

Mesure de la clarté nucale dans le dépistage du syndrome de Down au premier trimestre

numéro 100 • juin 2007

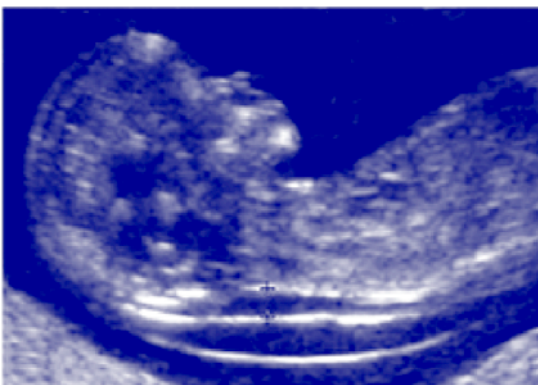
Sommaire

- ✓ Environ trois fœtus sur quatre atteints du syndrome de Down présentent une épaisseur de la clarté nucale (CN), c'est-à-dire une accumulation anormale de liquide sous la peau de la nuque.
- ✓ La mesure de la CN entre les 11^e et 14^e semaines de grossesse, combinée à l'âge maternel et aux niveaux des marqueurs sériques, peut permettre un taux de détection du syndrome de Down d'environ 84 %.
- ✓ La mesure précise de la CN est tributaire de la position du fœtus, de la technique de mesure, du type de logiciel de calcul de risque utilisé, et de l'expérience et de l'expertise du technologue en échographie.
- ✓ Un système rigoureux de normalisation et d'assurance de la qualité de la mesure de la CN doit être mis en place avant de pouvoir proposer l'échographie de la CN de manière universelle. Les coûts liés au lancement d'un tel programme n'ont pas été identifiés.

La technologie

L'embryon humain reçoit 22 chromosomes somatiques et un chromosome sexuel (X ou Y) de chaque parent. Parfois trois copies d'un chromosome sont présentes au lieu de deux (une condition appelée « trisomie »). La plus courante de ces conditions est la trisomie 21, appelée également le syndrome de Down, qui touche une naissance sur 700^{1,2}. Bien que la gravité des troubles varie d'une personne à l'autre, le syndrome de Down est généralement associé à un faciès caractéristique, à une déficience cognitive, aux cardiopathies, aux anomalies gastro-intestinales et musculo-squelettiques, aux fonctions visuelles et auditives restreintes, et aux problèmes liés à la thyroïde^{1,2}.

Lors du premier trimestre de la grossesse (0 à 14 semaines), une petite quantité de liquide s'accumule (un oedème) sous la peau de la nuque du fœtus avant d'être évacuée par la suite par le système lymphatique en maturation³⁻⁷. La clarté nucale (CN) (Figure 1) réfère à cet oedème, qui apparaît à l'échographie comme une espace translucide sous la peau de la nuque, visible jusqu'à la 14^e semaine de grossesse. Environ 75 % des fœtus atteints du syndrome de Down présentent une épaisseur de la CN, comme c'est souvent le cas des fœtus atteints d'autres formes de la trisomie⁸.



Fœtus de 12 semaines présentant une CN normale



Fœtus atteint de trisomie 21 avec une épaisseur de la CN

Avec la permission de Fetal Medicine
Foundation Canada

Depuis les années 1990, on se sert de la mesure de la CN pour faciliter la détection des fœtus atteints du syndrome de Down^{3,4}. La mesure est prise par échographie entre 11 et 13^{+6 jours} semaines, lorsque la longueur du fœtus du haut de la tête à la croupe se situe entre 45 mm et 84 mm (position assise)^{8,9}. L'épaisseur normale de la CN se situe généralement entre 1,2 mm et 1,9 mm (longueurs du haut de la tête à la croupe de 45 mm et 84 mm respectivement)⁶. Habituellement, la mesure de la CN fait partie du « test combiné », qui comprend le dosage des marqueurs sériques, la fraction libre de la β -hCG (bêta de l'hormone gonadotrophine chorionique), et l'épreuve PAPP-A (protéine A plasmatique associée à la grossesse)^{6,9-11}. Ce test de dépistage permettrait un taux de détection du syndrome de Down de 84 % (intervalle de confiance de 95 %, 80 % à 87 %) avec 5 % de résultats faux positifs (c'est-à-dire que 5 bébés sains sur 100 seraient erronément identifiés comme étant atteints du syndrome de Down)^{1,3,4,12,13}. Le test combiné n'identifie que les fœtus à risque plus élevé de syndrome de Down (ou de trisomie 13 ou 18). D'autres épreuves diagnostiques sont nécessaires pour confirmer le résultat du test de dépistage¹⁴.

Stade de la réglementation

Toute erreur de 0,5 mm dans la mesure de la CN peut réduire le taux de détection du syndrome de Down de 82 % à 67 %. Le technologue en échographie doit scanner au moins 80 fois avant d'obtenir de résultats précis et reproductibles^{8,15,16}. Par conséquent, le Fetal Medicine Foundation (FMF) au Royaume-Uni (FMF UK) et le Maternal-Fetal Medicine Foundation aux États-Unis, qui gère le Nuchal Translucency Quality Review Program, ont établi des lignes directrices en matière de mesure de la CN^{17,18}. Ces deux organismes proposent une formation, délivrent des titres et des certificats et permettent une assurance continue de la qualité.

Au Canada, Fetal Medicine International, désormais connu sous le nom de Fetal Medicine Foundation Canada (FMF Canada), propose des cours théoriques, une formation pratique et la vérification des images relatives à la mesure de la CN, sous les auspices de FMF UK¹⁹. Plus de 2 000 Canadiens ont achevé la formation de FMF Canada. Bien qu'une telle accréditation ne soit pas obligatoire pour les technologues en échographie faisant de la mesure de la

CN au Canada, elle est conseillée par la Société des obstétriciens et gynécologues du Canada (SOGC)²⁰.

Au Canada, on propose une échographie à toute femme enceinte entre la 18^e et 20^e semaine de grossesse afin de déceler des anomalies anatomiques majeures. Néanmoins, le dépistage au premier trimestre avec le test combiné n'est pas systématique^{14,20}. Au début de 2007, l'*American College of Obstetricians and Gynecologists* et la SOGC ont conseillé le dépistage du syndrome de Down non effractif au premier trimestre pour toute femme enceinte, sans égard à l'âge^{20,21}.

Groupe cible

Nulle grossesse n'est à l'abri d'une aneuploïdie. Les facteurs de risque connus sont l'âge avancé de la mère et la naissance précédente d'un enfant atteint^{1,2}. Même si la pourcentage de mères Canadiennes entre 30 et 39 ans a augmenté de 21,5 % en 1980 à 41,2 % en 1995, la prévalence du syndrome de Down reste à 13,2 cas pour 10 000 naissances². Celle-ci serait attribuable au nombre plus faible de bébés atteints du syndrome de Down nés aux femmes de plus de 35 ans grâce au dépistage accru et à l'accès à l'interruption de grossesse^{1,2}.

Pratique courante

Le prélèvement des villosités chorales (PVC) et l'amniocentèse servent à détecter les fœtus atteints du syndrome de Down et d'autres aneuploïdies. Le PVC est effectué au premier trimestre entre les 10^e et 14^e semaines de grossesse, tandis que l'amniocentèse est réalisée après 15,5 semaines de grossesse. Pour l'amniocentèse et le PVC transabdominal, une aiguille mince est insérée dans l'abdomen en vue de prélever du liquide amniotique ou du tissu placentaire, qui présentent habituellement les mêmes chromosomes que le fœtus. Dans le PVC transcervical, un échantillon du tissu placentaire est obtenu par le passage d'un cathéter à travers le col de l'utérus^{8,14}. Le risque d'avortement spontané dû à l'amniocentèse est de 0,5 % et de 1,5 % pour le PVC. Au Canada, jusqu'en 2007, le dépistage effractif des aneuploïdies n'a été proposé que lorsque le risque de porter un fœtus atteint du syndrome de Down était supérieur aux risques associés à l'intervention²⁰.

L'objectif du dépistage non effractif est de réduire le nombre de femmes subissant le dépistage effractif¹⁴.

Le triple dépistage, effectué généralement au deuxième trimestre entre les 15^e et 18^e semaines de grossesse, est la technique de diagnostic prénatal la plus courante en Amérique du Nord. Une évaluation des risques est effectuée selon l'âge de la mère et le dosage de trois substances dans le sang maternel : l'hCG, l'alphafoetoprotéine (l'AFP) et l'œstriol. Le triple dépistage permet de détecter entre 60 % et 70 % des cas de syndrome de Down avec 5 % de résultats faux positifs¹⁴. L'ajout d'un autre marqueur, l'inhibine A (hormone), est la base du quadruple dépistage, qui peut identifier 75 % des cas avec 5 % de résultats faux positifs^{14,20}. Normalement on propose une technique efficace de diagnostic aux femmes obtenant des résultats positifs au triple ou au quadruple dépistage afin de confirmer la représentation des chromosomes du fœtus (le caryotype).

Le triple dépistage et le quadruple dépistage ne détectent pas plus de 20 % des cas de syndrome de Down et sont effectués au deuxième trimestre lorsque l'interruption de grossesse comporte davantage de risques³. Le test combiné bénéficie d'un taux de détection de 16 % à 25 % plus élevé (avec 1 % à 5 % de résultats faux positifs) que le dépistage au deuxième trimestre, avec l'avantage supplémentaire de connaître les résultats plus tôt^{1,3,4,12,13}. Ceci donne plus de temps aux parents de choisir ou non le dépistage éfractif. En cas de confirmation du diagnostic de syndrome de Down par l'analyse du caryotype du fœtus, les parents peuvent choisir une interruption de grossesse précoce ou disposer de plus de temps pour préparer l'arrivée d'un bébé atteint du syndrome de Down.

Données probantes

Certains éléments pouvant réduire la précision d'une mesure de la CN ont été évalués de manière formelle.

La méthode delta contre les multiples de la médiane (MoM)

La détermination d'une épaisseur anormale de la CN implique le calcul d'une valeur delta, c'est-à-dire le différentiel entre la CN mesurée et la CN normale attendue à cette période de gestation. Une autre méthode, appelée les multiples de la médiane (MoM), s'applique aux résultats provenant d'analyses sanguines. Il s'agit du rapport entre la clarté mesurée et la valeur médiane spécifique à l'âge du marqueur biochimique lors de grossesses non atteintes^{8,9,20}. La

conversion de la mesure de la CN en donnée biochimique et en valeur MoM est contestée. Une étude portant sur 128 030 grossesses non atteintes par le syndrome de Down et sur 428 grossesses atteintes met cette conversion à l'épreuve²². Les méthodes MoM et delta ont permis des taux de détection généraux similaires, mais la méthode MoM a surestimé le risque à 11 semaines et a sensiblement sous-estimé le risque à 13 semaines.

Taille de l'image

Une étude de séries de cas prospective a examiné les incidences liées à l'utilisation de différentes tailles d'images ultrasonores dans la mesure de la CN²³. On a ajusté les 120 images réalisées pour que la tête et la nuque du fœtus occupent 60 %, 100 %, ou 200 % de l'écran. Il y avait une variation moyenne de 29 % dans la mesure de la CN lorsque le grossissement a été augmenté de 60 % à 200 %. La taille d'image à 100 % a donné un MoM qui s'approchait le plus au résultat idéal de 1,0. Une autre étude effectuée par le même groupe a analysé les incidences de la taille d'image sur l'évaluation individuelle des risques pour 350 femmes enceintes²⁴. En moyenne, la mesure de la CN a été 8 % plus faible avec l'image à 200 % qu'avec l'image à 100 %, probablement parce que les marges de l'image étaient plus floues et difficiles à délimiter sur une image plus grande. Par conséquent, il y avait une réduction de 55 % dans le nombre de femmes avec des résultats positifs au dépistage du syndrome de Down. Néanmoins, aucune de ces deux études n'ont étudié les effets de la taille d'image sur le taux de détection et certains ajustements conseillés par le FMF UK pour réduire la qualité floue des images ultrasonores n'ont pas été effectués²⁴.

Position du fœtus

Une étude de séries de cas sur 85 fœtus a conclu que leur position dans l'utérus (la tête vers le bas contre la tête vers le haut) n'a aucune incidence sur la mesure de la CN²⁵. Une autre étude de séries de cas a rapporté que la mesure de la CN a été plus élevée lorsque la nuque du fœtus était en hyperextension et plus faible lorsque qu'elle était en flexion par rapport à la position « indifférente »²⁶. Les mesures de la CN lorsque la nuque était en position indifférente avaient la plus grande reproductibilité.

Placement des callipers

Les méthodes les plus courantes de placement des callipers sur l'image ultrasonore sont «on-to-on» (c'est-à-dire que les deux callipers sont placés sur le bord intérieur des lignes blanches en marge de la CN) et «on-to-out» (un calliper est placé sur le bord intérieur d'une ligne blanche et l'autre est placé sur le bord extérieur de la ligne blanche opposée). Une étude comparant ces deux méthodes sur 282 fœtus a constaté une différence moyenne de 0,95 mm au niveau de la mesure (écart type de 0,14 mm). L'incidence de ces différences sur l'estimation des risques n'a pas été évaluée²⁷.

Logiciels

Les algorithmes et les logiciels utilisés dans le calcul des profils de risque ont une incidence sur les résultats. Une étude de séries de cas sur 94 femmes enceintes a montré des différences marquées en termes d'estimations numériques des risques produites par deux progiciels, FMF et Wallac-Perkin-Elmer, couramment utilisés dans le calcul des risques liés au syndrome de Down²⁸. Il y a eu des différences statistiquement significatives au niveau des rapports de vraisemblance pour les marqueurs biochimiques ($p=0,01$), les mesures de la CN ($p<0,0001$) et les deux paramètres ensemble ($p=0,003$). Cette étude n'a pas évalué l'incidence de ces différences sur le taux de détection.

Formation

L'épaisseur de la CN a été mesurée sur 161 fœtus par différentes équipes de technologues en échographie parmi un groupe de cinq technologues expérimentés en images ultrasonores de la CN et de quatre sans expérience²⁹. La mesure d'entente entre les technologues a varié de 0,83 à 0,95 pour ceux qui étaient expérimentés et de 0,47 à 0,83 pour les autres (1,0 représentant une entente absolue). Les valeurs s'étendaient de 0,74 à 0,95 pour les technologues expérimentés. Une paire de technologues sans expérience a obtenu un score de 0,51.

Une autre étude a évalué les mesures de CN et les résultats d'analyse sanguine pour 15 013 grossesses. Ces données ont été obtenues par 264 obstétriciens, dont un qui était un stagiaire au FMF¹⁰. Le stagiaire avait un taux de cas positifs de 4,4 % contre 3 % pour les autres. Les mesures de la CN ont été sous-estimées par les obstétriciens non

formés, surtout pour les valeurs plus basses, avec par conséquent un nombre plus élevé de résultats de dépistage négatifs. L'incidence de ces résultats sur les évaluations individuelles des risques n'a pas été rapportée. Une étude subséquente effectuée par le même groupe a vu des résultats similaires³⁰.

Effets indésirables

On estime que l'échographie, pratiquée sur des femmes enceintes depuis plus de 40 ans, est sécuritaire^{8,14,31}. Les risques associés à la mesure de la CN sont liés aux conséquences d'un résultat faux-positif. Ce dernier peut entraîner un dépistage effractif, mener à une interruption de grossesse et créer du stress psychologique. Un résultat faux-négatif peut donner une fausse assurance. L'autre inconvénient du dépistage au premier trimestre est que ces informations peuvent s'avérer inutiles cliniquement (même si elles peuvent servir lors d'une consultation génétique future) étant donné que jusqu'à 30 % des fœtus atteints du syndrome de Down font l'objet d'une fausse-couche^{8,14,31}.

Administration et coût

Le dépistage au premier trimestre au moyen du test combiné est plus rentable que le dépistage au deuxième trimestre³²⁻³⁴. Une formation appropriée, de l'expérience et le respect d'une norme et d'une technique reproductible sont nécessaires pour que la mesure de la CN soit un outil de dépistage fiable. Ceci implique un programme national de certification et de formation et un processus d'assurance de la qualité qui prend compte de la rétroaction^{4,7}. Aucune étude n'a évalué les défis administratifs ou les coûts associés à la mise sur pied d'un tel programme, qui pourrait avoir des répercussions importantes sur la rentabilité des tests fondés sur la mesure de la CN par échographie.

Activités dans le domaine

Des techniques automatisées d'immuno-essai rapide qui déterminent le dosage de PAPP-A et d'hCG en 30 minutes ont récemment été mises au point. Celles-ci ont permis l'établissement de cliniques uniques pour l'estimation des risques, appelées OSCAR, où les futurs parents peuvent recevoir les résultats d'analyse sanguine et de mesure de la CN lors de la même

visite. Le taux de détection du syndrome de Down dans les cliniques OSCAR est de 92 %^{8,35}.

On étudie l'examen par ultrason du nez du fœtus comme autre indicateur potentiel de la trisomie car on a constaté un sous-développement de l'os nasal de la plupart des fœtus atteints du syndrome de Down⁸. Une technique expérimentale prometteuse implique l'extraction d'acides nucléiques fœtales ou placentaires du sang maternel et la recherche d'aneuploïdes dans ceux-ci^{36,37}.

Taux d'utilisation

L'écographie du fœtus entre la 18^e et la 20^e semaine de gestation est une pratique établie au Canada et cette technologie a été adoptée de manière générale. Le principal facteur déterminant l'utilisation du test combiné est la disponibilité de technologues en écographie qualifiés³. D'ailleurs, malgré les recommandations de sociétés professionnelles à l'appui du dépistage au premier trimestre pour toute femme enceinte, sans égard à l'âge, certaines femmes plus jeunes pourraient renoncer au dépistage étant convaincues d'être à faible risque^{20,38}.

Questions d'implantation

Les données probantes montrent que la précision de la mesure de la CN est tributaire de la position du fœtus, de la technique de mesure, du type de logiciel de calcul de risque utilisé et de la formation, de l'expérience et de l'expertise du technologue en écographie. On ne connaît pas l'incidence de ces variables sur l'estimation des risques qui se basent en partie sur l'épaisseur de la CN. Des écarts de mesure pourraient être réduits si le dépistage de la CN par écographie est soumis au même système rigoureux de normalisation et d'assurance de la qualité qui s'applique aux analyses de laboratoire⁷. La vérification continue est primordiale étant donné qu'au fil du temps, les technologues en écographie qualifiés sont enclins à adopter des techniques erronées qui ne peuvent être corrigées qu'avec une rétroaction personnelle approfondie^{15,39}.

Les lignes directrices de la SOGC stipulent qu'on ne devrait proposer le test combiné que dans le cadre d'un programme extensif qui comprend la consultation génétique, l'accès au dépistage plus effractif pour les femmes ayant des résultats positifs,

et les technologues en écographie dûment qualifiés qui respectent les normes et sont soumis à une vérification de rendement régulière^{20,21}. Un tel programme est nécessaire avant de pouvoir proposer l'écographie de la CN de manière universelle.

Références

1. Reddy UM, et al. *Obstet Gynecol* 2006;107(1):167-73.
2. Santé Canada. *Les anomalies congénitales au Canada. Rapport sur la santé périnatale, 2002*. Ottawa: Ministère des travaux publics et des services gouvernementaux Canada; 2002. Cat no H39-641/2002F. Accessible au : http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/cac-acc02/pdf/acc2002_f.pdf
3. Harry WG, et al. *J Soc Gynecol Investig* 2006;13(3):153-4.
4. Wapner RJ. *Semin Perinatol* 2005;29(4):236-9.
5. Haak MC, et al. *Hum Reprod Update* 2003;9(2):175-84.
6. Souter VL, et al. *J Ultrasound Med* 2001;20(7):775-90.
7. Brigatti KW, et al. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2004;31(1):v, 1-v,20.
8. Nicolaidis KH. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191(1):45-67.
9. D'Alton ME, et al. *Semin Perinatol* 2005;29(6):380-5.
10. Gyselaers WJ, et al. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004;24(5):511-5.
11. Cuckle H. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2001;13(2):175-81.
12. Cuckle H, et al. *Semin Perinatol* 2005;29(4):252-7.
13. Makrydimas G, et al. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189(5):1330-5.
14. Berry S, et al. *First trimester prenatal testing for Down syndrome using nuchal translucency* [Rapport d'évaluation de la technologie]. Bloomington: Institute for Clinical Systems Improvement; 2002 Apr. TA # 61. Accessible au : http://www.icsi.org/technology_assessment_reports_-_active/ta_first_trimester_prenatal_testing_for_down_syndrome_using_nuchal_translucency.html
15. Snijders RJ, et al. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002;19(4):353-9.

16. Evans M, et al. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191(6):S175.
17. *Nuchal translucency quality review program*. Washington: Maternal-Fetal Medicine Foundation; 2007. Accessible au : <https://www.ntqr.org/SM/default.aspx>
18. *Fetal Medicine Foundation*. London: The Foundation; 2007. Accessible au : <http://www.fetalmedicine.com/f-fmf.htm>
19. *Fetal Medicine International*. Markham (ON): Fetal Medicine International; 2007. Accessible au : http://www.mfmedicine.com/phys_train2.aspx
20. Summers AM, et al. *J Obstet Gynaecol Can* 2007;(187):146-61.
21. ACOG Practice Bulletin No. 77: screening for fetal chromosomal abnormalities. *Obstet Gynecol* 2007;109(1):217-27.
22. Spencer K, et al. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003;22(2):142-8.
23. Edwards A, et al. *Prenat Diagn* 2003;23(4):284-6.
24. Teoh M, et al. *BJOG* 2006;113(4):479-81.
25. de Graaf, I, et al. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000;15(6):520-2.
26. Whitlow BJ, et al. *Br J Obstet Gynaecol* 1998;105(8):872-6.
27. Herman A, et al. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000;15(2):126-30.
28. Van Heesch PN, et al. *J Perinat Med* 2006;34(2):162-5.
29. Pajkrt E, et al. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000;15(4):297-301.
30. Gyselaers WJ, et al. *J Med Screen* 2006;13(1):4-7.
31. Framarin A. *Dépistage prénatal du syndrome de Down et d'autre aneuploïdies au premier trimestre de la grossesse*. Montréal: Agence d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé; 2003. Accessible au : http://www.aetmis.gouv.qc.ca/site/fr_down.phtml
32. Cusick W, et al. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188(3):745-51.
33. Kott B, et al. *J Am Coll Cardiol* 2004;1(6):415-21.
34. Caughey AB, et al. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187(5):1239-45.
35. Bahado-Singh RO, et al. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2004;16(2):177-81.
36. Dhallan R, et al. *Lancet* 2007;369(9560):474-81.
37. Lo YM, et al. *Nat Med* 2007;13(2):218-23.
38. Snijders R, et al. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2002;14(6):577-85.
39. Herman A, et al. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999;14(6):388-92.

Citer comme suit : Scott A. *Mesure de la clarté nucale dans le dépistage du syndrome de Down au premier trimestre* [Notes sur les technologies de la santé en émergence, numéro 100]. Ottawa: Agence canadienne des médicaments et des technologies de la santé; 2007.

L'ACMTS assume l'entière responsabilité de la forme finale et du contenu de ce bulletin. Les opinions exprimées dans ce bulletin sont celles de l'ACMTS et ne représentent pas forcément celles de ses membres de comités consultatifs et de ses examinateurs.

L'ACMTS remercie les examinateurs externes qui ont eu l'obligeance de commenter les versions précédentes de ce bulletin. Examineurs : **Jo-Ann Johnson, MD, FRCS**, Université de Calgary, **David Chitayat, MD**, Université de Toronto.

La production de ce rapport a été rendue possible par l'apport financier de Santé Canada et des gouvernements d'Alberta, de la Colombie-Britannique, du Manitoba, du Nouveau Brunswick, de la Terre-Neuve-et-Labrador, des Territoires du Nord-Ouest, de la Nouvelle-Écosse, du Nunavut, de l'Ontario, de la Saskatchewan et du Yukon. L'Agence canadienne des médicaments et des technologies de la santé assume l'entière responsabilité de la forme finale et du contenu de ce rapport. Les opinions exprimées dans ce rapport ne représentent pas forcément celles du Santé Canada ou de gouvernements provinciaux ou territoriaux.

ISSN 1488-6332 (en ligne)
ISSN 1486-2972 (imprimée)
CONVENTION DE LA POSTE-PUBLICATIONS NO 40026386
RETOURNER TOUTE CORRESPONDANCE NE POUVANT
ÊTRE LIVRÉE AU CANADA À
AGENCE CANADIENNE DES MÉDICAMENTS ET
DES TECHNOLOGIES DE LA SANTÉ
600-865 AVENUE CARLING
OTTAWA ON K1S 5S8