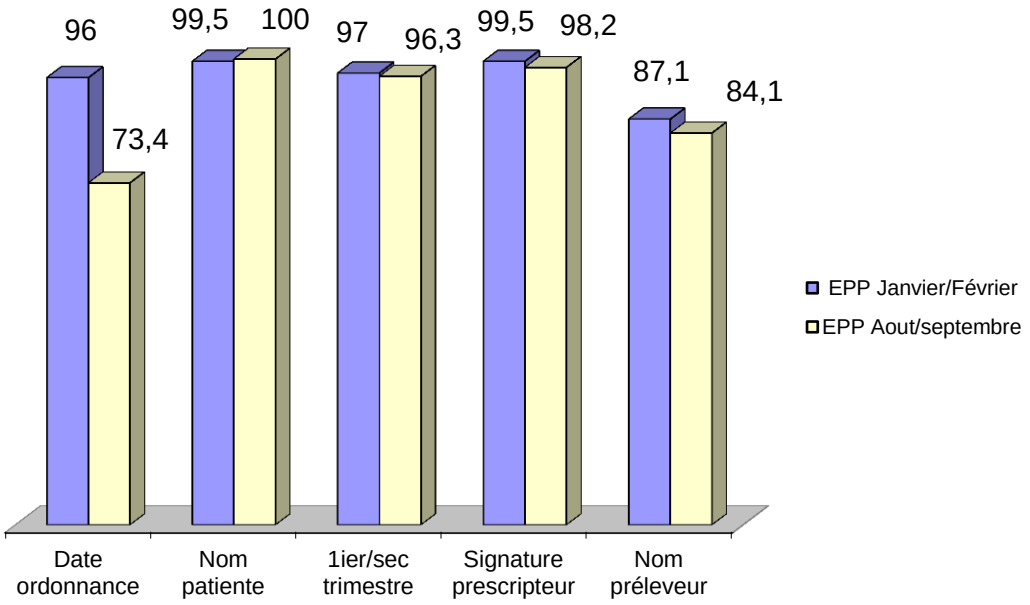


Figure 28. Proportion (en %) des paramètres correctement renseignés sur l'ordonnance

b) Le consentement écrit de la patiente

Plus de 95 % des paramètres concernant le consentement écrit de la patiente (signature patiente, nom et signature du prescripteur) sont correctement renseignés. En revanche, le nom manuscrit de la patiente n'est inscrit que dans 80,2% à 87,1 % des cas (Figure 29).

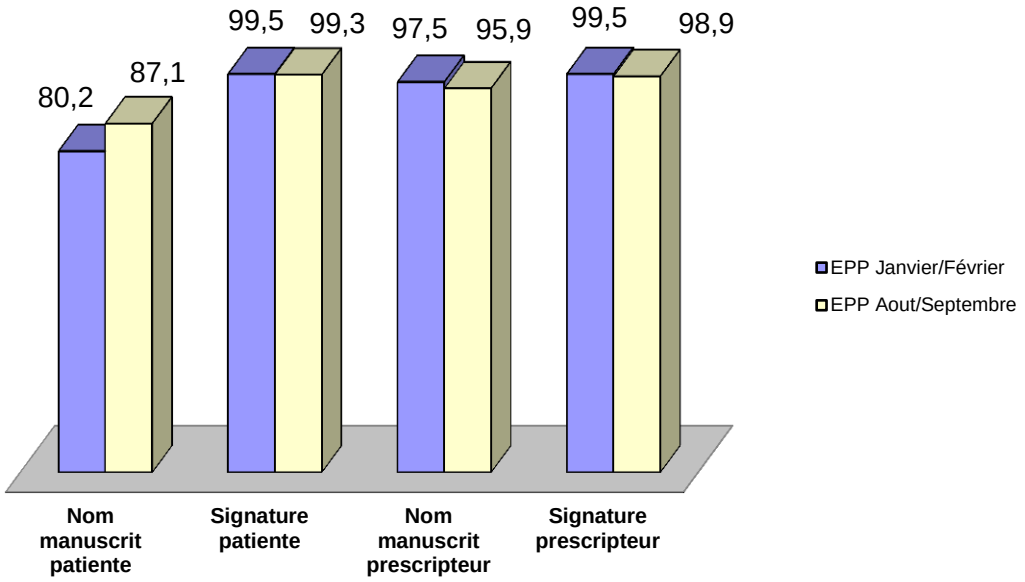


Figure 29. Paramètres du consentement écrit de la patiente correctement renseignés (%)

c) Les renseignements échographiques

Seules les prescriptions du premier trimestre combiné et du second trimestre intégré sont concernées. L'analyse des résultats porte sur 153 prescriptions pour la première EPP, et sur 155 prescriptions pour la seconde EPP.

Plus de 85 % des paramètres échographiques (présence d'un compte rendu échographique, date de l'échographie, LCC, CN) sont correctement renseignés lors des deux EPP. Le numéro identifiant échographique ne figure que sur 37,3 % des prescriptions lors de la première EPP, et atteint 90,3 % pour la seconde EPP (Figure 30).

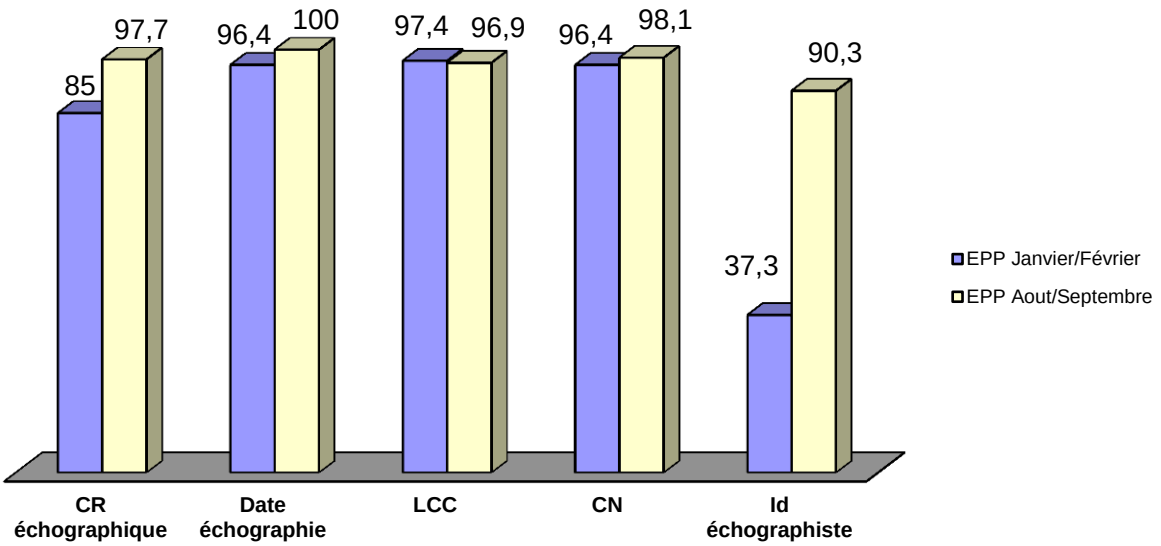


Figure 30. Renseignements échographiques correctement renseignés (%)

CR échographique : compte rendu échographique Id échographiste : identifiant échographiste

d) Renseignements cliniques

Les renseignements (date de naissance, date de prélèvement, date de conception, nombre de fœtus, antécédent de trisomie 21, FIV, antécédent de non fermeture du tube neural , le diabète, le tabagisme actif, prise de folate, l'origine géographique) sont correctement renseignés à plus de 90 % au cours des deux EPP. Le poids de la patiente est la donnée la moins bien renseignée au cours des deux EPP (moins de 80 % des cas) (Figures 31 et 32).

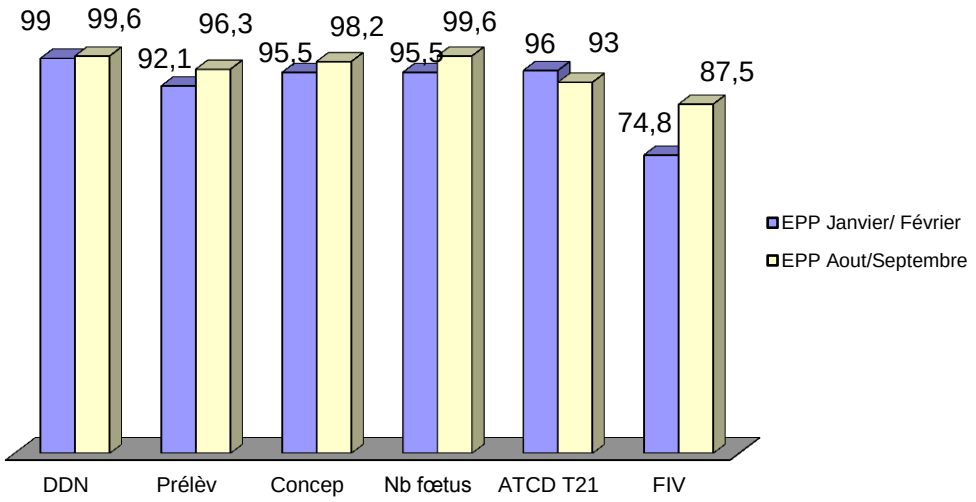


Figure 31. Renseignements cliniques correctement renseignés (%)

DDN : date de naissance Prelev : prélèvement Concep : conception Nb fœtus : nombre de fœtus ATCD T21 : antécédent de trisomie 21

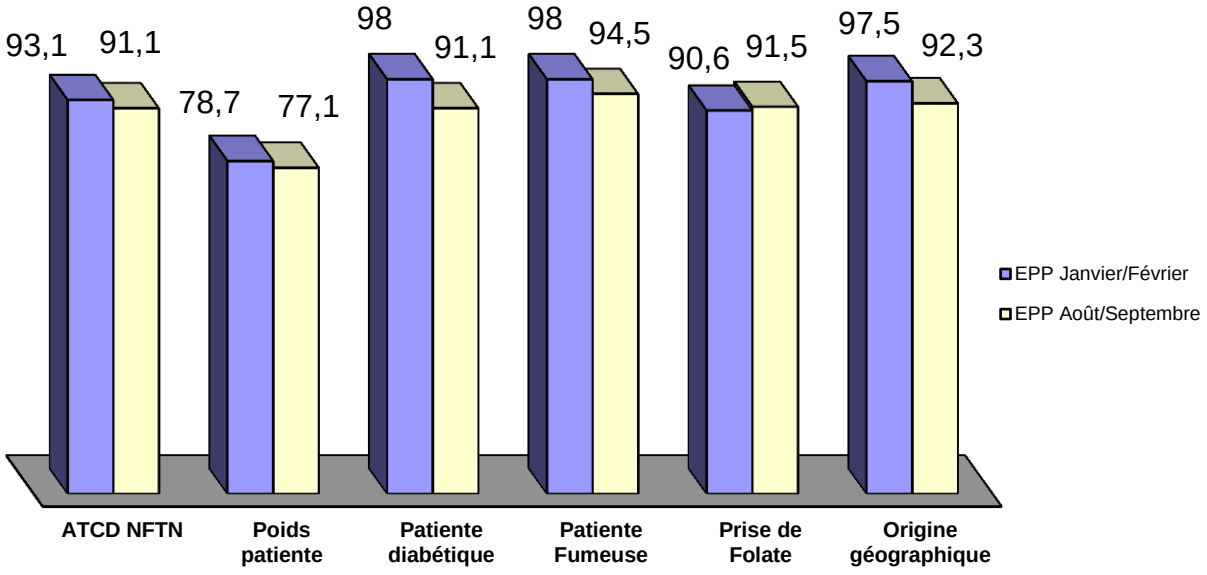


Figure 32. Proportion (en %) des renseignements cliniques correctement renseignés

ATCD NFTN : antécédent de non fermeture du tube neural

e) Bilan global des EPP

- Les prescriptions non calculables par Prisca 4.0 ®

Le Tableau XXII montre la proportion de prescriptions qui n'étaient pas réalisables pour des raisons techniques au cours des deux EPP. On considère par les termes « raisons techniques », l'ensemble des situations où le logiciels Prisca 4.0 ® (Siemens) ne peut pas calculer le risque : AG incorrect par rapport au type de dépistage, LCC en dehors des limites fixées par l'arrêté du 23 juin 2009 [8] (LCC > 84 mm ou LCC <45 mm), grossesses gémellaires, absence de numéro identifiant échographiste pour le dépistage du premier trimestre et du second trimestre intégré, nombre de fœtus non précisé.

Lors des deux EPP, plus de la moitié (de 51,9 à 63 %) des dossiers sont non calculables par le logiciel Prisca 4.0 ® lorsqu'il s'agit d'un dépistage du second trimestre intégré. En revanche, plus des deux tiers (de 66,7 à 80 %) des prescriptions sont réalisables techniquement pour le premier trimestre combiné et pour le second trimestre sérique. On note même une amélioration des résultats lors de la seconde EPP (Tableau XXIII).

Tableau XXIII. Prescriptions non calculables par le logiciel de calcul Prisca 4.0 ® (%)

	1 ier trimestre combiné		2 ième trimestre intégré		2 ième trimestre sérique	
	EPP Janv/Fev	EPP Aout/Sep	EPP Janv/Fev	EPP Aout/Sep	EPP Janv/Fev	EPP Aout/Sep
Nombre total de prescriptions	120	206	73	52	9	15
Prescriptions réalisables						
Proportion (%)	66,7 (n=80)	91 (n=188)	37 (n=27)	48,1 (n=25)	78 (n=7)	80 (n=12)
Prescriptions non calculables par Prisca 4.0 ®						
Proportion (%)	33,3 (n=40)	9 (n=18)	63 (n=46)	51,9 (n=27)	22 (n=2)	20 (n=3)
Causes						
LCC > 84 mm LCC < 45mm (%)	2,5 (n=1)	0 (n=0)	10,9 (n=5)	22,2 (n=6)	x	x
AG incorrect (%)	12,5 (n=5)	27,8 (n=5)	0 (n=0)	22,2 (n=6)	100 (n=2)	66,7 (n=2)
Absence Id échographiste (%)	50,0 (n=20)	22,2 (n=4)	67,4 (n=31)	44,4 (n=12)	x	x
Grossesse gémellaire (%)	2,5 (n=1)	16,7 (n=3)	0 (n=0)	0 (n=0)	0 (n=0)	0 (n=0)
Données échographiques manquantes (%)	7,5 (n=3)	27,8 (n=5)	17,4 (n=8)	11,2 (n=3)	x	x
Nb fœtus inconnu (%)	17,5 (n=7)	0 (n=0)	2,2 (n=1)	0 (n=0)	0 (n=0)	0 (n=0)
Autre (%)	7,5 (n=3)	5,5 (n=1)	2,2 (n=1)	0 (n=0)	0 (n=0)	33,3 (n=1)

EPP Janv/Fev : EPP Janvier/Février EPP Août/Sep : EPP Août/Septembre AG incorrect : âge gestationnel incorrect Absence Id échographiste : absence identifiant échographiste x : paramètre non nécessaire pour la réalisation de ce dépistage

- Prescriptions non conformes selon l'Arrêté du 23 juin 2009 et selon les exigences de l'accréditation l'accréditation

On considère que les « prescriptions sont non conformes selon l'arrêté du 23 juin 2009 », les prescriptions dont le consentement écrit de la patiente n'est pas complet (absence de nom

manuscrit à l'endroit prévu à cet effet, et/ou signature de la patiente). On considère que les « prescriptions sont non conformes à l'accréditation », lorsque la date de prélèvement ne figure pas sur la prescription. Lors de la première EPP, 21,9 à 55,8 % des prescriptions sont réalisables selon l'arrêté du 23 juin 2009 et l'accréditation, contre 40, 4 à 79,1 % lors de la seconde EPP (Tableau XXIV). On note là encore, une proportion de prescriptions réalisables plus basses pour le dépistage du second trimestre intégré (21.9 et 40.4 %) par rapport aux deux autres types de dépistages (55.5 à 79.1%).

Tableau XXIV. Prescriptions conformes à l'Arrêté du 23 juin 2009 ou l'accréditation

	1 ier trimestre combiné		2 ième trimestre intégré		2 ième trimestre sérique	
	EPP Janv/Fev	EPP Aout/Sep	EPP Janv/Fev	EPP Aout/Sep	EPP Janv/Fev	EPP Aout/Sep
Nombre total de prescriptions	120	206	73	52	9	15
Prescriptions réalisables						
Proportion (%)	55,8 (n=67)	79,1 (n=163)	21,9 (n=16)	40,4 (n=21)	55,5 (n=5)	66,6 (n=10)
Prescriptions non calculables par Prisca 4,0 ®						
Proportion (%)	33,3 (n=40)	9 (n=18)	63 (n= 46)	51,9 (n=27)	22 (n= 2)	20 (n= 3)
Prescriptions non conformes						
Selon Arrêté du 23 juin 2009 (%)	9,2 (n=11)	10,2 (n=21)	13,7 (n=10)	5,8 (n=3)	11,1 (n=1)	13,3 (n=2)
Selon l'accréditation (%)	1,7 (n=2)	1,7 (n=4)	1,4 (n=1)	1,9 (n=1)	11,4 (n=1)	0 (n=0)

EPP Janv/Fev : EPP Janvier/Février EPP Août/Sep : EPP Août/Septembre

2. La médiane des MoM de la CN par échographiste

Au cours de l'année 2010, 27 échographistes ont réalisé une échographie au premier trimestre dans le cadre du dépistage de la trisomie 21 au premier trimestre ou second trimestre intégré. Huit échographistes ont réalisé plus de 50 échographies dans le cadre du dépistage. La Figure

33 montre la médiane des MoM de la CN pour ces 8 échographistes. Chaque échographiste est représenté par un numéro. Un seul échographiste présente une médiane des MoM de la CN égale à 1, les 7 autres ont une valeur médiane inférieure.

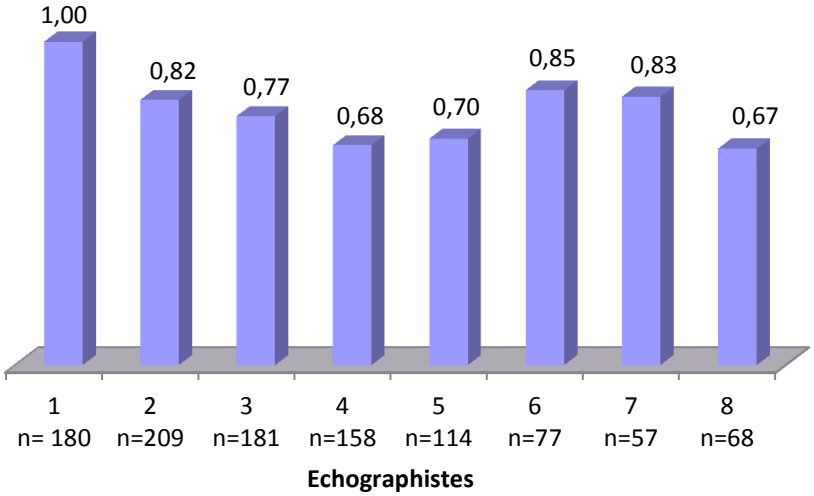


Figure 33. Médiane des MoM de la CN par échographiste

n=nombre d'échographies réalisées par échographiste

3. Le suivi des médianes des marqueurs sériques

a) La médiane des MoM des marqueurs du premier trimestre

Le suivi des médianes de MoM brutes de la β hCG libre a été déterminé à partir de 1000 données. La Figure 34 montre que les médianes oscillent de part et d'autre de la valeur cible 1. La médiane de MoM en date du 20 octobre correspond à un changement de lot réactif.

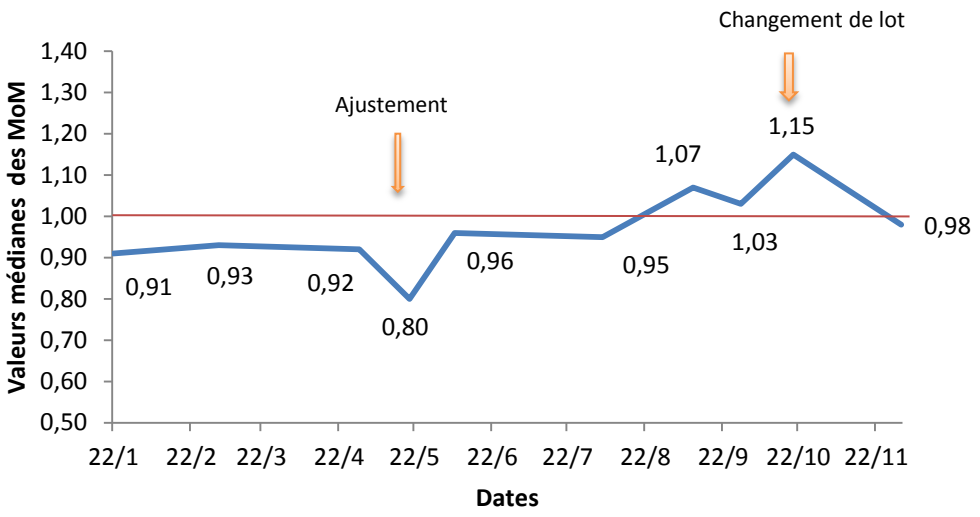


Figure 34. Suivi des médianes des MoM pour la béta hCG libre

Le 4 aout 2010, à la demande du fournisseur et avis du club utilisateur, un changement de médiane de référence de la PAPP-A est effectué. Avant cette date, le suivi de la médiane des MoM de la PAPP-A a été déterminé sur 500 valeurs. On constate que les valeurs des médianes oscillent de part et d'autre de la valeur cible 1, et restent dans une fourchette étroite, sauf pour la médiane de MoM en date du 28 avril correspond à un changement de lot réactif. A partir du 4 aout 2010, le suivi des médianes a été déterminé sur 400 valeurs. On note que les valeurs médianes des MoM sont inférieures à 1, avec des valeurs atteignant 0,78 MoM (Figure 35).

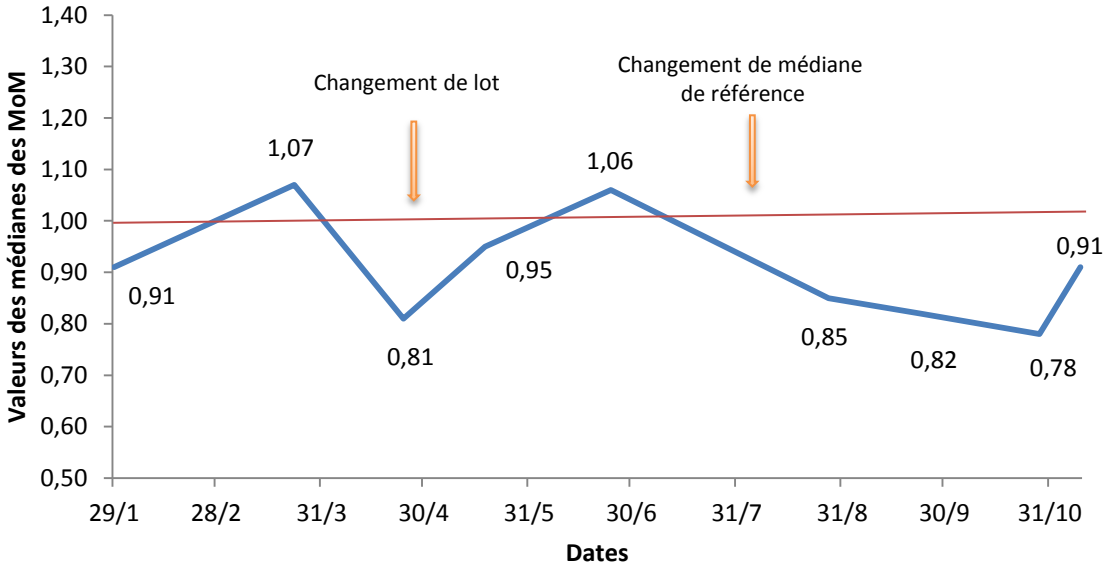


Figure 35. Suivi des médianes des MoM pour la PAPP-A

b) La médiane des MoM des marqueurs du second trimestre

L'ensemble des valeurs médianes a été déterminé à partir de 300 données. Les médianes des MoM de l'AFP restent stables dans le temps, et avec des valeurs très proches de la valeur cible 1 (Figure 36).

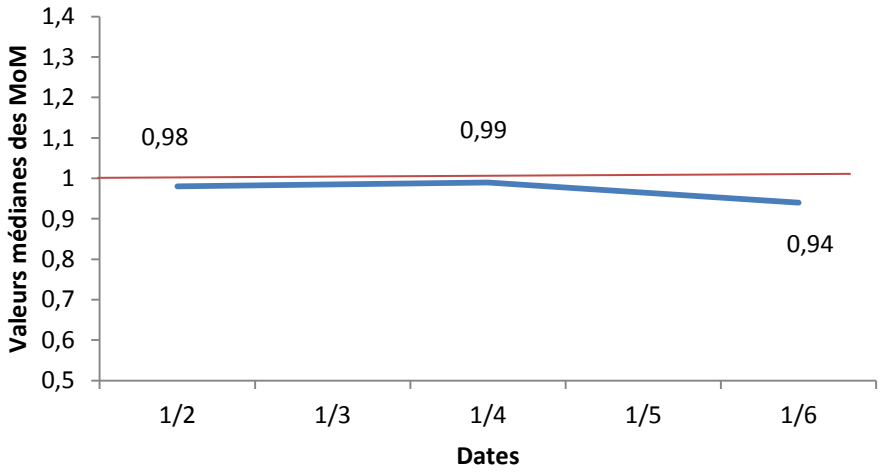


Figure 36. Suivi des médianes des MoM pour l'AFP

La Figure 36 montre le suivi des médianes de MoM brutes pour l'hCG totale. Les valeurs médianes sont obtenues à partir de 300 données. Les valeurs médianes restent aussi dans une fourchette de valeur proche de la cible 1.

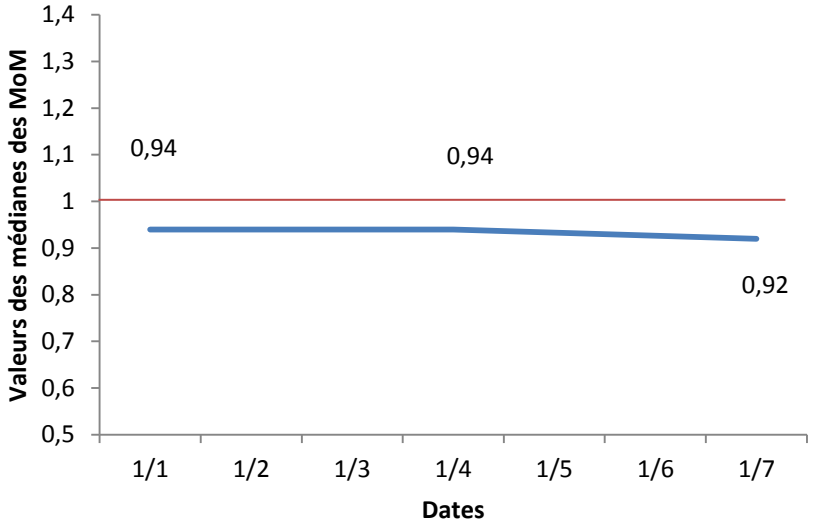


Figure 37. Suivi des médianes des MoM pour l'hCG totale

DISCUSSION- CONCLUSION

Le dépistage sérique maternel de la trisomie 21 a été mis en place en France à l'échelon national dès 1997. En raison des implications éthiques, il est soumis à une réglementation très stricte qui concerne la patiente, le médecin, le biologiste, et plus récemment l'échographiste. Au cours des années, plusieurs évolutions techniques sont survenues. La mesure de la clarté nucale fœtale et le dosage de nouveaux marqueurs sériques maternels utilisables dès le premier trimestre de la grossesse sont apparus prometteurs.

Le 11 janvier 2010, le dépistage de la trisomie 21 est mis en place au sein du laboratoire de la MRU. L'objectif de ce travail a consisté à évaluer les premiers résultats de la mise en place du dépistage de la trisomie 21 sur l'ensemble de l'année 2010. Nous avons également étudié la démarche qualité mise en place tout au long du parcours de la patiente.

En 2007, l'HAS [97] fait un état des lieux, et propose de nouvelles stratégies de dépistage de la trisomie 21. Le dépistage devient possible dès le premier trimestre de grossesse, tout en maintenant possible des investigations plus tardives. L'arrêté du 23 juin 2009 [8] règlemente les modalités des nouvelles pratiques du dépistage de la trisomie 21. Le dépistage réalisable dès le premier trimestre combine la mesure de la CN et le dosage des marqueurs sériques (PAPP-A et β hCG libre) entre 11 et 13 SA + 6 jours. Si la patiente n'a pu avoir recours au dépistage du premier trimestre, le dépistage du second trimestre intégré lui est proposé. Il est réalisable de la 14 à la 17 SA + 6 jours, et repose sur la mesure de la CN et des marqueurs sériques (hCG totale et AFP). Enfin, si la patiente n'a pas pu bénéficier des deux dépistages précédents, elle peut profiter du dépistage sérique qui utilise uniquement le dosage des marqueurs sériques du second trimestre. En ultime recours, et à titre exceptionnel, une patiente âgée de plus de 38 ans, n'ayant eu aucun dépistage, peut bénéficier du diagnostic prénatal [30]. Dans notre travail, 73 % des patientes ont bénéficié du dépistage premier trimestre contre 15 % pour le second trimestre intégré et seulement 12% pour l'ancienne stratégie second trimestre.

L'HAS [97] propose plusieurs critères afin d'évaluer les différentes stratégies. On compte parmi ces critères, l'efficacité du dépistage. L'efficacité d'un dépistage est définie par son taux de détection et son taux de faux positif. Le taux de détection du dépistage au premier trimestre réalisé à la MRU est de 66.6 %. Ce chiffre est plus bas que celui attendu dans les recommandations faites par l'HAS, puisque il variait de 73 à 100 % selon les études. Par contre, le taux de faux positif (soit 5,5 %) du dépistage réalisé à la MRU se situe dans les

fourchettes attendues par l'HAS (soit de 2,1 à 9,4 %). Une étude réalisée par Bussières [22], évalue le dépistage de la trisomie 21 au premier trimestre en France, dans les Yvelines, entre le premier janvier 2001 et le 31 décembre 2002. Au cours de cette période, 40 cas de trisomie 21 ont été dépistés (sur 50 cas au total), ce qui conduit à un taux de détection de 78,4 %. Il est cependant délicat et surement trop précoce de comparer les résultats obtenus sur cette première année d'étude au taux de détection publié par l'HAS, ainsi qu'à ceux de l'étude de Bussières [22]. En effet, les chiffres publiés par l'HAS reposent sur différentes types d'études, réalisées dans des pays étrangers, sur des périodes beaucoup plus importantes, et surtout avec des effectifs de trisomie 21 plus élevés. L'étude menée par Bussières compte elle aussi des effectifs plus importants (50 cas de trisomie 21 sur 14 909 patientes incluses).

Le dépistage du second trimestre intégré est le dépistage qui offre les meilleurs résultats en termes de taux de détection et de faux positif dans notre recrutement. En effet, le taux de détection est de 100 % pour un cas de trisomie 21 dépisté et l'absence de faux négatif. Le taux de faux positif est le plus bas avec 2,5 %. Ces résultats sont meilleurs que ceux attendus par l'HAS [97], avec un taux de détection attendu variant de 80,6 à 88% pour un taux de faux positif de 4,8 à 5,3%.

En l'absence de cas de trisomie 21, le taux de détection du dépistage sérique n'a pu être calculé dans notre étude. Ce dépistage détient le taux de faux positif le plus élevé avec 9 %.

Il est important de souligner, qu'avec la stratégie réalisée au premier trimestre (et avec de nouveaux marqueurs), plusieurs aneuploïdies ont pu être mises en évidence, parmi les patientes à risque élevé. Ainsi, lors du dépistage du premier trimestre, trois anomalies chromosomiques différentes (45,X ; trisomie 2 ; 47,XY + fragment du chromosome 13) ont été détectées. En outre, le risque de trisomie 18 est évalué pour chaque type dépistage par le logiciel Prisca 4.0 ® (Siemens). Les risques élevés (> 1/100) sont signalés au clinicien. Un cas de trisomie 18 a d'ailleurs été identifié.

L'efficience fait aussi partie des critères utilisés par l'HAS [97] pour évaluer les différentes stratégies. L'efficience évalue grâce à une simulation, les couts engendrés pour chaque stratégie de dépistage. Nous n'avons pas évalué économiquement les différentes stratégies. Cependant, le logiciel Prisca 4.0 ® calcule simultanément le risque sérique du dépistage du deuxième trimestre et celui du second trimestre intégré. En comparant les deux risques pour les patientes incluses dans un dépistage du second trimestre intégré, six patientes ont également un risque accru pour le dépistage sérique. Par conséquent, on peut considérer, qu'il n'y a pas eu de perte de chance pour les six patientes à risque accru, en les intégrant dans la

nouvelle stratégie de dépistage du second trimestre intégré. En outre, dans ce même groupe, on observe vingt faux positifs pour le dépistage sérique. Ces faux positifs auraient conduit selon l'ancienne démarche de dépistage à la réalisation de vingt amniocentèses supplémentaires et probablement vingt caryotypes. La réalisation d'un dépistage du second trimestre intégré a permis une économie, mais a également épargné à vingt patientes l'angoisse et l'attente du diagnostic.

La comparaison du dépistage du premier trimestre avec les deux autres stratégies, montre une situation différente. Une étude a été réalisée chez des patientes âgées de moins de 34 ans, dont le fœtus a une CN inférieure à 3mm, et qui appartenaient au groupe à risque accru pour le dépistage du premier trimestre. Parmi les sept patientes testées, le dépistage du second trimestre sérique et le second trimestre intégré, auraient exclu six patientes du groupe à risque accru. Là aussi, d'un point de vue économique, un dépistage réalisé au second trimestre aurait évité de pratiquer théoriquement six amniocentèses. Cependant, compte tenu du faible effectif de patientes testées, il s'avère prématuré de conclure sur l'efficience du dépistage du premier trimestre.

Le terme efficience n'englobe pas seulement la notion économique du dépistage, elle tient compte aussi du nombre de cas diagnostiqué. Le dépistage du premier trimestre combiné compte deux vrais positifs. Un vrai positif a été dépisté lors d'un dépistage du second trimestre intégré. En revanche, un cas de faux négatif est connu. La patiente a été dépistée au premier trimestre de la grossesse. La valeur du risque final ne la place pas dans le groupe à risque (risque à 1/18233). Un sérum, prélevé lors du deuxième trimestre de la grossesse pour le suivi sérologique de cette patiente, a été testé pour un dépistage du second trimestre intégré et un dépistage du second trimestre sérique. Dans ces deux autres types de dépistage, la patiente n'aurait pas été non plus étiquetée patiente à risque.

Nos premières conclusions indiqueraient que le dépistage du second trimestre intégré diminue le nombre de faux positif. En revanche, dans notre expérience, le dépistage du premier trimestre n'a pas encore fait la preuve d'une meilleure efficacité, ni efficience.

Le suivi de la qualité est mis en place dans les laboratoires de biologie depuis de nombreuses années. Pour cette activité spécifique de dépistage, le texte règlementaire impose également une démarche d'assurance qualité aux échographistes. Les EPP réalisées sur les prescriptions mettent en avant les difficultés liées à la mise en commun des données biologiques et échographiques. Ainsi, à la mise en place du dépistage, la principale difficulté résidait dans

l'absence du numéro identifiant échographiste. Lors de la première EPP, une partie des prescriptions non réalisables par le logiciel Prisca 4.0 ® (Siemens) était due au manque de numéro identifiant échographiste. On peut supposer que certains praticiens ne connaissant pas la date exacte du démarrage du dépistage, n'avaient pas eu le temps de réaliser l'EPP. D'autres possédaient un numéro identifiant échographiste mais ne l'avaient pas encore intégré à leur compte rendu d'échographie. Actuellement, quelques échographistes ne possèdent pas encore de numéro identifiant, ce qui peut être préjudiciable pour les patientes si le risque ne peut être calculé.

La qualité de mesure, à la fois de la LCC et de la CN, est primordiale. La valeur de la LCC permet de déterminer l'âge gestationnel (AG). Un âge gestationnel non adapté au dépistage est régulièrement retrouvé dans le logiciel Prisca 4.0 ® (Siemens) rendant la prescription non réalisable. Une telle discordance s'explique par le fait que l'AG évalué par les échographistes de la MRU est déterminé à partir de la courbe de Wisser [96], tandis que l'AG déterminé par le logiciel Prisca 4.0 ® (Siemens) est obtenu à partir de la courbe de Robinson [77]. De plus, il est important de rappeler, que même si la valeur de la LCC n'intervient pas directement dans le calcul de risque, toute erreur de mesure entraine des répercutions sur la valeur du risque. Dans son étude, fondée à partir d'une simulation du calcul de risque en faisant varier la valeur de la LCC (de plus ou moins 5 mm), Salomon et al. [81] montrent que, quelle que soit la valeur de la CN, jusqu'à six pourcents des patientes sont mal classées dans le groupe à risque.

La mesure de la CN constitue un élément de grande importance pour le calcul de risque. Selon l'Arrêté du 23 juin 2009 [8], le réseau de santé en périnatalité doit être en mesure de fournir, via les biologistes, la médiane des MoM de la CN par échographiste. Au cours de l'année 2010, l'ABM publie un rapport concernant les premiers résultats de l'étude des médianes de MoM des CN évaluées à l'échelon national. La médiane nationale de MoM de la CN par échographiste est de 0,84. Une valeur médiane de la CN trop basse aura un impact sur le résultat du risque. On peut ainsi penser qu'une sous-estimation de la valeur de la CN va entrainer une augmentation des faux négatifs. En effet, lors d'une simulation, Kogan et al [54] démontrent qu'une sous-estimation de la valeur de la CN de 0,6 mm, entraine une diminution du taux de détection de 3 % (passage de 86 à 83 %) pour un taux de faux positif fixe. La diminution du taux de détection est d'autant plus importante que l'erreur de mesure est grande, avec un passage de 86 à 72 % pour une erreur de mesure de la CN de 1,2 mm. On est en droit de penser par conséquent, que l'utilisation de la CN dans le dépistage, permet non seulement de faire chuter les taux de faux positifs, mais risque d'engendrer des faux négatifs.

Compte tenu du fait que la valeur médiane est basse au niveau national (selon les résultats préliminaires de l'étude de l'ABM), il est licite de supposer que la médiane de référence (établie à partir des études de Nicolaides) intégrée aux logiciels de calcul du risque n'est pas représentative la pratique courante. Les règles de bonne pratique de mesure décrites par Nicolaides [68] ne sont peut-être applicables que partiellement dans la pratique courante. Un contrôle de qualité national, comme il en existe pour la biologie, pourrait probablement permettre de connaitre la qualité d'interprétation des clichés et les mesures (LCC et CN) qui en découlent sur un plan national. Cette procédure de contrôle qualité permettrait de corriger le cas échéant les références des logiciels de calcul.

En dehors des paramètres échographiques, des données biologiques et cliniques sont nécessaires pour affiner le calcul du risque. Parmi ces données, on retrouve notamment les paramètres correspondants aux facteurs correctifs, à savoir le poids maternel, le tabac, l'origine géographique. Les facteurs correctifs ne sont activés dans le logiciel Prisca 4.0 ® (Siemens) que lorsque le poids de la patiente est renseigné. Or, le poids de la patiente fait souvent défaut comme nous l'avons constaté lors des deux EPP. Ce manque d'information peut être expliqué par un défaut de matériel (absence de balance électrique dans les salles de consultation), mais aussi par le fait que l'infirmière, lors du prélèvement, oublie de demander le poids de la patiente qui revient à distance de la consultation médicale. A l'heure actuelle, les facteurs correctifs pris en compte sont le poids maternel, le tabac et l'origine géographique. D'autres facteurs, tel que le diabète et un antécédent de trisomie 21 libre et homogène, seront probablement prochainement pris en compte pour le calcul de risque.
Le dosage des marqueurs sériques est lui aussi soumis à une démarche qualité habituelle qui est renforcée actuellement dans le cadre de l'accréditation. Quotidiennement des contrôles de qualité internes sont passés. Les contrôles de qualités externes, ainsi que le contrôle de qualité national, permettent de positionner le groupe utilisateur parmi tous les laboratoires.
A l'heure actuelle, il n'existe pas de standard international pour les différents paramètres biologiques pour une calibration standardisée chez les différents fournisseurs. C'est donc, par le biais du suivi des médianes des marqueurs sériques que l'on détecte une éventuelle dérive des dosages. A la MRU, les valeurs des dosages sont extraites sous forme d'un fichier crypté, puis sont envoyées au fournisseur. L'ensemble des données sont exploitables tous les trois mois, afin de déterminer comment se situe le laboratoire au sein du groupe utilisateur. D'autre part, en aout 2010, un réajustement de la médiane de référence de la PAPP-A a été réalisé afin de corréler ce paramètre à celui d'un autre fournisseur.

Enfin, la démarche qualité autour du dépistage passe également par une amélioration des processus. Les documents utiles à la prescription ont été réévalués tout au long de l'année, au regard des résultats de l'EPP sur les prescriptions. Les premiers formulaires de prescription offraient la possibilité aux prescripteurs d'y inscrire directement les données échographiques, évitant ainsi de fournir le compte rendu échographique. L'inconvénient d'une telle pratique est l'erreur de retranscription des valeurs. C'est pourquoi, lors de la modification du formulaire de prescription, il ne fut plus possible d'inscrire les valeurs de paramètres échographiques. Ensuite, le réseau de périnatalité lorrain a demandé aux échographes de faire figurer le numéro identifiant échographiste sur leur compte rendu. Selon les recommandations de la Commission Nationale de l'Informatique et des Libellés, le libellé « origine ethnique » a été remplacé par « origine géographique ». Les groupes géographiques suivants : Européenne/Magreb, Asiatique, Africaine, ont donc été retenus.

L'obtention du consentement écrit de la patiente est une notion importante figurant dans l'arrêté du 23 juin 2009 [8]. Malheureusement, les EPP réalisées ont pris en considération uniquement la conformité du remplissage, mais pas le degré de compréhension de la patiente vis à vis du dépistage. L'équipe de Favre [36] en 2008 a réalisé un travail sur le consentement des patientes pour l'échographie du premier trimestre à visée de datation et de dépistage. Afin d'évaluer le niveau de compréhension des patientes, un questionnaire évalue les caractéristiques des médecins (généraliste/gynéco-obstétricien, explications données aux patientes sur l'échographie, connaissance sur l'échographie à l'aide de questions) et des patientes (âge, niveau d'étude, leur ressenti par rapport à l'examen), leur niveau de connaissance, et tente d'apprécier la position personnelle de la patiente face au dépistage. Au final, dans l'étude, 76 % des patientes ont accepté le dépistage de manière aveugle. Le niveau de connaissance du médecin, ainsi que son opinion influenceraient directement la décision de la patiente.

Enfin, à la MRU, le texte du consentement écrit de la patiente proposé dans l'arrêté du 23 juin 2009 [8], a été complété par l'ajout d'une case « je refuse la réalisation du dépistage de la trisomie 21 » traçant ainsi la notion d'information donnée à la patiente, quel que soit son choix.

Après une année de mise en place, les résultats sont globalement en accord avec les données de la littérature. Néanmoins, ces résultats peuvent être considérés comme préliminaires compte tenu des effectifs restreints. Les comptes rendus nationaux de l'ABM et de l'ABA

permettront de resituer les résultats obtenus, et de compléter probablement les éléments de la démarche qualité.

Dans notre pratique à venir, il sera souhaitable de poursuivre l'information et la formation des prescripteurs, mais également d'envisager un parcours patiente simplifié au sein de l'établissement.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Althuser M. Echographie fœtale de dépistage. EMC Gynécologie/Obstétrique 2007 ; 5-018-A-40.

[2] Ardawi MS, Nasrat HA, Rouzi AA, Qari MH, Al-Qahtani MH, Abuzenadah AM. Maternal serum free-beta-chorionic gonadotrophin, pregnancy-associated plasma protein-A and fetal nuchal translucency thickness at 10-13(+6) weeks in relation to co-variables in pregnant Saudi women.Ultrasound Obstet Gynecol 2009 ; 33(4):382-386.

[3] Arrêté du 23 janvier 1997 modifiant l'arrêté du 3 avril 1985 fixant la nomenclature des actes de biologie médicale. Journal Officiel de la République Française 1997 ; 1365.

[4] Arrêté du 27 mai 1997 fixant des conditions particulières d'évaluation et d'utilisation des réactifs de dosage des marqueurs sériques prédictifs de la trisomie 21. Journal Officiel de la République Française 1997 ; 8293.

[5] Arrêté du 30 septembre 1997 relatif au consentement de la femme enceinte à la réalisation des analyses mentionnées à l'article R. 162-16-1 du code la santé publique. Journal Officiel de la République Française 1997 ; 15820-15821.

[6] Arrêté du 11 février 1999 modifiant l'arrêté du 3 avril : 1985 fixant la Nomenclature des actes de biologie médicale. Journal Officiel de la République Française 1999 ; 2425.

[7] Arrêté du 1ier juillet 2005 modifiant l'arrêté du 27 mai 1997 fixant les conditions particulières d'évaluation et d'utilisation des réactifs de dosage des marqueurs sériques prédictifs de la trisomie 21. Journal Officiel de la République Française 2005 ; texte 35 sur 178.

[8] 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 de la République Française 2009 ; texte 23 sur 81.

[9] Arrêté du 23 juin 2009 relatif à l'information, à la demande et au consentement de la femme enceinte 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 de la République Française 2009 ; texte 24 sur 81.

[10] 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 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 de la République Française 2010 ; texte 34 sur 126.

[11] 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 l'utilisation des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21. Journal Officiel de la République Française 2010 ; texte 35 sur 142.

[12] Bernard M, Muller F. Dépistage de la trisomie 21 fœtale par les marqueurs sériques maternels. R F L 2009 ; 411:31-37.

[13] Bersinger NA, Vanderlick F, Birkhäuser MH, Janecek P, Wunder D. First trimester serum concentrations of placental proteins in singleton and multiple IVF pregnancies : implications for Down syndrome screening. Immunoanal Biol Spéc 2005 ; 20(1):21-27.

[14] Bestwick JP, Huttly WJ, Wald NJ. First trimester Down's syndrome screening marker values and cigarette smoking: new data and a meta-analysis on free beta human chorionic gonadotophin, pregnancy-associated plasma protein-A and nuchal translucency. J Med Screen 2008 ; 15(4):204-206.

[15] Bidart JM. L'hormone chorionique gonadotrope (hCG) et ses formes moléculaires. Immunoanal Biol Spéc 1995 ; 10:341-346.

[16] Bogart MH, Pandian MR, Jones OW. Abnormal maternal serum chorionic gonadotropin in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. Prenat Diag 1987 ; 7:623-730.

[17] Bouizegarène P, Ameziane N, Bogard M, Deybach JC, Lamoril J. Détection de la trisomie 21 par l'étude de l'ADN. Immunoanal Biol Spéc 2008 ; 23(1):1-10.

[18] Bourgeot P. Echographie du 1 er trimestre : apport au diagnostic aux embryopathies et des anomalies chromosomiques. Feuillet de Radiologie 2002 ; 42(5):374-383.

[19] Briard ML, Morichon-Delvallez N. Anomalies chromosomiques. EMC Pédiatrie 2006 ; 4-002-T-30.

[20] Brochet C, Bakkouch A, Guillerm E, Bernard M. La pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) Immunoanal Biol Spéc 2010 ; 25(4):212-218.

[21] Broussin B, Sarramon MF. La clarté nucale : technique de mesure et signification. J Radiol 2002 ; 83:1891-1898.

[22] Bussières L, Rozenberg P, Bault JP , Ville Y. Programme de dépistage de la trisomie 21 dans les Yvelines par mesure échographique de la clarté nucale et mesure des marqueurs sériques maternels au 1er trimestre de la grossesse: Étude Echo PAPP-A.78. Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction 2004 ; 33(1):61-66.

[23] Canick JA, Knight GJ, Palomaki GE, Haddow JE, Cuckle HS, Wald NJ. Low second trimester maternal serum unconjugated oestriol in pregnancies with Down's syndrome. Br J Obstet Gynaecol 1988 ; 95:330-333.

[24] Capelle X, Schaaps JP, Foidart JM. Nouvelles méthodes d'évaluation du risqué de trisomie 21 en consultation prénatale. Rev Med Liege 2008 ; 63(2):82-86.

[25] Cowans NJ, Stamatopoulou A, Hellström J, Mäkelä MM, Spencer K. PAPP-A and free hCG stability in first trimester serum using PerkinElmer AutoDELFIA and DELFIA Xpress systems. Prenat Diagn 2010 ; 30(2):127- 132.

[26] Cuckle HS, Spencer K, Nicolaides KH. Down syndrome screening marker levels in women with a previous aneuploidy pregnancy. Prenat Diagn 2005 ; 25(1):47-50.

[27] Cuckle HS, Wald NJ, Thompson SG. Estimation a woman's risk of having a pregnancy associated with Down's syndrome using her age and serum alpha-foetopreotein level. Br J Obsetet Gynaecol 1987 ; 94:387-402.

[28] Dancoine F, Couplet G, Mainardi A, Sukno F, Jaumain P, Nowak E, Thibaud D. Dépistage anténatal de la trisomie 21 par les marqueurs sériques : étude des facteurs de poids, tabac et diabète maternel. Immunoanal Biol Spec 2001 ; 16:381-389.

[29] Dedeystère O. Intérêt du dosage de la sous-unité β libre d'hCG dans le dépistage prénatal de la trisomie 21. Immunoanal Biol Spec 1993 ; 8:177-179.

[30] Décision du 6 juillet 2009 de l'Union nationale des caisses d'assurance maladie relative à la liste des actes et prestations pris en charges par l'assurance maladie, Journal Officiel de la République Française 27 octobre 2009 ; texte 22 sur 119.

[31] Dibie-Krajcman D. Trisomie 21 : les nouvelles règles instituées par les arrêtés du 23 juin 2009. La revue Sage-femme 2009 ; 8(6):347-356.

[32] Dingeon B, Lebrun C, Doche C. Marqueurs sériques maternels d'anomalies fœtales. Biologie clinique. EMC 2007 ; 90-10-0640

[33] Engels MA, Kooij M, Schats R, Twisk JW, Blankenstein MA, van Vugt JM. First-trimester serum marker distribution in singleton pregnancies conceived with assisted reproduction. Prenat Diagn 2010 ; 30:372-377.

[34] Evans M I, Krantz David A, Hallahan Terrence W, Galen Robert S. Meta-analysis of first trimester Down syndrome screening studies: free β-human chorionic gonadotropin significantly outperforms intact human chorionic gonadotropin in a multimarker protocol. Am J Obstet Gynecol 2007 ; 196(3):198-205.

[35] Fallet C. Les différentes formes d'hCG circulantes : de leur source de production aux applications cliniques. J Gynécol Obstet Biol Reprod 2010 ; 39:11-12.

[36] Favre R, Moutel G. Échographie du 1er trimestre de la grossesse : Le consentement des patientes à cet examen est-il réellement « éclairé » ?. Médecine 2008 ; 4(4):186-190.

[37] Flori M, Goffette J. Réflexions éthiques sur le dépistage du risque de trisomie 21 par les marqueurs sériques. La revue Exercer 2005 ; 75:126-129.

[38] Gaillard O. La PAPP-A. Immunoanal Biol Spec 2003 ; 18(6):338-340.

[39] Ghosh S, Feingold E, Dey SK. Etiology of Down syndrome: Evidence for consistent association among altered meiotic recombination, nondisjunction, and maternal age across populations. Am J Med Genet A 2009 ; 149A(7):1415-1420.

[40] Girard-Orgeolet S, Choiset A. Formes cytogénétiques et épidémiologie de la trisomie 21. Cahier de formation Bioforma 1999 ; 15:13-18.

[41] Gjerris AC, Loft A, Pinborg A, Christiansen M, Tabor A. First-trimester screening markers are altered in pregnancies conceived after IVF/ICSI. Ultrasound Obstet Gynecol 2009 ; 33(1):8-17.

[42] Grange G, Pannier E, Goffinet F, Zorn JR, Cabrol D. Précision de la biométrie de datation à l'échographie du premier trimestre dans la pratique courante. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2003 ; 32(3):221-226.

[43] Grange G, Tantau J, Acuna N, Viot G, Narcy F, Cabrol D. Fréquence des malformations associées à la trisomie 21. J Gynecol Obstet Reprod 2006, 35:477-482.

[44] Graulet AM. Informations réactifs : AFP. Immunoanal Biol Spéc 2000 ; 15:286-293.

[45] Guibourdenche J, Burc L, Frendo J L, Flament G, Kacprzak A, Bazot I, Jeanne P, Porquet D, Muller F. Physiopathologie de l’hormone chorionique gonadotrope humaine (hCG) dans la trisomie 21. Immunoanal Biol Spec 2002 ; 17 (1):2-10.

[46] Herman A, Dreazen E, Herman AM, Batukan CEM, Holzgreve W, Tercanli S. Bedside estimation of Down syndrome risk during first trimester ultrasound screening. Ultrasound Obstet Gynecol 2002; 20:468–475.

[47] Herman A, Maymon R, Dreazen E, Caspi E, Bukovsky I, Weinraub Z. Nuchal translucency audit : a novel image-scoring method. Ultrasound Obstet Gynecol 1998 ; 12:398-403.

[48] Hook EB. Down syndrome frequency in human population and factors pertinent to variation in rates. In: Trisomy 21, research perspectives : de la Cruz FF, Gerald PS-Eds, Mental retardation centers series. University Park Press 1981 ; 3-67.

[49] Hui PW, Lam YH, Tang MH, NG EH, Yeung WS, Ho PC. Maternal serum pregnancy-associated plasma protein-A and free beta-human chorionic gonadotrophin in pregnancies conceived with fresh and frozen-thawed embryos from in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. Prenat Diagn 2005 ; 25(5):390-403.

[50] Hultén MA, Patel SD, Tankimanova M, Westgren M, Papadogiannakis N, Jonsson AM, Iwarsson E. On the origin of trisomy 21 Down syndrome. Mol Cytogenet 2008 ; 1:21-31.

[51] Huttly W, Rudnicka A, Wald NJ. Second-trimester prenatal screening markers for Down syndrome in women with insulin-dependent diabetes mellitus. Prenat Diagn 2004 ; 24(10):804-807.

[52] Ingrand J. Gonadotrophine chorionique (hCG) et sa sous-unité bêta libre. EMC Encyclopédie Médico-Biologique 2007 ; 90-10-0495.

[53] Kagan KO, Wright D, Spencer K, Molina FS, Nicolaides KH. First-trimester screening for trisomy 21 by free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A: impact of maternal and pregnancy characteristics. Ultrasound Obstet Gynecol 2008 ; 31(5):493-502.

[54] Kogan KO, Wright D, Etchegaray A, Zhou Y, Nicolaides KH. Effect of deviation of nuchal translucency measurements on the performance of screening for trisomy 21. Ultrasound Obstet Gynecol 2009 ; 33(6):657-664.

[55] Kessler S. Clarté nucale : technique de mesure. Imagerie de la Femme 2008 ; 18(3):153-156.

[56] Krantz DA, Hallahan TW, Macri VJ, Macri JN. Maternal weight and ethnic adjustment within a first-trimester Down syndrome and trisomy 18 screening program. Prenat Diagn 2005 ; 25(8):635-640.

[57] Kuhn P, Brizot ML, Pandya PP, Snijders RJ, Nicolaides KH. Crown-rump length in chromosomally abnormal fetuses at 10 to 13 weeks' gestation. Am J Obstet Gynecol 1995 ; 172:32-35.

[58] Leung TY, Spencer K, Leung TN, Fung TY, Lau TK. Higher median levels of free beta-hCG and PAPP-A in the first trimester of pregnancy in a Chinese ethnic group. Implication for first trimester combined screening for Down's syndrome in the Chinese population. Fetal Diagn Ther 2006 ; 21(1):140-143.

[59] Levy R, Arfi JS, Daffos F. Techniques de prélèvements fœtaux. Gynécologie Obstétrique & Fertilité 2003 ; 31(6):550-555.

[60] Lin TM, Galbert SP, Kiefer D, Spellacy Wn, Gall S. Characterization of four human pregnancy-associated plasma proteins. Am J Obstet Gynecol 1974 ; 118(2):223-236.

[61] Lois du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique, Journal Officiel de la République Française, 8 juillet 2011 ; texte 1 sur 163.

[62] Macri JN, Kasturi RV, Krantz DA, Cook EJ, Moore ND, Young JA, Romero K, Larsen JW Jr. Maternal serum Down syndrome screening: free beta-protein is a more effective marker than human chorionic gonadotropin. Am J Obstet Gynecol 1990 ; 163(4):1248-1253.

[63] 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 ; 148:886-894.

[64] Moineau MP, Guenet D, Codet JP, Morin JF. Estimation du risque de trisomie 21 fœtale par les marqueurs sériques maternels. Principe du calcul de risque. Médecine fœtale et échographie en Gynécologie, 2005 ; 64:13-17.

[65] Morichon-Delvallez N. Cytogénétique prénatale. EMC gynécologie/Obstétrique 2006 ; 5-031-A-15.

[66] Morin JF, Moineau MP, Morin V, Codet JP, Guenet D. Calcul de risque de trisomie 21 fœtale : suivi statistique des multiples de la médiane. Immunoanal Biol Spéc 2003 ; 18(1):2-10.

[67] Muller F. Dépistage de la trisomie 21 par les marqueurs sériques. EMC Gynécologie Obstétrique 2005 ; 2:209-216.

[68] Nicolaides KH. Nuchal translucency and other first-trimester sonographic markers of chromosomal abnormalities. Am J Obstet Gynecol 2004 ; 191(1):45-67.

[69] Nicolaides KH, Snijders RJ, Cuckle HS. Correct estimation of parameters for ultrasound nuchal translucency screening. Prenat Diagn 1998 ; 15(5):519-523.

[70] Overgaard MT, Sorensen ES, Stachowiak D, Boldt HB, Kristensen L, Sottrup-Jensen L. Complex of pregnancy-assossiated plasma protein-A and the preform of eosinophil major basic protein Disulfite structure and carbohydrate attachement. J Biol Chem 2003 ; 278(4):2106-2017.

[71] Palomaki GE, Wright DE, Summers AM, Neveux LM, Meier C, O'donnell A, Huang T, Knight GJ, Haddow JE. Repeated measurement of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) in Down syndrome screening: a validation study. Prenat Diagn 2006 ; 26(8):730-739.

[72] Pandya PP, Altman DG, Brizot ML, Pettersen H, Nicolaides KH. Repeatability of measurement of fetal nuchal translucency thickness. Ultrasound Obstet Gynecol 1995 ; 5(5):334-337.

[73] Penrose LS. The relative effect of paternal age in mongolisme. J Genet 1933 ; 27:219-224.

[74] Perona M, Mancini G, Dall'Amico D, Guaraldo V, Carbonara A. Influence of smoking habits on Down's syndrome risk evaluation at mid-trimester through biochemical screening. Int J Clin Lab Res 1998 ; 28(3):179-182.

[75] Pidoux G, Guibourdenche J, Gerbaud P, Marpeau O, Ferreira F, Vidaud M, Luton D, Giovangrandi Y, Muller F, Evain-Brion D, Frendo JL. Reasons of increased level of hCG in the serum of the mothers bearing a trisomic foetus. Immunoanal Biol Spéc 2006 ; 21:91-98.

[76] Poloce F, Boisson-Gaudin C. Marqueurs sériques maternels d'anomalies fœtales (trisomie 21, anomalies chromosomiques, spina bifida,…) Revue Francophone des Laboratoires 2010 ; 421:59-68.

[77] Robinson HP, Fleming JE. A critical evaluation of sonar "crown-rump length" measurements. Br J Obstet Gynaecol 1975 ; 82(9):702-10.

[78] Roizen NJ, Patterson D. Down's syndrome. Lancet 2003 ; 361(9365):1281-1289.

[79] Rousseau T, Ferdynus C, thauvin-Robinet C, gouyon JB, Sagot P. Impact des variations de distribution de l'âge maternel sur la prévalence attendue à la naissance de la trisomie 21 en France métropolitaine entre 1965 et 2008. Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction 2010 ; 39:284-289.

[80] Rozenberg P. Dépistage de la trisomie 21 par échographie. Immunoanal Biol Spéc 2005 ; 20(2):103-109.

[81] Salomon LJ, Bernard M, Amarsy R, Bernard JP, Ville Y. The impact of crown-rump length measurement error on combined Down syndrome screening: a simulation study. Ultrasound Obstet Gynecol 2009 ; 33(5):506-511.

[82] Scott A. Mesure de la claret nucale dans le dépistage du syndrome de Down au premier trimester. Agence canadienne

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

[84] 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 ; 352(9125):343-346.

[85] Spencer K. Evaluation of an assay of the free beta-subunit of choriogonadotropin and its potential value in screening for Down's syndrome. Clin Chem 1991; 37(6):809-814.

[86] Spencer K, Coombes EJ, Mallard AS, Ward AM. Free beta human choriogonadotropin in Down's syndrome screening: a multicentre study of its role compared with other biochemical markers. Ann Clin Biochem 1992 ;29 (5):506-518.

[87] Spencer K, Bindra R, Nicolaides KH. Maternal weight correction of maternal serum PAPP-A and free beta-hCG MoM when screening for trisomy 21 in the first trimester of pregnancy. Prenat Diagn 2003 ; 23(10):851-855.

[88] Spencer K, Cicero S, Atzei A, Otigbah C, Nicolaides KH. The influence of maternal insulin-dependent diabetes on fetal nuchal translucency thickness and first-trimester maternal serum biochemical markers of aneuploidy. Prenat Diagn 2005 ; 25(10):927-929.

[89] Spencer K, Heath V, El-Sheikhah A, Ong CY, Nicolaides KH. Ethnicity and the need for correction of biochemical and ultrasound markers of chromosomal anomalies in the first trimester: a study of Oriental, Asian and Afro-Caribbean populations. Prenat Diagn 2005 ; 25(5):365-369.

[90] Spencer K, Staboulidou I, De Jesus Cruz J, Karagiannis G, Nicolaides KH. Maternal serum screening marker levels in women with a previous aneuploidy pregnancy. Prenat Diagn 2009 ; 29(13):1242-1243.

[91] Vekemans M. Âge maternel et autres facteurs de risque de la trisomie 21. A B C 2003 ; 61(4):497-499.

[92] Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Nanchahal K, Royston P, Chard T, et al. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. BMJ 1988 ; 297:883-887.

[93] Wald NJ, Smith D, Kennard A. Biparietal diameter and crown-rump lenght in fetuses with Down's syndrome : implications for antenatal serum screening for Down's syndrome. Br J Obstet Gynaecol 1993 ; 100:430-435.

[94] Wald N, Stone R, Cuckle H S, Grudzinskas J G, Barkai G, Brambati B, Teisner B, Fuhrman W. First trimester concentrations of pregnancy associated plasma protein A and placental protein 14 in Down's syndrome. Brit Med J 1992 ; 28:305.

[95] Weingertner AS, Favre R. Clarté nucale. EMC Gynécologie/Obstétrique 2009 ; 5-018-A-35.

[96] Wisser J, Dirsheld P. Estimation of gestationnal age by transvaginal sonographic measurement of greatest embryonic length in dated human embryos. Ultrasound Obstet Gynecol 1994 ; 4:457-462.

Site internet :

[97] **Evaluation des Stratégies de dépistage de la trisomie 21 par l'HAS** : http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_540874/evaluation-des-strategies-de-depistage-de-la-trisomie-21

ANNEXES

Annexe 1 : Arrêté du 23 juin 2009 (texte 23/81)

Décrets, arrêtés, circulaires

TEXTES GÉNÉRAUX

MINISTÈRE DE LA SANTÉ ET DES SPORTS

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

NOR : *SASP0907157A*

La ministre de la santé et des sports,

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

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

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

Arrête :

Art. 1er. – Lors de la consultation médicale prévue à l'article R. 2131-2 du code de la santé publique, toute femme enceinte, quel que soit son âge, est informée de la possibilité de recourir à un dépistage combiné permettant d'évaluer le risque de trisomie 21 pour l'enfant à naître. Ce dépistage associe le dosage des marqueurs sériques du premier trimestre, réalisé à partir d'un prélèvement sanguin, et les mesures échographiques de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale.

Art. 2. – Si le dépistage combiné du premier trimestre, mentionné à l'article 1er, n'a pu être réalisé, la femme enceinte est informée de la possibilité de recourir à un dépistage séquentiel intégré du deuxième trimestre. Ce dépistage associe le dosage des marqueurs sériques du deuxième trimestre, réalisé à partir d'un prélèvement sanguin, et les mesures échographiques de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale qui ont été effectuées au premier trimestre.

Art. 3. – Si le dépistage combiné du premier trimestre, mentionné à l'article 1er, ou le dépistage séquentiel intégré du deuxième trimestre, mentionné à l'article 2, n'ont pu être réalisés, la femme enceinte est informée de la possibilité de recourir à un dépistage par les seuls marqueurs sériques du deuxième trimestre.

Art. 4. – Les analyses de biochimie portant sur les marqueurs sériques du premier trimestre sont effectuées avec des réactifs et produits réactifs marqués CE, y compris les matériaux associés d'étalonnage et de contrôle, spécifiquement destinés à l'évaluation du risque de trisomie 21.

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

Art. 5. – Les analyses de biochimie portant sur les marqueurs sériques du deuxième trimestre sont effectuées avec des réactifs et produits réactifs marqués CE, y compris les matériaux associés d'étalonnage et de contrôle, spécifiquement destinés à l'évaluation du risque de trisomie 21.

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

Art. 6. – Dans le cadre du dépistage combiné du premier trimestre, les mesures de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale sont effectuées préalablement aux analyses de biochimie portant sur les marqueurs sériques.

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

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

Art. 7. – Dans le cadre du dépistage combiné du premier trimestre, par dérogation aux dispositions des premier et troisième alinéas de l'article 6 et sans préjudice de son deuxième alinéa :

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

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

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

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

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

Art. 9. – Le dépistage séquentiel intégré du deuxième trimestre repose sur un calcul de risque effectué par un logiciel d'évaluation du risque marqué CE, spécifiquement adapté aux réactifs utilisés. Ce calcul de risque est réalisé par un praticien agréé pour effectuer les analyses mentionnées au 6° de l'article R. 2131-1.

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

Art. 10. – Lorsque le dépistage de la trisomie 21 conduit à la réalisation d'un prélèvement à visée diagnostique, la femme enceinte est associée au choix de la technique de ce prélèvement.

Art. 11. – Les professionnels concourant au dépistage et au diagnostic prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21 adhèrent à un réseau de périnatalité associé à un ou plusieurs centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal.

Art. 12. – Les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21 sont fixées en annexe du présent arrêté. Les professionnels concourant à ce dépistage ou à ce diagnostic sont soumis à l'ensemble de ces règles.

Art. 13. – L'arrêté du 27 mai 1997 fixant des conditions particulières d'évaluation et d'utilisation des réactifs de dosage des marqueurs sériques prédictifs de la trisomie 21 est abrogé.

Art. 14. – Le directeur général de la santé est chargé de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié au *Journal officiel* de la République française.

Fait à Paris, le 23 juin 2009.

ROSELYNE BACHELOT-NARQUIN

ANNEXE

RÈGLES DE BONNES PRATIQUES EN MATIÈRE DE DÉPISTAGE ET DE DIAGNOSTIC PRÉNATALS AVEC UTILISATION DES MARQUEURS SÉRIQUES MATERNELS DE LA TRISOMIE 21

Principes généraux :

La femme enceinte reçoit une information adaptée lui permettant de choisir librement de recourir ou non au dépistage et/ou au diagnostic prénatal. Elle peut révoquer à tout moment son consentement à la réalisation de ces examens.

On entend par :

– dépistage combiné du premier trimestre le dépistage prenant en compte les mesures de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale ainsi que le dosage des marqueurs sériques du 1er trimestre de la grossesse ;
– dépistage séquentiel intégré du deuxième trimestre le dépistage prenant en compte les mesures de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale effectuées au premier trimestre ainsi que le dosage des marqueurs sériques du deuxième trimestre de la grossesse.

La qualité de ces dépistages est conditionnée par la prise en compte de critères précis de mise en œuvre notamment en matière de mesures échographiques. A défaut, un calcul de risque prenant en compte les seuls marqueurs sériques du deuxième trimestre est proposé.

1. Information, demande et consentement de la femme enceinte en vue d'un dépistage prénatal avec utilisation des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21

Au cours d'une consultation médicale individuelle, la notion de dépistage est expliquée à la femme enceinte par comparaison avec celle de diagnostic. Une information claire est donnée sur la mesure de la clarté nucale.

Des entretiens ultérieurs peuvent être proposés avec, le cas échéant, désignation d'une personne ressource (sages-femmes, traducteurs...).

Toute prescription d'une analyse portant sur les marqueurs sériques maternels est précédée d'une information qui porte sur :

- le risque pour l'enfant à naître d'être atteint d'une maladie d'une particulière gravité, notamment la trisomie 21 ;
- l'analyse des marqueurs sériques maternels en précisant :
  - qu'un calcul de risque est effectué. Il prend notamment en compte les résultats de l'échographie prénatale du premier trimestre, lorsque ces résultats sont disponibles et que les critères de mise en œuvre en matière de mesures échographiques sont satisfaits ;
  - que le résultat est exprimé en risque pour l'enfant à naître d'être atteint de la maladie. Ce risque ne permet pas à lui seul d'établir le diagnostic de cette maladie ;
  - que le risque sera rendu et expliqué par le médecin prescripteur ou un autre praticien ayant l'expérience du dépistage prénatal, notamment de la trisomie 21 :
    - si le risque est faible, il n'écarte pas complètement la possibilité pour le fœtus d'être atteint de l'affection ;
    - si le risque est élevé, un prélèvement à visée diagnostique sera proposé à la femme enceinte. Seul le résultat du caryotype fœtal permettra de confirmer ou non l'existence de l'affection. Les risques, les contraintes et les éventuelles conséquences de chaque technique de prélèvement seront expliqués ;
  - que la réalisation d'un prélèvement sanguin au second trimestre peut s'avérer nécessaire (en cas d'impossibilité de réaliser le calcul de risque combiné du premier trimestre).

Après avoir demandé la réalisation de l'analyse portant sur les marqueurs sériques maternels, la femme enceinte exprime son consentement par écrit.

2. Examen échographique : mesures de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale

Les mesures de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale sont effectuées préalablement au dosage biochimique, sauf en cas de conclusion d'une convention mentionnée à l'article 7 du présent arrêté.

La fenêtre dans laquelle ces mesures doivent être effectuées se situe entre 11 semaines d'aménorrhée (SA) + 0 jour et 13 SA + 6 jours (soit de 45 mm à 84 mm de longueur cranio-caudale).

Les mesures de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale doivent :

- être rendues en millimètre et en dixième de millimètre ;
- faire l'objet d'un compte rendu :
  - indiquant le nom de l'échographiste ;
  - précisant le réseau de périnatalité auquel l'échographiste adhère et son identification au sein de ce réseau ;
  - daté et mentionnant la date de réalisation de l'échographie ;
  - signé par l'échographiste ;
  - effectué en autant d'exemplaires que nécessaire (pour éviter toute erreur de recopiage).

Le cas échéant, ces mesures et la date de l'échographie pourront être directement portées dans un système informatisé de recueil commun.

S'il n'est pas possible d'obtenir une image satisfaisante, la mesure de la clarté nucale n'est pas rendue par l'échographiste.

Dans un but d'amélioration des pratiques, le contrôle de qualité des mesures de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale, prises en compte dans le calcul de risque, repose sur :

- l'adhésion des échographistes à un programme d'assurance qualité portant sur la mesure de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale, dans le cadre de l'évaluation des pratiques professionnelles ;
- la production d'images documentant la qualité des mesures ; deux clichés explicites figurent dans le dossier médical et permettent de juger :
  - de la qualité du plan sagittal, de la position des curseurs, de l'agrandissement pour le cliché de la clarté nucale ;
  - de la qualité du cliché de la longueur cranio-caudale.

  Le respect de ces critères relève de la responsabilité de l'échographiste ;
- un suivi des médianes et de la distribution des mesures de la clarté nucale ;
- l'adhésion des échographistes à un réseau de périnatalité associé à un ou plusieurs CPDPN.

Les appareils échographiques doivent satisfaire aux conditions suivantes :

- existence d'un registre de maintenance tenu à jour. Ce registre consigne toutes les opérations de maintenance réalisées sur l'appareil échographique ; maintenance que l'exploitant assure lui-même ou qu'il fait assurer ;
- présence d'un ciné-loop d'au moins 200 images ;
- deux sondes, dont une sonde endo-vaginale ;
- présence d'un zoom non dégradant ;
- possibilité de mesures au dixième de millimètre.

Les médecins spécialistes en gynécologie-obstétrique ou en imagerie médicale et les sages-femmes, ayant débuté l'exercice de l'échographie obstétricale à partir des années 1994-1995, doivent être titulaires du diplôme interuniversitaire d'échographie en gynécologie-obstétrique ou de l'attestation en échographie obstétricale pour les sages-femmes. Les médecins généralistes et les autres médecins spécialistes doivent avoir validé le DIU d'échographie générale ainsi que son module optionnel de gynécologie-obstétrique.

3. **Prélèvement sanguin et dosages biochimiques (marqueurs sériques maternels au premier trimestre ou par défaut au second trimestre)**

3.1. *Phase préanalytique*

Le prélèvement sanguin doit être fait :
- pour le premier trimestre, entre 11 SA + 0 jours et 13 SA + 6 jours ;
- pour le deuxième trimestre, entre 14 SA + 0 jours et 17 SA + 6 jours.

Les documents nécessaires à la réalisation du prélèvement sont :
- une prescription médicale qui doit comporter :
  - l'identification et la signature du prescripteur ;
  - le nom et le prénom de la femme ;
  - sa date de naissance ;
  - les autres éléments indispensables au calcul de risque (poids, tabagisme, gémellité en particulier) ;
- le formulaire type signé attestant de l'information délivrée à la femme enceinte et de son consentement ;
- la date de l'échographie et le compte rendu des mesures de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale, sauf en cas de conclusion d'une convention mentionnée à l'article 7 du présent arrêté. L'identification de l'échographiste au sein d'un réseau de périnatalité figure sur ce compte rendu.

3.2. *Phase analytique*

Sont déterminées par des réactifs marqués CE dédiés au dépistage de la trisomie 21 et suivant le trimestre de dépistage :
- les concentrations d'au moins deux marqueurs sériques dont la PAPP-A et la sous-unité ß libre de l'hCG pour le premier trimestre ;
- les concentrations d'au moins deux marqueurs dont l'hCG totale ou sa sous-unité β libre et l'AFP ou l'œstriol non conjugué pour le deuxième trimestre.

L'expression du dosage de chacun des marqueurs est réalisée, en multiple de la médiane ou en degré d'extrême, par un logiciel marqué CE, spécifiquement adapté aux réactifs utilisés.

4. **Calcul de risque et rendu du résultat**

4.1. *Calcul de risque*

Dans le cadre du dépistage combiné du premier trimestre :
- le calcul de risque est réalisé en un seul temps et nécessite un dossier complet détaillant les paramètres pris en compte (âge maternel, données échographiques et données biochimiques au minimum) ;
- les mesures de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale sont effectuées préalablement aux analyses de biochimie portant sur les marqueurs sériques ;
- le calcul de risque est effectué par un logiciel d'évaluation du risque marqué CE, spécifiquement adapté aux réactifs utilisés ;
- le calcul de risque est réalisé par un praticien agréé pour effectuer les analyses mentionnées au 6° de l'article R. 2131-1.

Par dérogation à l'alinéa précédent et sous réserve de la conclusion d'une convention mentionnée à l'article 7 et de l'utilisation d'un logiciel d'évaluation du risque marqué CE, spécifiquement adapté aux réactifs utilisés :
- les mesures de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale peuvent être effectuées postérieurement aux analyses de biochimie portant sur les marqueurs sériques ;
- le calcul de risque peut être effectué par les praticiens mesurant la clarté nucale.

Le calcul de risque combiné du 1er trimestre n'est pas réalisé dans les cas suivants :
- une, *a fortiori* plusieurs données sont manquantes ;
- doute sur la qualité d'au moins une des données ;
- impossibilité technique d'obtenir une mesure adéquate de la clarté nucale ou de la longueur cranio-caudale ;
- absence d'identification de l'échographiste au sein d'un réseau de périnatalité.

Le médecin prescripteur est alors informé de l'impossibilité d'effectuer le calcul de risque combiné du premier trimestre. Dans ce cas, il propose à la femme enceinte :

- un dépistage séquentiel intégré du deuxième trimestre lorsque les mesures de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale sont disponibles :
  - le calcul de risque est réalisé en un seul temps et nécessite un dossier complet détaillant les paramètres pris en compte (âge maternel, données échographiques et données biochimiques au minimum) ;
  - lorsque le calcul de risque est effectué par le biologiste, il utilise un logiciel d'évaluation du risque marqué CE, spécifiquement adapté aux réactifs utilisés ;
  - lorsque le calcul de risque global est effectué par le praticien mesurant la clarté nucale ou par le praticien membre d'un centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal, il résulte de la multiplication du rapport de vraisemblance de la clarté nucale, établi à partir d'une publication scientifique référencée, et du risque effectué à partir des seuls marqueurs sériques du deuxième trimestre ;
- un dépistage avec les seuls marqueurs du deuxième trimestre lorsque les mesures de la clarté nucale et de la longueur cranio-caudale ne sont pas disponibles ou qu'elles ne peuvent être prises en compte (notamment absence d'identification de l'échographiste au sein d'un réseau de périnatalité) :
  - ce dépistage repose sur un calcul de risque effectué par un logiciel d'évaluation du risque marqué CE, spécifiquement adapté aux réactifs utilisés ou un logiciel d'évaluation du risque mis sur le marché avant le 8 décembre 2003 et mis en service avant le 8 décembre 2005, spécifiquement adapté aux réactifs utilisés.
  - le calcul de risque est réalisé par un praticien agréé pour effectuer les analyses mentionnées au 6° de l'article R. 2131-1.

Il est proposé à la femme enceinte de faire une démarche diagnostique dès lors que son risque d'avoir un enfant atteint de trisomie 21 s'avère, après calcul, supérieur à 1/250 au moment du prélèvement.

4.2. *Rendu des résultats*

Le résultat du calcul de risque, rendu à la femme enceinte, doit être clairement formalisé et séparé des éléments de calcul. Il doit spécifier les éléments pris en compte et comporter un commentaire des résultats.

Le compte rendu du résultat est adressé au médecin prescripteur et à celui ayant mesuré la clarté nucale ; il précise :

- les renseignements cliniques et, le cas échéant, échographiques utilisés pour le calcul de risque ;
- les résultats des dosages des marqueurs sériques effectués (en concentration et en multiple de la médiane ou en degré d'extrême) ainsi que le nom commercial des réactifs et logiciels utilisés ;
- le calcul de risque ainsi que le nom commercial du logiciel de calcul de risque ou la référence de la publication scientifique utilisés.

Le commentaire du calcul de risque et les limites à ce calcul sont clairement explicités notamment si les valeurs des marqueurs sont au-delà des bornages du logiciel utilisé.

4.3 *Suivi*

Les praticiens agréés pour effectuer les analyses mentionnées au 6° de l'article R. 2131-1 doivent être en mesure de fournir :

- le pourcentage de femmes considérées à risque (risque supérieur à 1/250) au sein de l'ensemble des femmes pour lesquelles le calcul a été réalisé ;
- la structure d'âge de la population testée ;
- la valeur prédictive positive du test pour la trisomie 21 (proportion de femmes porteuses d'un fœtus atteint de trisomie 21 parmi l'ensemble des femmes considérées comme à risque) ;
- les médianes et la distribution de chacun des marqueurs biochimiques ;
- les médianes et la distribution de la clarté nucale, par opérateur(désigné par son identifiant) ;
- le suivi des issues de grossesse y compris le taux de « perdues de vue ».

A cet effet, une procédure de transmission des données entre l'ensemble des professionnels concernés est établie par le ou les réseaux de périnatalité.

4.4. *Conservation des échantillons et documents*

L'attestation d'information et le consentement de la femme enceinte, la prescription et les données ayant permis le calcul de risque sont conservés pendant cinq ans par le laboratoire.

Les sérums sont conservés congelés à – 20 °C pendant un an après la date du prélèvement.

5. **Information, demande, consentement de la femme enceinte et conditions de réalisation des analyses en vue d'établir un diagnostic prénatal *in utero***

Toute prescription d'une ou plusieurs analyses en vue d'établir un diagnostic prénatal *in utero* est précédée d'une information qui porte sur :

- le risque pour l'enfant à naître d'être atteint d'une affection d'une particulière gravité ;

- les caractéristiques de cette affection ;
- les moyens d'en faire le diagnostic ;
- les possibilités thérapeutiques ;
- les analyses biologiques proposées en vue d'établir un diagnostic prénatal *in utero :*
  - le recours à un prélèvement *in utero* est nécessaire pour réaliser ces analyses ;
  - les risques, les contraintes et les éventuelles conséquences de chaque technique de prélèvement sont expliqués ;
  - en cas de mise en culture de cellules fœtales et d'échec de celle-ci, un deuxième prélèvement peut être effectué ;
  - l'analyse peut révéler d'autres affections que celle recherchée ;
  - le résultat de l'examen sera rendu et expliqué par le médecin prescripteur.

Après avoir demandé la réalisation du prélèvement et des analyses envue d'établir un diagnostic prénatal *in utero,* la femme enceinte exprime son consentement par écrit.

Le laboratoire de cytogénétique est tenu :

- de mettre en œuvre une technique diagnostique dont il a la maîtrise et pour laquelle il peut rendre compte d'une démarche qualité ;
- d'organiser un contrôle de qualité interne et de participer à un contrôle externe le cas échéant ;
- de mettre à la disposition des différents acteurs du dépistage (biochimistes, échographistes, prescripteurs) les résultats du caryotype fœtal ;
- d'assurer le recueil des issues de grossesse.

Le résultat est rendu selon les critères de bonnes pratiques professionnelles de cytogénétique (guide de bonnes pratiques en cytogénétique prénatale proposé par l'Association des cytogénéticiens de langue française).

6. **Organisation et accès aux soins**

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

Conformément à la circulaire du 30 mars 2006 relative au cahier des charges national des réseaux de santé en périnatalité, ces derniers organisent la coordination et les relais nécessaires entre tous les acteurs à tous les stades de suivi et de prise en charge de la femme enceinte. Leur champ d'intervention couvre l'amont et l'aval de la prise en charge à la naissance incluant le suivi de toute grossesse normale ou pathologique.

Les réseaux de périnatalité ont naturellement vocation à coordonner l'ensemble des professionnels concourant au dépistage prénatal, et notamment les échographistes effectuant des mesures de clarté nucale et les biologistes agréés pour effectuer les analyses mentionnées au 6° de l'article R. 2131-1.

Les centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal ont notamment pour mission de constituer un pôle de compétences cliniques et biologiques au service des patients et des praticiens (article R. 2131-10-1). A ce titre, ils s'associent à un ou plusieurs réseaux de périnatalité dont ils constituent la référence en matière d'expertise.

L'adhésion des échographistes mentionnés au troisième alinéa à un réseau de périnatalité est conditionnée à leur engagement à respecter les critères de qualité mentionnés au point 2 de la présente annexe. Le réseau de périnatalité délivre alors un identifiant unique à chaque échographiste adhérant au réseau. Cet identifiant permet notamment au biologiste de prendre en compte les mesures échographiques dans le calcul de risque.

Annexe 2 : Arrêté du 23 juin (texte 24/81)

Décrets, arrêtés, circulaires

TEXTES GÉNÉRAUX

MINISTÈRE DE LA SANTÉ ET DES SPORTS

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

NOR : *SASP0907163A*

La ministre de la santé et des sports,

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

Vu l'avis de la directrice générale de l'Agence de la biomédecine en date du 20 février 2009,

Arrête :

Art. 1er. – Lors de la consultation médicale prévue à l'article R. 2131-2 du code de la santé publique, toute prescription d'une analyse portant sur les marqueurs sériques maternels mentionnés au 6° de l'article R. 2131-1 du même code est précédée d'une information délivrée à la femme enceinte en application du 2° de l'article R. 2131-2 précité. Après avoir demandé la réalisation de cette analyse, la femme enceinte exprime son consentement par écrit. Un formulaire type figurant en annexe I du présent arrêté atteste de l'information délivrée à la femme enceinte et de son consentement.

Art. 2. – Lors de la consultation médicale prévue à l'article R. 2131-2 du code de la santé publique, toute prescription d'une ou plusieurs analyses, énumérées à l'article R. 2131-1 du même code, en vue d'établir un diagnostic prénatal *in utero*, est précédée d'une information délivrée à la femme enceinte en application du 2° de l'article R. 2131-2 précité. Après avoir demandé la réalisation d'un prélèvement et d'une ou plusieurs de ces analyses, la femme enceinte exprime son consentement par écrit. Un formulaire type figurant en annexe II du présent arrêté atteste de l'information délivrée à la femme enceinte et de son consentement.

Art. 3. – L'arrêté du 30 septembre 1997 modifié relatif au consentement de la femme enceinte à la réalisation des analyses mentionnées à l'article R. 2131-1 du code de la santé publique est abrogé.

Art. 4. – Le directeur général de la santé est chargé de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié au *Journal officiel* de la République française.

Fait à Paris, le 23 juin 2009.

ROSELYNE BACHELOT-NARQUIN

ANNEXE I

INFORMATION, DEMANDE ET CONSENTEMENT DE LA FEMME ENCEINTE À LA RÉALISATION D'UNE ANALYSE PORTANT SUR LES MARQUEURS SÉRIQUES MATERNELS (EN RÉFÉRENCE À L'ARTICLE R. 2131-1 [6°] DU CODE DE LA SANTÉ PUBLIQUE)

Je soussignée .....
atteste avoir reçu du docteur ..... au cours d'une consultation médicale :

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

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

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

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

– le résultat du calcul de risque me sera rendu et expliqué par le médecin prescripteur ou un autre praticien ayant l'expérience du dépistage prénatal, notamment de la trisomie 21 :
  – si le risque est faible, il n'écarte pas complètement la possibilité pour le fœtus d'être atteint de l'affection ;
  – si le risque est élevé, un prélèvement (de liquide amniotique, de villosités choriales ou de sang fœtal) me sera proposé. Seul le résultat du caryotype fœtal permettra de confirmer ou non l'existence de l'affection. Les risques, les contraintes et les éventuelles conséquences de chaque technique de prélèvement me seront expliqués,

consens au prélèvement de sang ainsi qu'au dosage des marqueurs sériques.

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

.....

.....

.....

Le docteur ..... conserve l'original du présent document.

Une copie de ce document m'est remise ainsi qu'au praticien devant effectuer les analyses.

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

Date : .....

Signature du praticien *Signature de l'intéressée*

ANNEXE II

INFORMATION ET CONSENTEMENT DE LA FEMME ENCEINTE À LA RÉALISATION DU PRÉLÈVEMENT ET D'UNE OU DE PLUSIEURS ANALYSES EN VUE D'UN DIAGNOSTIC PRÉNATAL *IN UTERO* (EN RÉFÉRENCE AUX ARTICLES R. 2131-1 ET R. 2131-2 DU CODE DE LA SANTÉ PUBLIQUE)

Je soussignée .....

atteste avoir reçu du docteur .....

au cours d'une consultation médicale :

1° Des informations relatives :

– au risque pour l'enfant à naître d'être atteint d'une affection d'une particulière gravité ;
– aux caractéristiques de cette affection ;
– aux moyens de la diagnostiquer ;
– aux possibilités thérapeutiques.

2° Des informations sur les analyses biologiques qui m'ont été proposées en vue d'établir un diagnostic prénatal *in utero :*

– sur les risques, les contraintes et les éventuelles conséquences de chaque technique de prélèvement de liquide amniotique, de villosités choriales ou de sang fœtal, nécessaire pour réaliser ces analyses ;
– sur la nécessité d'un deuxième prélèvement en cas de mise en culture de cellules fœtales et d'échec de celle-ci (1) ;
– sur le fait que l'analyse peut révéler d'autres affections que celle recherchée dans mon cas ;
– sur le fait que le résultat de l'examen me sera rendu et expliqué par le médecin qui me l'a prescrit,

consens au prélèvement de (2) : .....

ainsi qu'à l'analyse ou aux analyses de (3) :

.....

.....

.....

.....

..... pour laquelle ou lesquelles ce prélèvement est effectué.

Cette (ou ces) analyse(s) sera(seront) réalisée(s) dans un établissement public de santé ou un laboratoire d'analyses de biologie médicale autorisé à les pratiquer :

.....

.....

.....

.....

Le docteur ..... conserve l'original du présent document.

Une copie de ce document m'est remise ainsi qu'au praticien devant effectuer les analyses.

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

Date : .....

Signature du praticien *Signature de l'intéressée*

---

(1) Ce deuxième prélèvement requiert un nouveau consentement.

(2) Précisez le type de prélèvements :
- liquide amniotique ;
- villosités choriales ;
- sang fœtal.

(3) Précisez le type d'analyses :
- cytogénétique, y compris cytogénétique moléculaire ;
- génétique moléculaire ;
- en vue du diagnostic de maladies infectieuses (incluant les analyses de biologie moléculaire) ;
- biochimie hors marqueurs sériques maternels ;
- hématologie (incluant les analyses de biologie moléculaire) ;
- immunologie (incluant les analyses de biologie moléculaire).

Annexe 3 : Exemple de compte rendu de résultat de dépistage réalisé à la MRU

MATERNITE REGIONALE DE NANCY
10, rue du Docteur Heydenreich
CS 74213 - 54042 NANCY Cédex
Tél: 03 83 34 44 45

SERVICE DE BIOLOGIE MEDICALE
U.F. de BioImmunoChimie-Hématologie
P.Franck H.Legagneur A.Sindt V.Watrin

Prescripteur :
UF : 3041// LABO BIOLOGIE MEDICALE
Double à :
Date Prélèvement : 09/04/2010 à : 13:36
Enregistré le : 25/10/2010 à : 13:37
Préleveur :
Dossier N° : **2101025-0258 ***
IPUM : 5101642193 NE : 100297654

Mm
Née
Né(e) le

ESTIMATION DU RISQUE DE TRISOMIE 21

Dépistage combiné T21- Premier trimestre

Renseignements cliniques

Poids de la mère	**42.80**	kg
Fumeuse	**Oui**	
Diabète	Non précisé	
Apport en folates	Non précisé	
Origine géographique	Non précisé	
Nombre de foetus	1	
FIV	Non précisé	
ATCD T21	Non précisé	
ATCD Non Fermeture Tube Neural	Non précisé	

Date de prélèvement	09/04/2010
Date des dernières règles	01/12/2009
Date de début de grossesse	03/02/2010

Données échographique

Nom Echographiste		
Identifiant réseau périnatalité	54(	
Date échographie	12/(	
Longueur cranio caudale		
Clarté nucale	1.2	mm

Résultats des marqueurs biochimiques

(Analyseur & réactifs: Immulite 2000; Siemens Healthcare diagnostic)

PAPP-A	1.940	mUI/ml
beta HCG libre	45.90	ng/ml

CALCUL DU RISQUE COMBINE (Premier trimestre)

(Logiciel Prisca 4-023; Siemens Healthcare Diagnostic)

Age gestationnel à la date du prélèvement	11.4	SA.jour
Clarté nucale	0.8	MoMc
PAPP-A	0.62	MoMc
bHCG libre	0.87	MoMc
Risque combiné pour la trisomie 21		**1/15779**

Commentaire:
Un risque de Trisomie 21 inférieur à 1/250 (ex:1/500) n'exclut pas totalement la survenue d'une grossesse affectée. Il signifie que la patiente appartient à un groupe à faible risque.

P.Franck [PF] H.Legagneur [HL] A.Sindt [AS] V.Watrin [VW] Interne [IN]
Dernier Feuillet

Annexe 4 : Paramètres de calcul pour le dépistage de la trisomie 21 (logiciel Prisca 4.0 ® (Siemens))

SIEMENS

LOGICIEL PRISCA 4.0 DE SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS / TYPOLOG SOFTWARE INFORMATIONS TECHNIQUES SUR LE CALCUL DE RISQUE DE TRISOMIE 21 FŒTALE AU PREMIER ET AU DEUXIEME TRIMESTRE DE LA GROSSESSE

Introduction

Ce document est destiné à apporter des informations sur les paramètres de calcul utilisés par le logiciel PRISCA 4.0 en France dans le cadre du dépistage prénatal de la trisomie 21 au premier et au deuxième trimestre de la grossesse. Ceci concerne le dépistage pour les grossesses monofœtales et gémellaires.

Ce document a été élaboré à partir des informations fournies par TYPOLOG Software dont le document de marquage CE « Statistical Guidelines for Prenatal Risk Calculation » de 2004, ainsi que l'arrêté du 23/06/2009.

I - Paramètres de calcul pour le dépistage prénatal au premier trimestre de la grossesse

Les paramètres utilisés concernent :

- ceux liés aux marqueurs sériques maternels, PAPP-A et βhCG libre
- ceux liés à l'échographie pour la datation de la grossesse et la mesure de la clarté nucale du fœtus

1) Marqueurs sériques maternels du premier trimestre de la grossesse

Marqueur sérique maternel	PAPP-A (mUI/ml)	βhCG libre (ng/ml)
Facteurs de régression exponentielle pour les systèmes IMMULITE 2000	a = -4,601634524 (1) b = 0,062004604 (1)	a = 6,067460901 (2) b = -0,027716447 (2)
Facteurs correctifs pour le poids maternel (3) MoM corrigé =1/(a+b/[poids en kg]) x MoM brut	a = -0,19119 b = 74,646	a = 0,67272 b = 19,654
Facteurs correctifs pour le tabagisme actif (4) MoM corrigé =(1/K) x MoM brut	K = 0,85	K = 1
Facteurs correctifs pour la gémellité (5) MoM corrigé =(1/K) x MoM brut	K = 1,86	K = 2,165
Limites de MoM (6)	0,1 – 10	0,1 – 10
Limites de l'âge gestationnel en jours (SA+jours) (7)	77 (11+0) – 97 (13+6)	77 (11+0) – 97 (13+6)

Sources :

(1) : étude statistique Shared Database Octobre 2005 – Mars 2006 pour les utilisateurs de la Belgique
(2) : IMMULITE 2000/2500 Technical Bulletin # 2294/2283 (juin 2007)
(3) : De Graaf: Early Pregnancy Screening for fetal aneuploidy with serum markers and nuchal translucency. Prenatal Diagnosis 19: 458-462 (1999)
(4) : Spencer et al.: The influence of smoking on PAPP-A and Fr.ßHCG levels in 1st trimester. Pren.Diag.19:1065 (1999)
(5) : Spencer et al. Down's syndrome screening in multiple pregnancies using alpha-fetoprotein and free beta hCG. Prenatal Diagnosis;14:537–42 (1994)
(6) : concerne la version 4.0.23 spécifique France / étude de TYPOLOG Software de novembre 2008
(7) : Arrêté du 23/06/2009 paru au JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE FRANÇAISE le 3 juillet 2009

2) Données échographiques du premier trimestre de la grossesse

Paramètre	Formule / Limites
Calcul de l'âge gestationnel (AG) à partir de la longueur cranio-caudale (LCC) en mm (1)	AG = 8,052 √LCC + 23,73
Limites de LCC (en mm) (2)	45 – 84 mm
Médianes (med) de clarté nucale (CN) (3)	Log_{10} medCN = -0,3599 + 0,0127 x LCC - 0,000058 x LCC^2
Limites de CN (en mm)	0,1 (0,78 MoM) – 6 mm
Calcul de l'âge gestationnel (AG) à partir du diamètre bipariétal (BIP) en mm (4)	AG = 9,54 + 1,482 x BIP + 0,1676 x BIP^2
Limites de BIP (en mm) (4)	26 – 56 mm

Sources :

(1) : Robinson & Fleming: A critical evaluation of sonar crown rump length, British J. of Obstetrics and Gyn. 82:702 (1975)
(2) : Arrêté du 23/06/2009 paru au JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE FRANÇAISE le 3 juillet 2009
(3) : Nicolaides et.al.: Correct estimation of parameters for ultrasound nuchal translucency screening, Prenatal Diagnosis, 18: 511-523 (1998)
(4) : Hadlock et.al.: Berechnung des Schwangerschaftsalters. Computerunterstützte Analyse verschiedener Wachstumsparameter. Radiology 1984. 152:497

SIEMENS

II - Paramètres de calcul pour le dépistage prénatal au deuxième trimestre de la grossesse

Les paramètres utilisés sont :

- ceux liés aux marqueurs sériques maternels, hCG totale ou βhCG libre, AFP et/ou Œstriol libre
- ceux liés à l'échographie pour la datation de la grossesse et la mesure de la clarté nucale du fœtus

1) Marqueurs sériques maternels du deuxième trimestre de la grossesse

Marqueur sérique maternel	AFP (UI/ml)	hCG totale (mUI/ml)	βhCG libre (ng/ml)	Œstriol libre (ng/ml)
Facteurs de régression exponentielle pour les systèmes IMMULITE 2000	a = 0,866689636 [1] b = 0,022500669 [1]	a = 13,66697143 [2] b = -0,030283693 [2]	a = 6,255743268 [3] b = -0,03242393 [3]	a = -11,32530609 [4] b = 0,123508059 [4]
Facteurs correctifs pour le poids maternel [5] MoM corrigé =1/(a+b/[poids en kg]) x MoM brut	a = 0,28152 b = 48,38095	a = 0,41667 b = 39,21723	a = 0,67272 b = 19,654	a = 0,73482 b = 17,78367
Facteurs correctifs pour le tabagisme actif [6] MoM corrigé =(1/K) x MoM brut	K = 1,03	K = 0,785	K = 1	K = 0,97
Facteurs correctifs pour la gémellité [7] MoM corrigé =(1/K) x MoM brut	K = 2,13	K = 1,84	K = 2,165	K = 1,67
Limites de MoM [8]	0,1 – 10	0,1 – 10	0,1 – 10	0,1 [8] – 1,53 [9]
Limites de l'âge gestationnel en jours (SA+jours) [10]	98 (14+0) – 125 (17+6)	98 (14+0) – 125 (17+6)	98 (14+0) – 125 (17+6)	98 (14+0) – 125 (17+6)

Sources :

[1] : étude multicentrique SIEMENS / IMMULITE 2000/2500 Info Bulletin # 2008-07-24 (juillet 2008)
[2] : étude statistique TYPOLOG 2006 à partir des bases du laboratoire Synerbio et de l'hôpital Cochin, France
[3] : étude multicentrique SIEMENS / IMMULITE 2000/2500 Technical Bulletin # 2294/2283 (juin 2007)
[4] : étude statistique Shared Database 01/01/2008 – 31/01/2009 pour les utilisateurs de la Belgique
[5] : Neveux, et al. Refinements in managing maternal weight adjustment for interpreting prenatal screening results. Prenatal Diagnosis 16:1115–9 (1996)
[6] : Palomaki, et al. Cigarette smoking and levels of maternal serum alpha-fetoprotein, unconjugated estriol, and hCG: impact on down syndrome screening. Obstet Gynecol 1993:81(5 Pt 1)
[7] Wald, et al. Maternal serum unconjugated oestriol and human chorionic gonadotrophin levels in twin pregnancies: implications for screening for Down's syndrome. Br J Obstet Gynaecol 1991;98:905–908
[8] : concerne la version 4.0.23 spécifique France / étude de TYPOLOG Software de novembre 2008
[9] : Cuckle et.al. : Improved Parameters for Risk Estimation in Down's syndrome Screening, Prenatal Diagnosis, Vol. 15, 1057-1065 (1995).
[10] : Arrêté du 23/06/2009 paru au JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE FRANÇAISE le 3 juillet 2009

2) Données échographiques du premier trimestre de la grossesse pour le dépistage séquentiel intégré au deuxième trimestre

Paramètre	Formule / Limites / Configuration
Calcul de l'âge gestationnel (AG) à partir de la longueur cranio-caudale (LCC) en mm [1]	$AG = 8{,}052 \sqrt{LCC} + 23{,}73$
Limites de LCC (en mm) [2]	38 – 84 mm
Médianes (med) de clarté nucale (CN) [3]	$\log_{10} medCN = -0{,}3599 + 0{,}0127 \times LCC - 0{,}000058 \times LCC^2$
Limites de CN (en mm)	0,1 (0,78 MoM) – 6 mm
Calcul de l'âge gestationnel (AG) à partir du diamètre bipariétal (BIP) en mm [4]	$AG = 9{,}54 + 1{,}482 \times BIP + 0{,}1676 \times BIP^2$
Limites de BIP (en mm) [4]	26 – 56 mm
Intégration de la CN au 2ème trimestre [5]	PRISCA4 → AFP + hCG libre ou totale + oestriol libre + CN PRISCA5 → AFP + hCG libre ou totale (+ oestriol libre) + CN

Sources :

[1] : Robinson & Fleming, British J. of Obstetrics and Gyn. 82:702 (1975)
[2] : Arrêté du 23/06/2009 paru au JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE FRANÇAISE le 3 juillet 2009
[3] : Nicolaides et.al., Prenatal Diagnosis, 18: 511-523 (1998)
[4] : Hadlock et.al., Radiology 1984. 152:497
[5] : Cuckle, et al. Calculating correct Down's syndrome risks. British J Obstet Gynecol ;106:371–2, 1999

Annexe 5 : Exemple de prescription du dépistage de la trisomie 21 à la MRU

Maternité Régionale de Nancy

MATERNITÉ RÉGIONALE UNIVERSITAIRE DE NANCY
Pôle de Gynécologie - Obstétrique et Reproduction

Nancy, le : .....

Identité de la patiente

.....

.....

ou ÉTIQUETTE PATIENTE

Dosage des marqueurs sériques de la trisomie 21

En vue de l'évaluation du

☐ **Risque combiné** au 1er trimestre (entre 11SA + O jour et 13 SA + 6 jours)
(sur grossesse monofoetale uniquement)

☐ **Risque séquentiel intégré** au 2ème trimestre (entre 14 SA + 0 jour et 17 SA + 6 jours)

☐ **Risque marqueurs sériques** 2ème trimestre (entre 14 SA + 0 jour et 17 SA + 6 jours)

Identification du prescripteur : .....

Signature du prescripteur :

Imprimerie HENRI - Nancy - 3821870

Code FINESS : 54 00000 31
10, rue du Docteur Heydenreich - CS 74213 - 54042 NANCY Cedex - Tél. : 03.83.34.44.44. - Télécopie: 03.83.34.44.10

Maternité Régionale de Nancy

Etiquette patiente

Estimation du risque de Trisomie 21

Consentement et signature de la patiente

Je soussignée, ...

☐ **atteste avoir reçu du Docteur** .....

au cours d'une consultation médicale :

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

2° des informations sur l'analyse des marqueurs sériques maternels qui m'a été proposée :
- un calcul de risque est effectué ; il prend notamment en compte les résultats de l'échographie prénatale du premier trimestre, lorsque ces résultats sont disponibles et que les mesures échographiques sont estimées fiables ;

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

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

  - si le risque est faible, il n'écarte pas complétement la possibilité pour le foetus d'être atteint de l'affection ;

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

☐ **consens au prélèvement de sang ainsi qu'au dosage des marqueurs sériques.**

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

L'original du présent document est conservé dans mon dossier médical.

Une copie de ce document m'est remise ainsi qu'au praticien devant effectuer les analyses.

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

☐ **je refuse le prélèvement sanguin en vue du dépistage de la Trisomie 21.**

Date : .....

Signature de l'interressée *Signature du praticien*

Imprimerie HERDIER - Nancy - 3821670

LBM. 202.SE.005
Version 3 mars 2010

EXEMPLAIRE DOSSIER PATIENT

10, rue du Docteur Heydenreich - CS 74213 - 54042 NANCY Cedex - Tél. 03 83 34 44 44 - Télécopie 03 83 34 44 10

MATERNITÉ RÉGIONALE UNIVERSITAIRE DE NANCY

10, rue du Docteur Heydenreich - CS 74213 - 54042 NANCY Cedex - Tél. : 03.83.34.44.44. - Télécopie : 03.83.34.44.10.

Laboratoire de Biologie Médicale

Biologistes agréés : P. FRANCK - H. LEGAGNEUR - V. WATRIN

Dosage des marqueurs sériques dans le sang maternel pour l'estimation du risque de Trisomie 21

IMPORTANT : Joindre obligatoirement le compte-rendu d'échographie du 1er trimestre

Nom et prénom de la patiente (ou étiquette)

.....

Nom de jeune fille : .....

Date de naissance ...../...../.....

Adresse

.....

.....

Nom et adresse de la caisse C.P.A.M.

.....

.....

N° Sécurité Sociale de l'assuré

|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|

Date de prélèvement	...../...../.....
Date des dernières règles	...../...../.....
Date de conception	...../...../.....
Confirmé par échographie	oui non
Date de l'échographie	...../...../.....
Nombre de foetus	☐ 1 ☐ 2 ☐ Autre
	☐ Monochoriale
	☐ Bichoriale
FIV	☐ oui ☐ non
Poids de la patiente	..... kg
Fumeuse	☐ oui ☐ non
Diabétique	☐ oui ☐ non
Apports en folates	☐ oui ☐ non
Antécédents personnel de :	
Trisomie	☐ oui ☐ non
Non fermeture du tube Neural	☐ oui ☐ non
Origine ethnique	☐ CAUCASIEN
	☐ AFRICAIN
	☐ ASIE
	☐ ANTILLES
	☐ AUTRE : .....

Consentement et signature de la patiente

Je soussignée,.....

atteste avoir reçu du Docteur .....

au cours d'une consultation médicale :

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

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

- un calcul de risque est effectué ; il prend notamment en compte les résultats de l'échographie prénatale du premier trimestre, lorsque ces résultats sont disponibles et que les mesures échographiques sont estimées fiables ;
- le résultat est exprimé en risque pour l'enfant à naître d'être atteint de la maladie. Ce risque ne permet pas à lui seul détablir le diagnostic de cette maladie ;
- le résultat du calcul de risque me sera rendu et expliqué par le médecin prescripteur ou un autre praticien ayant l'expérience du dépistage prénatal, notamment de la Trisomie 21 ;
  - si le risque est faible, il n'écarte pas complétement la possibilité pour le foetus d'être atteint de l'affection ;
  - si le risque est élevé, un prélèvement (de liquide amniotique, de villosités choriales ou de sang foetal) me sera proposé. Seul le résultat du caryotype foetal permettra de confirmer ou non l'existence de l'affection. Les risques, les contraintes et les éventuelles conséquences de chaque technique de prélèvement me seront expliqués.

consens au prélèvement de sang ainsi qu'au dosage des marqueurs sériques.

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

L'original du présent document est conservé dans mon dossier médical.

Une copie de ce document m'est remise ainsi qu'au praticien devant effectuer les analyses.

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

Date :.....

Signature de l'intéressée *Signature du praticien*

Imprimerie HERDIER - Nancy - 3821670

Exemplaire laboratoire

L.B.M. 202. SE.002 - Version 4

FACULTE DE PHARMACIE UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY 1

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : Lundi 7 Novembre 2011

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE présenté par Melle Céline ROUISON Sujet : Dépistage combiné de la Trisomie 21 au premier trimestre de grossesse : Evaluation des résultats de la première année de mise en place de la nouvelle démarche Jury : Président : Pr Brigitte LEININGER, Professeur de biochimie Juges : Pr Jean Luc OLIVIER, Professeur de biochimie Directeur : Dr Patricia FRANCK, Biologiste Juges : Dr Jeanne FRESSON, Pédiatre Dr Alain MITON, Gynéco-obstétricien	Vu, Nancy, le 05 octobre 2011 Le Président du Jury — Le Directeur de Thèse **Mme Pr. Leininger** — **Mme Dr P. Franck**
Vu et approuvé, Nancy, le 14.10.2011 Doyen de la Faculté de Pharmacie de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1, *Francine PAULUS*	Vu, Nancy, le 21.10.2011 Le Président de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1, *Jean-Pierre FINANCE* N° d'enregistrement : 3810.

N° d'identification :

TITRE

Dépistage combiné de la trisomie 21 au premier trimestre de la grossesse :

Evaluation des résultats de la première année de mise en place de la nouvelle démarche

Thèse soutenue le lundi 7 novembre 2011

Par Céline ROUISON

RESUME :

Depuis la parution au Journal Officiel de la République Française en juin 2009, le dépistage de la trisomie 21 devient possible dès le premier trimestre de la grossesse. Le dépistage est réalisable entre 11 et 13 SA et 6 jours. Le calcul de risque est basé sur le risque lié à l'âge maternel, le mesure de la clarté nucale (CN) et le dosage des marqueurs sériques du premier trimestre (β hCG et PAPP-A). Le dépistage au second trimestre reste possible entre 14 et 17 SA et 6 jours. Le calcul de risque repose sur le risque lié à l'âge maternel et le dosage des marqueurs du second trimestre (AFP et hCG totale). Le dépistage du second trimestre intégré combine le dosage des marqueurs sériques associés à la mesure de la CN. La première partie de ce travail a consisté à évaluer les premiers résultats du dépistage sur l'année 2010. Dans notre étude, 1448 patientes ont été dépistées avec 1059 dépistages du premier trimestre, 216 dépistages du second trimestre intégré et 176 dépistages du second trimestre sérique. Trois vrais positifs ont été dépistés. Un seul faux négatif est connu. Les taux de détection pour le premier trimestre et le second trimestre intégré, sont respectivement de 66,6 % et 100 %. Le taux de détection pour le second trimestre sérique est non calculable en l'absence de cas de trisomie 21. Les taux de faux positif sont de 5.5%, 2.5 % et 9% respectivement pour le premier, le second trimestre intégré et le second trimestre sérique. La comparaison des résultats avec la littérature reste délicate compte tenu du faible nombre de cas de trisomie 21 pour la période d'étude. La seconde partie de travail a consisté à évaluer la démarche qualité mise en place au travers de la réalisation de deux EPP des prescriptions, le suivi de la médiane des MoM de la CN par échographiste, et par le suivi de la médiane des MoM des marqueurs sériques.

MOTS CLES : Trisomie 21, Dépistage, premier trimestre

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Docteur Patricia FRANCK	Laboratoire de biologie médicale, maternité régionale universitaire de Nancy	Expérimentale □ Bibliographique x Thème 5

Thèmes **1 – Sciences fondamentales** **2 – Hygiène/Environnement**
3 – Médicament **4 – Alimentation – Nutrition**
5 - Biologie **6 – Pratique professionnelle**