

PLACE DE L'AMNIOCENTESE DANS LE DEPISTAGE ANTENATAL A COTONOU

LOKOSSOU A. *, BIGOT A.** , KOMONGUI D.G.* , LALEYE A.*** ,
NZAYAKE A. * , PERRIN R.-X.* , DARBOUX R.***

* Faculté des Sciences de la Santé - Hôpital de la Mère et Enfant Lagune(HOMEL) ;

** Faculté des Sciences de la Santé – Service des maladie du Sang (SMAS) du Centre National Hospitalier et Universitaire Hubert Koutoukou Maga ;

*** Faculté des Sciences de la Santé- Unité de Biologie Humaine ; Cotonou- BENIN.



RESUME

L'amniocentèse est la technique de référence pour les prélèvements fœtaux destinés à la recherche des mutations de l'ADN de l'hémoglobine ou des anomalies chromosomiques. Nous avons mené une étude transversale analytique sur 20 mois chez 21 gestantes de 16 à 24 semaines d'aménorrhée (SA) porteuses (avec le conjoint) de mutation βC ou βS sur l'une ou les deux chaînes de l'hémoglobine ; les prélèvements de liquide amniotique étaient indiqués dans 19 et 2 cas respectivement pour le risque d'enfants drépanocytaires et les signes d'appel échographiques de malformations congénitales. L'âge moyen était de 29,81 ans. L'extraction de l'ADN des amniocytes par PCR avait révélé 5 cas de double mutation homozygote S, 2 doubles hétérozygotes SC, 3 et 6 cas respectivement d'hémoglobine AS et AA ; le caryotype avait révélé deux fœtus trisomiques 13 et 18. L'issue de ces grossesses était marquée par la naissance à terme de 15 nouveau-nés vivants et respectivement par 1 et 2 cas d'interruption de grossesse, volontaire (IVG) et médicale (IMG). Aucune complication imputable à la technique n'était enregistrée. L'innocuité de la méthode est un point fort pour la conseiller dans le cadre du diagnostic anténatal de la drépanocytose à Cotonou.

Mots clés : Amniocentèse- Dépistage anténatal- Drépanocytose- BENIN.

SUMMARY

Place of amniocentesis in antenatal screening at Cotonou

The amniocentesis is the reference technique for the fetal withdrawals intended to search haemoglobin DNA mutations or the chromosomal anomalies. We led an analytic transverse survey on 20 months at 21 (twenty one) 16 to 24 weeks gestation pregnant women carrier (with their joins) βC or βS mutation on one or the two chains of the haemoglobin ; amniotic fluid withdrawals were indicated respectively in 19 and 2 cases for the risk of sickle- cell aenemia at children and the scan signs of congenital malformations. The middle age was of 29,81 years. DNA extraction by PCR had revealed 5 cases of double mutation S homozygote, 2 double SC heterozygote mutation, 3 and 6 cases respectively of haemoglobin AC and AA; the caryotype had revealed two 13 and 18 trisomic fetus. These pregnancies were marked by the birth to term of 15 new - born living and respectively by 1 and 2 cases of volunteer and medical pregnancy interruption. No attributable complication to the technique was recorded. The non harmful character of the method is a strong point to indicate it for antenal diagnosis of sickle- cell aenemia at Cotonou.

Key words : Amniocentesis - Antenatal screening - Sickle- cell anaemia- BENIN.

INTRODUCTION

L'amniocentèse est une technique de dépistage connue et pratiquée depuis des décennies [1,2]. Avant sa réalisation, l'examen échographique apprécie le bien être fœtal, détermine la localisation placentaire et guide l'introduction de l'aiguille dans le sac amniotique. [3,4, 5,7] ; ce n'est pas un geste anodin ; le contrôle échographique continu en a réduit les risques sans les abolir [2]. Quelle place l'amniocentèse occupe-t-elle actuellement dans un service d'obstétrique de référence à Cotonou ? C'était le but de notre étude.

Objectifs Déterminer la fréquence de l'amniocentèse dans deux centres de référence public et privé de Cotonou, analyser les résultats et le pronostic.

MATERIEL

Définition. L'amniocentèse consiste à ponctionner la cavité amniotique à travers la paroi abdominale pour en retirer le liquide amniotique [7] ;

Il faut distinguer l'amniocentèse précoce effectuée à partir de 17 semaines d'aménorrhée (SA), la plus fréquente et l'amniocentèse tardive, après la 20^{ème} SA et dont la fréquence tend à diminuer au profit de la cordocentèse.

L'amniocentèse ultra- précoce, réalisable à partir de 10SA permet le diagnostic des dysraphies.

METHODE

Il s'agissait d'une étude transversale analytique à la fois rétrospective (décembre 2001 à décembre 2003) et prospective (mars à octobre 2005) réalisée à l'Hôpital de la Mère et Enfant Lagune (HOMEL) et à la Clinique Privée MAHOUNA de Cotonou, relative à la recherche des mutations bêta S et bêta C dans le liquide amniotique des gestantes à risque d'enfants drépanocytaires - et d'anomalies chromosomiques sur signes d'appel échographiques.

Les critères d'inclusion étaient les suivants :

1) Toutes gestantes de 16 à 24 semaines d'aménorrhée (SA) porteuses (avec le conjoint) de mutation β C ou β S sur l'une ou les deux chaînes de l'hémoglobine ;

2) Découverte des signes d'appel échographiques de malformation congénitale.

Etaient exclues les gestantes dont l'âge gestationnel était supérieur à 24 SA et ayant une hémoglobine de type normal à l'électrophorèse.

Technique de l'amniocentèse [8]

Après une psychothérapie et une asepsie rigoureuse, une aiguille fine de 20 gauge est introduite dans une citerne de liquide amniotique sous échoguidage ; suivant l'épaisseur de la paroi maternelle, on choisira une aiguille d'une longueur de 9 à 15cm ; on aspire 15 à 20ml de liquide amniotique acheminé aussitôt vers le laboratoire à l'abri de la lumière. La vitalité foetale est vérifiée avant et après l'amniocentèse et les patientes rassurées regagnaient leur domicile après 4 à 6 heures de repos.

L'extraction de l'ADN des amniocytes est réalisée par PCR (Polymerase Chain Reaction). Les données ont été recueillies

au moyen d'une fiche d'enquête et analysées à l'aide du logiciel Epi- Info.

Les biais introduits dans notre étude pouvaient provenir de la petite taille de l'échantillon et des pertes de vue dont l'issue de grossesse n'avait pu être évaluée après ce geste toute somme invasif.

RESULTATS

• Au total, sur 29 gestantes ayant consulté pour subir une amniocentèse, 21 avaient réellement accepté de se faire prélever après le counselling ; 3 étaient perdues de vue ; 3 ponctions étaient blanches. L'évolution et l'issue des grossesses étaient connues chez 18 gestantes.

• Le terme de la grossesse était compris entre 16 et 24 SA.

2.1 Profil épidémiologique des gestantes ayant subi une amniocentèse

• L'âge moyen était de 29,81 ans (Tableau N° I).

Tableau N° I : Distribution selon l'âge (ans)

Age (ans)	n (%)
20 – 25	3(14)
26 – 30	11(48)
31 – 35	5(24)
36 – 40	3(14)
Total	21(100)

• Antécédents obstétricaux

Il y avait 3 patientes de gestité 1 ; 7, 5 et 4 respectivement de gestité 2, 3 et 4 ; 16 /21 gestantes (77%) avaient eu au moins une grossesse non arrivée à terme (fausses couches provoquées exclues) et 6 (23%) n'avaient aucun enfant vivant.

2.2 Les indications

• 19 /21 cas d'amniocentèse (90%) étaient indiqués pour le risque d'enfants drépanocytaires ; 2 (10%) sur signes d'appels échographiques de malformations (association de microcéphalie et de microphthalmie et dilatation des ventricules cérébraux).

2.3 Age gestationnel et résultats de la technique.

• L'amniocentèse était réalisée entre 15 et 18 SA dans 17 cas sur 21 (81%) et après 20 SA dans 4 cas (19%) ; les demandes exprimées étaient la recherche de mutation β S et β C et le caryotype respectivement dans 16 et 2 cas.

•Le liquide amniotique prélevé était clair dans 16 cas sur 18 et légèrement teinté de sang dans 2 cas ; son volume **était de** 10 ml dans 4 cas, 15 et 20 ml respectivement dans 6 et 8 cas.

2.4 Analyse cytogénétique : 7 cas d'hémoglobinopathie majeure avaient été dépistés (Tableau N° II).

• **Tableau N° II :** Résultats du dépistage des mutations de l'hémoglobine.

Type d'hémoglobine	n (%)
A A	6 (37,5)
S S	5 (31,3)
A S	3 (18,7)
S C	2 (12,5)
Total	16 (100)

•Le **caryotype** avait identifié 1 cas de trisomie 13 et 1 cas de trisomie 18.

2.5 L'issue des grossesses

15 grossesses étaient arrivées à terme avec naissance d'enfants vivants.

Tableau N°III : Méthode d'interruption de la grossesse

Méthode d'interruption	ncas (%)
I V G	01 (4,8)
I M G	02 (9,5)
Accouchement par voie basse	15 (71,4)
Perdus de vue	03 (14,3)
Total	21 (100)

IVG= interruption volontaire de grossesse ;
IMG= interruption médicale de grossesse.

• L'IMG concernait les deux fœtus trisomiques 13 et 18 ; l'IVG était pratiquée en dehors des deux centres de l'étude sur un fœtus porteur d'une hémoglobine SS identifiée sur PCR (Polymérase Chaîne Réaction) le couple n'étant pas psychologiquement prêt à prendre en charge un enfant génétiquement handicapé.

• Pronostic néonatal : **13 et 2** nouveau-nés sur 15 (87%) avaient eu un score d'APGAR (Normale ≥ 8) respectivement compris entre 8 et 10 et ≤ 7 à la 1^{ère} minute; ces 15 nouveau-nés avaient eu leur score d'APGAR normalisé à la 5^{ème} puis 10^{ème} minutes après désobstruction des voies respiratoires, ventilation et oxygénation ; ils étaient tous sortis vivants et bien portant des centres de référence avec leurs mères après à 48 heures de vie.

DISCUSSION

En terme de fréquence, il n'y avait eu que 21 amniocentèses en cinq ans à l'HOMEL et à la Clinique Privée MAHOUNA pour la recherche de mutation βS ou βC de l'hémoglobine chez les couples à risque et le caryotype en cas de signes d'appel échographiques de dyschromosomie. Or l'incidence de la drépanocytose est de 20% au Bénin et certaines régions du sud avoisinent les 45,5% dans les formes SC [9].

Dans la littérature deux études ont porté sur des évaluations de type épidémiologique [10]: la première concerne le dépistage de la trisomie 21 par amniocentèse chez les femmes de 38 ans et plus ; la deuxième a trait à la découverte anténatale des malformations congénitales majeures à partir des signes d'appel échographiques.

Les caractéristiques de nos gestantes avaient d'abord trait à l'âge moyen de 29,81 ans ; paramètre essentiel selon BOUE [11], l'âge maternel représente une proportion très importante en France (80 %) de l'ensemble des indications du diagnostic anténatal. Par ailleurs nos patientes étaient nullipares et avaient déjà eu plusieurs grossesses non menées à terme pour la majorité (10/21 gestantes). Cette situation pourrait poser des problèmes moraux et psychiques lors d'un conseil génétique face à un fœtus SS et / ou porteur d'une anomalie chromosomique et face à une éventuelle interruption médicale de grossesse (IMG). En effet, la demande d'IMG pourrait être une demande d'eugénisme, plus précisément l'élimination avant la naissance des êtres humains dont on estime que la qualité de vie future ne justifie pas qu'ils puissent vivre [12] C'est tout l'intérêt d'après Aité et al. [13] de la création d'un comité d'éthique et de prise en charge multidisciplinaire des demandes de diagnostic anténatal.

Pour le dépistage anténatal de la mutation βS ou βC de l'hémoglobine en Afrique l'âge maternel n'a pas d'influence ; mais il importe de souligner que les femmes à risque d'enfants drépanocytaires continueront à avoir des grossesses à des âges avancés en raison de la mortalité infantile liée à la drépanocytose.

Finalement à un âge avancé, au risque d'avoir un enfant drépanocytaire s'ajoute celui de malformation chromosomique. Il serait donc licite de rechercher une

anomalie chromosomique dans le liquide amniotique lors d'un diagnostic anténatal de la drépanocytose chez les gestantes de plus de 37 ans.

Il importe également de faire la promotion du diagnostic anténatal pour les gestantes d'âge avancé à l'instar des pays développés. L'utilisation de marqueurs précoces des anomalies chromosomiques disponibles dès le premier trimestre (mesure de la clarté nucale à l'échographie entre 10- 12^{ème} semaine d'aménorrhée, dosage de l' α -foeto-protéine et de l'hormone gonadotrophine chorionique humaine (HCG), a conduit à une demande de caryotypes plus précoce ; l'amniocentèse reste la technique de référence, tant sur le plan de risque de perte fœtale que sur celui de la fiabilité ; cependant, ses délais de réponse sont trop longs[8]. **Tant pour l'utilisation des marqueurs précoces que pour l'amniocentèse, le coût est élevé et il apparaît difficile de faire un choix pour nos patients à moyens limités et ne jouissant pas d'une sécurité sociale.**

Nous avons connu trois échecs de ponction mais n'avons noté ni d'infection chez les gestantes, ni de fausse couche spontanée, ni de rupture des membres, ni de mort fœtale ; les complications à type de fausse couche sont de l'ordre de 0,5% dans les amniocentèses précoces selon GUERIN et al. [14] et elles surviennent généralement dans les 48 heures.

En principe l'amniocentèse ne présente pas de difficultés pour des opérateurs entraînés, effectuant un minimum de prélèvements; par comparaison, la choriocentèse (réalisée entre 10 –12 semaines de gestation), paraît techniquement plus difficile avec un risque de perte fœtale nettement supérieur[8].

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. BOULOT P. Amniocentèse. Revue française de gynéco-obst, 1988, n° 83, 7 – 9.
2. ELKAHAZEN N., JAUMAUX E. 376 amniocentèses sous échographie continue. J Gynécol Obstet Biol Reprod 1987, 16, 1003 – 1008.
3. CRANDALL B. F. , HOWARD J. LEBHERZ T.B., UBINSTEIN L. Follow up of 2000 second trimester amniocenteses . Obstet. Gynecol., 1980 ; 56 : 625 –28.
- 4 .CRANDON A. J, PELL K . R : Amniocenteses with and without ultrasound guidance. Br J Obstet Gynecol 1979; 86: 1 -3.
- 5 .HARRISON R. , CABBELL S. CRAFT L. Risks of feto-maternal hemorrhage resulting from amniocentesis with and without ultrasound placenta location. Obstet Gynecol 1978 ; 46: 389 – 396.

Le Laboratoire de Cytogénétique avait connu un échec d'amplification par PCR sur 18 amniocentèses (1%), du fait du séjour pendant 48 heures au réfrigérateur du liquide prélevé avant l'extraction de l'ADN ; ce délai pourrait-il conduire à la destruction enzymatique de l'ADN ? La quantité de liquide prélevée (10 à 20 ml) n'a pas d'incidence fâcheuse sur l'évolution des grossesses [15]. En effet, l'issue des grossesses était favorable dans 15 cas hormis les IMG pratiquées pour des anomalies chromosomiques à type de trisomie 13 et 18.

Les ressources humaines qualifiées existent à la Faculté des Sciences de la Santé pour la réalisation de certaines étapes de dépistage des anomalies chromosomiques (échographie sur signes d'appel, amniocentèse, choriocentèse) et la recherche des mutations de l'hémoglobine ; le problème quasi permanent dans notre pays est le manque de volonté politique pour équiper les laboratoires. Par ailleurs la demande d'une interruption médicale de grossesse à l'occasion du diagnostic anténatal de fœtus malformé non viable ne se conçoit que sous le couvert des lois de bioéthique.

CONCLUSION

Au terme de notre étude nous pouvons retenir que la pratique de l'amniocentèse était faible à Cotonou alors que la demande est permanente ; les indications étaient orientées essentiellement vers la recherche des mutations β S et β C de l'hémoglobine fœtale chez les couples à risque d'enfants drépanocytaires. L'innocuité de cette technique ne fait pas de doute; sa vulgarisation à Cotonou est une nécessité pour augmenter la performance du diagnostic anténatal de la drépanocytose. Le coût encore prohibitif pour nos patientes nécessite de réactiver la coopération entre pays du Nord et du Sud.

6. KERENYS TD., WALKER B. The preventability of “ Booding Taps” in second trimester amniocentesis by ultrasound scanning. *Obstet Gynecol* 1977; 50(1):61- 63.
7. MERGER R., LEVY J., MELCHIOR J. Amniocentèse. In *Précis d'Obstétrique*, 6è édition, année 1995, 31 – 32, 128 – 129.
- 8 .HERLICOVIEZ M., LEPORRIER N.,DURIN L.,DREYFUS M. Quels prélèvements foëtaux après marqueurs précoces anormaux ? In *Mises à Jour en Gynécologie et Obstétrique du Collège National des Gynécologues Obstétriciens Français*. Publiées par B. CARBONE. Diffusion Vigot- Paris 2003,T.XXVII, 35-48.
9. AKPOVO . Recherche de mutation bêta S et bêta C dans le liquide amniotique des gestantes à risque d'enfants drépanocytaires. Thèse de médecine, Cotonou. Année 2000 N° 032 ;
10. Aymé S., Julian C. Evaluation épidémiologique : le cas particulier du diagnostic prénatal. *Rev. Epidém. Santé Publ.* 1991, 39, S65-S73.
11. BOUE A. Médecine prénatale. In : *Biologie clinique du fœtus*. Editions Flammarion. Paris, Médecine-science, 1989 ; 21- 27
12. de Dinochin O. Diagnostic prénatal et handicap de l'enfant. In *L'homme de la bioéthique : entretien avec de Gentil - Baichis Y.* Edition Esclape, Desclee de Brouwer. Bruxelles 1999, 75 - 82.
13. Aite L, Trucchi A, Nahom A, Zaccara A, La Sala E, Bagolan P. Antenatal diagnosis of surgically correctable anomalies: effects of repeated consultations on parental anxiety. *J Perinatol* 2003, 23 (8) : 652 - 4.
14. GUERIN B., BAILEUX B. Elément d'échographie interventionnelle. In *Echographie en pratique obstétricale*. Editions Masson- Paris 199; 177 – 179.
15. BEGUE P. Diagnostic anténatal. In *La maladie drépanocytaire*. Editions Sandoz 1984 ; 42 - 47.

Remerciements. La contribution obtenue de l'Unité de Biologie Humaine de la FSS, de l'HOMEL et du Laboratoire de Génétique et Oncologie Moléculaire de l'Université Libre de Bruxelles avait motivé le consentement des couples. Nous saluons cette coopération agissante destinée à faire progresser la recherche scientifique au BENIN.