



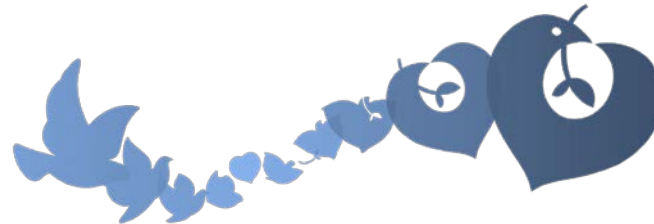
Hôpitaux
Universitaires
Est Parisien

ASSISTANCE
PUBLIQUE



HÔPITAUX
DE PARIS

CNRHP
Centre National de Référence
en Hémobiologie Périnatale



Impact du génotypage foetal dans la prise en charge des grossesses avec allo-immunisation anti-érythrocytaire. Cas cliniques

Dr C.TOLY-NDOUR

UF de Biologie

CNRHP

Hôpital St Antoine

Dr S.FRISZER

Service de Médecine fœtale

CNRHP

Hôpital Trousseau

Jeudi 11 janvier 2018

2^{ème} Journée Yves Brossard d'Hémobiologie fœtale et néonatale

Suivi des femmes avec allo-immunisation materno-fœtale

1. Diagnostiquer les femmes à risque


RAI au 1^{er} trimestre +++


Si positive:

- **Caractérisation** du type d'immunisation
- Risque d'anémie fœtale et/ou néonatale? (D,Kell, c, E)

2. Déterminer le risque d'anémie fœtale

Dosage/titrage de l'Ac à risque d'anémie fœtale (D,Kell, c, E)

Surveillance biologique  D (RH1), c (RH4), E (RH3): **Dosage pondéral / 2 semaines**
Kell : **Titrage/mois**

Seuils de déclenchement d'une surveillance spécifique  D (RH1): **250 UCHP/ml**
c (RH4), E (RH3): **500 UCHP/ml - 700 UCHP/ml**
Kell : **32**

Suivi des femmes avec allo-immunisation materno-fœtale

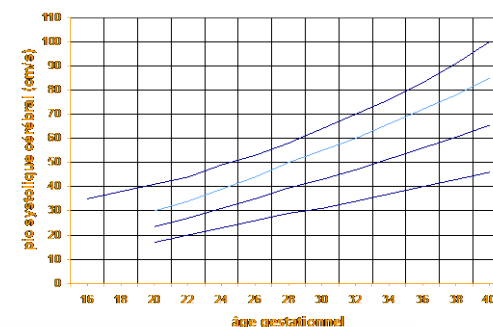
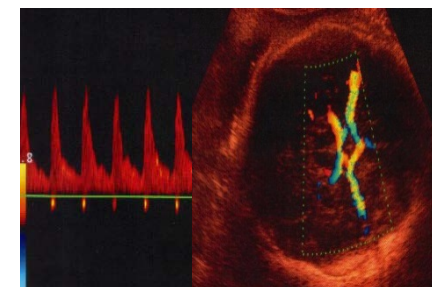
3. Dépister une anémie fœtale

Surveillance échographique
hebdomadaire +++

Mesure du PSV-ACM

Anémie si $PSV > 1.5MoM$

Mari *et al.*, NEJM, 2000



4. Prise en charge de l'anémie fœtale

Transfusions fœtales \pm itératives



Améliorer la prise en charge des allo-immunisations materno-fœtales

Adapter la surveillance des femmes allo-immunisées

En l'absence d'incompatibilité materno-fœtale prouvée, possibilité de lever une surveillance intensive et contraignante pour les patientes

Place du génotypage fœtal?

SCHEMA DE PRISE EN CHARGE

RAI positive au premier trimestre

Identification

Anti-RH1, anti-KEL1, anti-RH4 or anti-RH3

Génotypage fœtal sur sang maternel au
1^{er} trimestre de la grossesse

12SA/13SA/13SA/13SA

Si fœtus NEGATIF sur 2
prélèvements

Surveillance
levée
RAI toutes les
6 semaines

Si fœtus POSITIF

< TAUX CRITIQUES

Anti-RH1 <1µg/ml
Anti-RH4 <500 UCHP/ml
Anti-KEL1 <32
Anti-RH3 <700 UCHP/ml

Surveillance échographique standard

- Dosage + titrage anti-RH1, RH4 tous les 15 jours à partir de 18 SA
- Titrage anti-KEL1 1 fois par mois à partir de 16 SA
- Dosage + titrage anti-RH3 1 fois par mois à partir de 18 SA

Titrage ET Dosage

> TAUX CRITIQUES

Anti-RH1 ≥1µg/ml
Anti RH4 ≥ 500 UCHP/ml
Anti-KEL1 ≥32
Anti-RH3 ≥ 700 UCHP/ml

Surveillance hebdomadaire dès 16 SA :
échographie + vélocimétrie doppler

- Dosage + titrage anti-RH1, RH4, RH3 tous les 15 jours à partir de 18 SA
- Titrage anti-KEL1 1 fois par mois à partir de 16 SA

Bilan d'incompatibilité fœto-maternelle chez le nouveau-né

Cas cliniques interactifs

Cas 1

Mme L, RH:-1, 2^{ème} pare.

8 SA : Première RAI dans un laboratoire privé ⇒
RAI positive ⇒ laboratoire centralisateur:
identification anti-D ⇒ Envoi pour quantification
dans un labo spécialisé

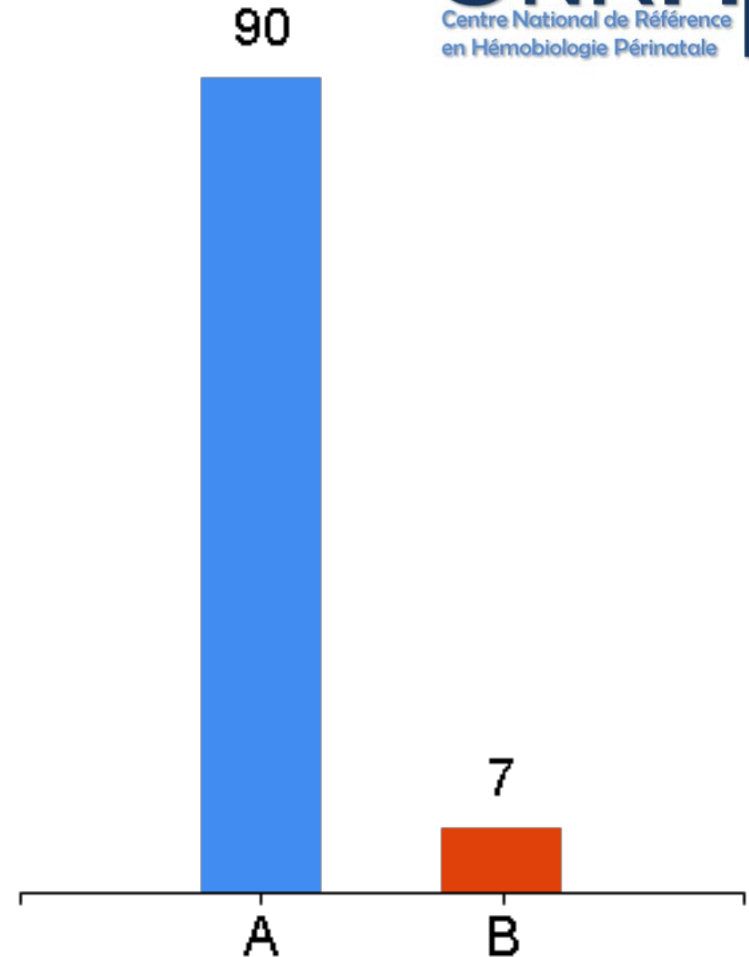
Résultats: titrage <2; microtitrage: 12 ng/ml

Après enquête il s'avère que cette patiente n'a
pas reçu d'injections d'IgRh. On suspecte donc
une immunisation.

**Y a-t-il un intérêt à réaliser un génotypage RHD
foetal à 12SA ?**

A. OUI

B. NON



Votes:100

Not Voted:3

Cas 1

Mme L, RH:-1, 2^{ème} pare.

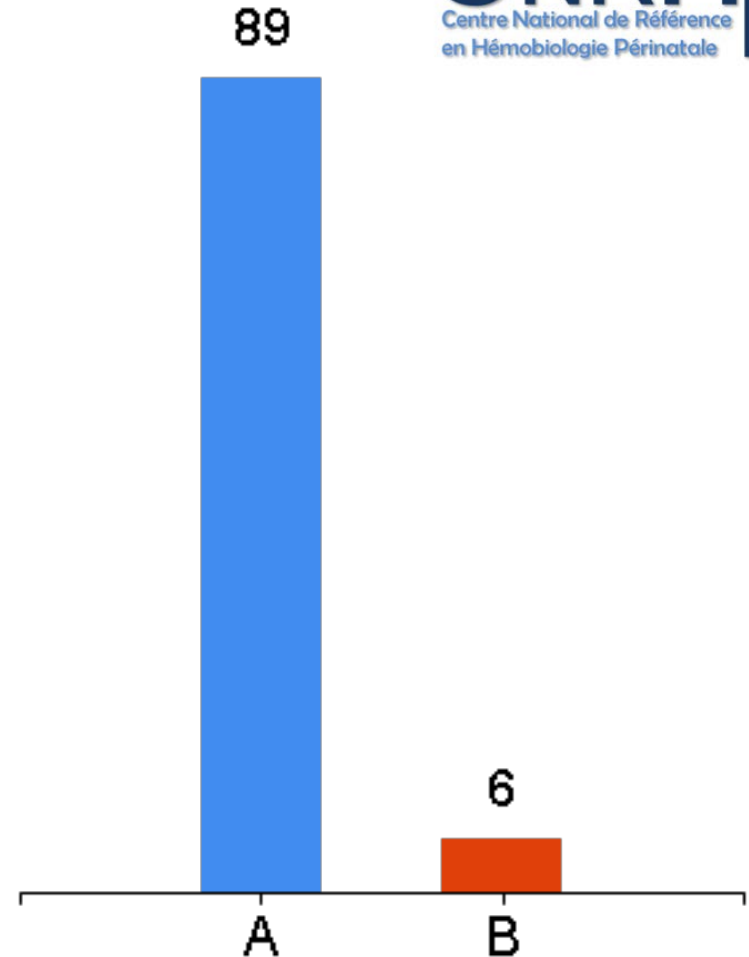
8 SA : anti-D titrage <2; microtitrage: 12 ng/ml

Le génotypage RHD foetal est trouvé **ininterprétable** (présence d'un variant RHD silencieux maternel interférant dans la technique de génotypage).

Faut il envisager un suivi des dosages toutes les 2 à 3 semaines à partir de 18 SA?

A. OUI

B. NON



Votes:100

Not Voted:5

Cas 1

Mme L, RH:-1, 2^{ème} pare.

8 SA : anti-D titrage <2; microtitrage: 12 ng/ml

Génotypage RHD foetal ininterprétable

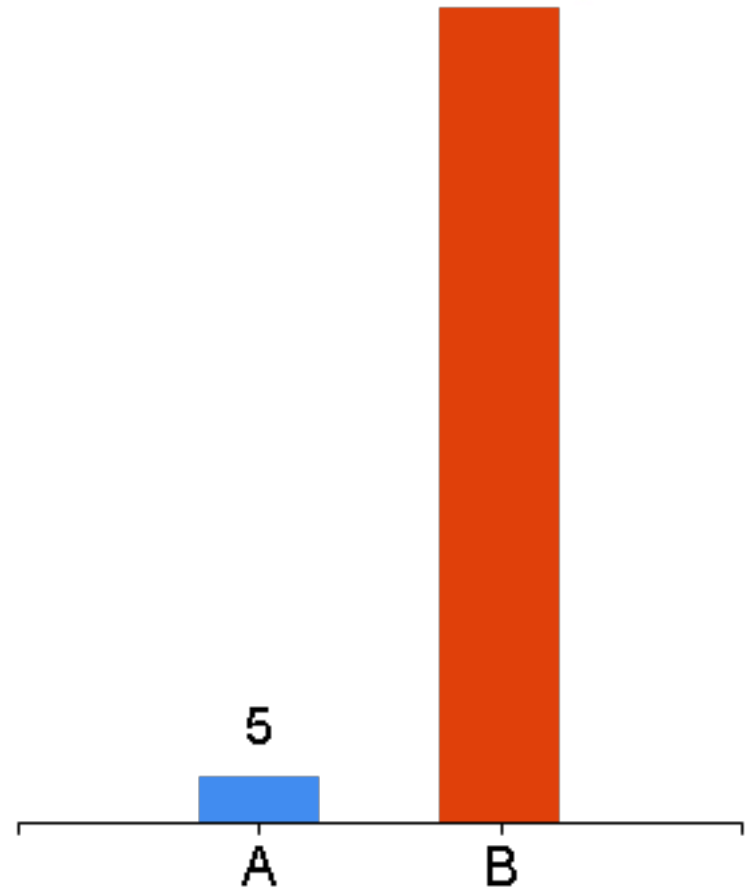
Les taux d'anticorps restent stables autour de 12-24 ng/ml tout au long de la grossesse.

Il n'y a pas de surveillance échographique entreprise au vu du faible niveau de l'immunisation.

Peut-on affirmer qu'il s'agit d'une grossesse RHD compatible ?

A. OUI

B. NON



Votes:100

Not Voted:6

Cas 2

On découvre une **RAI positive** pour Mme F. au **6^{ème} mois de grossesse** (2^{ème} grossesse) (patiente RhD négatif).

L'identification d'agglutinines irrégulières montre la présence d'un **anti-D** sans notion d'injection de Rhophylac. Le titre est à 32 et le dosage pondéral trouve une concentration à **2 µg/ml**.

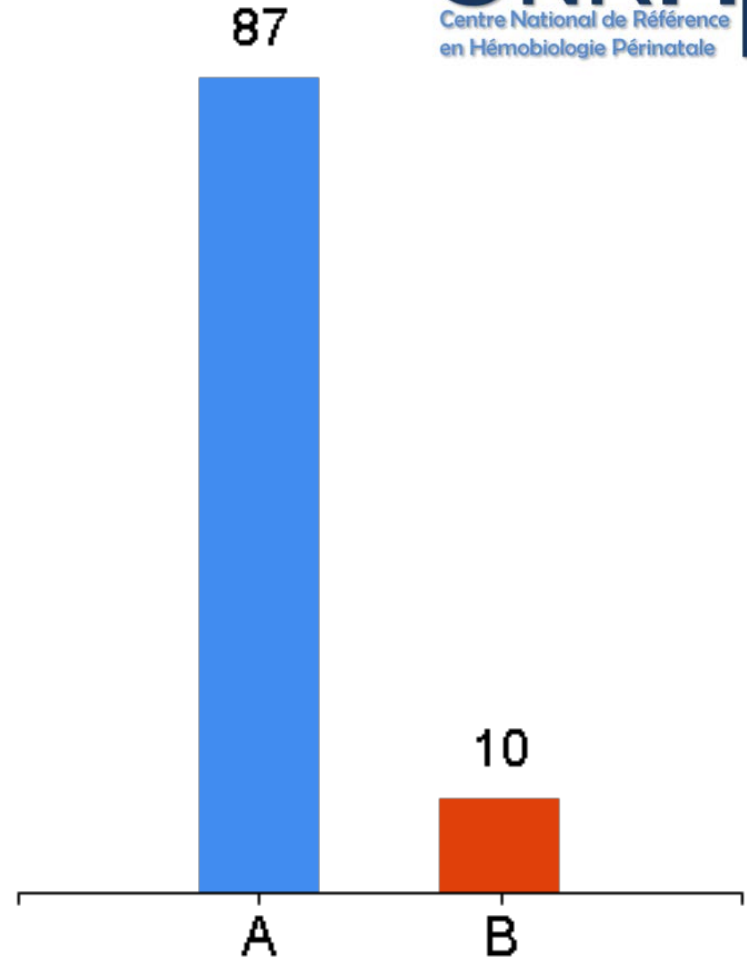
Le génotypage RHD foetal effectué en parallèle montre que le **foetus est RHD positif**.

Un suivi biologique avec dosage des anticorps est mis en place tous les 15 jours.

Faut-il y associer un suivi échographique avec mesure de PSV ACM à la recherche de signes indirects d'anémie foétale sévère et se rapprocher d'un CPDPN?

A. OUI

B. NON



Votes:100

Not Voted:3

Cas 2 (suite)

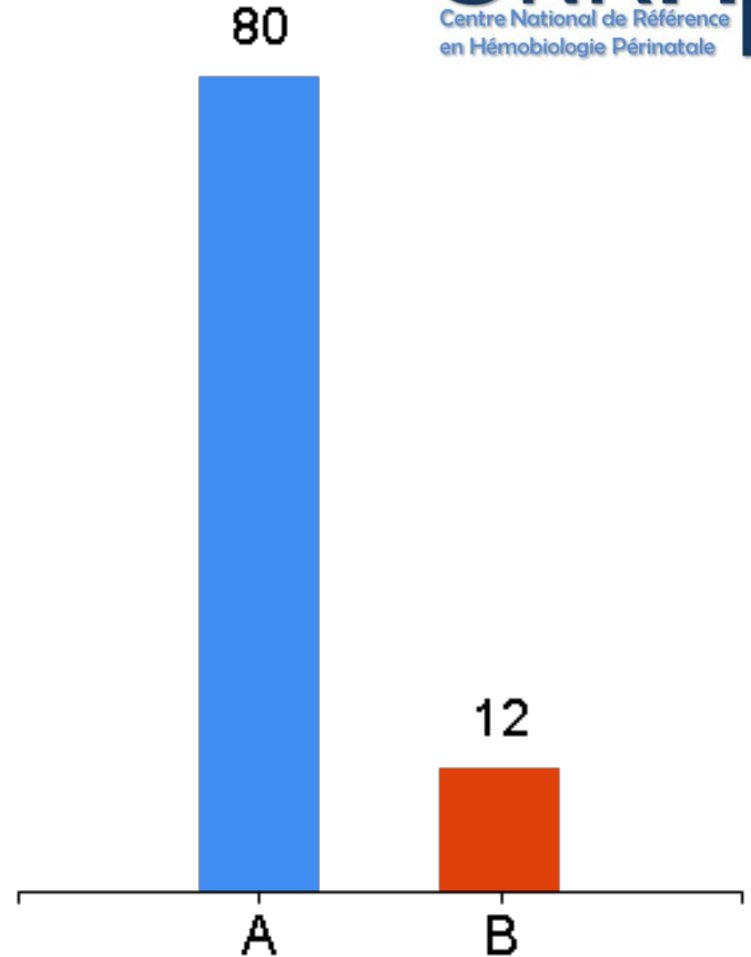
Mme F. 6^{ème} mois de grossesse (2^{ème} grossesse, patiente RhD négatif).
anti-D titre à 32 et dosage pondéral à 2 µg/ml. Génotypage foetal RHD positif

On découvre a posteriori que la RAI du 1^{er} trimestre était négative dans un laboratoire X.

Si on avait eu cette information au préalable, y avait il un intérêt à prescrire un génotypage RHD foetal ?

A. OUI

B. NON



Votes:100

Not Voted:8

Cas 2 (suite)

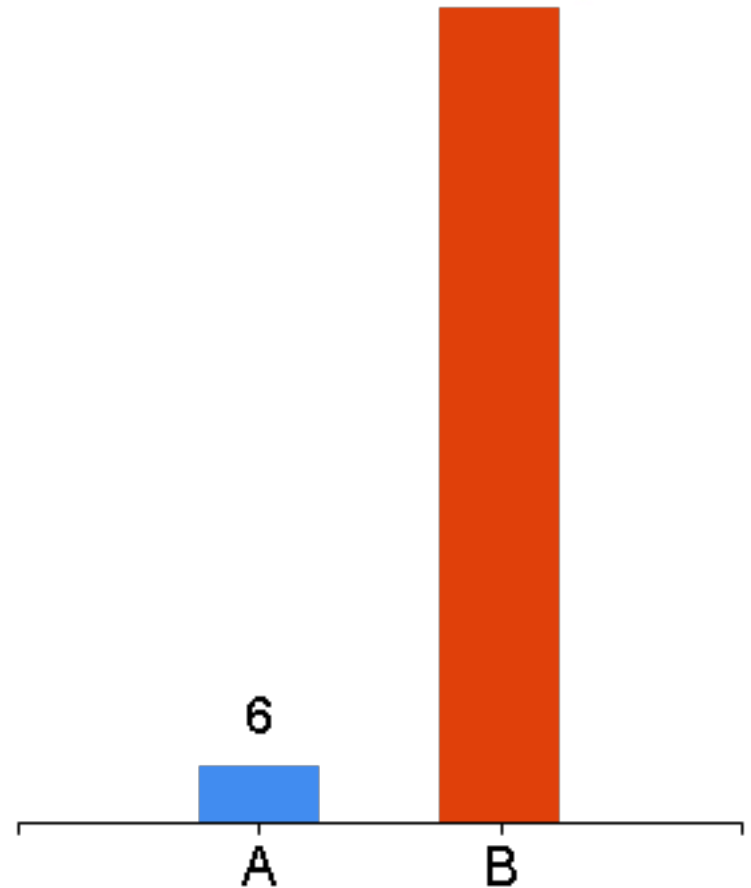
Mme F. 6^{ème} mois de grossesse (2^{ème} grossesse) (patiente RhD négatif, génotypage foetal RHD positif à 16 SA).
anti-D titre à 32 et dosage pondéral trouve à **2 µg/ml**.

RAI du 1^{er} trimestre négative dans un laboratoire X.

Peut-on conclure qu'il s'agit d'une primo-immunisation et que le risque est nul pour l'enfant ?

A. OUI

B. NON



Votes:100

Not Voted:8

- **Appel au laboratoire X** pour savoir s'il dispose de **sérothèques** de sérologie toxoplasmose en cours de grossesse pour cette patiente.
- Oui: sérologies à 2, 4 et 5 mois de grossesse. Envoyées pour **RAI et dosages rétrospectifs**.
- ☐ A **5 mois** de grossesse, RAI + : anti-D à **0.5 µg/ml**
- ☐ A **4 mois** : RAI + : anti-D à **12 ng/ml**
- ☐ A **2 mois** (date de la RAI faite dans le laboratoire X): anti-D à **3 ng/ml**, réactif uniquement en technique enzymatique
- **Conclusion:** patiente déjà immunisée en début de grossesse mais taux très faibles d'anticorps, en dessous du seuil de sensibilité exigé pour les techniques de RAI. **Il ne s'agit donc pas d'une primo-immunisation.**
Risque important pour le fœtus +++

Situation possible pour les immunisations anti-D mais encore plus fréquente dans les contextes d'immunisation anti-c.

Cas 3

Mme I, immunisation Anti-D+C connue pour précédente grossesse (Dosage Pondéral à 1,2 µg/ml, titre de l'anti-D+C à 16).

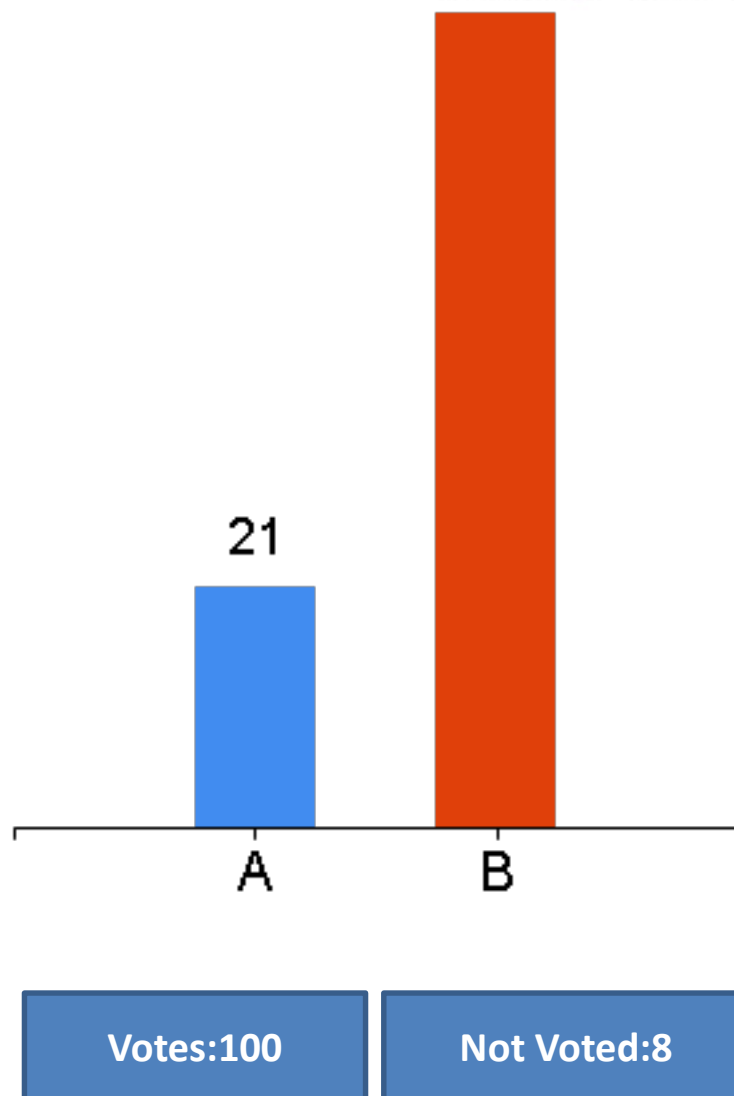
12 SA 1^{er} génotypage RHD foetal négatif probable.

15 SA 2nd génotypage RHD foetal négatif vérifié.

Est il nécessaire de mettre en place une surveillance échographique avec mesure de PSV-ACM à partir de 18SA?

A. OUI

B. NON



Cas 3

Mme I, immunisation Anti-D+C connue pour précédente grossesse (Dosage Pondéral à 1,2 µg/ml, titre de l'anti-D+C à 16). Même conjoint.

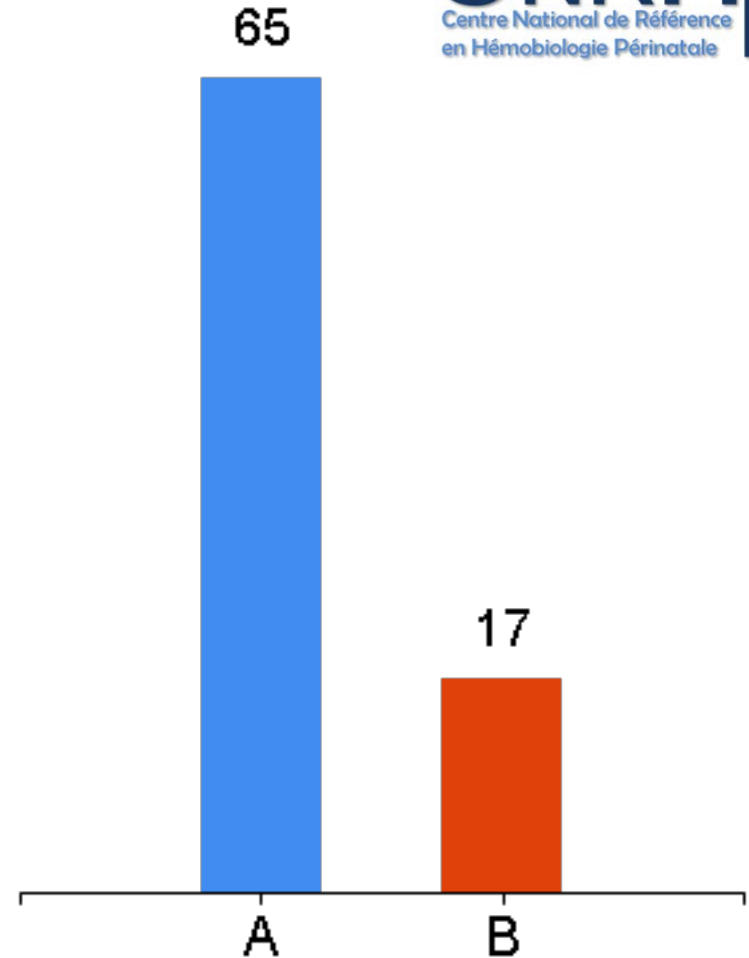
12 SA 1^{er} génotypage RHD foetal négatif probable.

15 SA 2nd génotypage RHD foetal négatif vérifié.

Est il nécessaire de mettre en place une surveillance biologique particulière?

A. OUI

B. NON



Votes:100

Not Voted:18

Conduite à tenir devant un génotypage RHD fœtal négatif vérifié chez une patiente immunisée

- **Pas de surveillance échographique particulière.**
- Poursuite de la surveillance biologique avec **une RAI toutes les 6 semaines** car **patiente à fort risque de développer de nouveaux anticorps d'ici la fin de sa grossesse** (système immunitaire « stimulé » vis à vis des antigènes érythrocytaires)

Cas 3 (suite)

A la RAI réalisée 6 semaines plus tard : pas de nouveaux anticorps mais **anti-D+C en phase de réactivation** (augmentation du dosage pondéral des anticorps anti-D et anti-C à 3 µg/ml, titre de l'anti-D+C à 64).

(reprise des échantillons + contrôle sur un 3^{ème} prélèvement: Pas d'erreur analytique: génotypage RHD foetal bien contrôlé négatif)

-Hypothèse?

Infos supplémentaires:

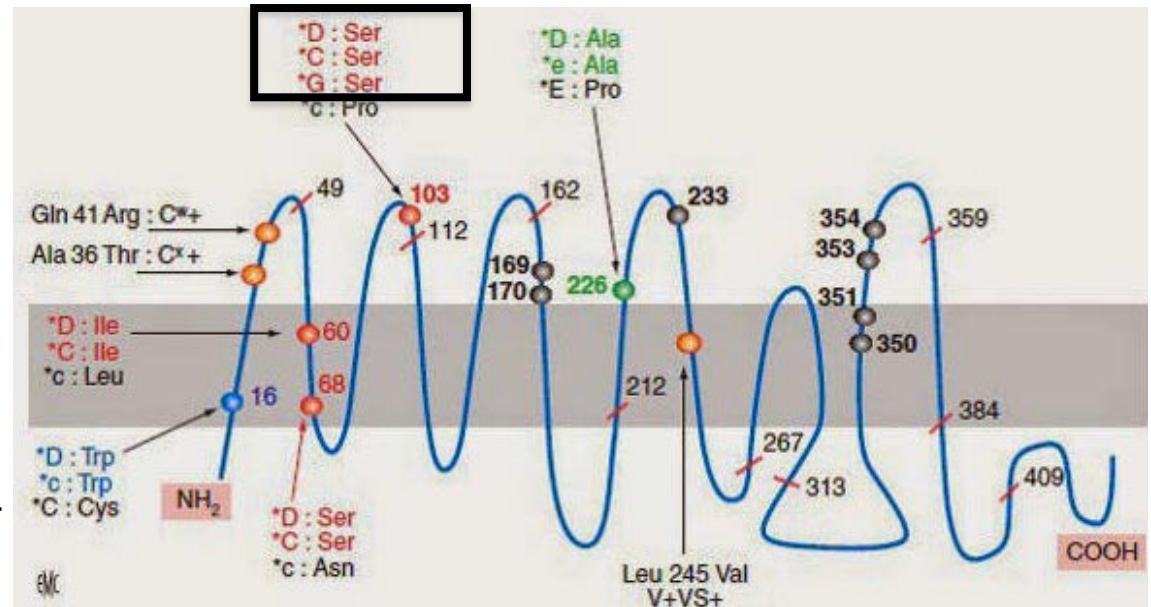
La carte de groupe du conjoint montre qu'il est de phénotype RH:1,2,-3,-4,5 (D+C+E-c-e+). Les titrages différentiels des anticorps maternels trouvent un anti-D à 32 et un anti-C à 64.

➤ Réactivation d'une immunisation anti-C ou G maternelle

Protéines RhD et RhCE = homologues.

Ag G = commun à la protéine RhD et la protéine RhCE exprimant l'Ag C.

A la RAI, **anti-G donne une image d'anti-D et d'anti-C associés** car les hématies D+ C- et D-C+ sont agglutinées.



Si le fœtus est D- C+ (ce qui est possible car conjoint semble C homozygote), il est C et G incompatible. Les immunisations anti-C et anti-G maternelle peuvent se réactiver.

L'anti-G comme l'anti-C sont surtout responsables d'atteinte hémolytique postnatale.

Cas 4

Mme G, immunisation Anti-c (RH4) connue
(passif transfusionnel suite à un AVP dans
l'enfance)

15 SA

Titre de l'anti-RH4 à 2

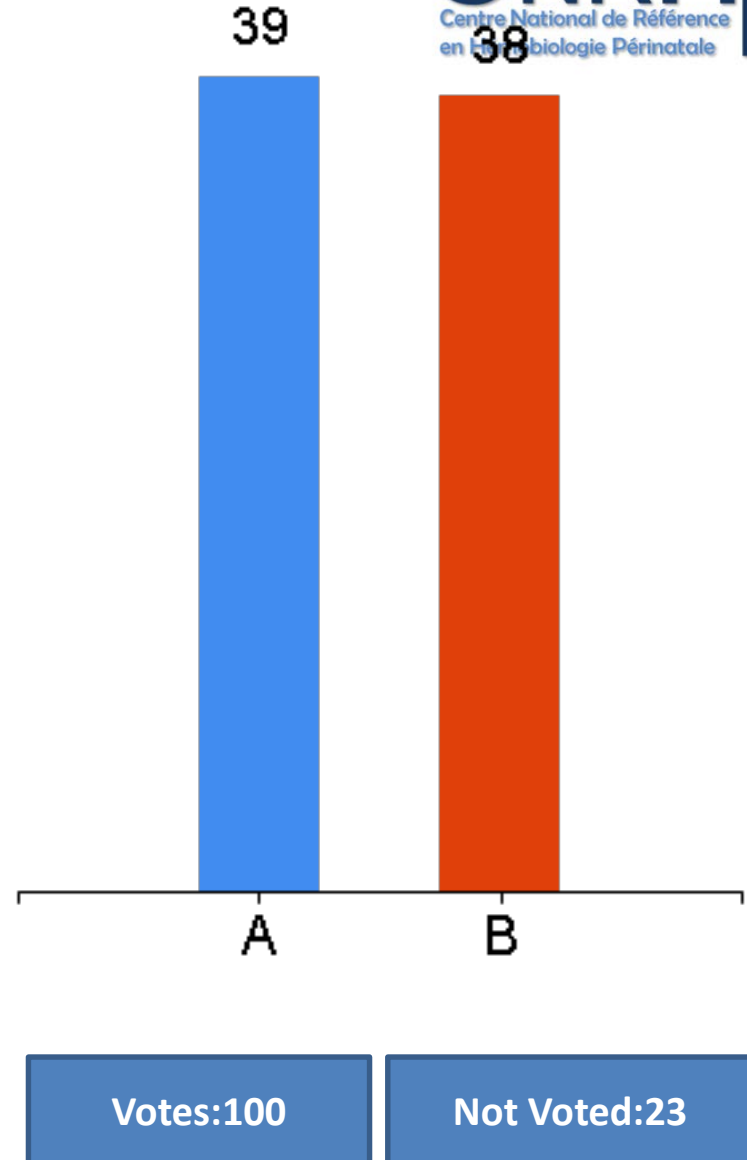
Dosage Pondéral à 280 UCHP/ml.

**Phénotypage du conjoint: RH:-1,-2,-3,4,5
(D-C-E-c+e+)**

**Y a-t-il un intérêt à réaliser un génotypage
RH4 foetal ?**

A. OUI

B. NON



Cas 4 (suite)

Mme G, immunisation Anti-c (RH4) connue
(passif transfusionnel suite à un AVP dans
l'enfance)

15SA

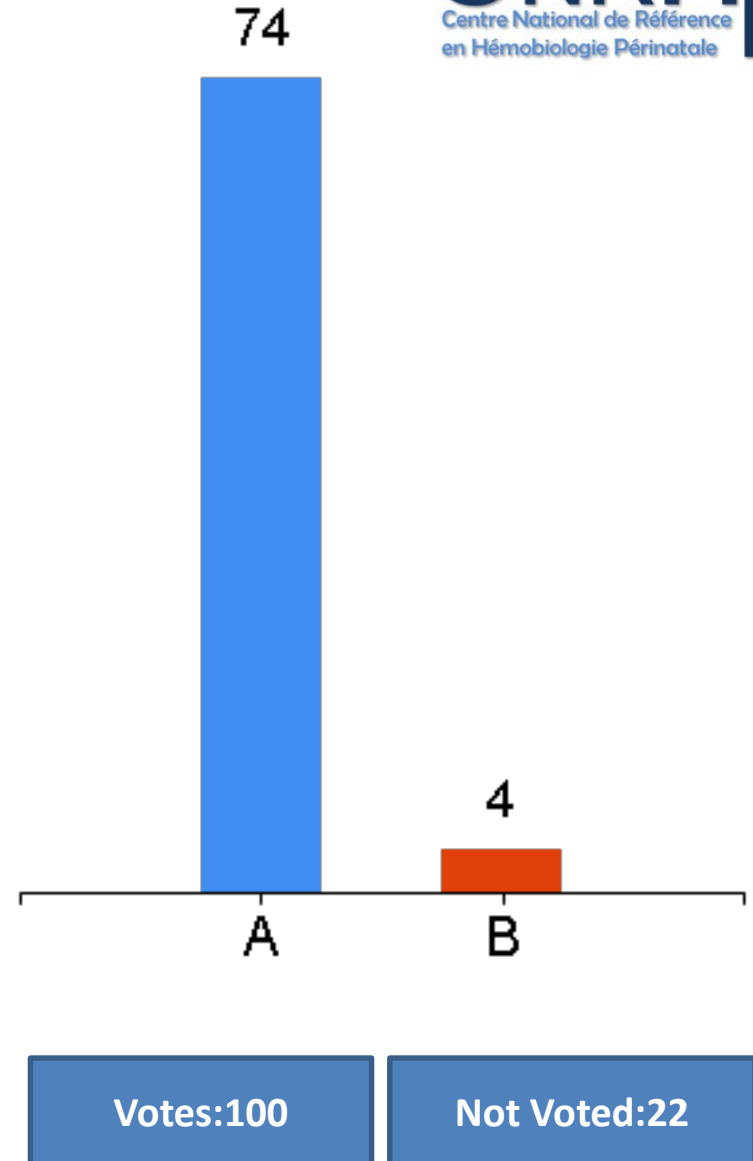
Titre de l'anti-RH4 à 2

Dosage Pondéral à 280 UCHP/ml.

**Même question (Y a-t-il un intérêt à réaliser un
génotypage RH4 fœtal) si le conjoint est
RH:1,2,-3,4,5 (D+C+E-c+e+) ?**

A. OUI

B. NON



Cas 4

Mme G, immunisation Anti-c (RH4) connue
 (passif transfusionnel suite à un AVP dans
 l'enfance)

15 SA

Titre de l'anti-RH4 à 2

Dosage Pondéral à 280 UCHP/ml.

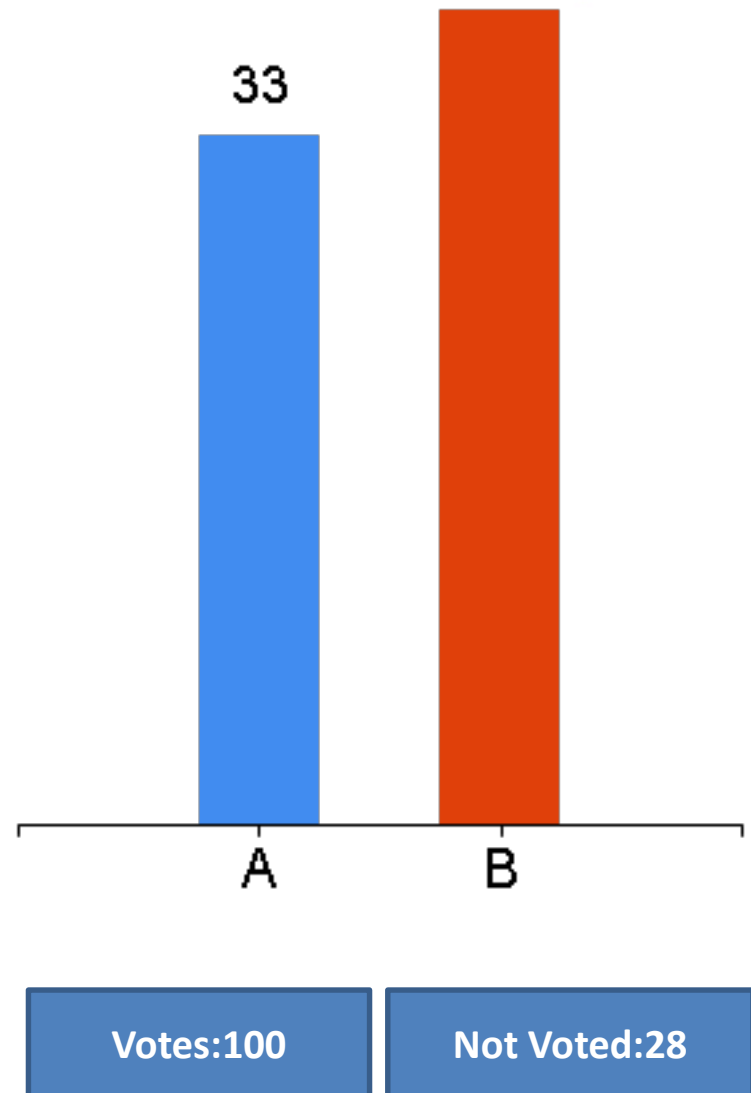
Le génotypage RH4 fœtal est trouvé positif.

Un suivi biologique est mis en place à partir de
 18 SA avec titrage et dosage des anticorps.

**Est il nécessaire d'y associer une surveillance
 échographique avec mesure de PSV-ACM à
 partir de 18SA?**

A. OUI

B. NON



Cas 4

Mme G, immunisation Anti-c (RH4) connue
(passif transfusionnel suite à un AVP dans
l'enfance). Génotypage foetal RH4 positif.

Dosage tous les 15 jours

A 34 SA, progression de l'immunisation:

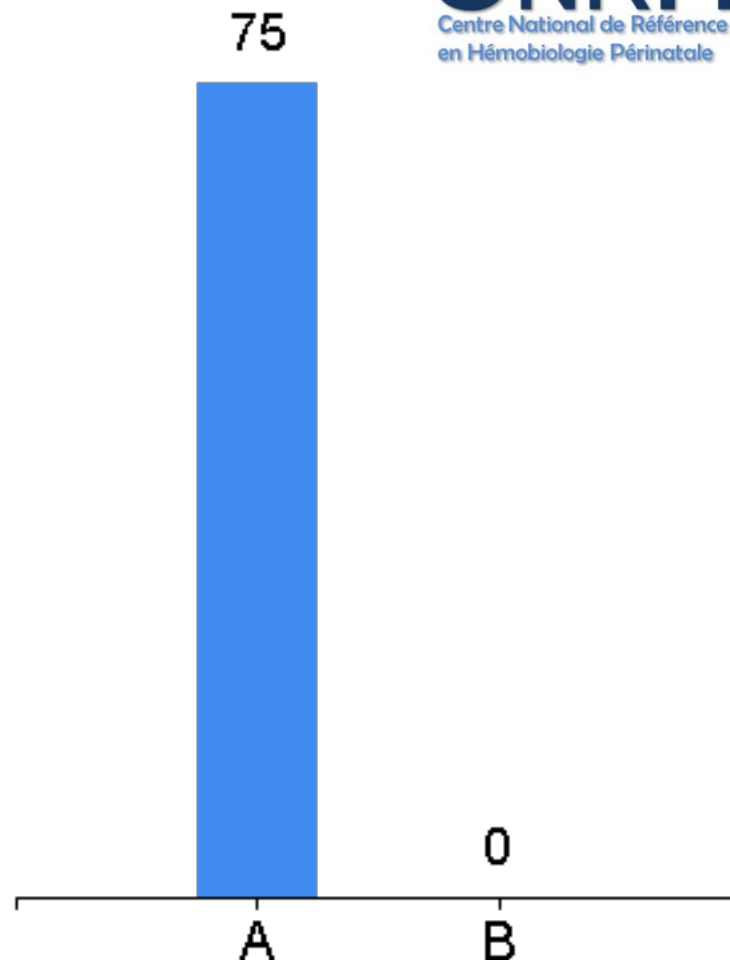
Titre de l'anti-RH4 à 4

Dosage Pondéral à 640 UCHP/ml.

**Est il nécessaire de mettre en place une
surveillance échographique avec mesure
de PSV-ACM et de se rapprocher d'un
CPDPN ?**

A. OUI

B. NON



Votes:100

Not Voted:25

Cas 4

Mme G, immunisation Anti-c (RH4) connue
(passif transfusionnel suite à un AVP dans
l'enfance)

Dosage tous les 15 jours

A 34 SA, progression de l'immunisation:

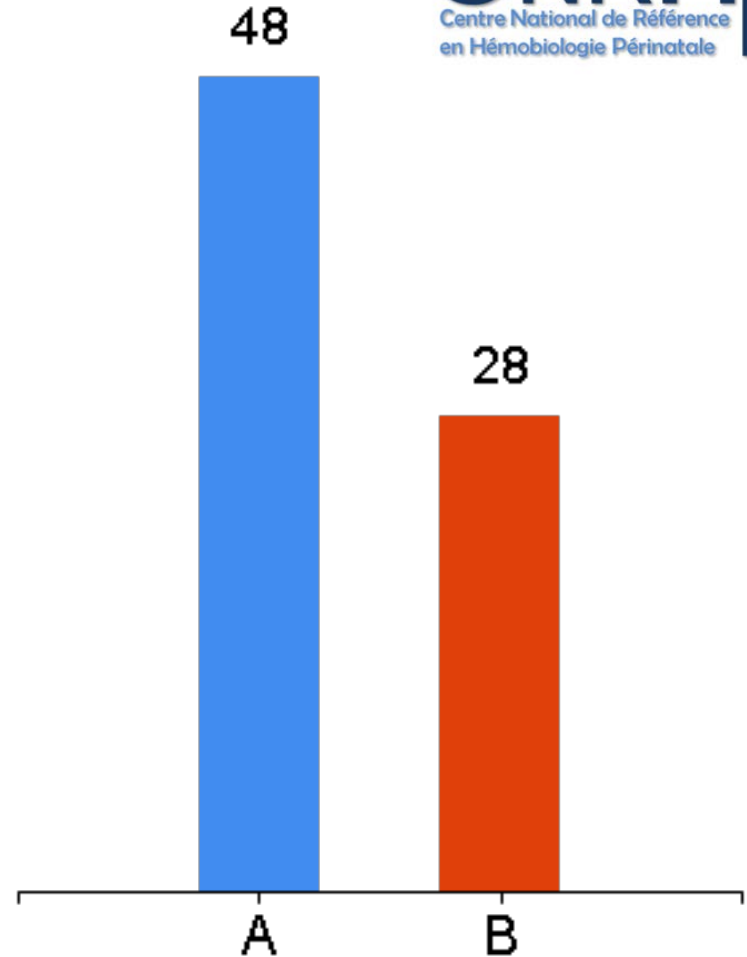
Titre de l'anti-RH4 à 4

Dosage Pondéral à 640 UCHP/ml.

**Y a-t-il un intérêt à rapprocher les dosages
à un par semaine ?**

A. OUI

B. NON



Votes:100

Not Voted:24

Cas 4

Mme G, immunisation Anti-c (RH4) connue (passif transfusionnel suite à un AVP dans l'enfance)

Dosage toutes les semaines

35 SA : Titre de l'anti-RH4 à 8 - Dosage Pondéral à 1200 UCHP/ml.

Surveillance échographique rapprochée : mesures PSV ACM + RCF bi - hebdomadaires

36 SA: titre à 32 – dosage à 4000 UCHP/ml

Anomalies du rythme et extraction du nouveau-né en urgence à 36SA 1/2

Au cordon : 6g d'Hb/dl, bilirubines à 120 μ M

Exsanguino-transfusion à H6

Immunisation anti-c (comme immunisation anti-D): Attention aux réactivations d'immunisation en fin de grossesse !

Cas 5

Mme T, 2^{ème} pare.

Découverte d'une immunisation Anti-Kell (KEL1) à la RAI du 1^{er} trimestre effectuée à 7 SA.

Titrage des anti-Kell = 128

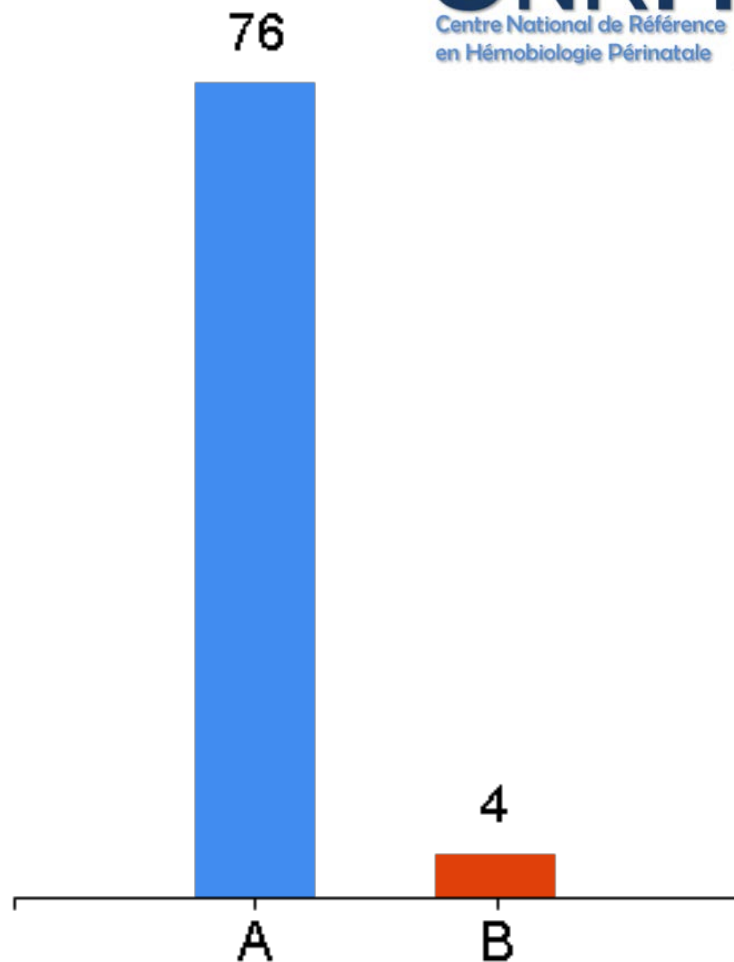
1^{er} génotypage Kell foetal réalisé à 13SA.

Résultat à 15SA: génotypage ininterprétable

Est il nécessaire de mettre en place une surveillance échographique avec mesure de PSV-ACM à partir de 16SA?

A. OUI

B. NON



Votes:100

Not Voted:20

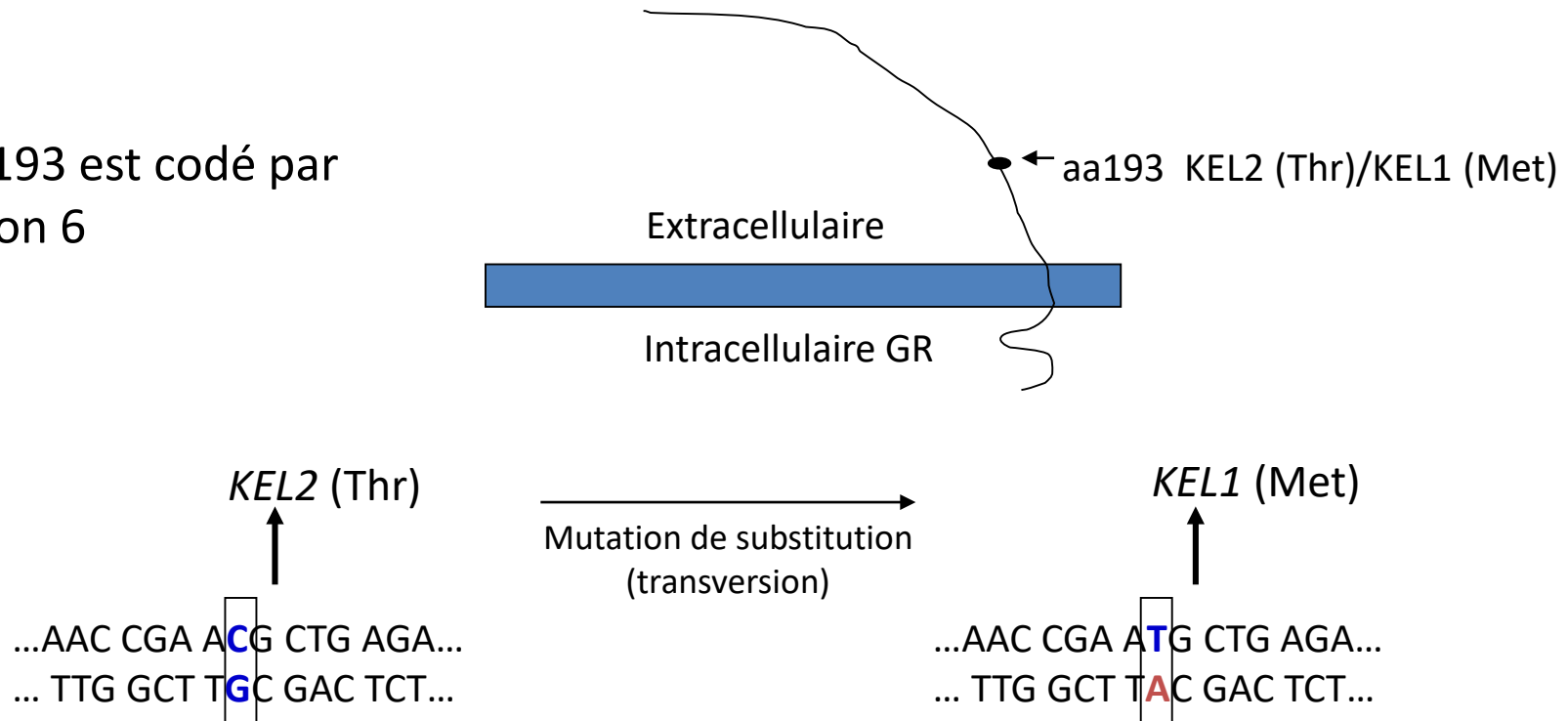
Genotypage KEL1 foetal

Base moléculaire

Gène *KEL* est constitué de 19 exons et 19 introns et code pour glycoprotéine transmembranaire (23 antigènes)

KEL1 (K=Kell) et KEL2 (k=Cellano)

aa 193 est codé par
l'exon 6



1 seule mutation (C→T) différencie les 2 allèles. Si beaucoup d'ADN maternel dans le prélèvement (concentration estimée par une PCR ABO), l'allèle KEL2 maternel peut s'amplifier faiblement avec les amorces KEL1: le génotypage KEL1 fœtal sera ininterprétable

Cas 5

Mme T, 2^{ème} pare.
Anti-Kell de titre 128

1^{er} génotypage Kell Foetal réalisé à 13SA: ininterprétable

2^{ème} génotypage Kell foetal réalisé à 16SA positif probable

3^{ème} génotypage Kell foetal réalisé à 18SA rendu positif vérifié à 20SA

Le titre de l'anti-Kell reste **stable à 128** sur les prélèvements effectués tous les mois.

A 26 SA, augmentation des PSV ACM > 1,5 Mom. Petite lame d'épanchement péricardique.

Ponction de sang foetal: Hb à 6g/dL. Réalisation d'une **transfusion foetale**

Groupe et phénotypes effectués sur le sang foetal

Enfant O RH:1,2,-3,4,5 **KEL:-1**

Test direct à l'antiglobuline (test de Coombs direct): 4+ (IgG4+, C3d 1+)

Cas 5

Mme T, 2^{ème} pare.
Anti-Kell de titre 128

Génotypage Kell foetal positif vérifié
Groupe et phénotypes effectués sur le sang
foetal

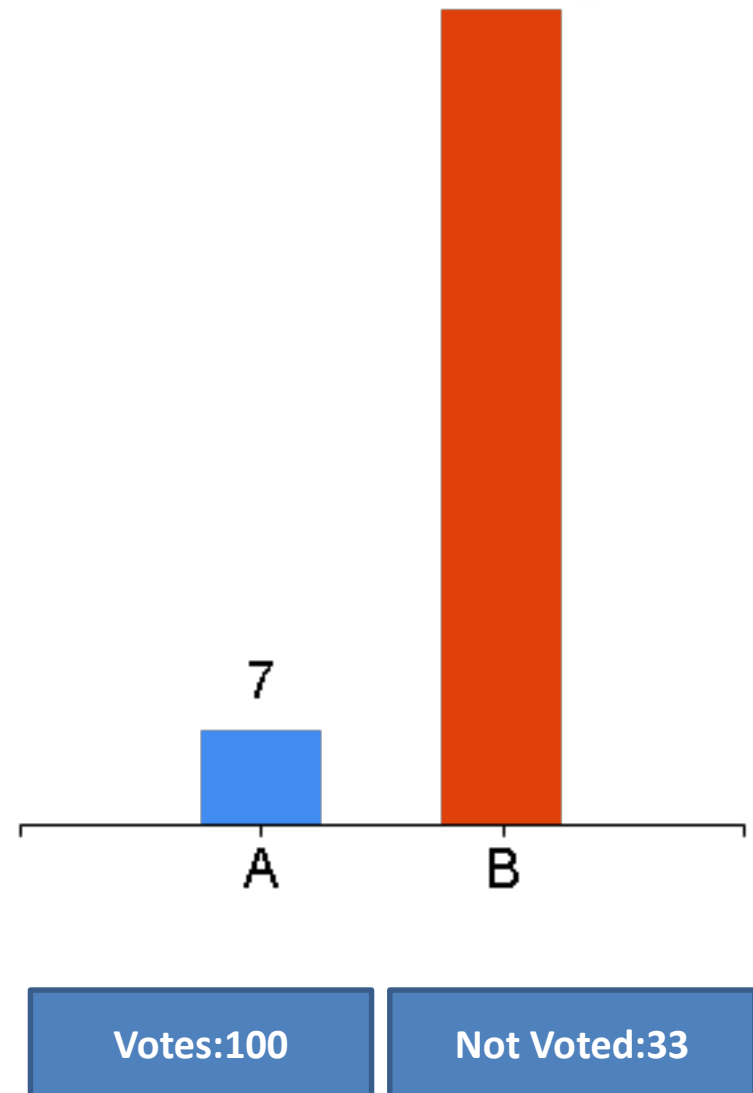
Enfant O RH:1,2,-3,4,5 **KEL:-1**

Test direct à l'antiglobuline (test de Coombs
direct): 4+ (IgG4+, C3d 1+)

Pensez-vous que le foetus est Kell compatible?

A. OUI

B. NON



Les phénotypes « bloqués »

Pour les immunisations anti-KEL1 sévère, on peut observer un **phénomène de phénotype « bloqué »**: le fœtus ou le nouveau-né apparaît « faussement » de phénotype KEL:-1 car les anticorps maternels « saturent » les sites antigéniques sur les hématies fœtales et les anticorps contenus dans le réactif de phénotypage ne peuvent plus se fixer.

Arguments permettant de suspecter l'incompatibilité KEL1: **clinique (Hb à 6g/dl) + TDA (TCD) fortement positif.**

Si après réalisation d'un **test d'élution**, on trouve un anti-KEL1 dans l'éluat : cela permettra de confirmer l'incompatibilité KEL1.

Le phénotype KEL1 pourra être refait après la naissance, à distance des transfusions.

Phénomène parfois aussi vu, mais + rarement avec les immunisations anti-RH1 (D).

Valeur ajoutée du génotypage fœtal non-invasif (RHD, KEL1, RH4 et RH3) dans la prise en charge des grossesses compliquées d'une allo-immunisation érythrocytaire

- Permet de justifier la **mise en place d'une surveillance lourde en cas de génotypage positif** et **d'alléger considérablement la surveillance en cas de génotypage négatif vérifié**
- Intérêt de le faire **précocement** surtout **dans les cas d'allo-immunisation sévère** (mise en place possible d'un traitement par IgIV pour tenter de limiter l'atteinte hémolytique foetale)
- **Mais n'est qu'un maillon de la chaîne permettant une bonne prise en charge de ces grossesses à la fois sur le plan biologique** (calendrier des RAI, identification et quantification des anticorps, seuils d'alerte) **et clinique** (mesures des PSV-ACM, suivi dans un centre spécialisé, réalisation de transfusions fœtales, prise en charge du nouveau-né...)

Dr Yves BROSSARD

UF biologie CNRHP

Dr A. MAILLOUX

Dr S. HUGUET-JACQUOT

Dr C. TOLY-NDOUR

Dr H. DELABY

Nelly Da-Silva
Equipe technique

UF clinique CNRHP

Dr A. CORTEY

Dr F. PERNOT

Pauline THOMAS

Dr E. MAISONNEUVE, Dr S. FRISZER, Dr L. GUILBAUD, Dr F.DHOMBRES

Pr J.M. JOUANNIC



Pôle biologie médicale et pathologie :

Dr M. VAUBOURDOLLE

CNRHp
Centre National de Référence
en Hémobiologie Périnatale
Site Saint-Antoine et Assurances
Hôpitaux Universitaires de l'Est Parisien - AP-HP
184, rue de l'Assommoir 75012 PARIS

Actualités 2017 - 2018
"SAVE THE DATE"
Après le succès de 2015, nous avons le plaisir de vous annoncer
l'organisation des 2èmes Journées Yves Brossard
d'hémobiologie fœtale et néonatale
Le jeudi 11 janvier 2018
Auditorium de la Mairie de Paris
Le programme définitif est disponible [ici](#)
Nous comptons sur votre présence
Les inscriptions sont désormais closes

Unité clinique de soins des incompatibilités
Toute transfusion et sérum néonatal
Pôle Hématologie - Site Saint-Antoine
Responsable : Dr Anne Cordey
Tél. 01 71 97 03 05

Unité fonctionnelle d'expertise
en Immuno-Hématologie Péritatale
Pôle de Biologie Médicale et Pathologie - Site Saint-Antoine
Responsable : Dr Agnès Bellère
Tél. 01 71 97 03 24

Pôle Mère-Enfant :

Pr J.M. JOUANNIC