

Arbre décisionnel : caryotypes sur villosités chorales

Chap 1 : définition et vocabulaire

Chap 2 : différents types de discordances foeto-placentaires

Chap 3 : Rendu d'un examen direct

Chap 4 : limite de l'interprétation du cytotrophoblaste

Chap 5 : risque de contamination maternelle du prélèvement de villosités chorales

Chap 6 : arbres décisionnels en fonction des différentes stratégies utilisées dans le laboratoire

Chap 7 : cas particuliers

Bibliographie

Chapitre 1 : définition et vocabulaire

On distingue *l'examen direct* = avant culture et *l'examen après culture*, quel que soit le tissu étudié.

Au niveau des villosités chorales, on distingue **2 types de tissus** :

- Le cytotrophoblaste et le syncytiotrophoblaste, qui s'individualise dès le début (vers J3) du développement à partir des cellules ovulaires
- Le mésenchyme qui s'individualise au cours de la 2^e semaine du développement à partir de l'épiblaste primitif seul tissu à l'origine de l'ensemble des tissus embryonnaires

Différents *examens de cytogénétique* peuvent être réalisés sur villosités chorales :

- Le caryotype standard ou conventionnel
- Le caryotype moléculaire (ACPA)
- La FISH
- Autres techniques moléculaires (Q-PCR, BoBs...)

Tous ces examens peuvent être appliqués « en direct » ou « après culture » ; cependant le tissu (cytotrophoblaste / mésenchyme) exploré n'est pas le même :

- Le caryotype en direct explore uniquement le cytotrophoblaste.
- Tous les autres examens cytogénétiques en direct explorent le cytotrophoblaste, le syncytiotrophoblaste et le mésenchyme, donc une mosaïque de ces 3 tissus ; l'échantillon peut être « enrichi » en mésenchyme par un traitement enzymatique des villosités chorales, mais ce traitement n'élimine pas les tissus cyto et syncytiotrophoblastiques.
- Après culture, tous les examens de cytogénétique (caryotype, ACPA, FISH, Q-PCR, BoBs...) explorent le mésenchyme.

Recommandation

La technique utilisée doit être notée sur le compte-rendu.

Chapitre 2 : différents types de discordances fœto-placentaires

On distingue 6 types de discordances fœto-placentaires selon la présence ou non d'une anomalie chromosomique (homogène ou en mosaïque) dans les différents tissus.

Elles représentent 1 à 2% des caryotypes sur villosités choriales et la fréquence des différents types varie selon les publications.

Type de discordance	Cytotrophoblaste	Mésenchyme	Liquide amniotique	Répartition des différents types de discordances d'après Grati et al 2006
I	Anormal	Normal	Normal	40%
II	Normal	Anormal	Normal	40%
III	Anormal	Anormal	Normal	7%
IV	Anormal	Normal	Anormal	1%
V	Normal	Anormal	Anormal	6%
VI	Anormal	Anormal	Anormal	6%

Chapitre 3 : Rendu d'un examen direct

Recommandation

Un examen en direct devra être réalisé permettant de donner un premier résultat sous 24 à 48H.

Si la technique habituelle utilisée dans le laboratoire ne permet pas de réaliser un examen direct, l'utilisation d'une autre technique devra être envisagée. Une procédure de hiérarchisation des techniques directes est recommandée.

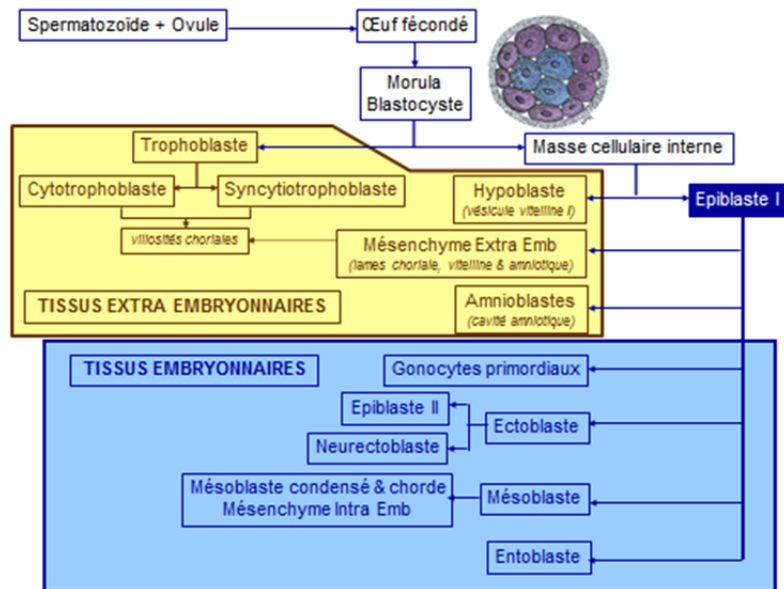
Un compte rendu de l'examen en direct doit être établi quel que soit le résultat, (y compris en cas de résultat normal, d'échec technique ou d'impossibilité de réaliser un examen en direct), sauf accord préalable avec le prescripteur.

Un commentaire stipulant que le caryotype ne sera complet qu'après l'établissement du caryotype (conventionnel ou moléculaire) sur mésenchyme doit figurer sur le résultat de l'examen direct.

Exemple de commentaire : Ce caryotype en direct a été obtenu à partir de cellules cytotrophoblastiques et doit être complété par le caryotype des cellules issues des cultures en cours.

Chapitre 4 : limite de l'interprétation du cytotrophoblaste

D'un point de vue embryologique, le cytotrophoblaste est plus éloigné des tissus fœtaux que le mésenchyme qui provient, comme tous les autres tissus fœtaux, de l'épiblaste primitif.



Recommandation

Un examen sur cytotrophoblaste devra toujours être accompagné d'une étude sur mésenchyme pour que le résultat du caryotype fœtal soit complet et définitif.

En cas de quantité insuffisante d'échantillon, le choix de la technique est laissé à l'appréciation du biologiste.

L'examen sur cytotrophoblaste doit être *interprété avec prudence* à cause du risque de discordance fœto-placentaire, en particulier dans les cas suivants :

- 1- Anomalie gonosomique autre que la monosomie X avec hyperclarté nucale
- 2- Mosaïque
- 3- Anomalie de structure déséquilibrée, hors remaniement parental
- 4- Anomalie non compatible avec le contexte clinique
- 5- Nombre insuffisant de mitoses étudiées

Recommandation

Dans ces cas, le résultat de l'examen sur cytotrophoblaste sera rendu avec un commentaire approprié invitant éventuellement, en fonction du contexte clinique, à attendre le caryotype (conventionnel ou moléculaire) sur mésenchyme pour conclure. Si besoin, un deuxième prélèvement sur liquide amniotique pourra être demandé d'emblée ou après le résultat du caryotype sur mésenchyme.

Chapitre 5 : risque de contamination maternelle du prélèvement de villosités chorales

Le risque de contamination d'un prélèvement de villosités chorales par du tissu ou des cellules d'origine maternelle est constant et variable selon les publications pouvant aller jusqu'à 3%, voir beaucoup plus dans certains cas.

Afin d'exclure une contamination maternelle en cas de résultat XX sans anomalie, différentes méthodes peuvent être proposées :

- a. Examen sur cytotrophoblaste
- b. Recherche d'une contamination maternelle par des examens moléculaires sur le tissu étudié
- c. Réalisation d'un dossier de validation prouvant l'absence de risque de contamination pouvant modifier le résultat du caryotype. Ce dossier devra comprendre un nombre suffisant d'échantillons, le mode de formation de la personne réalisant le tri, une description précise des méthodes de tri et des critères d'acceptation de l'échantillon. Il sera associé à un préleveur ou une équipe de préleveur.

Recommandation

Ne pas rendre un caryotype XX sans anomalie sans avoir éliminé une contamination par une des méthodes suscitées.

En cas d'impossibilité de contrôler l'absence de contamination maternelle par une des méthodes suscitées, un commentaire approprié devra le mentionner.

Exemple de commentaire : Devant un caryotype XX sans anomalie, en absence d'examen direct, une contamination du prélèvement par des cellules maternelles ne peut être exclue.

Autre exemple de commentaire : Devant un caryotype XX sans anomalie et en absence d'une recherche spécifique par un examen moléculaire, une contamination du prélèvement par des cellules maternelles ne peut être exclue.

Chapitre 6 : arbres décisionnels en fonction des différentes stratégies utilisées dans le laboratoire

On distingue 2 stratégies :

- Une des 2 stratégies consiste en la réalisation d'un examen direct sur cytotrophoblaste (caryotype) et une culture sur mésenchyme (caryotype ou ACPA).
- L'autre stratégie consiste à la réalisation d'un examen direct sur cytotrophoblaste et cellules mésenchymateuses (FISH, BOBS, Q-PCR, ...), ou sur préparation « enrichie » en mésenchyme associée à une culture sur mésenchyme (caryotype ou ACPA).

Quel que soit la stratégie, il est bon de tracer dans le dossier la qualité du prélèvement reçu.

1^{er} cas : examen direct sur cytotrophoblaste (caryotype) et une culture sur mésenchyme (caryotype ou ACPA)

1^{er} cas : Cytotrophoblaste avec absence d'anomalie sur 12 mitoses (caryotype)

- a- Mésenchyme : absence d'anomalie
⇒ Rendre un résultat normal
- b- Mésenchyme : présence d'une anomalie chromosomique
⇒ Noter sur le compte rendu qu'un deuxième prélèvement sur un autre tissu est à discuter

2^{ème} cas : Anomalie chromosomique autre que celles citées dans le chapitre 4) sur cytotrophoblaste :

- a- Mésenchyme : confirmation de l'anomalie chromosomique
⇒ Rendre le résultat anormal
- b- Mésenchyme : discordance avec le résultat sur cytotrophoblaste
⇒ Noter sur le compte rendu qu'un deuxième prélèvement sur un autre tissu est à discuter

3^{ème} cas : échec des techniques directes sur cytotrophoblaste et des techniques moléculaires directes

- a- Mésenchyme : 46,XY sur 20 mitoses
⇒ Rendre le caryotype
- b- Mésenchyme : 46,XX (ou anomalie chromosomique identique à celle de la mère) sur 20 mitoses
⇒ Mettre un commentaire disant que la contamination ne peut être exclue ou faire une recherche moléculaire de contamination maternelle (voir chap 5)
- c- Anomalie chromosomique concordante avec le contexte clinique sur 20 mitoses
⇒ Rendre l'anomalie chromosomique
- d- Anomalie chromosomique non concordante avec le contexte clinique ou mosaïque ou anomalie de structure déséquilibrée hors remaniement parentaux ou nombre insuffisants de mitoses ou noyaux
⇒ Noter sur le compte rendu qu'un deuxième prélèvement sur un autre tissu est à discuter

4^{ème} cas : anomalies chromosomiques citées dans le chapitre 4 sur les techniques directes ou après culture

- ⇒ Discuter du risque de discordance foeto-placentaire et de la nécessité d'un contrôle sur liquide amniotique

2^{ème} cas : examen moléculaire en direct (FISH, BOBS, Q-PCR, ...), ou sur préparation « enrichie » en mésenchyme, associée à une culture sur mésenchyme (caryotype ou ACPA)

1^{er} cas : examen direct avec absence d'anomalie

- a- Mésenchyme : absence d'anomalie
 - ⇒ Vérifier en cas de caryotype XX sans anomalie l'absence de contamination maternelle du mésenchyme (voir chap 5) ou mettre un commentaire stipulant qu'une contamination ne peut être exclue et rendre un résultat normal
- b- Mésenchyme : présence d'une anomalie chromosomique non recherchée à l'examen direct
 - ⇒ Noter sur le compte rendu qu'un deuxième prélèvement sur un autre tissu est à discuter ou s'il existe, reprendre le culot pour la réalisation d'un caryotype sur cytotrophoblaste
- c- Mésenchyme : discordance avec l'examen direct
 - ⇒ Noter sur le compte rendu qu'un deuxième prélèvement sur un autre tissu est à discuter

2^{ème} cas : Anomalie chromosomique autre que celles citées dans le chapitre 4) sur examen direct

- a- Mésenchyme : confirmation de l'anomalie chromosomique
 - ⇒ Rendre le résultat anormal
- b- Mésenchyme : discordance avec le résultat sur direct
 - ⇒ Noter sur le compte rendu qu'un deuxième prélèvement sur un autre tissu est à discuter

3^{ème} cas : échec des techniques directes

- a- Mésenchyme : 46,XY sur 20 mitoses
 - ⇒ Rendre le caryotype
- b- Mésenchyme : 46,XX (ou anomalie chromosomique identique à celle de la mère) sur 20 mitoses
 - ⇒ Mettre un commentaire disant que la contamination ne peut être exclue ou faire une recherche moléculaire de contamination maternelle (voir chap 5)
- c- Anomalie chromosomique concordante avec le contexte clinique sur 20 mitoses
 - ⇒ Rendre l'anomalie chromosomique
- d- Anomalie chromosomique non concordante avec le contexte clinique ou mosaïque ou anomalie de structure déséquilibrée hors remaniement parentaux ou nombre insuffisants de mitoses ou noyaux
 - ⇒ Noter sur le compte rendu qu'un deuxième prélèvement sur un autre tissu est à discuter ou s'il existe, reprendre le culot du cytotrophoblaste

4^{ème} cas : anomalies chromosomiques citées dans le chapitre 4 sur les techniques directes ou après culture

⇒ Discuter du risque de discordance foeto-placentaire et de la nécessité d'un contrôle sur liquide amniotique

Chapitre 7 : cas particuliers

Trisomie 16 en mosaïque :

Il s'agit le plus souvent d'une anomalie confinée au placenta associée à 70% d'issues de grossesse défavorables à type de mort fœtale intra-utérine, retard de croissance intra-utérin, éclampsie... (R.J. Gardner, G. Sutherland, 4^{ème} édition)

Recommandation

Sa découverte doit être associée à une recommandation d'un suivi obstétrical accru.

Une confirmation sur un liquide amniotique de la trisomie 16 est à discuter.

Trisomie 2 en mosaïque :

Il s'agit en général d'une anomalie chromosomique confinée au placenta

Recommandation

Sa découverte ne doit pas être confirmée sur un liquide amniotique. Seule une surveillance échographique est préconisée

Mosaïque :

Recommandation

Devant une mosaïque tissulaire, une mosaïque confinée au placenta doit être évoquée et, le cas échéant, après confrontation clinico-biologique un contrôle sur liquide amniotique peut être proposé

Les mosaïques confinées au placenta peuvent correspondre à une correction postzygotique d'une trisomie d'origine méiotique.

Recommandation

La recherche d'une disomie uniparentale sur un liquide amniotique doit être discutée en cas de mosaïque confinée au placenta impliquant un chromosome soumis à empreinte

Anomalie de structure

Recommandation

Ne rendre le résultat que s'il existe une concordance entre l'anomalie de structure sur le caryotype en direct et le caryotype après culture ou moléculaire (en cas de déséquilibre). Sinon proposer une confirmation sur un prélèvement de liquide amniotique

Anomalie gonosomique autre que l'anneaux de l'X

Recommandation

En cas de discordance entre le caryotype en direct et le caryotype après culture ou moléculaire, proposer une surveillance échographique à la recherche d'une ambiguïté sexuelle et en absence de cette dernière, prévoir un contrôle du caryotype en post-natal

Bibliographie

Cytogenetic follow-up of chromosomal mosaicism detected in first-trimester prenatal diagnosis.

Battaglia P, Baroncini A, Mattarozzi A, Baccolini I, Capucci A, Spada F, Pompili E, Pittalis MC.

Prenat Diagn. 2014

Confirmation of mosaicism and uniparental disomy in amniocytes, after detection of mosaic chromosome abnormalities in chorionic villi.

Grati FR, Grimi B, Frascoli G, Di Meco AM, Liuti R, Milani S, Trotta A, Dulcetti F, Grosso E, Miozzo M, Maggi F, Simoni G

Eur J Hum Genet. 2006 Mar;14(3):282-8.

European collaborative research on mosaicism in CVS (EUCROMIC)--fetal and extrafetal cell lineages in 192 gestations with CVS mosaicism involving single autosomal trisomy.

Hahnemann JM, Vejerslev LO.

Am J Med Genet. 1997 May 16;70(2):179-87.

Detection of chromosome aneuploidies in chorionic villus samples by multiplex ligation-dependent probe amplification.

Kooper AJ1, Faas BH, Feuth T, Creemers JW, Zondervan HH, Boekkooi PF, Quartero RW, Rijnders RJ, van der Burgt I, van Kessel AG, Smits AP.

J Mol Diagn. 2009 Jan;11(1):17-24.