

Suivi immuno-hématologique des femmes enceintes et nouvelles recommandations du CNGOF

QCM et Référentiel

Lucienne MANNESSIER

Pour le Groupe

Immuno-Hématologie

Journée scientifique SFTS

13/12/2007

1

Cas clinique

- ❖ Me VER, âgée de 35 ans consulte pour métrorragies à 9 SA
- ❖ Sa grossesse a été obtenue par fécondation in vitro avec don d'ovocytes
- ❖ L'échographie met en évidence un décollement trophoblastique
- ❖ Son phénotype est le suivant
 - A RH:-1,-2,-3,4,5, KEL:-1

1 - Quel bilan demandez vous avant la prévention ?

- ❖ 1 - Aucun**
- ❖ 2 - RAI maternelle et typage
ABO-RH-KEL1 du conjoint**
- ❖ 3 - RAI du conjoint**
- ❖ 4 - Test de Kleihauer**

Bilan en amont de la prévention

❖ Me VER

- ❖ 2ème détermination du typage ABO-RH-KEL1

- ❖ RAI de moins de 3 jours

- ❖ Typage ABO-RH-KEL1 du conjoint et détermination du génotype probable

- ❖ En cas d'indication de ponction de liquide amniotique, génotypage RHD par biologie moléculaire

- ❖ Test de Kleihauer inutile au 1er trimestre

Cas clinique

❖ **Le phénotype du conjoint est le suivant**

❖ **A RH:1,-2,3,4,5 KEL:-1**

2 - La prévention de l'allo-immunisation foeto-maternelle à l'antigène RH1 est-elle nécessaire?

- ❖ 1 - Oui**
- ❖ 2 - Non**

La prévention de l'allo-immunisation

- ❖ **Elle est nécessaire au vu**
 - ❖ **De l'âge de la grossesse**
 - ❖ **Du phénotype RH du conjoint**
- ❖ **Ce conjoint est hétérozygote probable pour le gène RHD**
- ❖ **La fréquence du gène RHD est de 60%**
- ❖ **Une abstention de prévention est envisageable uniquement si le fœtus est RHD négatif**

3 - Quel suivi immuno-hématologique assurez vous après l'injection d'immunoglobuline anti-RH ?

- ❖ 1 - Aucun**
- ❖ 2 - Test direct à l'antiglobuline
8 jours après**
- ❖ 3 - Programmation des RAI aux
3ème, 6ème, 8ème et 9ème mois**
- ❖ 4 - Test de Kleihauer au 9ème mois**

Suivi immuno-hématologique après l'injection d'immunoglobuline anti-RH

- ❖ 2ème typage ABO-RH-KEL1 si pas encore réalisé**
- ❖ Programmation des RAI aux 3ème, 6ème, 8ème et 9ème mois**
- ❖ Identification en cas de RAI positive**

La prévention a été réalisée

4 - Combien de temps la RAI peut elle être positive après l'injection d'immunoglobuline anti-RH?

- ❖ 1 – 3 jours**
- ❖ 2 – 3 semaines**
- ❖ 3 – 9 semaines**
- ❖ 4 – 11 semaines**

Interprétation des RAI après injection de 300µg d'Ig anti-RH

- ❖ **½ vie des IgG environ 21 jours**
- ❖ **Reste en théorie après injection**
 - ❖ **50% à 3 semaines**
 - ❖ **25% à 6 semaines**
 - ❖ **12,5% à 12 semaines**
- ❖ **Taux décelable par les procédés utilisés pour la RAI**

Concentration plasmatique moyenne après injection d'Ig anti-RH (Brossard)

Délai après injection IM ou IV	Concentration 100 µg	après 200 µg	injection de 300 µg
48 heures	15 ng/ml	30 ng/ml	45 ng/ml
1 semaine	12 ng/ml	24 ng/ml	36 ng/ml
2 semaines	9,5 ng/ml	30 ng/ml	28,5 ng/ml
3 semaines	7,5 ng/ml	19 ng/ml	22,5 ng/ml
4 semaines	6 ng/ml	15 ng/ml	18 ng/ml
5 semaines	4,7 ng/ml	12 ng/ml	14,1 ng/ml
6 semaines	3,8 ng /ml	9,4 ng/ml	11,4 ng/ml

Concentration plasmatique moyenne après injection d'Ig anti-RH (Brossard)

Délai après injection IM ou IV	Concentration 100 µg	après 200 µg	injection de 300 µg
7 semaines	3 ng/ml	6 ng/ml	9 ng/ml
8 semaines	2,4 ng/ml	4,8 ng/ml	7,2 ng/ml
9 semaines	1,9 ng/ml	3,8 ng/ml	5,7 ng/ml
10 semaines	1,5 ng/ml	3 ng/ml	4,5 ng/ml
11 semaines	1,2 ng/ml	2,4 ng/ml	3,6 ng/ml
12 semaines	0,9 ng/ml	1,8 ng/ml	2,7 ng/ml

5 - En cas de RAI positive, comment assurez vous qu'il s'agit d'un anti-RH1 passif, résiduel?

- ❖ 1 - En demandant l'avis du prescripteur**
- ❖ 2 - En s'assurant que l'injection a été faite**
- ❖ 3 - A partir des antécédents de RAI de la patiente**
- ❖ 4 - A partir des réactions observées au laboratoire**
- ❖ 5 - Par un dosage pondéral ou un microtitrage**

En cas de RAI positive, comment assurer qu'il s'agit d'un anti-RH1 passif, résiduel ?

❖ Prescription de RAI

❖ Renseigner l'acte préventif

**❖ Avec dates et doses
d'immunoglobulines anti-RH injectées**

**❖ Adresser le résultat daté de la RAI
en amont de l'injection**

Suspicion d'anti-RH1 d'immunisation active associé à un anti-RH1 passif

- ❖ **Recourir à des méthodes quantitatives que le titrage classique en TIA ne permet pas**
- ❖ **Dosage pondéral**
- ❖ **Microtitrage comparatif avec un standard anti-RH1 de concentration connue**
 - ❖ **Étude multicentrique en cours**

Cas clinique

- ❖ **La grossesse se déroule parfaitement bien**
- ❖ **La RAI à 6 mois était négative**
- ❖ **Un prélèvement est réalisé à 38 SA**
- ❖ **La RAI s'avère positive**
- ❖ **3 anticorps sont identifiés**
 - **Anti-RH1,3 + anti-JK1**

6 - En cas de besoin transfusionnel, quel sang lui destinez vous?

- ❖ 1 – Sang autologue**
- ❖ 2 – Sang homologue phénotypé
RH-KEL et étendu**
- ❖ 3 - Sang compatibilisé**
- ❖ 4 - Sang phénotypé et
compatibilisé**

Sécurité transfusionnelle

- ❖ **RAI pré transfusionnelle**
 - ❖ **Dépistage et identification**
 - ❖ **Validation du phénotype**
- ❖ **Épreuve directe de compatibilité au laboratoire vis à vis de sang phénotypé RH-KEL et phénotypé étendu antigéno et séro compatible**

7 - Quelle est votre hypothèse pour expliquer l'immunisation de cette patiente?

- ❖ 1 – Hémorragie foeto-maternelle spontanée silencieuse**
- ❖ 2 – Réactivation d'une immunisation antérieure**
- ❖ 3 - Transfert passif d'anticorps**

Comment expliquer l'immunisation ?

Hémorragie foeto-maternelle spontanée silencieuse du 3ème trimestre

8 - Comment aurait on pu éviter cette immunisation?

- ❖ En surveillant mieux la patiente**
- ❖ Prévention systématique à 28 SA**
- ❖ Immunisation inévitable**

Comment aurait on pu éviter cette immunisation ?

Prophylaxie

- ❖ **Pratique française consensuelle**
 - ❖ **Prévention post-partum**
 - ❖ **Prévention anténatale ciblée dans situations à risque d'HFM**
- ❖ **Taux résiduel d'allo-immunisations anti-RH1 > à celui d'autres pays pratiquant la prévention anténatale systématique au cours du 3ème trimestre de la grossesse**

Allo-immunisations anti-RH1 résiduelles

- ❖ **700 cas par an en France**
 - ❖ **2/3 des cas relèvent d'une d'une prévention inappropriée ou oubliée**
 - ❖ **Améliorer la prophylaxie ciblée est un impératif**
 - ❖ **1/3 des cas relèvent d'une HFM inapparente du 3ème trimestre échappant à la prévention ciblée**

Objectif de la prophylaxie

- ❖ **Éviter chez les femmes enceintes RH:-1 non immunisées anti-RH1 l'apparition d'une immunisation à la suite**
 - ❖ **D'événements permettant le passage d'HF dans la circulation maternelle**
 - ❖ **D'HFM occultes du 3ème trimestre à l'origine de près de 40% des cas d'incidents d'immunisation sévère recensés en France**

Prophylaxie ciblée du 1er trimestre: risque modéré HFM

- Toute FCS ou menace de FCS
- Toute IVG ou IMG quels que soient le terme et la méthode usitée
- Grossesse molaire
- GEU
- Métrorragies
- Choriocentèse, amniocentèse
- Réduction embryonnaire
- Traumatisme abdominal
- Cerclage de col

Prophylaxie ciblée des 2ème et 3ème trimestres

Risque important HFM

- IMG, FCS tardive
- MFIU
- VME
- d'accouchement
- Chirurgie abdominale ou pelvienne
- Amnio, cordo, placentocentèse
- Accouchement quelle que soit la voie

Risque modéré HFM

- Métrorragies
- Cerclage du col
- Menace
- Traumatisme abdominal ou pelvien

Prophylaxie systématique en cours de grossesse

- ❖ **Recommandations du CNGOF**
- ❖ **Injection IM anténatale systématique de 300 µg d'immunoglobuline anti-RH à la 28ème SA**
- ❖ **Dispenserait de reprogrammer de nouvelles RAI jusqu'à l'accouchement à condition de réviser le calendrier des RAI**
- ❖ **Réalisable car RAI négative à 28 SA**

Prophylaxies anténatales ciblée et systématique: Bilan immuno-hématologique

❖ RAI maternelle

❖ Pour la prévention systématique:

**❖ Correspond à RAI de la dernière semaine
du 6ème mois**

❖ Typage du géniteur

❖ Test de Kleihauer dès le 4ème mois

❖ 1 HF / 10 000 H adultes = 0,25 ml HF

Prise en charge des hémorragies du post-partum immédiat

- ❖ **Maintien de la RAI du 9ème mois le plus près possible du terme**
 - ❖ **Mention de l'acte préventif sur la prescription**
 - ❖ **Fournir**
 - ❖ **Dates et doses d'Ig anti-RH injectée**
 - ❖ **Résultat de la RAI en amont de l'injection**

Prophylaxie à l'accouchement

- ❖ **Chez toute femme RH:-1 non immunisée anti-RH1 accouchant d'un enfant RH1**
 - ❖ **2 typages ABO-RH1 du nouveau-né et TDA**
 - ❖ **RAI sur sang maternel**
 - ❖ **Kleihauer sur sang maternel prélevé a minima 1 heure après la délivrance**
- ❖ **Injection dans les 72 heures de 200 µg d'immunoglobuline anti-RH pour un Kleihauer \leq 24**

Prophylaxie à l'accouchement

❖ Nouveau-né RH1

❖ Si injection maternelle d'Ig anti-RH
à 28 SA

❖ TDA + en filtration

❖ En l'absence de signes cliniques

❖ Élu­tion directe inutile

❖ Prévoir RAI maternelle 6 mois
après accouchement

9 - Aurait on pu connaître le groupe RH du fœtus?



- ❖ 1 - Par déduction à partir du phénotype du conjoint**
- ❖ 2 - Impossibilité**
- ❖ 3 - Génotypage RHD fœtal sur sang maternel**
- ❖ 4 - Génotypage RHD à partir du liquide amniotique**

Aurait on pu connaître le groupe RH du foetus ?

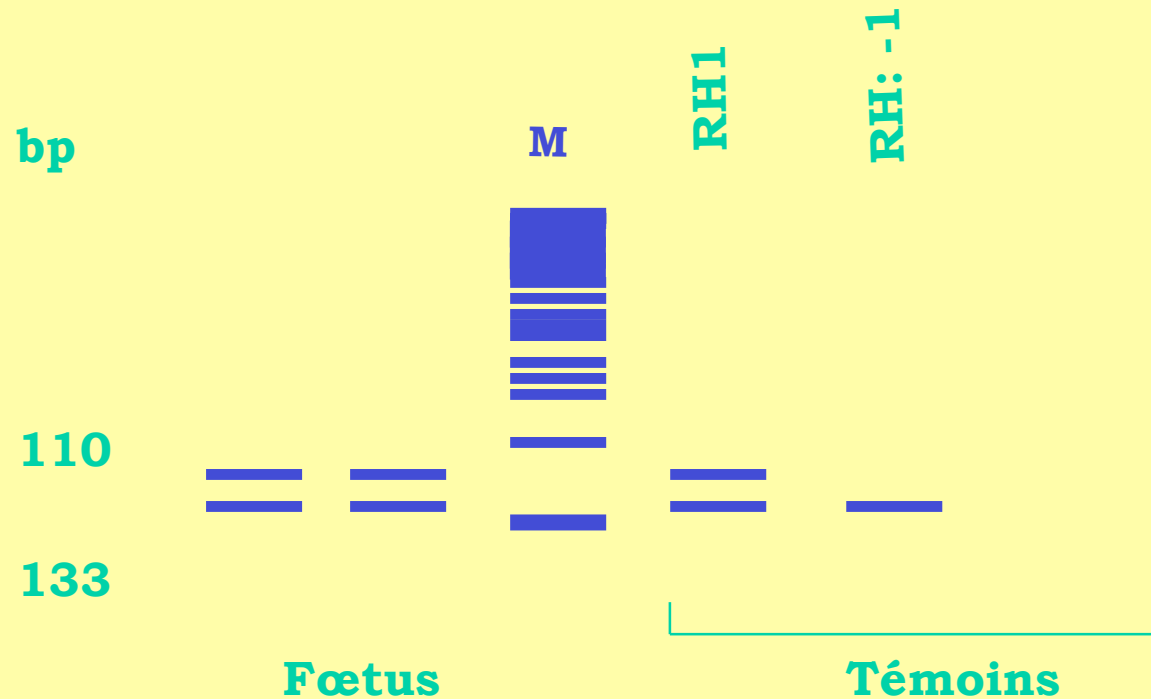
❖ Génomotypage RHD du foetus

- ❖ En cas de ponction de liquide amniotique ou de sang foetal pour une autre indication**
- ❖ A terme, réalisation sur plasma maternel**
- ❖ A partir de la 15ème SA**

Génotypage RHD par PCR sur ADN foetal

- ❖ Locus RH produit 2 gènes de structure possédant 96% d'homologie
- ❖ Proviendraient de la duplication d'un ancêtre commun
 - ❖ RHCE  polypeptides RH2, RH3, RH4, RH5
 - ❖ RHD  polypeptide RH1
- ❖ Cellules amniotiques,
 - ❖ Bennett 1993
- ❖ 2 PCR spécifiques: exons 7 et 10
- ❖ Inclure la détection du pseudogène RHD ψ

Génotypage RHD sur cellules amniotiques: PCR exon 7 du gène RHD



Génotypage de l'ADN fœtal issu du sang maternel

- ❖ **Extraction directe du DNA fœtal libre à partir du plasma maternel**
- ❖ **Approche non invasive mais nécessitant une technique très sensible et très spécifique**
- ❖ **Double amplification par PCR (nichée)**
 - ❖ **Exons 7 et 10: 1998 (Lo)**
- ❖ **PCR quantitative (Light Cycler)**

Génotypage RHD par PCR sur ADN foetal

❖ Bases moléculaires du phénotype RH:-1

❖ **Caucasiens: délétion du gène RHD**

❖ **Afro-antillais: 2 gènes RHD silencieux**

❖ **Pseudogène RHD ψ**

❖ **Gène hybride RHD-CE-D associé à
l'haplotype (C)ce^s et produisant un
antigène RH2 affaibli**