EFS
ÉTABLISSEMENT FRANÇAIS DU SANG
Du donneur aux patients

GESTION DES ANALYSES IMMUNO-HEMATOLOGIQUES EN OBSTETRIQUE

Dr Pascaline Bricca
EFS Rhone-Alpes-Auvergne
SFVTT 2016

Déclaration de conflits d'intérêts

Nom : Pascaline Bricca

☐ **Je n'ai pas de conflit d'intérêt**

Objectifs

- Dépister et surveiller les **situations d'incompatibilité foeto-maternelle érythrocytaire**
  - Mettre en place une surveillance clinique
  - Prévoir et anticiper la thérapeutique transfusionnelle d'une maladie hémolytique

- Assurer la **sécurité transfusionnelle immunologique** de la femme enceinte et du nouveau-né
  - Peu de transfusion en peripartum
    - Risque élevé dans certaines situations obstétricales (anomalies placentaires, pathologie de l'hémostase)
    - Urgences transfusionnelles (hémorragie de la délivrance, Benkiser)
  - La transfusion du nouveau-né doit être compatible avec l'IH maternelle

Les questions

Quels examens IH? Intérêt et limites

Quel calendrier?

Quelle surveillance pour les femmes immunisées?

Comment gérer les situations rares, AC anti-public ?

Les analyses immuno-hématologiques

Intérêt et limites

Groupe sanguin ABO-RH1 + phénotype RH-KEL1

- 2 déterminations sur 2 prélèvements différents
- identifier les femmes RH:-1:
  - Suivi de la RAI spécifique
  - prophylaxie par immunoglobulines anti-D

Exploration complémentaire en biologie moléculaire des antigènes RH d'expression faible,

AG RH1 faible: pour la plupart pas de risque d'immunisation

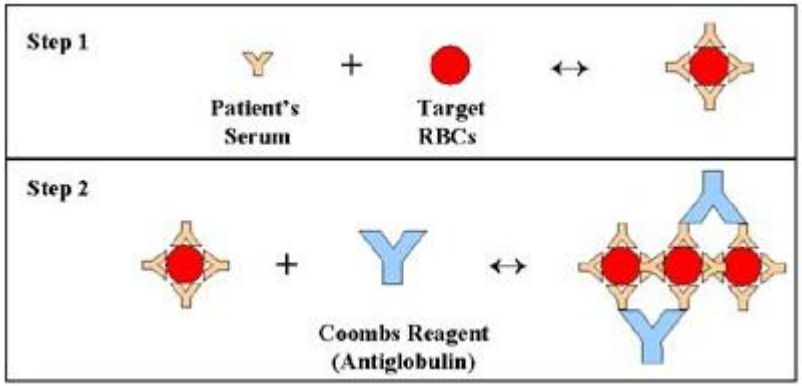
→ à considérer comme RH:1

AG RH1 partiel: risque d'immunisation

→ à considérer comme RH:-1, prophylaxie indiquée

Recherche d'anticorps irréguliers

- test indirect à l'antiglobuline
- AGH polyvalente ou anti-IgG
- Sur panel d'hématies-tests de phénotype connu



- Identification si dépistage positif
- Techniques sensibilisées possibles (enzymes)

	Rh-hr						Kell						Duffy		Kidd		Lewis		P	MNS				Luth.		Xg	Antigènes spéciaux/Spezielle Antigene/Antigeni Speciali/Özel Antijenler/Specialis antigenai
	D	C	E	c	e	C^w	K	k	Kp^a	Kp^b	Js^a	Js^b	Fy^a	Fy^a	Jk^a	Jk^b	Le^a	Le^b	P_1	M	N	S	s	Lu^a	Lu^b	Xg^a	
1	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	nt	+	0	+	+	0	0	+	$+^w$	0	+	+	+	0	+	+	
2	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	+	+	+	0	$+^w$	+	+	+	0	0	+	0	
3	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	+	0	0	+	0	0	+	+	0	+	0	0	+	$+^w$	
4	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	
5	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	
6	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	nt	+	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	
7	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	nt	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	Co(b+)
8	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	nt	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	
9	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	0	+	0	+	$+^w$	+	0	+	0	0	+	+	
10	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	+	0	+	0	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	
11	+	+	0	0	+	0	0	+	0	+	nt	+	+	0	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	

Les anticorps impliqués dans les maladies hémolytiques périnatales

Spécificité (nomenclature traditionnelle)	Spécificité (nomenclature numérique)	Risque d'anémie fœtale	Maladie hémolytique néonatale
Anti-D	Anti-RH1	OUI après 15 SA	OUI
Anti-petit c	Anti-RH4	OUI après 20 SA	OUI
Anti-Kell	Anti-KEL1	OUI après 15 SA	OUI
Anti-E	Anti-RH3	RARE (3ème trimestre)	OUI
Anti-e	Anti-RH5	Exceptionnel	OUI
Anti-Fya	Anti-FY1	Exceptionnel	OUI
Anti-Jka	Anti-JK1	Exceptionnel	OUI
Anti-Kpa	Anti-KELL3	Exceptionnel	OUI
Anti-M	Anti-MNS1	Exceptionnel	OUI

Spécificité (nomenclature traditionnelle)	Spécificité (nomenclature numérique)	Risque d'anémie fœtale	Maladie hémolytique néonatale
Anti-A	Anti-ABO1	NON	OUI
Anti-B	Anti-ABO2	NON	OUI
Anti-C	Anti-RH2	NON	OUI
Anti-Fyb	Anti-FY2	NON	OUI
Anti-Jkb	Anti-JK2	NON	OUI
Anti-S	Anti-MNS3	NON	OUI
Anti-G	Anti-RH12	NON	OUI

+ certains AC anti-public
Exceptionnellement AC-anti-privé

Les incompatibilités foeto-maternelles ABO

- Situation fréquente
- **maladie hémolytique post-natale possible** mais rare (#2/1000 à expression clinique significative)
- Surtout dans la population d'origine africaine (incompatibilité B/0 ++)

Pas de dépistage pendant la grossesse

la RAI maternelle est négative

→Surveillance clinique à la naissance

anti-RH1 passif ou immun?

= Difficulté quotidienne pour les laboratoire d'IH

- Depuis l'instauration de la prophylaxie anti-RH1 à 28 SA
- Anti-RH1 passif peut persister jusqu'à 3 mois

Anti-RH1 passif ou anti-RH1 immun?

→ Recherche systématique d'une chronologie

- RAI négative qui précède la dose (<7 jours)
- Date de la dose

→ Si pas de RAI négative qui précède l'injection

- titrage ou technique de microtitrage (mais technique peu disponible dans les laboratoires)
- contrôle à 15 jours pour vérifier l'évolution de la réactivité

Quelles analyses pour confirmer une incompatibilité foeto-maternelle?

- **Le fœtus est-il porteur de l'antigène correspondant à l'anticorps maternel?**

- **Phénotype paternel pour l'antigène concerné**

Si négatif: **pas de risque**

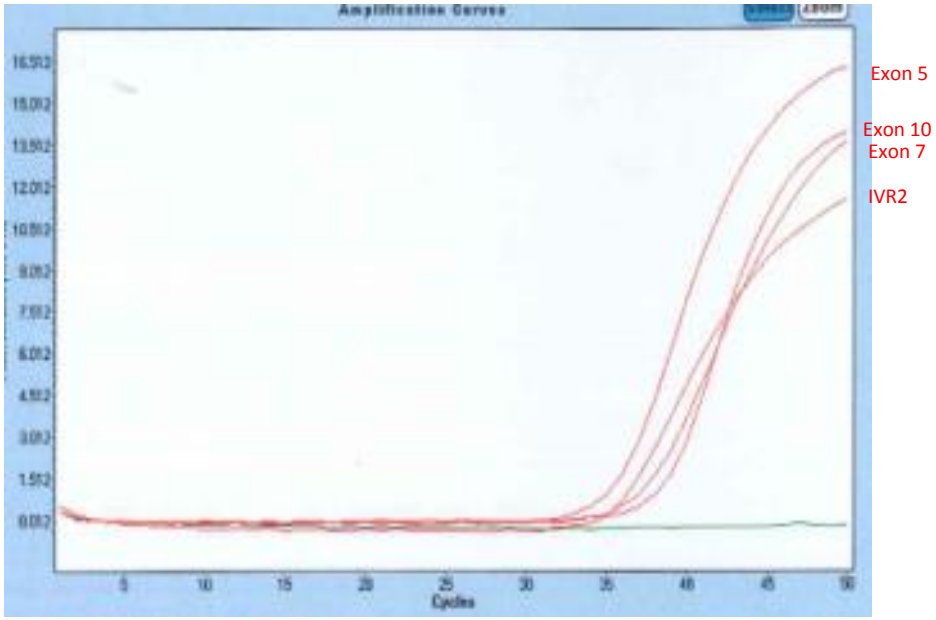
Si positif:

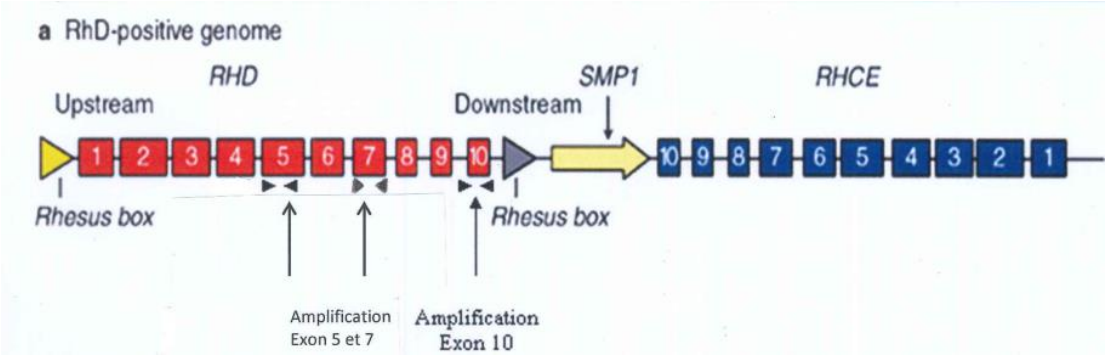
Hétérozygote probable → **risque d'incompatibilité =50%**

Homozygote probable → **risque d'incompatibilité =100%**

Génotypage RHD fœtal sur plasma maternel

- ADN fœtal présent dans le plasma maternel dès le début de la grossesse
- Test réalisable dès la 12éme SA
- Technique de **PCR en temps réel:** amplification de fragments d'exons spécifiques du gène *RHD*





Génotypage RHD fœtal sur plasma maternel

Indication chez une femme immunisée anti-RH1

- **Si gène *RHD* présent** :
  -> phénotype fœtal présumé = RH:1 -> **surveillance ++**
- **Si gène *RHD* absent** (confirmé sur 2ème prélèvement après 15 jours):
  -> phénotype fœtal présumé = RH:-1 -> **surveillance allégée**

Indication chez une femme RH:-1 non immunisée

Environ 40 % des femmes RH:-1 sont porteuses d'un fœtus RH:-1

→ **Éviter l'injection inutile d'Ig anti-RH1**

Indications déjà retenues dans plusieurs pays européens (Pays-Bas, Danemark…)
mais inscription à la NABM toujours en discussion en France

Génotypage Fœtal sur plasma maternel

Egalement depuis peu pour les gènes

- *KEL*01:* femmes immunisées anti-K1
  (conjoint de phénotype KEL:1)
- *RHCE:* femmes immunisées anti-RH4

Au Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale (CNRHP)

Titrage et dosage pondéral

Titrage

- Test indirect à l'antiglobuline anti-IgG
- Série de dilution du plasma vis-à-vis d'hématies hétérozygotes pour l'AG correspondant à l'AC
- **Titrage comparatif** avec le serum antérieur: l'évolution du titre est significative à partir de 2 dilutions d'écart: T32→T128
- Variabilité des résultats entre différentes techniques (tube, gel)

  → **préférer un suivi dans un même laboratoire**

Le titrage reflète l'affinité des anticorps

Dosage pondéral

- Concentration des AC mesurée vis-à-vis d'un serum étalon de référence, exprimée en UI ou µg/ml
- La méthode en 1 et 2 temps: distinction des sous-classes IgG:
  - 1 temps= AC IgG de haute affinité (essentiellement IgG1)
  - 2 temps= tous les AC IgG et IgM
- uniquement les **AC du système RH**
- **Disponibilité limitée de la technique** (centralisation dans quelques labos seulement)
- Délai de résultat de 3j à 1 semaine

Le dosage pondéral reflète la concentration des anticorps

Intérêt titrage/dosage pondéral

Profils immunologiques des anti-D : interprétation et signification pronostique				
	Titre en Coombs indirect normal	Dosage pondéral 2 temps	Dosage pondéral 1 temps	
Profil 1	1/32	1 µg/ml	1 µg/ml	Profil habituel : anticorps d'affinité moyenne, anémie fœtale sévère possible à partir de 7 mois de grossesse
Profil 2	1/128	0,3 µg/ml	0,6 µg/ml	Anticorps de forte affinité, de concentration relativement basse, sans risque fœtal immédiat
Profil 3	1/128	3 µg/ml	0,4 µg/ml	Anticorps de sous-classe IgG3, potentiel hémolytique atténué
Profil 4	1/8	8 µg/ml	0,8 µg/ml	Anticorps de basse affinité, de concentration élevée, anémie fœtale sévère possible en fin de grossesse : ce profil = à l'anti-c (RH4)

E. Miquel et al. / Transfusion Clinique et Biologique 12 (2005) 45–55

Titrage et dosage pondéral: intérêt essentiellement pour déclencher la prise en charge de la surveillance par des moyens cliniques:

- **Pic systolique de l'artère cérébrale moyenne: diagnostic d'une anémie fœtale**
- **échographie: recherche de signes d'anémie**
- **Enregistrement activité cardiaque: appréciation de la vitalité foetale**

Le calendrier des analyses

le calendrier réglementaire

Décret 92-143 du 14/2/92 relatif aux examens obligatoires prénuptial, pré et post-natal
Recommandations SFAR (2012)
Recommandations CNGOF (2005)

- **Groupe sanguin: si non connu, 2 déterminations au 1er trimestre**
- **RAI:**

Femmes RH:1 sans antécédents transfusionnels	Femmes RH:1 avec antécédents transfusionnels	Femmes RH:-1
1er trimestre	1er trimestre	1er trimestre
	6ème mois	6ème mois
	8ème mois	8ème mois
9ème mois (ou entrée en salle de travail)	9ème mois (ou entrée en salle de travail)	9ème mois (ou entrée en salle de travail)
		Avant toute injection prophylactique d'IgG anti-D

Surveillance des femmes immunisées

Anti-RH1 (D) anti-RH4 (c) anti-KEL1 (K)
Risque d'anémie foetale in utero +
maladie hémolytique post-natale

Groupe et phénotype du procréateur

Si phénotype incompatible ou si non disponible

Génotypage fœtal sur sang maternel
- Anti-RH1 : à partir de 12 SA
- Anti-RH4 : à partir de 13 SA
- Anti-KEL1 : à partir de 13 SA

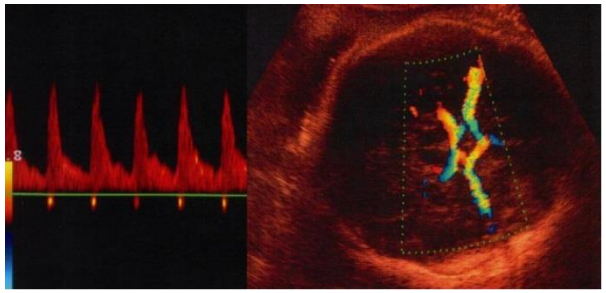
RAI et titrage :
- Au 1er trimestre de la grossesse puis
- Pour anti-RH1 : tous les 15 jours à partir de 18 SA
- Pour anti-RH4 :
  - 1 fois/mois entre 18 et 28 SA
  - Tous les 15 jours après 28 SA
- Pour anti-KEL1 : tous les mois à partir de 18 SA

Dosage pondéral
- Pour anti-RH1 : si titre >8
- Pour anti-RH4 : si titre >4

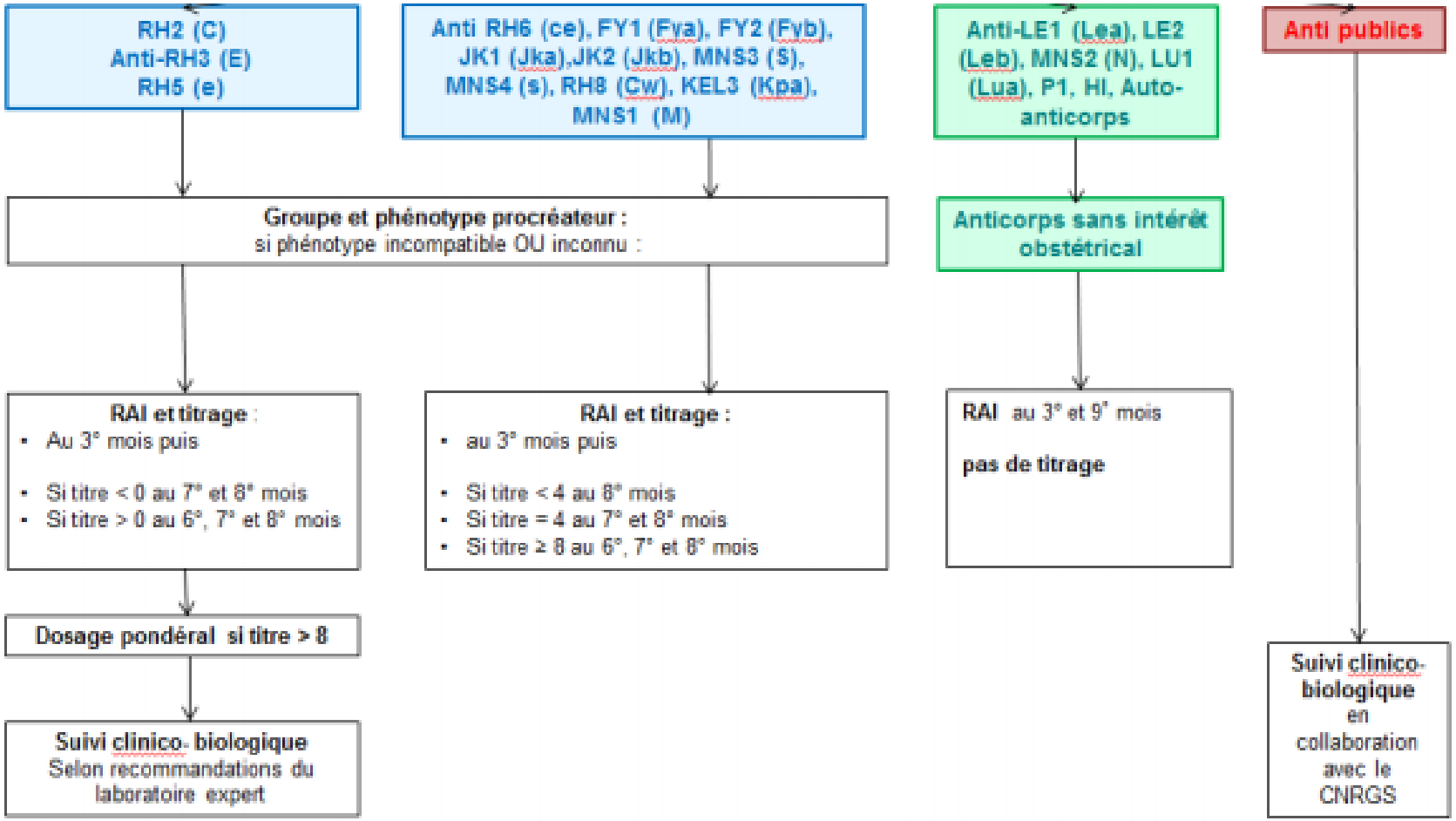
Titre ≥32
Dosage pondéral > 1 µg/ml
A partir de 20 SA

Surveillance clinique ++

par vélocimétrie de l'artère cérébrale moyenne
Risque d'anémie fœtale pour VACM >1,50 MoM



Surveillance des femmes immunisées

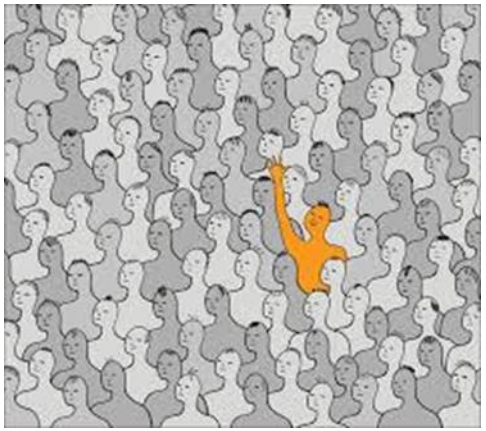


Cas rares: phénotypes rares et immunisation anti-public

Cas rares: phénotype rare public négatif et immunisation anti-public

Prévalence du phénotype <4/1000

1 sujet/250



Circonstances de découverte:

- Absence d'antigènes antithétiques:

  S-s- (MNS:-3,-4) doit faire rechercher un phénotype U- (MNS-5)
- Antigènes faibles: notamment dans le système RH
- allo-immunisation: présence d'anticorps dirigés contre toutes les hématies-test lors de la RAI (pan-agglutination avec T auto négatif)

  → Identification nécessaire au CNRGS

Problème de mise à disposition de CGR compatibles

Allo-immunisation anti-public et maladie hémolytique périnatale

Anticorps à risque fœtal élevé:

- Anti-MNS5 (U)
  - Populations d'origine africaine/antillaise (fréquence phénotype U-: 15/1000)
  - Exceptionnel chez les caucasiens
- Anti-Jr^a
  - Populations gitanes d'Europe de l'Est, origine asiatique
- Anti-GE3
  - Origine pourtour méditerranéen
- Anti-KEL2

Anticorps à risque fœtal faible ou inconnu:

- Anti- Co^a
- Anti-Do4
- Anti-GE2

…

Grossesses suivies en ex région RA depuis 3 ans:

Anti-U:	3
Anti-Jra:	3
Anti-GE2:	2
Anti-DO5, Jk3, Co^a,	…

3 à 4 grossesses concernées par an

Prévoir la stratégie transfusionnelle

- **Mère**
- Stimulation de l'érythropoïèse
- Prélèvement pour auto-transfusion
- Recherche de donneurs dans la fratrie
- Recherche de donneurs pour CGR en phase liquide
- Décongélation de CGR à la BNSPR
- Protocole en cas de transfusion incompatible

- **Enfant**
- Transfusion de sang maternel lavé
- Recherche de donneurs dans la fratrie
- Recherche de donneurs pour CGR en phase liquide
- Décongélation de CGR à la BNSPR

Les difficultés

- Grossesses non ou mal suivies
- Non prise en compte du besoin transfusionnel éventuel dans le choix du lieu d'accouchement
- Absence d'information et implication de l'EFS
- Transfusion d'un nouveau-né sans connaissance de l'IH maternelle

Cas clinique

- Patiente enceinte à 30 SA (fin du 7ème mois) est accueillie en **URGENCE** à 8:50

  dans le **Service d'Obstétrique de l'Hôpital de la Croix-Rousse**

- **Fœtus en état d'anasarque** avec suspicion d'**anémie sévère:**

  Anomalie RCF, vélocités augmentées, ascite, œdème SC, Hb évaluée < 60g/L

- **Indication de prise en charge transfusionnelle** in utero

  ou césarienne en urgence avec transfusion à la naissance

ANTECEDENTS:
G1 en 2005: RAS

G2 en 2009; Suivie pour allo-immunisation anti-RH4(c) de titre faible (<1)
Nouveau-né de phénotype **RH:4 (c)** avec **Test Direct à l'Antiglobuline 3+** (n'a pas été transfusé)

G3 en 2014: Analyses IH et titrages réalisés par un laboratoire de Lyon
L'**EFS n'a pas connaissance de la grossesse en cours**

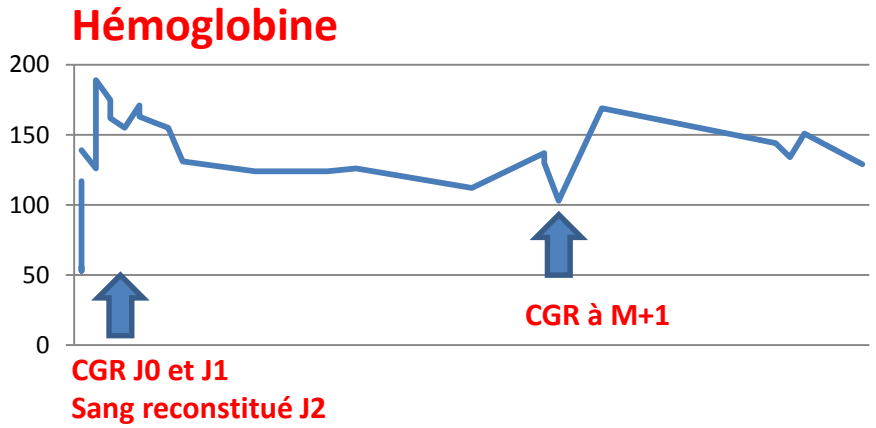
Organisation en urgence pour une transfusion néo-natale

- Le néonatalogiste souhaite une unité adulte pour **prise en charge ex utero**
- La RAI et le titrage sont réalisés en urgence. L'**anti-RH4 (c**) est trouvé au **titre élevé de 512**
- **CGR nécessaire** : O+ E- c- K-, irradié, compatibilisé avec le sérum maternel
- Naissance à 11:52 (admission de la mère à 8:50)
- Sexe masculin
  1,710 kg pour 30 semaines
  très œdématié et pâle → **anémie sévère à 56 g/L**
- Apgar : 3/7/7/8
- Intubation, ventilation assistée, Ponction d'**ascite** : 130mL
- **Saignée-transfusion en salle de naissance** : **Hb 56 g/L → 117 g/L**

Transfert en réanimation néonatale

A l'admission

- **Syndrome Détresse Respiratoire** → injection surfactant, ventilation assistée
  → transfusion massive de CGR, CPA, PFC et injection VEINOFER et EPO
- **Ictère à J2** (bili 291µM) nécessitant une **exsanguinotransfusion** puis **photothérapie prolongée**



Evolution

- Air ambiant à **J44** après plusieurs essais
- **EntéroColite Ulcéro-Nécrosante, sepsis,** ATB → sténose digestive → chirurgie

Conclusion: perte de chance

- **Retard à la prise en charge transfusionnelle** fœtale et/ou néonatale

  Aurait dû bénéficier d'un suivi biologique et clinique rapproché in utero à la recherche de signe d'anémie fœtale pour anticiper la naissance et les besoins transfusionnels

- **Situation d'URGENCE VITALE associée à une prématurité**

  - la prévention par corticothérapie anténatale n'a pas pu être réalisée

  - la mise à disposition de sang compatible (critères de sélection complexes et chronophages) est incompatible avec l'extrême urgence

- **Infection nosocomiale** secondaire au séjour prolongé en réanimation

- **Complication digestive**

→ **Séquelles ?**

Conclusion

- **Respect du calendrier des analyses**

- **Prise en compte de la biologie pour évaluer la nécessité de suivi de la grossesse par un service clinique spécialisé**

- **Prise en charge pluridisciplinaire impliquant une coordination entre les différents intervenants obstétriciens, pédiatres, biologistes et EFS ou site de délivrance des PSL**

- **Information des patientes immunisées**