

## intérêt du double test dans le Dépistage prénatal de la trisomie 21 : expérience du centre tunisien

H. CHAHED<sup>1</sup>,  
S. FERCHCHI<sup>1</sup>,  
Y. CHAABOUNI<sup>1</sup>,  
N. SAAFI<sup>1</sup>,  
H. BEN LIMEM<sup>1</sup>,  
M. SAKOUHI<sup>2</sup>,  
M. BERNARD<sup>3</sup>,  
H. KHAIRI<sup>4</sup>,  
S. LARADI<sup>1</sup>,  
A. MILED<sup>1</sup>.

### Résumé

**Objectif :** estimer le risque de la trisomie 21 en utilisant les marqueurs sériques maternels (AFP et HCG) au second trimestre chez toutes les femmes enceintes quelque soit leur âge.

**Matériel et méthodes :** 642 femmes enceintes (32,88 ± 14 ans) recrutées dans les services de maternité de Sousse et de Monastir avaient adhéré à notre étude.

Nous avons appliqué un dépistage séquentiel qui incluait la mesure de la clarté nucale, l'âge gestationnel, l'âge maternel et le dosage de deux marqueurs sérique (AFP et HCG) au deuxième trimestre. Le logiciel «Prenat interpretive software Maciel» avait été utilisé pour le calcul du risque.

**Résultats :** En fixant le risque seuil décidant ou non d'une amniocentèse à 1/250, une seule femme avait présenté un risque accru de trisomie 21 avec une valeur de 1/32, le caryotype proposé à cette femme avait confirmé l'existence de cette anomalie chromosomique. Ce même logiciel utilisé pour le dépistage de la trisomie 21 ; nous avait permis de détecter chez 3% des femmes un risque de défaut de fermeture de tube neural. 2,9% des femmes avaient présenté un taux faible de HCG, ce qui est en rapport avec une diminution de la viabilité fœtale.

**Conclusion :** A l'échelle nationale, il est souhaitable de généraliser le dépistage prénatal de la trisomie 21 à toutes les femmes enceintes quel que soit leur âge grâce à l'utilisation des marqueurs sériques. La diffusion de ce double test limitera l'utilisation des examens invasifs.

**Mots clés :** Trisomie 21 - Dépistage séquentiel - Marqueurs sériques maternels - alpha foetoprotéine, hormone gonadotrophine chorionique.

## Sequential screening of trisomy 21 : experience of the center of Tunisia

### Summary

**Objective :** To estimate the risk of trisomy 21 using maternal serum markers (AFP and HCG) in the second trimester for all pregnant women.

**Material and methods :** 642 pregnant women (32.88 ± 14 years) were recruited in the maternity units of Sousse and Monastir.

We applied a sequential screening that included measurement of nuchal translucency, gestational age, maternal age and the dosage of two serum markers (AFP and HCG) in the second trimester. The software "Prenat interpretive software Maciel" was used to calculate risk.

**Results :** Using the 1/250 cut off for this double test, only one woman has presented a high risk for Down's syndrome (1/32). The foetal karyotyping was performed and chromosomal abnormality was confirmed. The same sequential test allowed us to detect 3% of neural tube defects. In addition we found 2,9% of

<sup>1</sup> Laboratoire de biochimie  
CHU Farhat Hached  
Sousse - Tunisie.

<sup>2</sup> Service de maternité  
CHU Fatouma Bourguiba  
Monastir - Tunisie.

<sup>3</sup> UF d'oncobiochimie  
et biochimie prénatale,  
groupe hospitalier Pitie-  
Salpêtrière, Paris.

<sup>4</sup> Service de maternité  
CHU Farhat Hached  
Sousse - Tunisie.

cases with decrease of HCG demonstrating diminution of foetal viability.

**Conclusion :** Serum marker testing should be offered to all pregnant women, so invasive tests as amniocentesis will be avoided

**Key words :** Down's syndrome - sequential screening - Maternal serum markers - alpha fetoprotein - human chorionic gonadotropin.

## Introduction

La trisomie 21 (tri 21) ou syndrome de Down est la plus fréquente des anomalies chromosomiques, elle constitue la première cause de retard mental. Sa prévalence est de 1/700 naissances, elle augmente significativement avec l'âge maternel surtout après 35 ans [1-3]. Le caryotype fœtal réalisé à partir du sang fœtal, des cellules amniotiques, ou villosités choriales constitue le diagnostic de certitude. Il est proposé aux femmes dont l'âge est supérieur à 38 ans. Toutefois, la naissance d'enfant atteint de tri 21 observée chez les jeunes remet en cause le critère âge maternel [4].

En France au début des années 90, la découverte de nouveaux marqueurs biochimiques dosables dans le sang entre 15 et 18 semaines d'aménorrhée (SA) a permis de généraliser une stratégie de dépistage qui permet de couvrir toutes les femmes enceintes indépendamment de leur âge.

Les modifications biochimiques observées chez une femme gestante porteuse d'un fœtus atteint de trisomie 21 se traduisent par une augmentation du taux de la fraction bêta libre de l'hormone chorionique gonadotrope (bêta HCG libre) et une diminution du taux de la -Pregnancy-Associated Plasma Protein A (PAPP-A) au cours du premier trimestre ; par contre au cours du deuxième trimestre, il y a une diminution du taux de l'alpha-foetoprotéine (AFP) et une augmentation du taux de l'hormone chorionique gonadotrope (HCG) [5-6].

Ainsi un risque intégré peut être calculé au second trimestre. Ce risque tient compte de l'âge de la patiente, de la mesure de la clarté nucale en fonction de la longueur craniocaudale de l'embryon lors de l'échographie du premier trimestre et du résultat des marqueurs biologiques (AFP, HCG) dosés au second trimestre (14 à 17 SA + 6 j). Si le risque est supérieur à 1/250, la femme gestante appar-

tient à un groupe à risque ce qui justifie l'amniocentèse [7]. Le but de ce travail est d'estimer le risque de la trisomie 21 en utilisant les marqueurs sériques maternels au second trimestre chez toutes les femmes enceintes quelque soit leur âge.

## Matériel et méthodes

Il s'agissait d'une étude prospective préliminaire qui s'était déroulée dans le service de Biochimie du CHU Farhat Hached de Sousse en collaboration avec les Centres de maternité du CHU Farhat Hached de Sousse et du CHU Fattouma Bourguiba de Monastir, la période d'étude était du 1<sup>er</sup> avril 2006 jusqu'au 30 juin 2009.

### Population d'étude

Notre étude avait concerné 642 femmes enceintes de race blanche qui étaient suivies dans les deux centres de maternité déjà cités. Elles avaient un âge gestationnel qui variait de 14 SA + 0 jours à 17 SA + 6 jours.

L'âge gestationnel avait été déterminé par la date des dernières règles et par échographie précoce en mesurant la clarté nucale en fonction de la longueur craniocaudale de l'embryon (de 45 à 84 mm) entre 11 + 0 SA et 13 + 6 SA. Toutes les femmes gestantes étaient consentantes.

Un formulaire de la demande délivrée à chaque patiente avait été rempli de façon rigoureuse par les médecins et contenait des informations concernant la femme gestante (la date de naissance exacte, son poids en kg, sa taille en cm, la date des dernières règles, si elle était diabétique ou tabagique).

Elles avaient été exclues de l'étude les femmes gestantes qui présentaient un âge gestationnel supérieur à 18 SA, et celles qui présentaient une grossesse gémellaire ou multiple car il n'y avait pas suffisamment d'études

randomisées prospectives publiées dans la littérature. Toutes les femmes gestantes ayant accepté de participer à l'étude avaient été informées d'une part sur le caractère de cette anomalie chromosomique et les moyens actuels utilisés pour le dépistage. D'autre part, Elles avaient été aussi informées du fait que le test proposé dans notre protocole permettait un calcul de risque et non pas un diagnostic. Pour connaître l'issue des grossesses, nous avons consulté les dossiers médicaux des femmes gestantes qui avaient accepté d'adhérer à notre protocole après l'accouchement.

### Prélèvements - dosages

Le terme des prélèvements sériques maternels était compris entre 14 SA + 0 jours et 17 SA + 6 jours. Les sérums non dosés le jour même avaient été congelés à - 20 °C en attente du dosage.

#### - AFP

C'est le premier marqueur utilisé par la quasi-totalité des laboratoires, son dosage est fiable et connu depuis longtemps [5]. Il avait été dosé par la technique immuno-enzymatique microparticulaire (MEIA) en se servant de l'automate AxSYM- ABBOT. La gamme d'étalonnage s'étendait de 0 à 350 ng/ml. Les coefficients de variation (CV) étaient les suivants : 9,7% (pour les valeurs basses), 6,8% (pour les valeurs moyennes), et 5,2% (pour les valeurs élevées).

#### - HCG

Elle avait été choisie pour sa fiabilité et sa stabilité dans [6]. La technique immuno-enzymatique microparticulaire (MEIA) avait été appliquée sur l'automate AxSYM - ABBOTT. La gamme d'étalonnage s'étendait de 0 à 100 UI/l, et les sérums étaient préalablement dilués au 1/100. Les coefficients de variation (CV) étaient les suivants : 7,2% (pour les valeurs basses), 5,6% (pour les valeurs moyennes), et 6,6% (pour les valeurs élevées).

#### - Expression des résultats de la HCG et de l'AFP :

Les valeurs brutes de chaque marqueur étaient transformées en MoM (multiple de la médiane) à l'aide du logiciel «Prenat interpretive software Maciel». Ce logiciel était commercialisé par les laboratoires ABBOTT et il était disponible au service de Biochimie du CHU Farhat Hached de Sousse. Il avait été validé par l'agence du

médicament en France.

La méthode statistique utilisée par ce logiciel pour évaluer le risque individuel est le «rapport de vraisemblance» ou «likelihood ratio» proposé par Wald et al [8]. Par ailleurs, ce logiciel intégrait dans le calcul du risque les facteurs influençant le dosage des marqueurs sériques (l'état diabétique, le poids de la femme gestante, le tabagisme).

## Résultats

### • Caractéristiques de la population étudiée :

#### Age maternel :

Les 642 femmes gestantes recrutées dans notre étude avaient un âge qui variait entre 19 et 49 ans, soit un âge moyen de  $32,88 \pm 14$  ans. Les femmes qui avaient un âge supérieur à 38 ans représentaient 12,5%.

Nous avons trouvé une relation croissante entre l'augmentation du risque de trisomie 21 et celle de l'âge maternel (Figure 1).

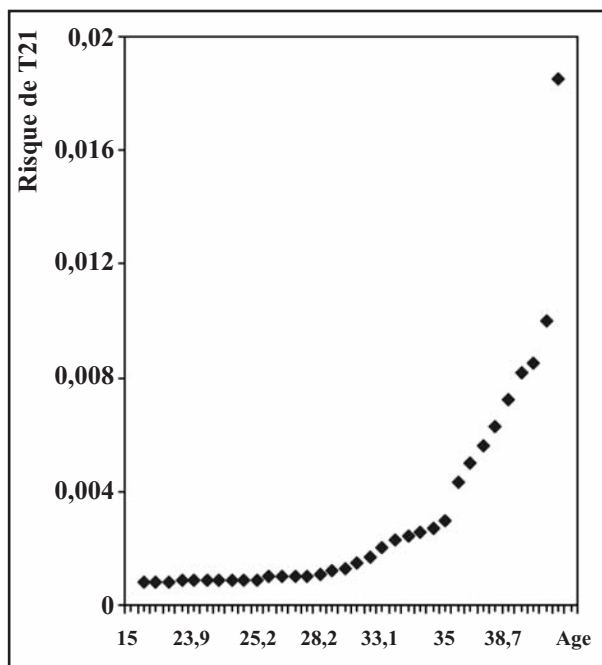


Figure 1 : Risque de trisomie 21 en fonction de l'âge maternel.

*Poids maternel :*

Le poids moyen était de  $67,55 \pm 12,31$  Kg. Seulement 6,7% des femmes gestantes avaient un poids  $>$  à 80 kg, ce qui a nécessité une correction de la valeur des marqueurs par le logiciel lors du calcul du risque.

*Tabagisme :*

Seulement 1,9% des femmes consommaient du tabac.

### Présence de diabète

3% des femmes étaient diabétiques,

Antécédents d'anomalie chromosomique :

Sept femmes gestantes de notre étude (1,09%) avaient donné naissance au cours des grossesses précédentes à un enfant porteur d'une anomalie chromosomique.

Seulement deux femmes gestantes étaient porteuses d'une anomalie chromosomique connue au moment de leur recrutement, une avait un syndrome de Turner en mosaïque faible, l'autre présentait une translocation équilibrée.

*• Résultats de mesure de la clarté nucale :*

Dans notre étude, les valeurs de la mesure de la clarté nucale varient de 1,3 mm à 5,2 mm avec une moyenne de  $2,7 \pm 1,4$  mm.

*• Résultats du dosage des marqueurs sériques*

- Dans notre étude, 2,9% des femmes gestantes avaient présenté un taux sérique très bas de HCG ( $< 0,3$  MoM), reflétant une diminution de la viabilité fœtale.

- Le risque d'un défaut de fermeture du tube neural a été détecté chez 3% des femmes gestantes et ceci pour des taux sériques d'AFP élevés ( $\geq 2,5$  MoM).

- Pour un risque supérieur ou égal à 1/250, 65 des femmes gestantes (soit 10%) avaient appartenu à un groupe à risque accru de trisomie 21, et pour chacune d'elle une amniocentèse avait été indiquée.

- Selon le tableau 1, la nécessité d'une amniocentèse varie de 7% chez les femmes les plus jeunes à 45% chez les femmes gestantes âgées de plus de 38 ans.

- Parmi les femmes chez lesquelles une amniocentèse avait été indiquée, seulement 10 (soit 15%) avaient accepté de faire cet examen.

- Parmi les 642 femmes gestantes recrutées dans notre étude, nous avons pu savoir l'issue de la grossesse chez

uniquement 187 femmes. Parmi ces dernières se trouvaient les 65 femmes qui présentaient un risque supérieur ou égal à 1/250.

- En appliquant ce double test, un seul cas de trisomie 21 avait été dépisté chez une femme âgée de 36 ans avec un risque calculé de 1/32. La confirmation diagnostique avait été faite par l'étude du caryotype après amniocentèse.

### Discussion

En Tunisie, le dépistage prénatal de la trisomie 21 repose sur l'étude du caryotype fœtal réalisé à partir d'un prélèvement de villosités chorales, des cellules amniotiques ou du sang fœtal [3, 9]. Il est proposé aux femmes enceintes âgées de plus de 38 ans, âge auquel le risque de trisomie 21 est supérieur ou égal à 1/200, l'existence des anomalies chromosomiques lors d'une grossesse antérieure ou chez l'un des deux parents

Cette politique de santé est insuffisante car elle ne permet pas de couvrir tous les âges maternels en particulier les mères âgées de moins de 38 ans, avec risque d'avortement estimé à 1% lié à l'amniocentèse [10].

Notre étude préliminaire pour le dépistage prénatal de la trisomie 21 au second trimestre en Tunisie repose sur le calcul d'un risque séquentiel en combinant l'âge maternel, l'âge gestationnel la mesure de la clarté nucale (11-13 SA + 6 jours) et le dosage de deux marqueurs sériques (HCG, AFP) au second trimestre (4 à 17 SA + 6 j) pour cibler les femmes enceintes à haut risque.

par conséquent, un seul cas de trisomie 21 a été détecté avec un risque calculé de 1/32 chez une femme âgée de 36 ans.

Dans la littérature, le taux de détection de trisomie 21 est de 60% pour un taux de faux positif de 5% [11]. Cette différence est liée au fait que notre étude est préliminaire, et devra être validée sur un effectif plus grand pour pouvoir comparer nos résultats aux équipes françaises, britanniques et américaines [12].

Notre étude avait révélé la présence de femmes tabagiques, des femmes diabétiques, rappelons que le poids maternel, l'origine ethnique, le tabagisme, le diabète sont des facteurs qui influencent la distribution des

marqueurs sériques et par la suite peuvent influencer les performances de ce test de dépistage [13].

C'est par l'intermédiaire de ce double test que nous avons décelé des fœtus qui présentaient un risque potentiel de défaut de fermeture du tube neural, et des cas de mort fœtale. Nos résultats étaient cohérents avec ce qui avait été décrit dans la littérature et confirme la double utilité de ce test de dépistage [14].

Le dépistage utilisant ce double test (AFP, HCG) était utilisé par 75% des laboratoires français depuis 1997, date à laquelle le dépistage par dosage des marqueurs sériques dans le sang maternel entre 14 - 18 SA avait été encadré par des décisions politiques [15-16].

Mais vue le caractère tardif du dépistage par les marqueurs sériques au second trimestre, en 2007, la Haute Autorité de santé (HAS) recommande de proposer aux femmes enceintes un dépistage combiné du premier trimestre de la grossesse, réalisé entre 11 + 0 et 13 + 6 semaines d'aménorrhée, associant mesure de la clarté nucale et le dosage des marqueurs sériques du premier trimestre. Ces marqueurs sont la PAPP-A qui diminue en

cas de grossesse trisomique, et la fraction  $\beta$  libre de HCG qui augmente aussi chez les femmes gestantes porteuses d'un fœtus atteint [17-19].

En 2007, l'American College of Obstetricians and Gynecologists et la Society for Maternal Fetal Medicine avaient recommandé également la mesure de la clarté nucale et le dosage des marqueurs sériques du premier trimestre pour le dépistage de la trisomie 21 [20].

En outre, les données de la littérature ont prouvé les performances du dépistage combiné du premier trimestre en appliquant des critères de qualité clairement établis pour assurer la validité de ces examens [21].

Ainsi, l'Arrêté du 23 juin 2009 a fixé les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatal de la trisomie 21, et le dépistage combiné du premier trimestre devient la norme en France [17].

Avec la diversité des méthodes de dépistage, différents logiciels calculant un risque en combinant les données de l'échographie du premier trimestre, des marqueurs sériques et l'âge ont été mis au point, ce qui facilite la généralisation du dépistage.

**Tableau 1: Variation du nombre d'amniocentèse chez les femmes gestantes**

Age maternel	Fréquence relative des femmes gestantes	Fréquence relative d'amniocentèse indiquée
< 30 ans	55%	7%
30-35 ans	5%	11%
35-37 ans	23%	37%
> 38 ans	17%	45%

### Conclusion

Un dépistage séquentiel associant l'âge maternel, la mesure de la clarté nucale par échographie au premier trimestre et le dosage des marqueurs sériques (AFP et HCG) au deuxième trimestre constitue la stratégie que nous avons opté pour dépister les femmes enceintes ayant un risque accru de trisomie 21. Il ne s'agit en aucun cas de diagnostiquer la trisomie 21.

La formation d'un réseau de professionnels qui regroupe échographistes, biologistes, sages-femmes, gynéco-

logues obstétriciens, ou médecins généralistes qui suivent des grossesses, contribue à l'amélioration des prestations qui seront rendues aux femmes enceintes.

### Références bibliographiques

1. NIVELON-CHEVALIER A. Trisomie 21 : Epidémiologie, diagnostic, pronostic. Rev Prat 1995, 45 (166) : 217-23.
2. GAY C. Trisomie 21 : Epidémiologie, diagnostic, évolution. Rev Prat 1998, 48 : 999-1002.

3. CHAABOUNI H, SAMAOUI N, NAAZOUL F, BENJEMAAL L. Etude épidémiologique et génétique de la trisomie 21 en Tunisie. *Tuni Méd* 1999, 77 : 407-14.
4. MACRI J.N, SPENCER K, GARVER K, BUSHAMAN D. Maternal serum free beta HCG screening : results of studies including 480 cases of Down's syndrome. *Prenat Diag* 1994, 14 : 97-103.
5. BOGART M, PANDIAN M.R, JONES W.O. Abnormal maternal serum chorionic gonadotrophin levels in pregnancy with fetal chromosome abnormalities. *Prenat Diag* 1987, 7: 626-30.
6. BRAMBATI B, TULUI L, BONACCHI I, SHRIMARKER K. Serum PAPP-A and free beta HCG are first trimester screening markers of Down's syndrome. *Prenat Diag*, 1994, 14 (11) : 1043-47.
7. MULLER F. Marqueurs sériques maternels de la trisomie 21 foetale. *Annal Biol Clin* 2002, 60 (6) : 689-92.
8. WALD NJ, CUCKLE HS, DENSEM JW et al. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *BMJ* 1988; 297: 883-87.
9. BERNARD J.P. Controverse : amniocentèse systématique pour les femmes de 38 ans et plus ? *Gynecol Obstet Fertil*, 2000, 28 : 765-71.
10. DE PARSCAU L. Trisomie 21 : épidémiologie, diagnostic, évolution. *Rev Prat* 2001, 51 : 545-49.
11. MULLER F, FORESTIER F, DINGEON B, ABA STUDY GROUP. Second trimestre trisomy 21 maternal serum marker screening results of a countrywide study of 854902 patients. *Prenat Diagn* 2002, 22 : 925-26.
12. BEAMEN J.M, GOLDIE D.J. Second trimester screening for Down syndrome seven years experience. *J Med Screen* 2001, 8 (3) : 128-31.
13. CROSSLEY J.A, AITKEN D.A, WAUGH S.M, KELLY T. Maternal smoking, age distribution, levels of alpha fetoprotein and human chorionic gonadotrophin and effect on detection of Down's syndrome pregnancies in second trimester screening. *Prenat Diag* 2002, 22 (3): 247-55.
14. GAGNON A, WILSON RD, AUDIBERT F, ALLEN VM, BLIGHT C, BROCK JA, DÉSILETS VA, JOHNSON JA, LANGLOIS S, SUMMERS A, WYATT P ; Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada Genetics Committee. Obstetrical complications associated with abnormal maternal serum markers analytes. *J Obstet Gynaecol Can.* 2008 Oct; 30(10):918-49.
15. MULLER F. Dépistage de la trisomie 21 par les marqueurs sériques. *EMC - Gynécol Obstet* 2005, 2 : 209-16.
16. DINGEON B, LEBRUN C, DOCHE C. Modernizing trisomy 21 screening in France. *Press Med.* 2007 Jan; 36:5-7.
17. <http://www.has-sante.fr>
18. SPENCER K, SOUTER V, TUL N et al. A screening program for trisomy 21 at 10-14weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 1999; 13 : 231-7.
19. NICOLAIDES KH, SPENCER K, AVGIDOU K et al. Multicenter study of first-trimester screening for trisomy 21 in 75 821 pregnancies: results and estimation of the potential impact of individual risk-orientated two stage first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2005; 25: 221-6.
20. BAHADO-SINGH R, DRISCOLL D, American College of Obstetricians and Gynecologists, Society for Maternal-Fetal Medicine. ACOG Practice Bulletin n° 77. Clinical management guidelines for obstetricians-gynecologists. Screening for fetal chromosomal abnormalities. *Obstet Gynecol* 2007; 109: 217-27.
21. KAGAN KO, WRIGHT D, BAKER A et al. Screening for trisomy 21 by maternal age, fetal nuchal translucency thickness, free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2008; 31: 618-24.