

*COLLÈGE NATIONAL
DES GYNÉCOLOGUES ET OBSTÉTRICIEUS FRANÇAIS
Président : Professeur J. Lansac*

**Extrait des
Mises à jour
en Gynécologie
et Obstétrique**

—

**Tome XXXIII
publié le 9.12.2009**



*TRENTE-TROISIÈMES JOURNÉES NATIONALES
Paris, 2009*

Biopsie de trophoblaste

N. WINER, S. SCHMITT, F. AUBRON, C. LE VAILLANT, H.J. PHILIPPE *
(Nantes)

Résumé

La biopsie de trophoblaste est un geste invasif prénatal qui associe simplicité, rapidité tant sur le geste technique que sur le délai des résultats, et qui de plus présente un faible risque infectieux. Sa faisabilité est proche de 100 % si on sait parfois différer le geste de quelques jours. L'expérience de l'opérateur conditionne non seulement les suites obstétricales mais aussi la qualité du prélèvement qui permettra à l'équipe de cytogénétique une performance optimale dans les résultats. Nous décrivons une des techniques opératoires possibles que nous réalisons depuis 25 ans à Nantes avec des suites simples et une quantité de villosités choriales abondante. Les gestes sont réalisés dans une salle exclusivement dédiée au diagnostic prénatal. Cette technique peut être utilisée dans la recherche d'anomalies chromosomiques, de génopathies mendéliennes incluant notamment certaines maladies métaboliques par mesure de l'activité

* Centre de diagnostic prénatal de Nantes

Praticiens associés : C. Le Caignec, J.M. Rival, M. Boceno, Y. Caroit, M. Yvinec

Sages-femmes DAN : C. Georgelin et N. Banaszkievicz

CHU Nantes - Service de gynécologie-obstétrique et unité de cytogénétique - 44093 Nantes

enzymatique ou dosage biochimique. La supériorité de la BT par voie transabdominale par rapport à l'amniocentèse ultra-précoce (avant 14 SA) est prouvée par des essais. Cette dernière doit être bannie de la pratique prénatale tout comme la BT par voie transcervicale, compte tenu de l'incidence supérieure de métrorragies et de fausses couches. Le risque de pertes fœtales par rapport à l'amniocentèse est peut-être un peu plus élevé, mais ce sur-risque semble lissé lorsque la BT est pratiquée dans des centres ou avec des opérateurs ayant une expertise et une activité régulière du diagnostic prénatal.

Mots clés : biopsie de trophoblaste transabdominale, diagnostic prénatal premier trimestre

INTRODUCTION

La biopsie de trophoblaste est un geste invasif prénatal qui associe simplicité, rapidité technique et rapidité des résultats, et qui présente un faible risque infectieux. Sa faisabilité est proche de 100 % si on sait parfois différer le geste de quelques jours. L'expérience de l'opérateur conditionne non seulement les suites obstétricales mais aussi la qualité du prélèvement qui permettra à l'équipe de cytogénétique une performance optimale dans les résultats.

TECHNIQUE

Sur le plan technique, le principe est très proche de celui d'une amniocentèse. Les mêmes précautions d'asepsie sont à respecter. Une attention aussi grande est portée à la situation des anses digestives car le risque maternel rare des gestes prénatals n'est pas nul [1].

Certaines équipes réalisent ces gestes en salle d'échographie, ce n'est ni notre pratique ni notre recommandation. Il nous semble indispensable que les équipes qui réalisent quotidiennement des gestes prénatals bénéficient d'une salle de prélèvement dédiée à ces gestes. Aucun prélèvement n'est abordé totalement sereinement par les futures mamans et en cas de complications obstétricales, les opérateurs doivent

pouvoir fournir la preuve qu'une information adéquate a été donnée, que les opérateurs sont expérimentés comme tout geste médical d'ailleurs et que les conditions de réalisation sont exempts de reproches potentiels.

Préparation de la table chirurgicale :

- déterSION cutanée abdominale,
- badigeon chirurgical,
- champ stérile fenêtré,
- sac de protection stérile pour la sonde d'échographie,
- gel de contact stérile,
- milieu de transport adéquat,
- 10 ml de Xylocaïne® à 1 % non adrénalinée pour l'AL,
- 2 seringues à usage unique : 1 de 20 ml pour l'aspiration du trophoblaste, 1 de 10 ml pour AL,
- 1 aiguille à IM pour la réalisation de l'AL,
- 1 aiguille de prélèvement (18 ou 20 G) ou de type Blache CCD fenêtrée, de longueur adaptée qui a notre préférence,
- matériel d'aspiration permettant la dépression de l'aiguille, soit pince métallique soit à usage unique,
- un pansement sec.

Un repérage du trophoblaste est fait sur une grossesse évolutive (l'activité cardiaque du fœtus est confirmée avant tout geste). Une anesthésie locale à la Xylocaïne® à 1 % est réalisée au niveau de la paroi abdominale puis doucement descendue au niveau de la séreuse utérine en faisant attention de ne pas mettre de Xylocaïne® dans le placenta, source d'arrêt du cœur fœtal. L'échographie doit repérer une large zone de trophoblaste loin des anses. L'aiguille, « rincée » préalablement avec le milieu de transport, est introduite dans le trophoblaste sous contrôle échographique permanent. Une seringue de 20 ml, contenant du milieu de culture, est adaptée à l'aiguille lorsque celle-ci est en place. La dépression dans la seringue est ensuite obtenue, soit manuellement, en tirant sur le piston, soit par l'intermédiaire d'un appareil adapté à la seringue en métal, plastique ou à usage unique. Pour un certain nombre d'opérateurs, la mise en place d'un prolongateur sur l'aiguille facilite le maintien de la dépression, qui sera alors réalisé par un collaborateur. Une fois la dépression obtenue, l'aiguille décrit dans le trophoblaste une dizaine de mouvements aller et retour, de va-et-vient et de rotations sur elle-même. L'aiguille est retirée en maintenant la dépression si on est certain que les villosités sont montées en abondance dans la seringue, sinon on laisse l'aiguille en place et on

vérifie la quantité de villosités dans la seringue pour éviter de piquer deux fois. L'examen extemporané à l'œil nu permet de vérifier qu'il s'agit bien de villosités choriales en quantité abondante. Le matériel prélevé correspond habituellement à 10-20 mg. Une pince à biopsie décrite historiquement par l'équipe du Pr Dumez n'est plus beaucoup utilisée. Dans ce dernier cas, l'introduction première d'un trocart de 13 G est nécessaire ; le mandrin est ensuite retiré pour laisser la place à la pince à biopsie. Après le prélèvement, un contrôle échographique de l'activité cardiaque est fait devant la patiente avec un repos le jour même. Il n'y a pas d'arrêt de travail prescrit systématiquement. Les anti-D restent recommandés en cas de Rhésus négatif maternel si le conjoint est RH+.

INDICATIONS DU DIAGNOSTIC PRÉNATAL CYTOGÉNÉTIQUE

Le diagnostic prénatal des anomalies chromosomiques implique un prélèvement dont la qualité est nécessaire pour permettre une réponse fiable. En effet, la nécessité d'un examen direct et d'une mise en culture nécessite une quantité suffisamment abondante. À chaque fois qu'un prélèvement est proposé, une analyse de la balance « bénéfices-risques » doit être évaluée, en analysant si l'anomalie potentielle est susceptible de modifier la prise en charge obstétricale ou périnatale, par rapport au risque de perte fœtale. Il faut de plus tenir compte du risque d'échec technique et celui d'un résultat parfois non attendu dans la consultation préalable au diagnostic prénatal invasif que la loi a rendu obligatoire. Le diagnostic prénatal par ponction ou biopsie de villosités choriales au premier trimestre de la grossesse est une alternative aux techniques traditionnelles du deuxième trimestre. En 2007, 7 014 biopsies ont été réalisées, ce qui représente environ 7,34 % de l'ensemble des prélèvements (source : Agence de la biomédecine). Réalisée aux alentours de la 12^e semaine d'aménorrhée (12 SA), son intérêt majeur est d'obtenir un résultat dans des délais inférieurs et à un terme plus précoce que ceux d'une amniocentèse. Ce type de prélèvement permet également de rassurer précocement les patientes et de minimiser les complications obstétricales et psychologiques d'une interruption médicale de la grossesse lorsque cette éventualité se présente.

Cette technique peut être utilisée dans la recherche d'anomalies chromosomiques et de génopathies mendéliennes incluant notamment certaines maladies métaboliques par mesure de l'activité enzymatique ou dosage biochimique.

Par ordre de fréquence, le caryotype fœtal constitue le principal examen réalisé sur villosités choriales. Dans notre expérience au CHU de Nantes, cette ponction est limitée aux indications pour lesquelles la probabilité de trouver une anomalie chromosomique est forte. Elle est donc principalement réservée aux signes d'appel échographiques du premier trimestre de grossesse. À ce terme, la mise en évidence d'une augmentation de l'épaisseur de la clarté nucale, d'un hygroma kystique ou d'une omphalocèle justifie cette ponction. La caractérisation d'un syndrome polymalformatif, d'un anasarque ou d'anomalies des membres à 12 SA peuvent également rentrer dans ce cadre.

En dehors d'une démarche purement diagnostique, la ponction peut également être réalisée au décours d'une interruption médicale de grossesse pour compléter le dossier médical bien que l'indication d'un caryotype fœtal ne soit pas forcément fondée, en raison d'une rentabilité diagnostique faible. C'est le cas notamment devant une malformation congénitale du système nerveux central (anencéphalie, exencéphalie...).

Bien qu'une biopsie de trophoblaste avec réalisation d'un caryotype fœtal pouvait théoriquement être indiquée pour un âge maternel supérieur ou égal à 38 ans et l'existence d'antécédent pour le couple de grossesse avec caryotype anormal, elle est en général peu pratiquée dans ces situations. Cette indication qu'est l'âge maternel est devenue caduque et est remplacée par une notion de risque ($> 1/250$). L'amniocentèse était alors l'examen de choix compte tenu du rendu tardif du résultat des marqueurs sériques du 2^e trimestre. Dans le cas d'une indication posée sur une anomalie chromosomique de structure de l'un des parents (à l'exception d'une translocation robertsonnienne), il est conseillé d'avoir connaissance de l'anomalie chromosomique engendrée et de s'assurer que celle-ci soit diagnosticable à l'examen direct dont on connaît la moins grande résolution.

Dorénavant, le dépistage combiné au premier trimestre va se généraliser progressivement, associant la mesure de la clarté nucale et les marqueurs sériques maternels du premier trimestre (Pregnancy-Associated Plasma Protein A, sous-unité bêta de l'hCG) [décret juin 2009], qui aboutira à un nombre accru de prélèvements par biopsie de villosités choriales.

L'analyse du caryotype fœtal sur villosités choriales peut montrer une discordance entre le résultat de l'examen direct et celui obtenu à

la culture, réalisant par définition une mosaïque chromosomique [2]. Elle est détectée dans 1 à 2 % des procédures. Le mosaïcisme peut être confiné (au placenta ou au fœtus) ou généralisé (présent à la fois dans le placenta et le fœtus). Dans la plupart des cas, il s'agit d'un mosaïcisme confiné au placenta, impliquant de manière récurrente certains chromosomes (ex : trisomie 16). La mise en évidence de ces discordances fœtoplacentaires (entre direct et culture) peut parfois nécessiter une vérification sur liquide amniotique. Dans le cas de certaines trisomies retrouvées à l'examen direct et non retrouvées après culture, il existe un risque de disomie uniparentale (UDP) due à une correction postzygotique. Une recherche par biologie moléculaire peut parfois être effectuée lorsqu'il s'agit d'un chromosome soumis à l'empreinte parentale.

La biopsie de trophoblaste peut être également utile dans le diagnostic moléculaire d'une génopathie mendélienne. La quantité abondante d'ADN présente dans ce tissu permet un diagnostic relativement aisé, ne nécessitant pas systématiquement de culture cellulaire. Dans le cadre d'antécédents familiaux, le choix de la biopsie de trophoblaste s'impose en général devant un risque de récurrence élevé. Dans la majorité des cas, une méthode directe peut être utilisée. Elle implique de connaître la mutation familiale et concerne de nombreuses pathologies, comme par exemple la mucoviscidose, la dystrophie myotonique de Steinert ou la myopathie de Duchenne. Parfois, on doit recourir à une méthode indirecte reposant sur l'étude de marqueurs polymorphes lorsque la mutation familiale n'est pas connue ou lorsque le gène a été localisé mais pas isolé.

Tout comme le caryotype, des problèmes d'interprétation dans le cadre de pathologies moléculaires sont spécifiquement liés au prélèvement de villosités chorales. L'absence totale ou partielle de la méthylation de l'ADN sur le chromosome X inactif dans les villosités chorales (tissu extra-embryonnaire) est connue depuis longtemps [3-5]. Il n'existe pas de parfaite corrélation entre le profil de méthylation des villosités chorales et des tissus fœtaux. En cas de diagnostic prénatal du syndrome de l'X-fragile, l'étude de la méthylation peut ainsi être non informative [6]. Cette particularité peut poser des difficultés dans certaines circonstances. En effet, la mise en évidence d'une grande expansion « apparemment » non méthylée sur un ADN extrait à partir d'une villosité chorale peut correspondre soit à une grande prémutation sans conséquence phénotypique, soit à une mutation complète dont la méthylation n'a pas pu être encore détectée à ce terme mais qui aura pour conséquence un phénotype « classique » de syndrome de l'X-fragile. La mise en évidence d'une grande expansion non méthylée

peut correspondre également à un profil d'un fœtus de sexe masculin avec mutation complète non méthylée. En effet, bien que l'expansion des triplets CGG au-delà des 200 répétitions s'accompagne généralement d'une hyperméthylation du promoteur du gène FMR1 (mutation complète), des patients présentant des allèles non méthylés au-delà de 200 CGG ont déjà été décrits avec un phénotype bien moins sévère [7-9]. Le diagnostic prénatal de syndrome de l'X-fragile sur villosité choriale peut donc parfois être difficile. Il semble indispensable d'en informer la patiente et de lui expliquer qu'il peut nécessiter un nouveau prélèvement par amniocentèse pour conclure.

Enfin, le diagnostic prénatal par ponction de villosités choriales permet le diagnostic sur examen direct de nombreuses maladies métaboliques héréditaires avec un délai inférieur à celui d'une amniocentèse. Ces diagnostics sont basés sur la mesure d'une activité enzymatique ou le dosage biochimique de certains métabolites. Il nécessite la présence d'un échantillon contrôle pour valider et interpréter correctement le résultat.

PERTES FŒTALES APRÈS BIOPSIE DE TROPHOBLASTE

La biopsie de trophoblaste (BT) longtemps diabolisée en raison du risque augmenté de fausses couches par rapport à l'amniocentèse est aujourd'hui démontrée comme plus sûre et moins dangereuse que l'amniocentèse ultra-précoce avant 14 SA. En effet, si tous les critères de qualité sont respectés, le risque de complications sur le fœtus (malpositions des pieds, fausses couches) y est plus faible [10-12]. Si le risque global reste globalement assez mal évalué compte tenu du manque criant de groupe contrôle et de randomisation [13], la supériorité et la sécurité supérieure de la BT par rapport à l'amniocentèse ultra-précoce sont prouvées par des essais randomisés [14], contre-indiquant cette procédure (amniocentèse ultra-précoce) avec un niveau de preuve de grade A. Si l'on compare les données de la littérature sur le taux de pertes fœtales entre l'amniocentèse classique et la BT, les chiffres (sur une population de 10 000 BT *versus* 31 000 amniocentèses sur 20 ans de procédure et avec caryotype normal) initialement très en défaveur de la BT (3,12 % *versus* 0,83 %, soit OR 4,23 ; IC 95 % ; 2,29-7,81) dans les années 1980-90 semblent maintenant très rassurants et comparables pour les deux gestes sur les dernières années (1,03 ; IC 95 % ; 0,23-4,52) [15]. Cette notion est

confirmée par d'autres séries avec groupe contrôle. En effet, lorsque l'on compare 5 000 procédures avec un taux de 3,3 % de pertes fœtales (avant 24 SA) avec 4 900 grossesses sans geste invasif où le taux de pertes fœtales est de 2,7 % (RR 0,80 ; IC 95 % ; 0,64-1,0), la différence de pertes est de - 0,6 % sans atteindre le seuil statistiquement significatif de 5 %. Les sous-groupes où le nombre d'insertions est ≥ 2 , des saignements observés, un âge maternel < 25 ans ainsi qu'un terme avant 10 SA augmentent significativement le risque [16].

Le taux de pertes fœtales probablement très légèrement supérieur des BT par rapport aux amniocentèses classiques [17] semble surtout être en rapport avec l'expertise de l'opérateur, et le terme de la procédure [18, 19] qui est plus précoce que l'amniocentèse.

Une étude de pratique récente au Royaume-Uni montre que la majorité des praticiens de médecine fœtale privilégie pour les BT la voie transabdominale et une anesthésie locale. Pour le choix de l'aiguille, des variations individuelles plus importantes que pour l'amniocentèse existent, mais la préférence irait vers une aiguille de 18 G [20].

CONCLUSION

La BT est une technique sûre et sécuritaire dans des mains entraînées, nécessitant une file active de patientes suffisante et régulière comme toute procédure médicochirurgicale. Tabor *et al.* ou encore Alfirevic [19, 21] osent dans des publications récentes ouvrir le débat sur la centralisation de ce type de prélèvements dans des centres de médecine fœtale et donnent des chiffres de 136 procédures annuelles au moins pour assurer aux patientes une prise en charge optimale, ce qui signifie que même dans la plupart des unités de médecine fœtale, le nombre d'opérateurs devrait ainsi être limité à un ou deux. Les auteurs relativisent cependant ces hypothèses qui risquent d'effrayer les patientes (et les médecins). On sait que l'expertise est multifactorielle, mais le nombre de procédures reste néanmoins un élément clé et, il faudra certainement être capable de démontrer une formation théorique (DIU échographie et médecine fœtale) ainsi qu'une file active régulière de patientes. Le Royal College of Obstetricians and Gynaecologists (RCOG) donne le chiffre plutôt faible de 10 procédures par an comme seuil minimal par opérateur en deçà duquel le taux de pertes fœtales est supérieur, avec recommandation formelle pour les

opérateurs d'assurer le recueil des issues de grossesse, ce qui d'ailleurs est exigé pour les CPDPN dans leur rapport annuel d'activité. Ce type de recommandations existe déjà pour la chirurgie pelvienne et la cancérologie. Les enjeux des centres de formations dans les CHU seraient plutôt de diffuser ces procédures par la formation des jeunes internes en possession de DIU d'échographie et de médecine fœtale. La dernière décennie a vu la pratique du diagnostic prénatal se généraliser comme un droit des couples mettant l'éthique et les réflexions sur le sujet parfois au second plan... Gageons que celui-ci ne se fera pas au détriment des patientes et que l'avenir verra progressivement se généraliser le développement de techniques non invasives par prélèvement de sang maternel ouvrant d'ores et déjà des perspectives nouvelles mais aussi des craintes potentielles...

Bibliographie

- [1] Winer N, David A, Leconte P, Aubron F, Rogez JM, Rival JM, Pinaud M, Roze JC, Boog G. Amniocentesis and amnioinfusion during pregnancy. Report of four complicated cases. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001;10(100):108-11.
- [2] Kalousek DK, Dill FJ. Chromosomal mosaicism confined to the placenta in human conceptions. *Science* 1983;12(221):665-7.
- [3] Oberle I, Rousseau F, Heitz D, Kretz C, Devys D, Hanauer A, Boue J, Bertheas M, Mandel J. Instability of a 550-base pair DNA segment and abnormal methylation in fragile X syndrome. *Science* 1991;24(252):1097-1102.
- [4] Sutherland GR, Gedeon A, Kornman L, Donnelly A, Byard RW, Mulley JC, Kremer E, Lynch M, Pritchard M, Yu S et al. Prenatal diagnosis of fragile X syndrome by direct detection of the unstable DNA sequence. *N Engl J Med* 1991 Dec;12(325):1720-2.
- [5] Devys D, Biancalana V, Rousseau F, Boué J, Mandel JL, Oberlé I. Analysis of full fragile X mutations in fetal tissues and monozygotic twins indicate that abnormal methylation and somatic heterogeneity are established early in development. *Am J Med Genet* 1992;43:208-16.
- [6] Castellví-Bel S, Milà M, Soler A, Carrió A, Sánchez A, Villa M, Jiménez MD, Estivill X. Prenatal diagnosis of fragile X syndrome: (CGG)_n expansion and methylation of chorionic villus samples. *Prenat Diagn* 1995;15:801-7.
- [7] Hagerman RJ, Hull CE, Safanda JF, Carpenter I, Staley LW, O'Connor RA, Seydel C, Mazzocco MM, Snow K, Thibodeau SN et al. High functioning fragile X males: demonstration of an unmethylated fully expanded FMR-1 mutation associated with protein expression. *Am J Med Genet* 1994;15(51):298-308.
- [8] Wöhrle D, Salat U, Gläser D, Mücke J, Meisel-Stosiek M, Schindler D, Vogel W,

- Steinbach P. Unusual mutations in high functioning fragile X males: apparent instability of expanded unmethylated CGG repeats. *J Med Genet* 1998;35:103-11.
- [9] Tassone F, Hagerman RJ, Loesch DZ, Lachiewicz A, Taylor AK, Hagerman PJ. Fragile X males with unmethylated, full mutation trinucleotide repeat expansions have elevated levels of FMR1 messenger RNA. *Am J Med Genet* 2000;18(94):232-6.
- [10] Sundberg K, Bang J, Smidt-Jensen S, Brocks V, Lundsteen C, Parner J, Keiding N, Philip J. Randomised study of risk of fetal loss related to early amniocentesis versus chorionic villus sampling. *Lancet* 1997;350:697-703.
- [11] Nikkilä A, Valentin L, Thelin A, Jörgensen C. Early amniocentesis and congenital foot deformities. *Fetal Diagn Ther* 2002; 17:129-32.
- [12] Alfirevic Z. WITHDRAWN: Early amniocentesis versus transabdominal chorion villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;18(3):CD000077. Review.
- [13] Mujezinovic F, Alfirevic Z. Procedure-related complications of amniocentesis and chorionic villous sampling: a systematic review. *Obstet Gynecol* 2007;110:687-94
- [14] Philip J, Silver RK, Wilson RD et al, and NICHD EATA Trial Group. Late first-trimester invasive prenatal diagnosis: results of an international randomized trial. *Obstet Gynecol* 2004;103:1164-73.
- [15] Caughey AB, Hopkins LM, Norton ME. Chorionic villus sampling compared with amniocentesis and the difference in the rate of pregnancy loss. *Obstet Gynecol* 2006;108: 612-6.
- [16] Odibo AO, Dicke JM, Gray DL, Oberle B, Stamilio DM, Macones GA, Crane JP. Evaluating the rate and risk factors for fetal loss after chorionic villus sampling. *Obstet Gynecol* 2008;112:813-9.
- [17] Alfirevic Z, Sundberg K, Brigham S. Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2004;CD003252.
- [18] Brambati B, Tului L. Chorionic villus sampling and amniocentesis. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2005;17:197-201.
- [19] Tabor A, Vestergaard CHF, Lidegaard Ø. Fetal loss rate after chorionic villus sampling and amniocentesis: an 11-year national registry study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009;34:19-24.
- [20] Carlin AJ, Alfirevic Z. Techniques for chorionic villus sampling and amniocentesis: a survey of practice in specialist UK centres. *Prenat Diagn* 2008;28:914-9.
- [21] Alfirevic Z. Who should be allowed to perform amniocentesis and chorionic villus sampling? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; 34:12-3.
- [22] Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Amniocentesis and Chorionic Villus Sampling. Guideline N° 8. RCOG Press: London, 2005 <http://www.rcog.org.uk/files/rcogcorp/uploadedfiles/GT8AminiocentesisChorionicVillus2005.pdf>.