



COLLOQUE
ATC

ASSOCIATION DES TECHNICIENS
EN CYTOGÉNÉTIQUE

29 & 30
SEPTEMBRE
2022

Centre de Rencontres
Internationales et de Séjour
DIJON



Utilisation de la FISH pour la détection de microchimérisme materno-foetal

Résultats et perspectives

Boris DMITRENKO et Vincent GATINOIS

Jean-Pierre MOLES, Philippe VANDE PERRE, Franck PELLESTOR

29/09/2022





Microchimérisme :

2 populations de cellules d'origines génétiques
distinctes, présentes au sein d'un même individu

Plusieurs mécanismes :

- **transfert transplacentaire**
- transfusion
- greffes
- jumeaux
- ...

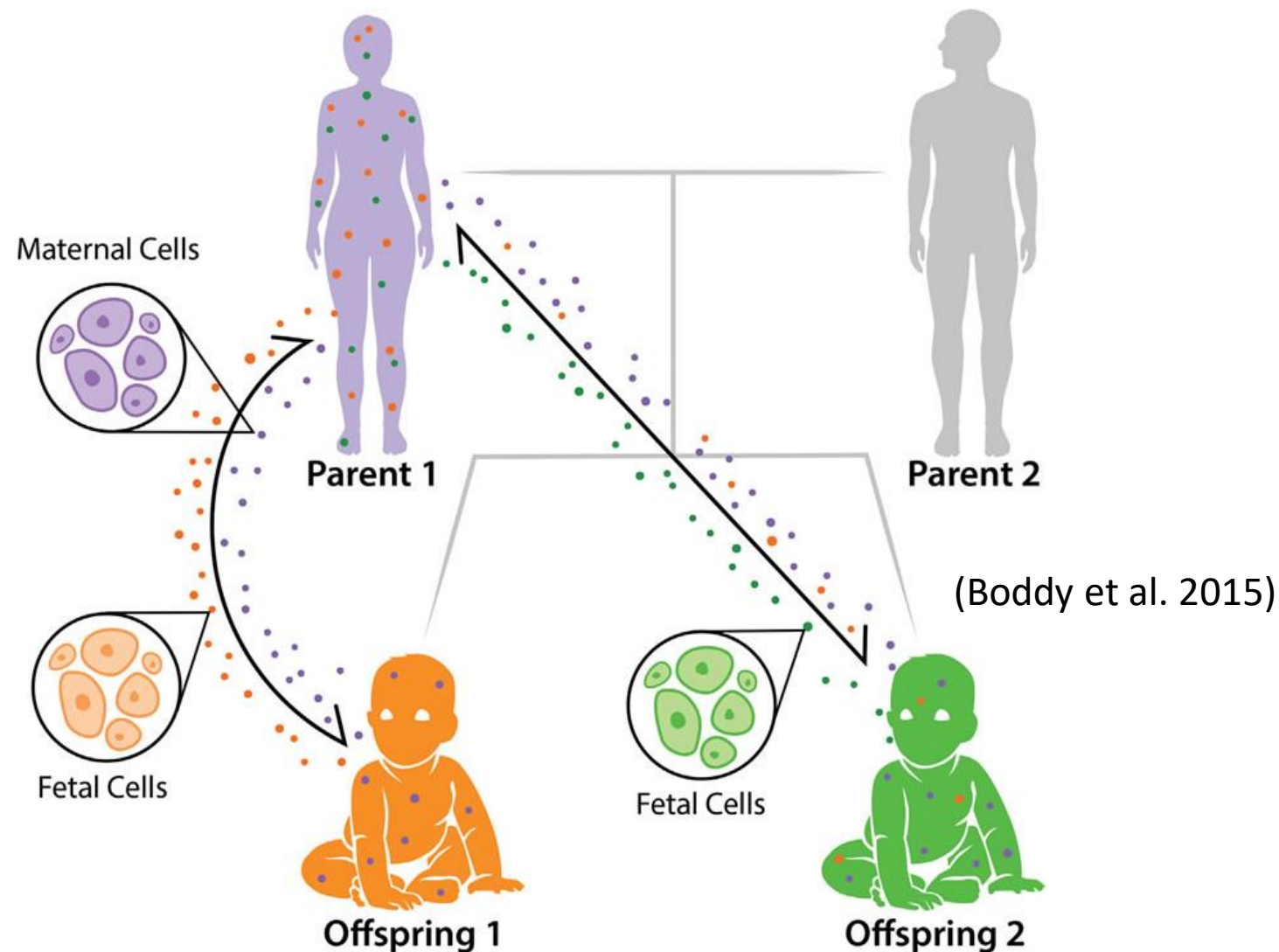


Fréquence des cellules
microchimériques chez l'Humain :

**N'est pas clairement
établie à ce jour**

Etudes suggèrent :

- ✓ 1/3000 à 1/5000 cellules
- ✓ 0,3-1 cellule/mm² de tissus



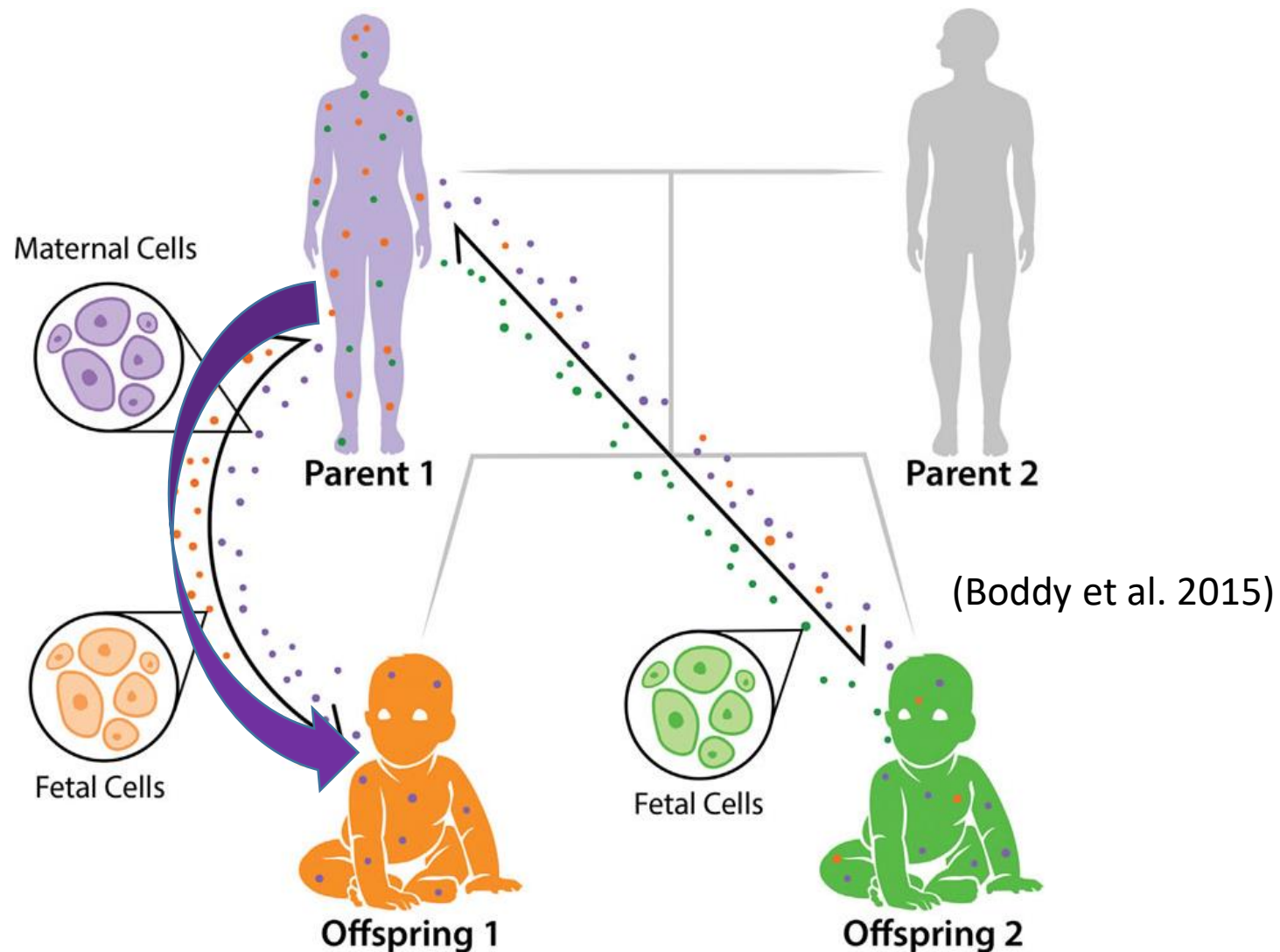


Fréquence des cellules
microchimériques chez l'Humain :

**N'est pas clairement
établie à ce jour**

Etudes suggèrent :

- ✓ 1/3000 à 1/5000 cellules
- ✓ 0,3-1 cellule/mm² de tissus



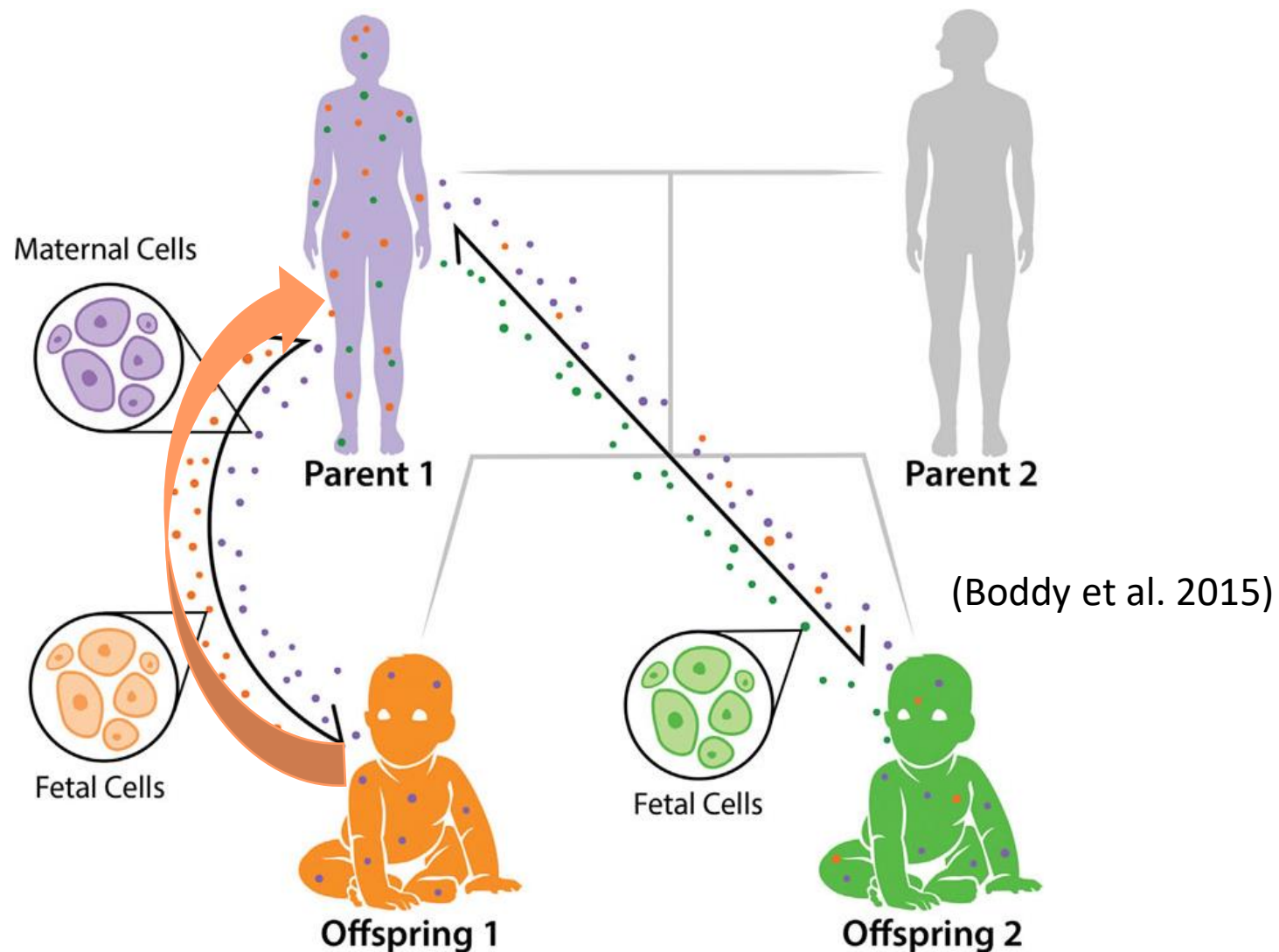


Fréquence des cellules
microchimériques chez l'Humain :

**N'est pas clairement
établie à ce jour**

Etudes suggèrent :

- ✓ 1/3000 à 1/5000 cellules
- ✓ 0,3-1 cellule/mm² de tissus





Fréquence des cellules
microchimériques chez l'Humain :

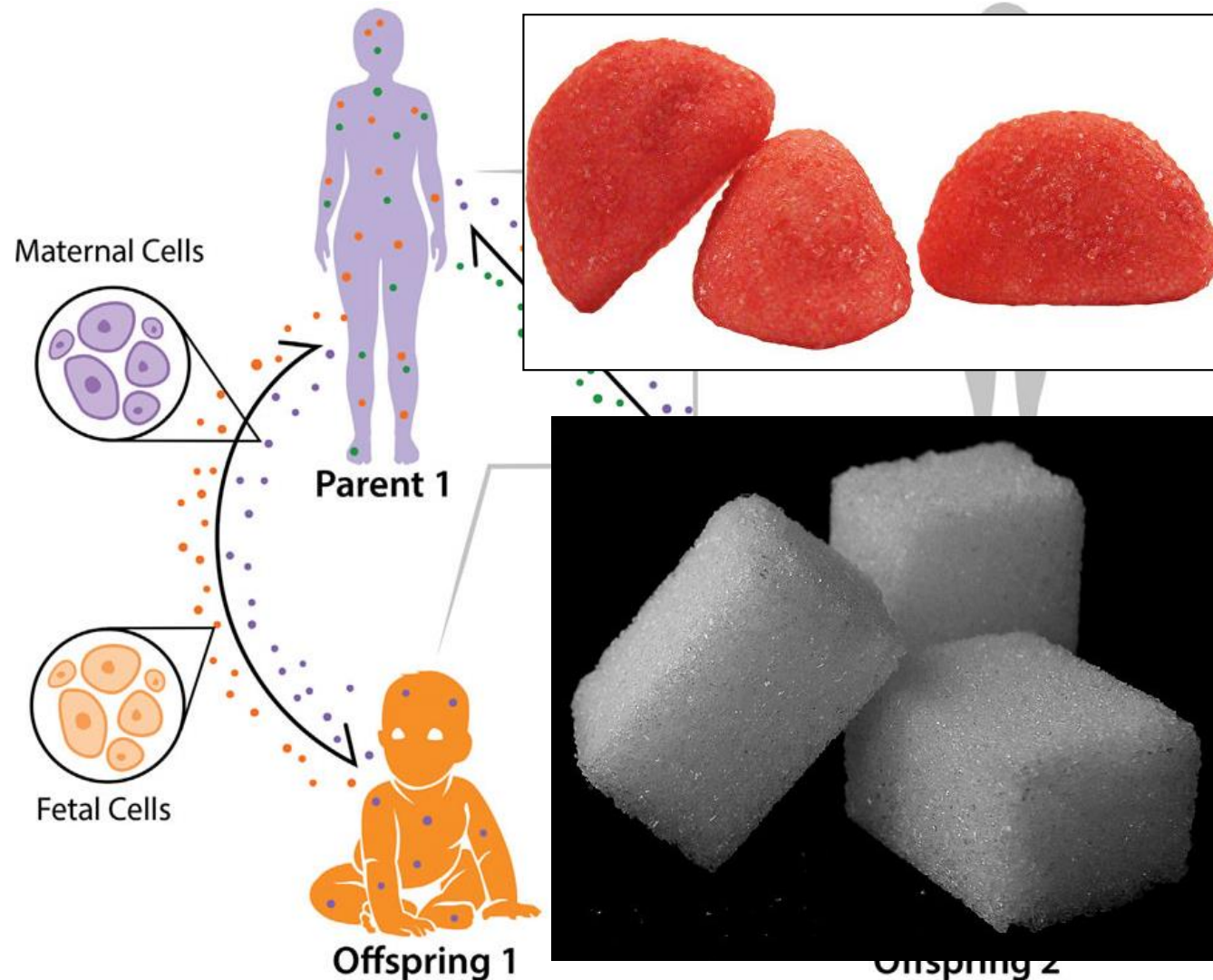
**N'est pas clairement
établie à ce jour**

Etudes suggèrent :

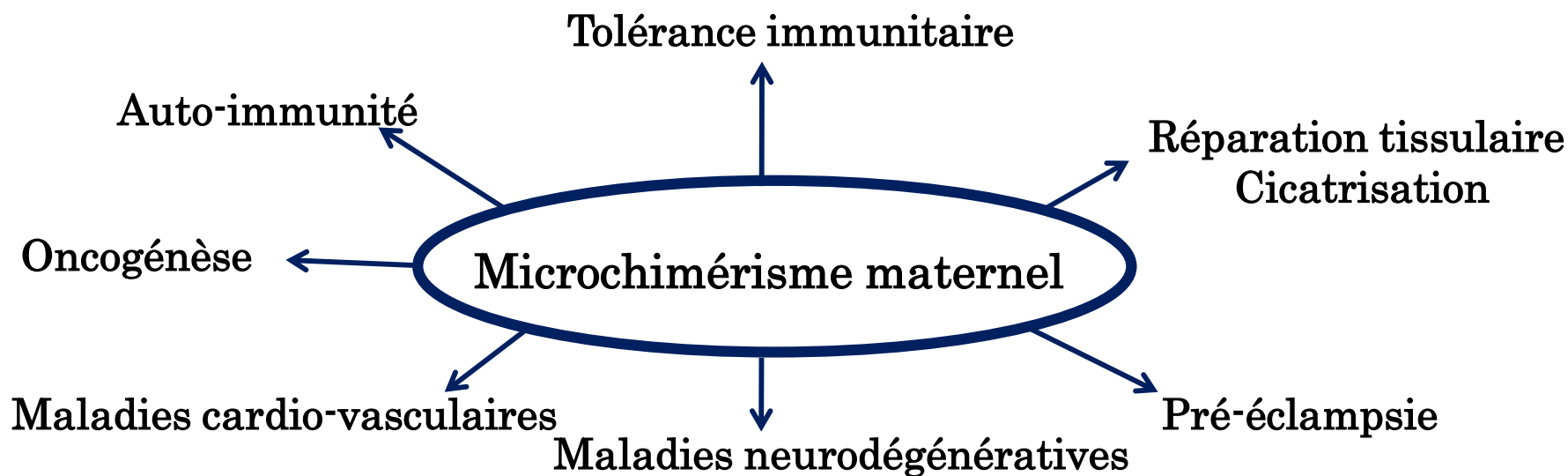
- ✓ 1/3000 à 1/5000 cellules
- ✓ 0,3-1 cellule/mm² de tissus

Pour un adulte de 70 kg :

15 gr



2015)



Effets :
Bénéfiques VS **Délétères**

(Boddy et al. 2015)





COLLOQUE
ATC

ASSOCIATION DES TECHNICIENS
EN CYTOGÉNÉTIQUE

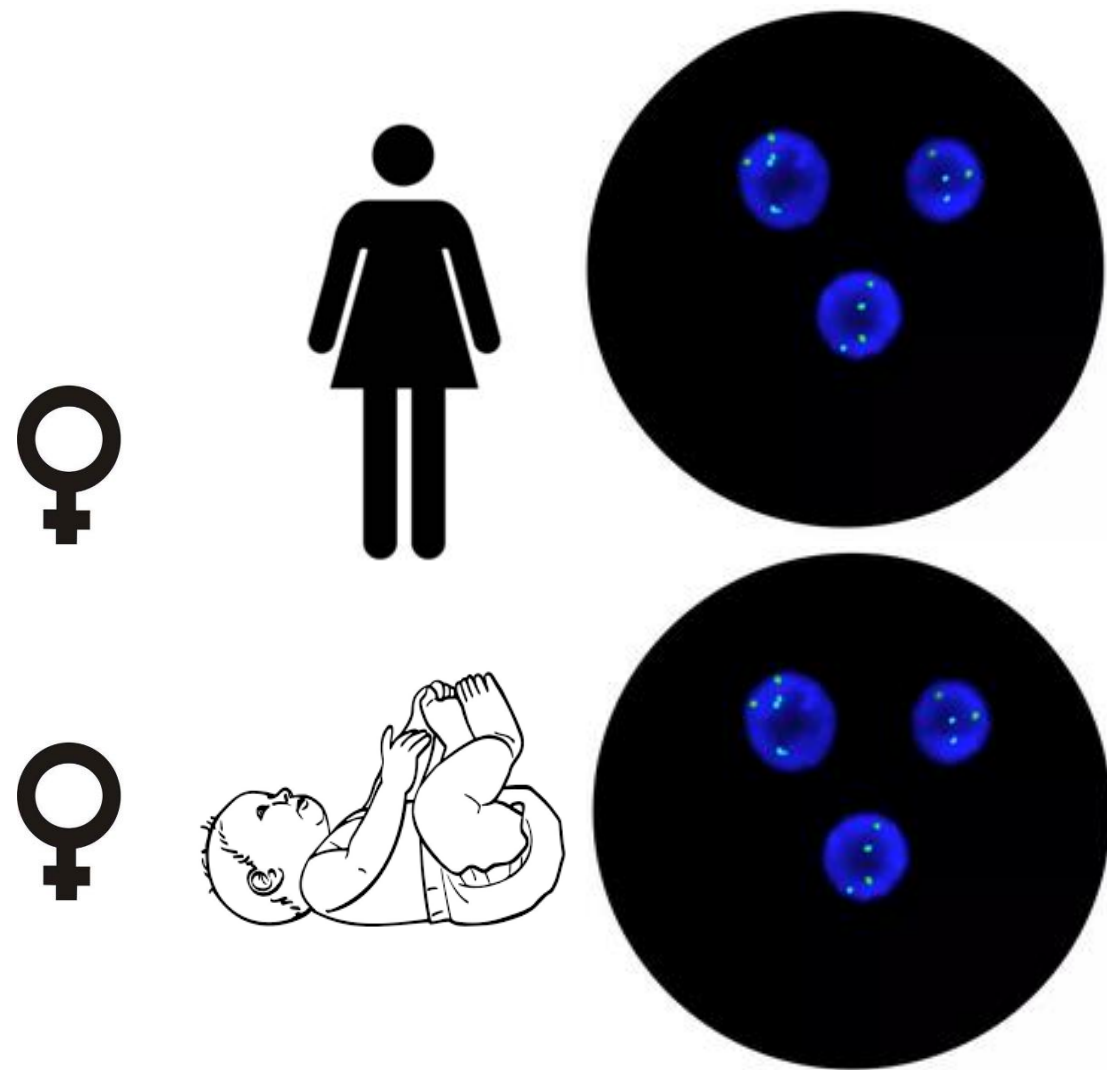
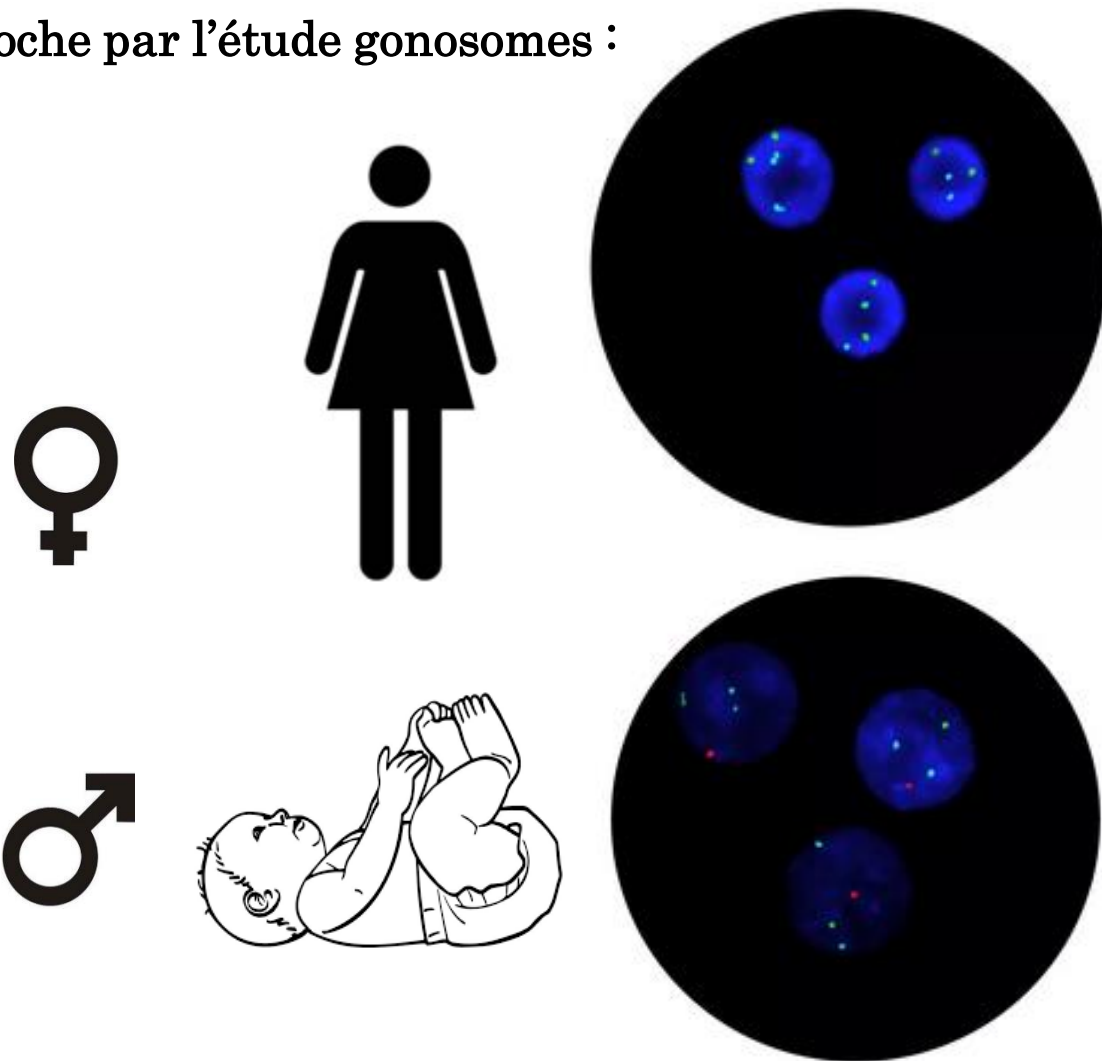
29 & 30
SEPTEMBRE
2022

Centre de Rencontres
Internationales et de Séjour

DIJON

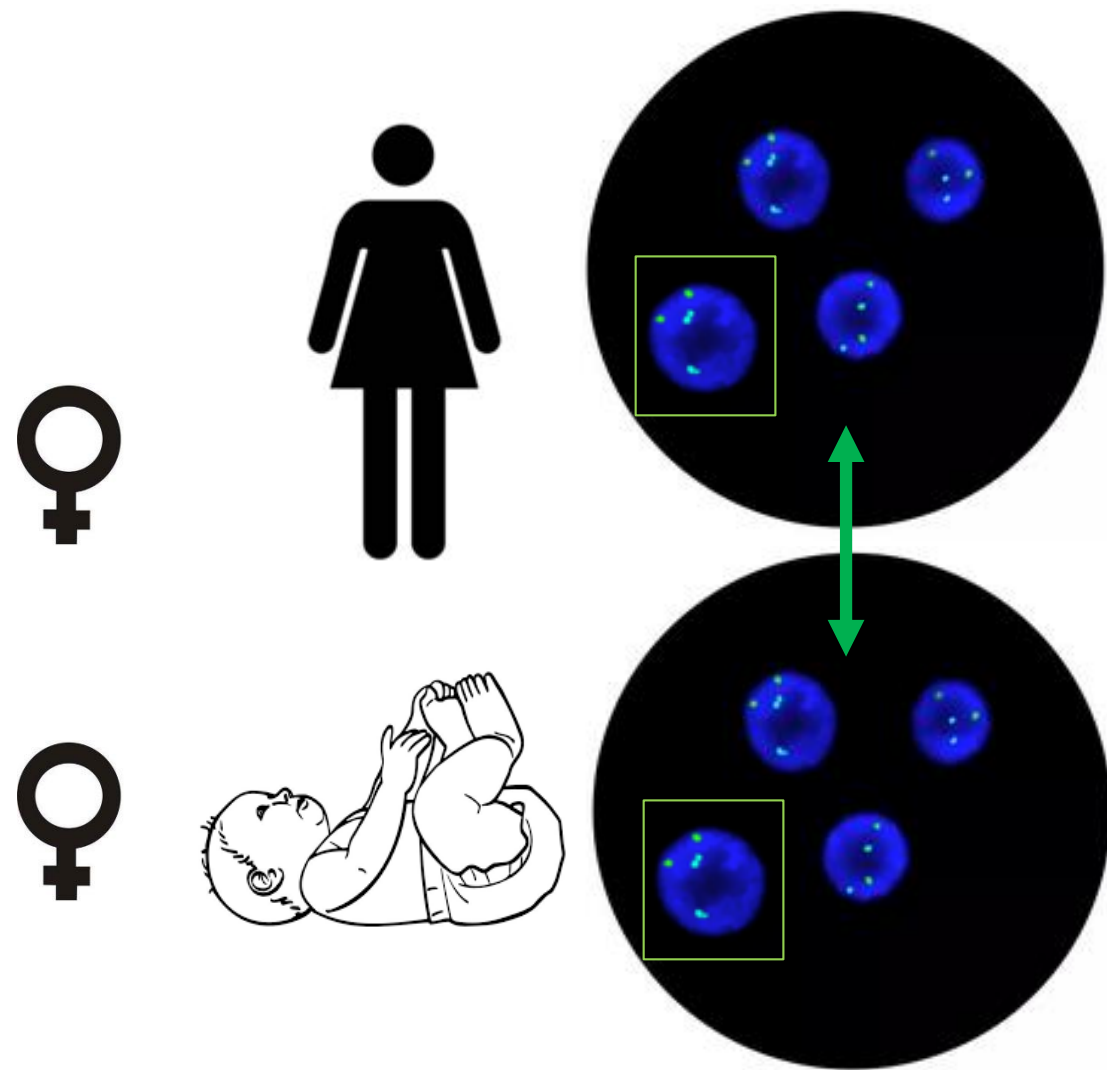
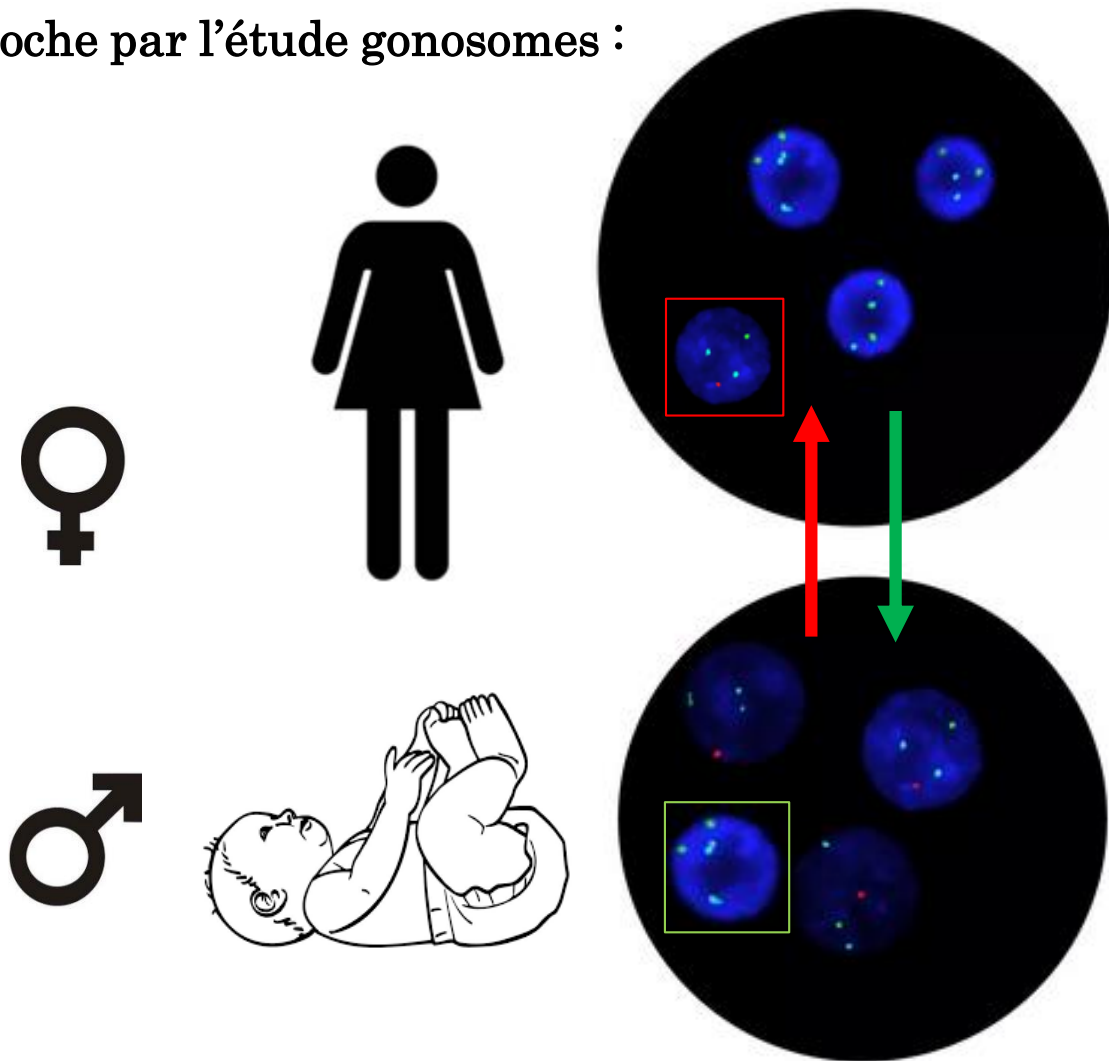


Approche par l'étude gonosomes :





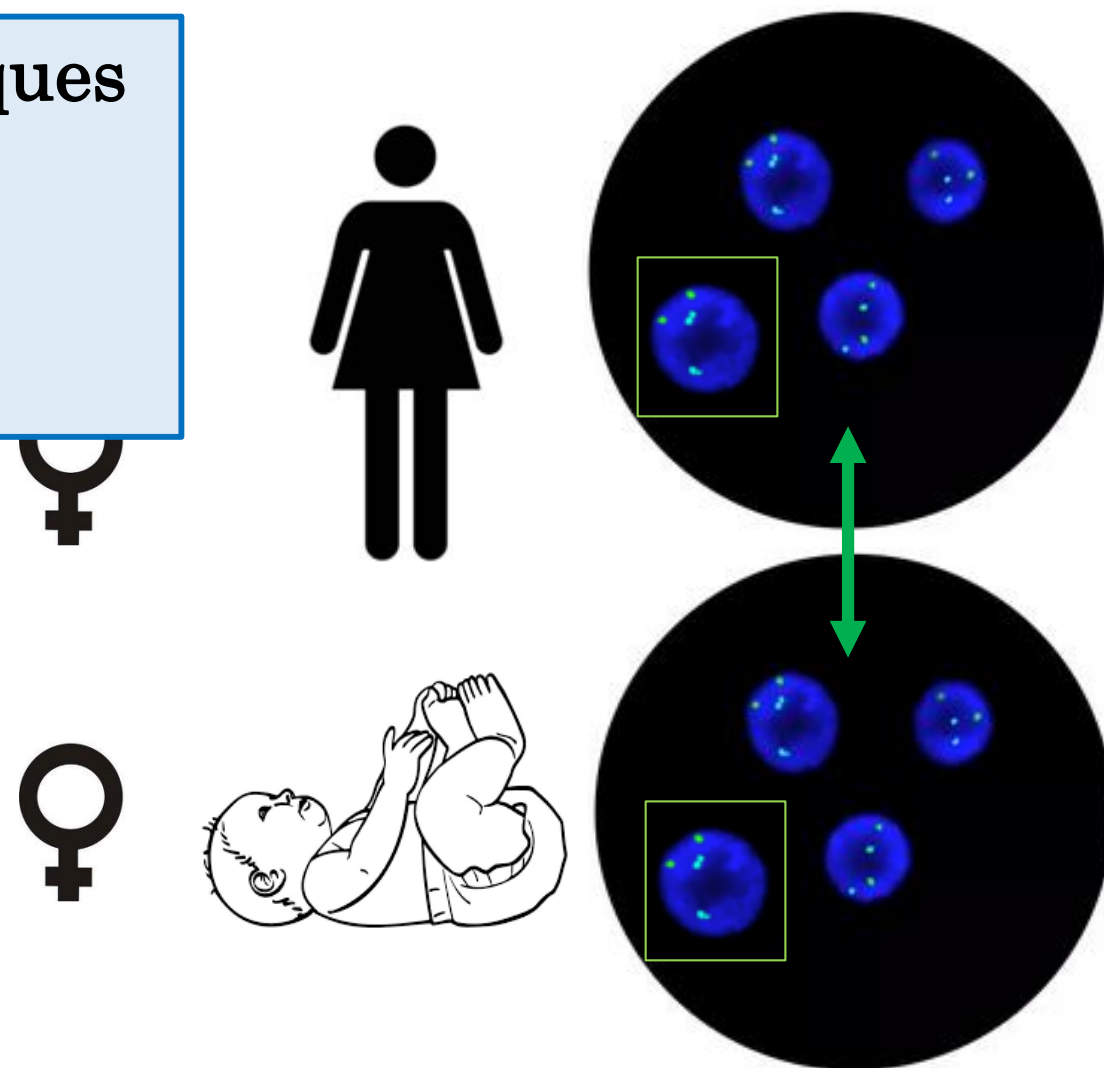
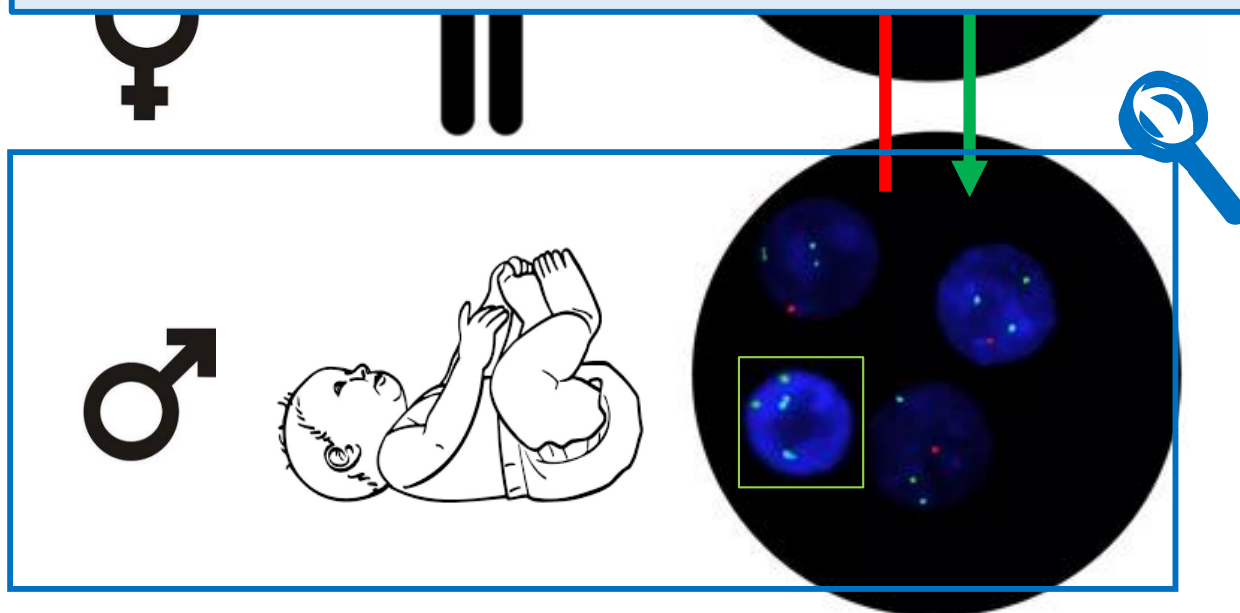
Approche par l'étude gonosomes :





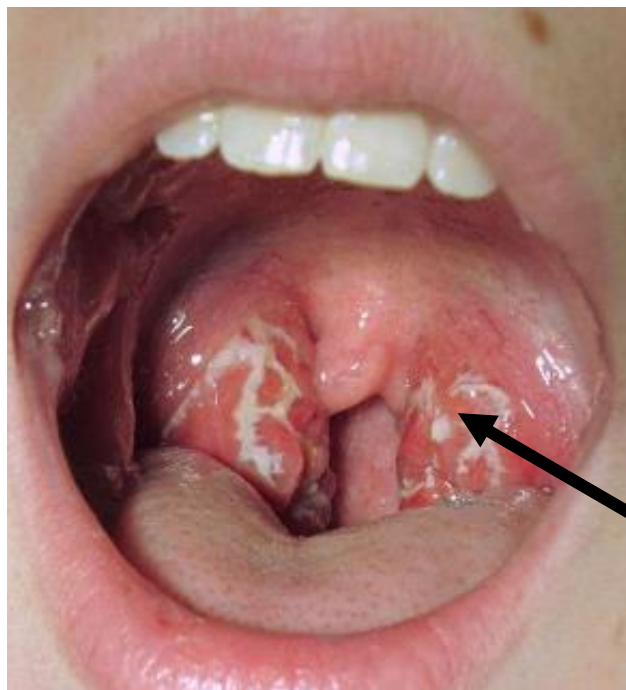
Recherche de : cellules microchimériques
d'origine **maternelle**

Chez qui : enfants / jeunes adultes,
sexe **masculin**





Comment détecter ces cellules à partir d'un seul tissu prélevé, de façon simple et reproductible ?



Amygdale

FISH : marquage des centromères « X » et « Y »

X Y



X X



VS



Objectif principal :

Détecter les cellules microchimériques
persistant au long cours
dans les tissus d'enfants de sexe masculin.

***Quantifier** les cellules microchimériques dans ces tissus*

***Localiser** les cellules au sein de coupes histologiques*



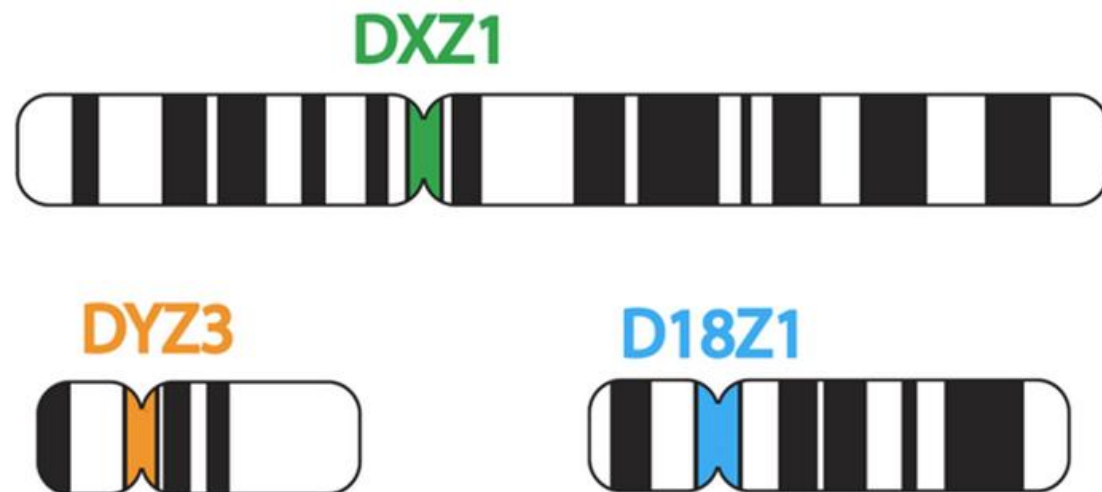
Recherche des cellules d'intérêt :

FISH : Marquage des centromères « X » et « Y »

Sondes :

CytoCell FAST FISH
Prenatal X, Y & 18 Probe Kit

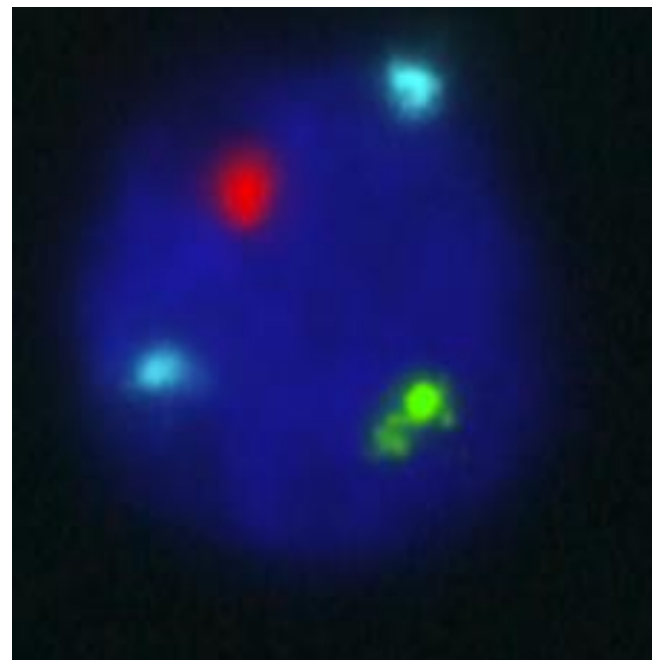
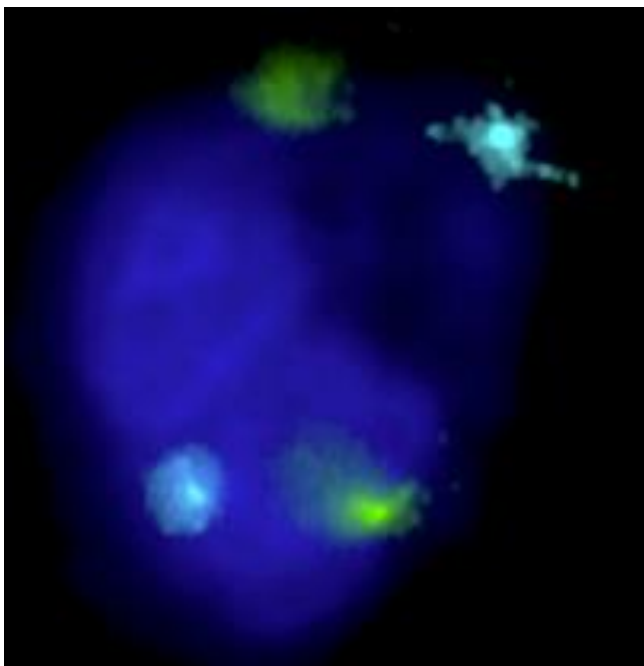
Labeled DNA probes





Détection de cellules XX chez les enfants/jeunes adultes mâles par la technique FISH

1. **Signal vert : chromosome X**
2. **Signal rouge : chromosome Y**
3. **Signal cyan : chromosome 18**



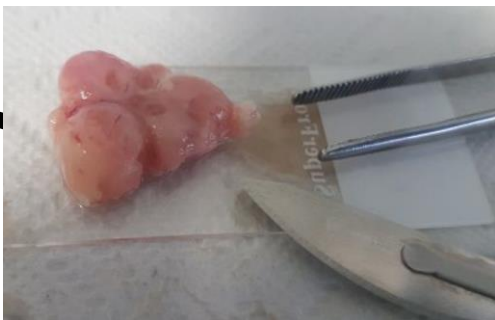


ORL et audiologie pédiatrique

Recrutement du patient
Signature de consentement

Génétique Chromosomique

Anonymisation



Amygdales : Pièces fraîches



*Frottis / Etalage sur lame
Fixation et Hybridation*



*Recherche automatisée
Metafer – METACYTE ©*

Ethique et protection des patients :

Institutionnal Review Board (IRB) : Avis favorable.

Conseil scientifique : Avis consultatif favorable.



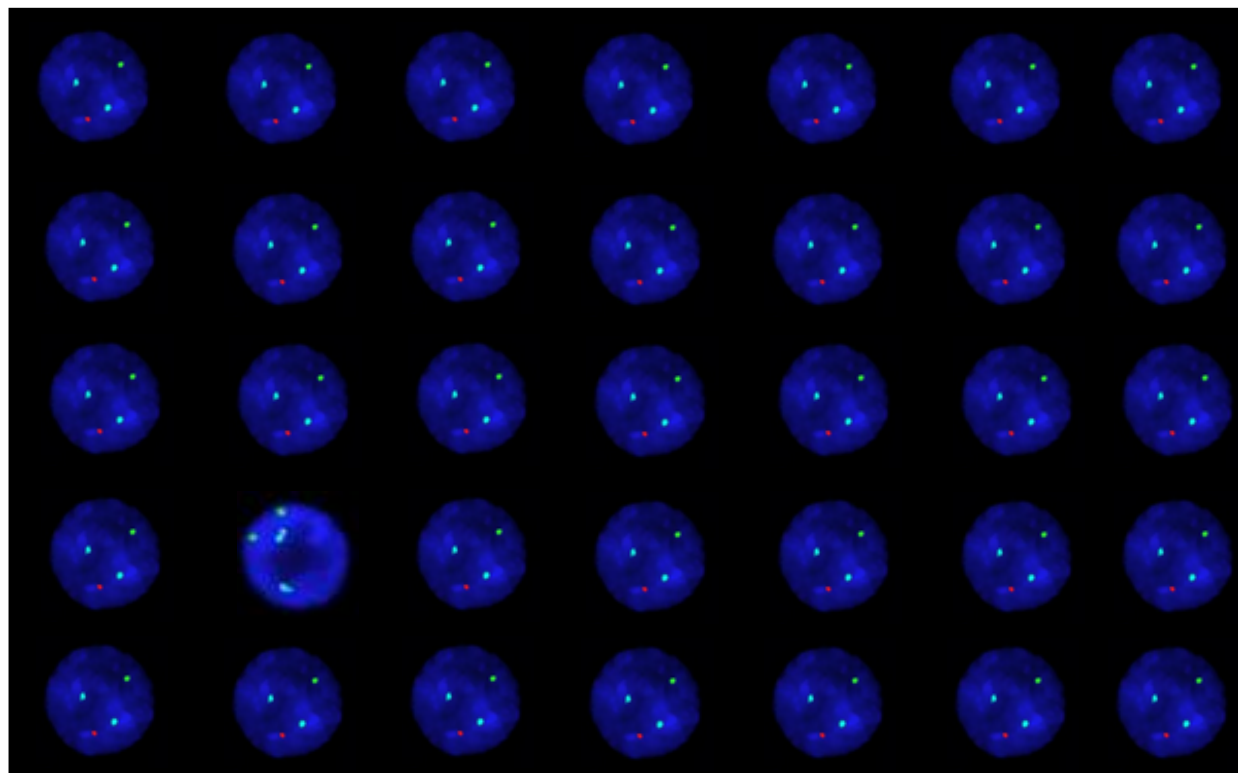
COLLOQUE
ATC

ASSOCIATION DES TECHNICIENS
EN CYTOGÉNÉTIQUE

29 & 30
SEPTEMBRE
2022

Centre de Rencontres
Internationales et de Séjour

DIJON



*Recherche automatisée
Metafer – METACYTE ©*



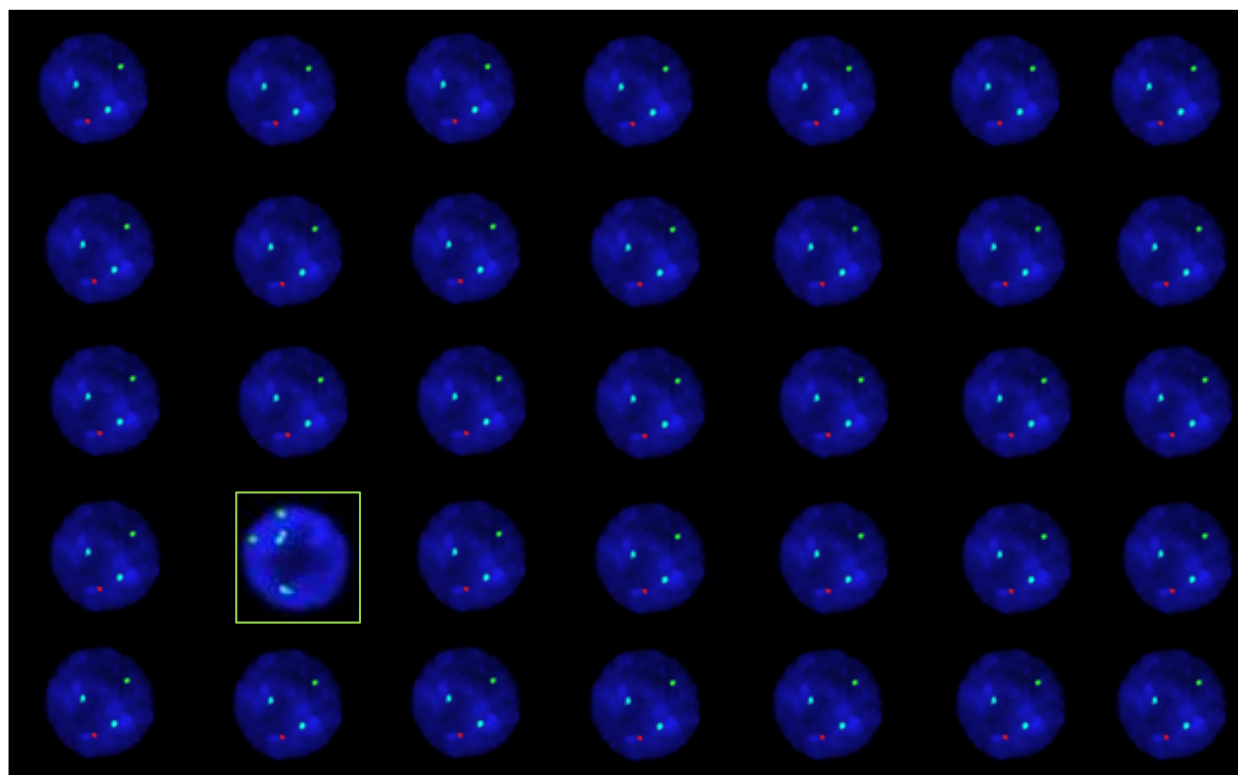
COLLOQUE
ATC

ASSOCIATION DES TECHNICIENS
EN CYTOGÉNÉTIQUE

29 & 30
SEPTEMBRE
2022

Centre de Rencontres
Internationales et de Séjour

DIJON



*Recherche automatisée
Metafer – METACYTE ©*



COLLOQUE
ATC

ASSOCIATION DES TECHNICIENS
EN CYTOGÉNÉTIQUE

29 & 30
SEPTEMBRE
2022

Centre de Rencontres
Internationales et de Séjour

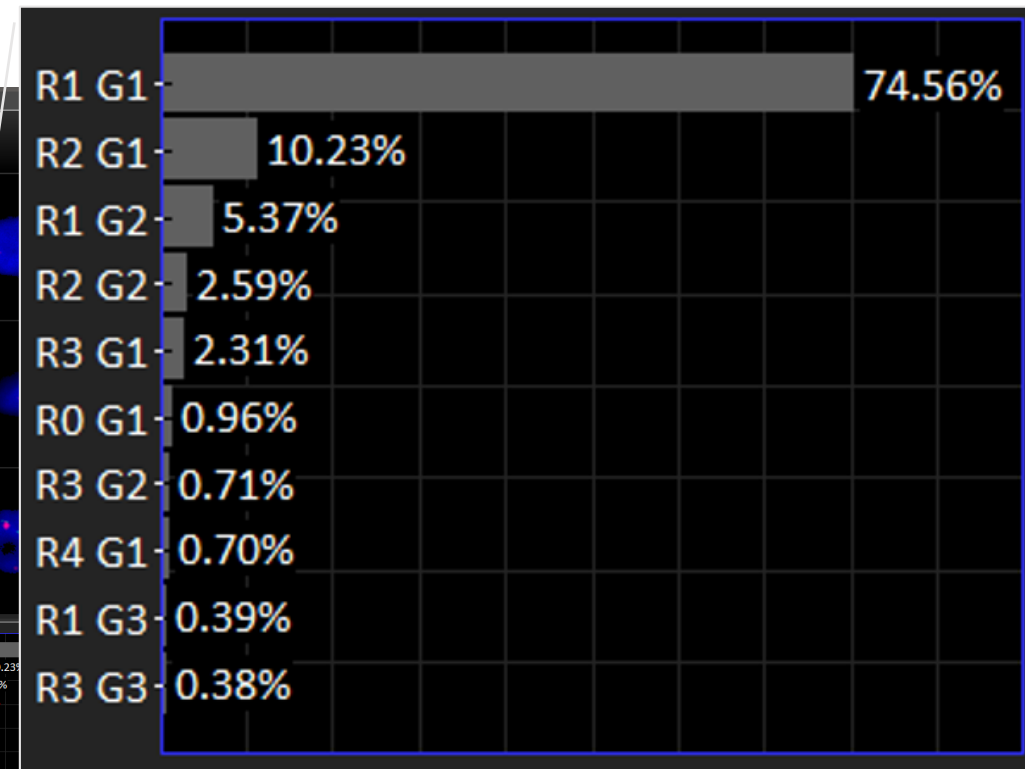
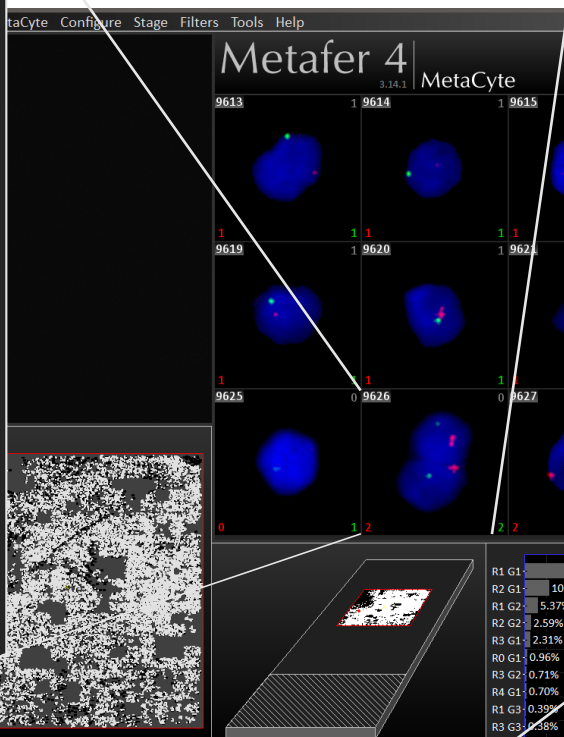
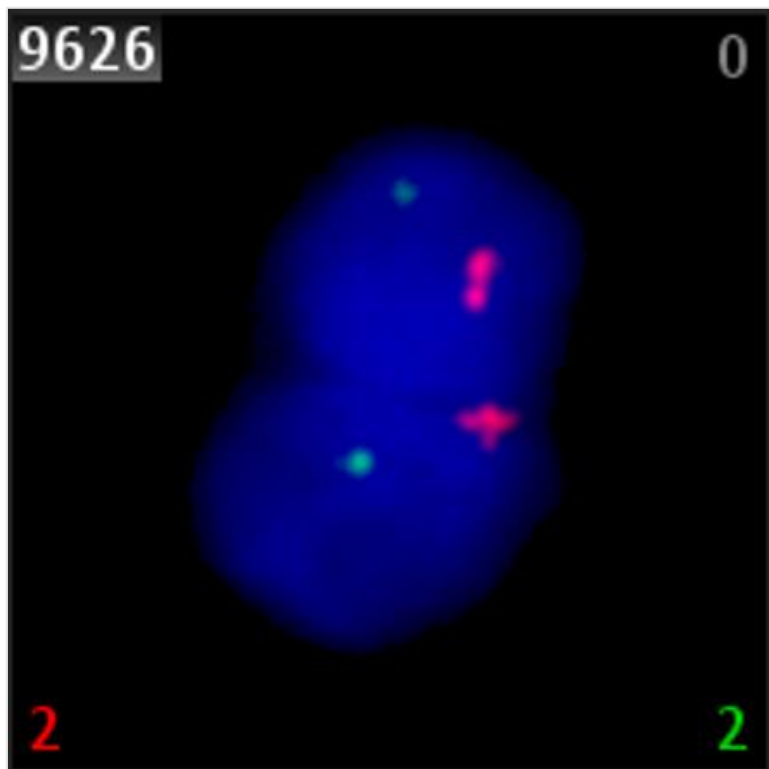
DIJON



*Recherche automatisée
Metafer – METACYTE ©*



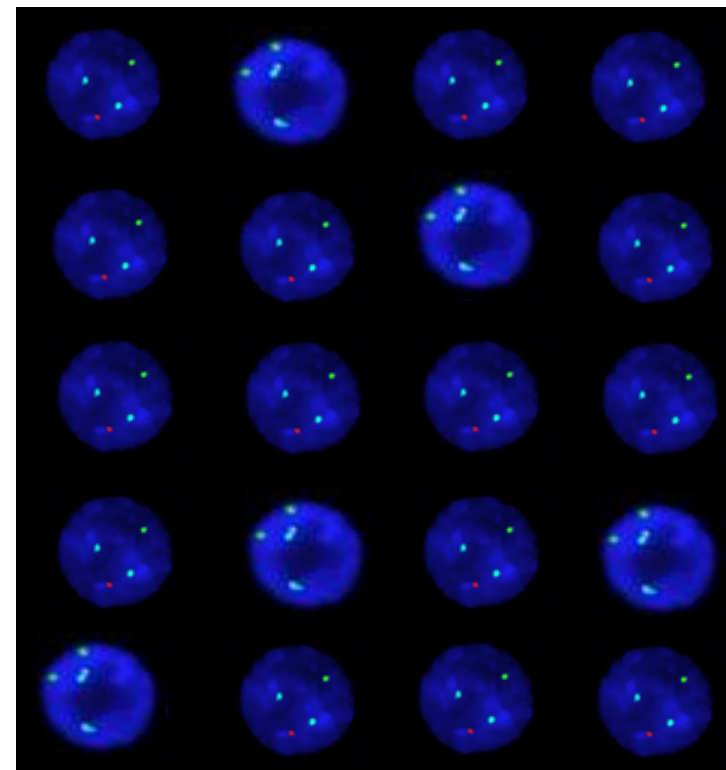
Classifier et Reclassifier





Analyse définitive des tissus

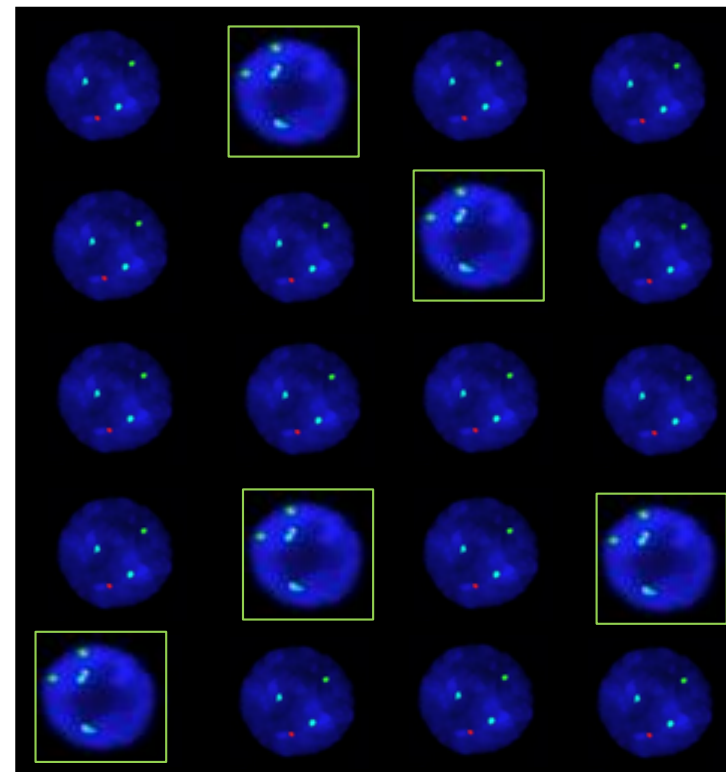
1. Lecture automatisée
 2. Relecture par 1 observateur
 3. Analyse en aveugle, par 2 cytogénéticiens expérimentés,
des cellules potentiellement microchimériques
- *Accord entre les 2 : cellules retenues comme microchimériques*
 - *Désaccord entre les 2 : autre cytogénéticien pour trancher*





Analyse définitive des tissus

1. Lecture automatisée
 2. Relecture par 1 observateur
 3. Analyse en aveugle, par 2 cytogénéticiens expérimentés,
des cellules potentiellement microchimériques
- *Accord entre les 2 : cellules retenues comme microchimériques*
 - *Désaccord entre les 2 : autre cytogénéticien pour trancher*

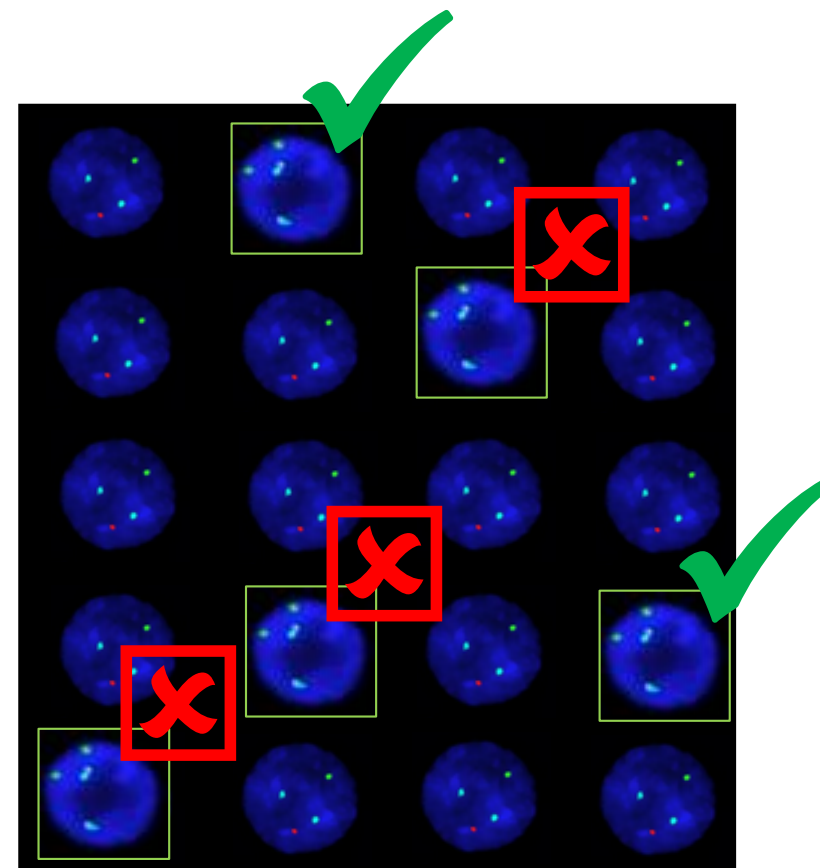




Analyse définitive des tissus

1. Lecture automatisée
 2. **Relecture par 1 observateur**
 3. Analyse en aveugle, par 2 cytogénéticiens expérimentés, des cellules potentiellement microchimériques
- *Accord entre les 2 : cellules retenues comme microchimériques*
 - *Désaccord entre les 2 : autre cytogénéticien pour trancher*

Cellules
candidates



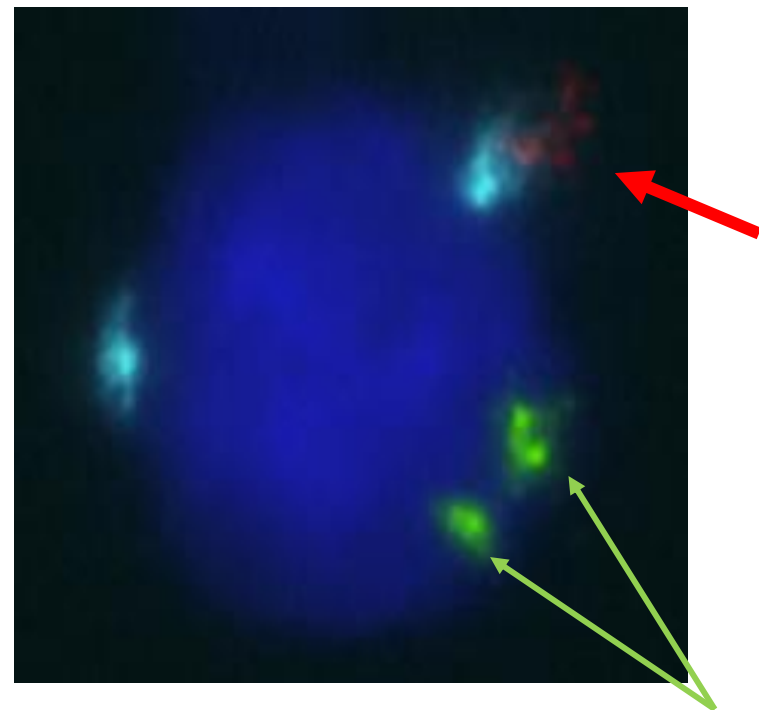


Analyse définitive des tissus

1. Lecture automatisée
2. Relecture par 1 observateur
3. Analyse en aveugle, par 2 cytogénéticiens expérimentés, des cellules potentiellement microchimériques

- *Accord entre les 2 : cellules retenues comme microchimériques*
- *Désaccord entre les 2 : autre cytogénéticien pour trancher*

Cellules candidates



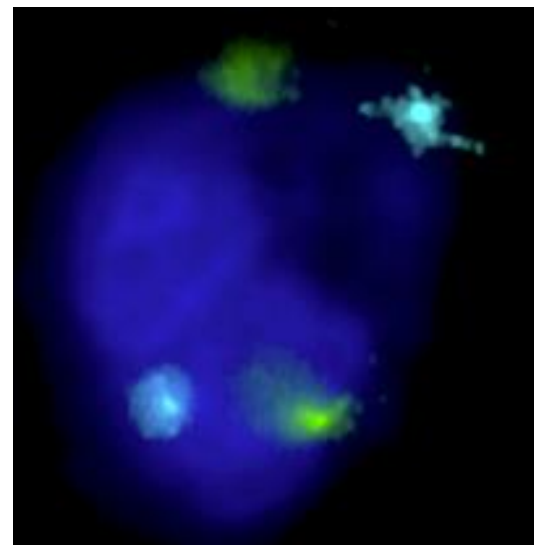
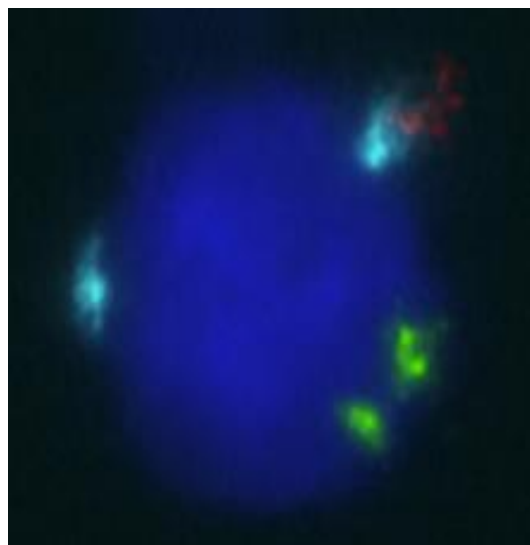
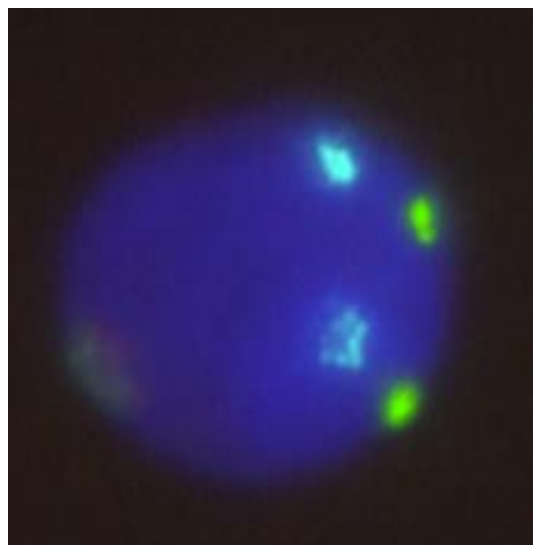
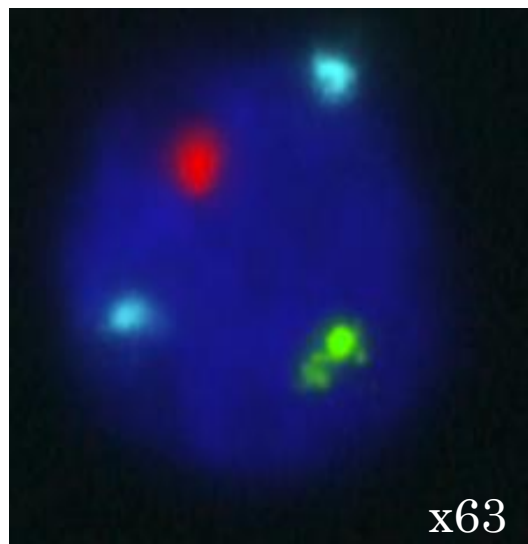


COLLOQUE
ATC

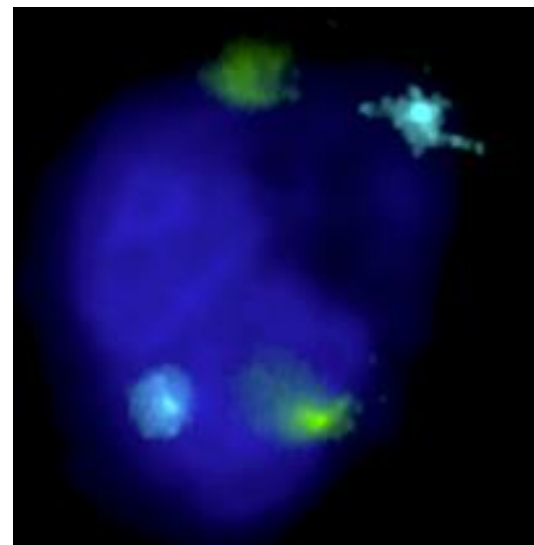
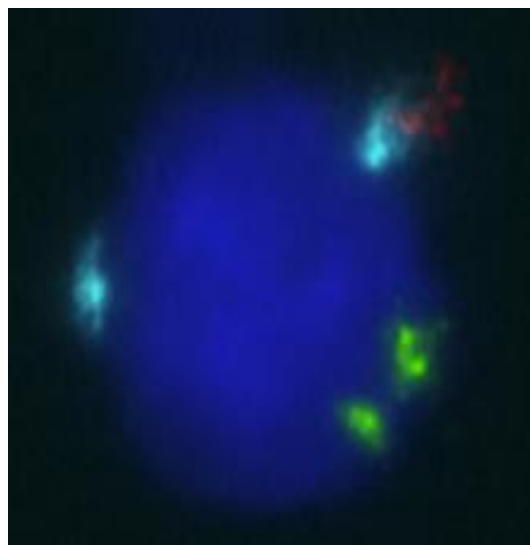
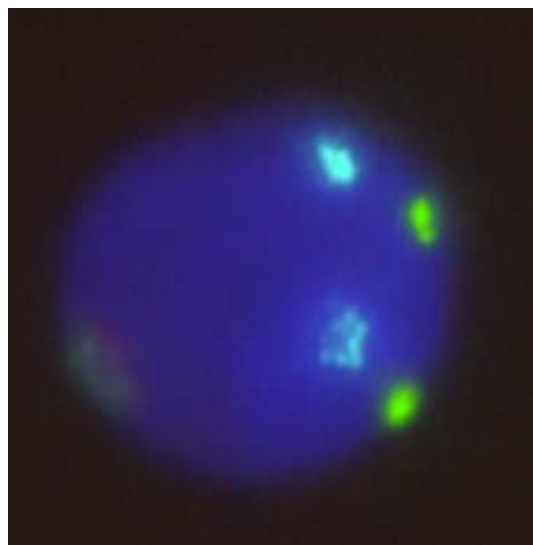
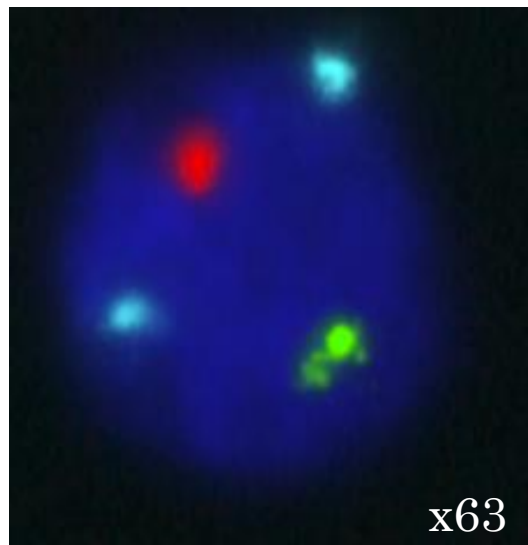
ASSOCIATION DES TECHNICIENS
EN CYTOGÉNÉTIQUE

29 & 30
SEPTEMBRE
2022

Centre de Rencontres
Internationales et de Séjour
DIJON



RESULTATS



Patients analysés : **40** (*2 lames par patient, soit 80 lames*) *1800 heures de lecture !
1.193.410 cellules analysées !*

Nombre de patients où le microchimérisme a été détecté : **21** (*soit 52.5%*)

Fréquence des cellules microchimériques : **1/5009 à 1/42131**



Forces de l'approche :

1. Fiable et reproductible
2. Faisable avec 1 seul tissu à disposition
3. Screening d'un très grand nombre de cellules
4. Possibilité d'analyse morphologique dans un 2nd temps

Limites de l'approche :

1. Cellules manquées (fréquence et localisation inconnue, facteurs confondants)
2. Interprétation subjective



COLLOQUE
ATC

ASSOCIATION DES TECHNICIENS
EN CYTOGÉNÉTIQUE

29 & 30
SEPTEMBRE
2022

Centre de Rencontres
Internationales et de Séjour

DIJON



Merci de votre attention



Place aux questions !



Bibliographie et références

1. Johnson KL, Nelson JL, Furst DE, McSweeney PA, Roberts DJ, Zhen DK, et al. Fetal cell microchimerism in tissue from multiple sites in women with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* août 2001;44(8):1848-54.
2. Sawaya HHB, Jimenez SA, Artlett CM. Quantification of fetal microchimeric cells in clinically affected and unaffected skin of patients with systemic sclerosis. *Rheumatol Oxf Engl.* août 2004;43(8):965-8.
3. Kinder JM, Stelzer IA, Arck PC, Way SS. Immunological implications of pregnancy-induced microchimerism. *Nat Rev Immunol.* août 2017;17(8):483-94.
4. Müller AC, Jakobsen MA, Barington T, Vaag AA, Grunnet LG, Olsen SF, et al. Microchimerism of male origin in a cohort of Danish girls. *Chimerism.* 11 août 2016;6(4):65-71.
5. Gammill HS, Nelson JL. Naturally acquired microchimerism. *Int J Dev Biol.* 2010;54(2-3):531-43.
6. Fjeldstad HE, Johnsen GM, Staff AC. Fetal microchimerism and implications for maternal health. *Obstet Med.* sept 2020;13(3):112-9.
7. Boddy AM, Fortunato A, Wilson Sayres M, Aktipis A. Fetal microchimerism and maternal health: a review and evolutionary analysis of cooperation and conflict beyond the womb. *BioEssays News Rev Mol Cell Dev Biol.* oct 2015;37(10):1106-18.
8. Molès JP, Tuaillon E, Kankasa C, Bedin AS, Nagot N, Marchant A, et al. Breastmilk cell trafficking induces microchimerism-mediated immune system maturation in the infant. *Pediatr Allergy Immunol.* 2018;29(2):133-43.
9. Gatinois V, Dmitrenko B, El Mouatani A, Debieesse S, Bouret P, Puechberty J, et al. Détection d'évènements cellulaires rares par microscopie à fluorescence automatisée. *Morphologie.* 1 sept 2022;106(354, Supplement):S11-2.