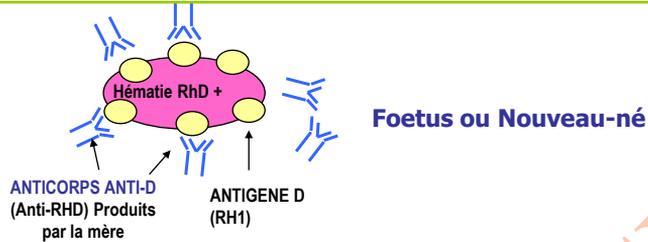


Incompatibilités foeto-maternelles érythrocytaires



Incidence clinique = 4 pour 1000 naissances

Ictère hémolytique = IFM ABO surtout (50%) (5% des Nnés à Coombs direct positif et ictère précoce sévère)

Anémie foétale sévère = IFM Rh D (85 %),
2003-2006 (n=60) Kell (13 %),
Rh petit-c (2 %).

**Incompatibilités rhésus D en France =
100 nouveaux cas par an**

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

Conséquences de l'IFM pour l'enfant

❖ In utero

- ✓ Anémie foétale
- ✓ Anasarque
- ✓ Mort foétale in utero
- ✓ Séquelles neurologiques



❖ Post-natales

- ✓ Anémie régénérative
- ✓ Ictère à bilirubine non conjuguée
 - ✓ Ictère nucléaire
 - ✓ Séquelles neurologiques

Diagnostic allo-immunisation: Les RAI

•RAI D'INTERET FŒTAL

Femme RHD + : une seule mais dès le 1er trimestre de grossesse

Femme RHD - : une aux 1er, 2ème, 3ème trimestre

*Si injection d'anti-D en cours de grossesse
la RAI garde toute sa valeur*

- **RAI D'INTERET MATERNEL** (transfusionnel) :
en fin de grossesse (valide si délai à l'accouchement de moins de 3 jours).

CNRHp

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

RAI Positives chez la femme Rhésus D négatif après injection anti-D

-Rechercher une autre immunisation associée

→ Usage de panels d'hématies-test D neg ,
ou de panels standard d'identification de 12
hématies-test.

- Dépister une immunisation anti-D

→ **Doser l'anti-D** et confronter avec la
concentration attendue si anti-D passif seul.

*(préciser au laboratoire les doses reçues et les dates
d'injection)*

CNRHp

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

Concentration attendue en anti-D passif après injection d'une dose de 100 µg

24 heures	Après Injection	20 ng/ml
48 heures	Après Injection	15 ng/ml
7 jours	Après Injection	12 ng/ml
14 jours	Après Injection	9,5 ng/ml
21 jours	Après Injection	7,5 ng/ml
28 jours	Après Injection	6 ng/ml
35 jours	Après Injection	4,7 ng/ml
42 jours	Après Injection	3,8 ng/ml

Exemple

2 doses à J - 28
et
1 dose à J - 2

Concentration attendue

$$(2 \times 6) + 15 = 27 \text{ ng/ml}$$

CNRHp

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

CNRHp

ALLO-ANTICORPS COURANTS ET RISQUE DE MALADIE HEMOLYTIQUE

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

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

Surveillance Clinique et Biologique d'une incompatibilité Foeto- Maternelle

- ❖ **Appréhender le risque dès le début de grossesse:**
 - Déterminer le **type d'alloimmunisation**: D, petit c, Kell
 - Renseigner le devenir des **grossesses précédentes** et titrage
 - Assurer la détermination du **phénotype du conjoint**
 - Pour l'AI RhD, prévoir le **génotype du fœtus non invasive** (sur plasma maternel dès 12 SA)

- ❖ **Organiser la Surveillance Fœtale et la prise en charge néonatale:**
 - **Suivi longitudinal du titrage-dosage** des anticorps
 - **Echographie**
 - **Doppler cérébral: PSV-ACM**

- ❖ **DONC UN LIEN FORT ENTRE CLINIQUE ET BIOLOGIE**

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine



Éléments de surveillance du risque d'anémie foetale

- ❖ **Titrage/dosage pondéral des anticorps**

- ❖ **Echographie**
 - Petits signes d'anasarque ou Signes majeurs...mais souvent trop tardif

- ❖ **Amniocentèse ? IO 450nm:Liley**

- ❖ **RCF ?**

- ❖ **Doppler cérébral: PSV-ACM**

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine



- ♦ **Dosage pondéral :**
anti-D, anti-petit c, Anti-e, anti-E, Anti-C
- ♦ **Pour les autres anticorps : Titrage Coombs indirect**
(test indirect à l'antiglobuline-hématies tests normales-
lecture macroscopique des agglutinats)
- ♦ **Evolution conditionne la prise en charge obstétricale**

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

Allo-immunisation et grossesse Taux « critiques » opérationnels des Anticorps

Anti-D	Dosage pondéral : (titre $\geq 1/16e$)	≥ 4 $\mu\text{g/ml}$	3 $\mu\text{g/ml}$	2 $\mu\text{g/ml}$	1 $\mu\text{g/ml}$	0,7 $\mu\text{g/ml}$
Anti-Kell	Titre :	$> 1/128$	1/128	1/64	1/16	1/16
Anti-petit c	Dosage pondéral : (titre $\geq 1/4$)	$\geq 2\ 000$ UCHP/ml	1 500 UCHP/ml	1 000 UCHP/ml	750 UCHP/ml	500 UCHP/ml
RISQUE FŒTAL PRESENT A PARTIR DE		18 S.A.	24 S.A.	28 S.A.	32 S.A.	36 S.A.

déclenchement d'un suivi spécifique du fœtus

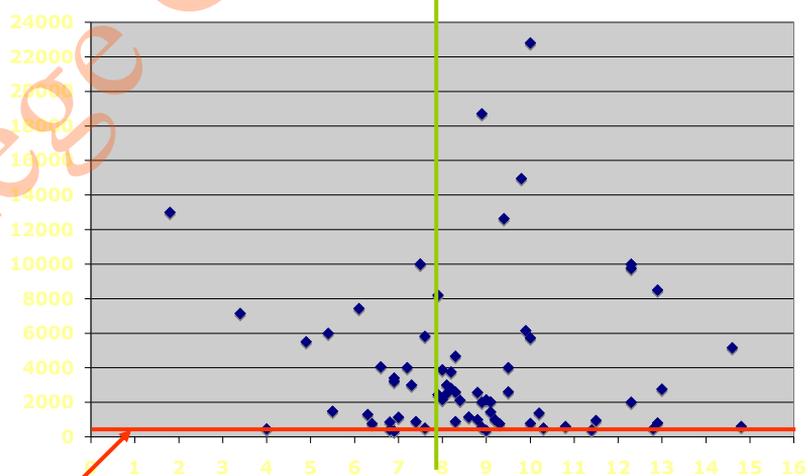
Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

Allo-immunisation et grossesse Schéma de Titrage- Dosage

- ◆ 1^{er} trimestre : 1 seul dosage
- ◆ 2^{ème} et 3^{ème} trimestres :
 - Anti-D et anti-petit c** : toutes les 2 à 4 semaines
Chaque semaine si le taux augmente
Une semaine après amniocentèse
 - Anti-Kell** : tous les mois
 - Autres anticorps** : à 6 et 8 mois de grossesse

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

Dosage pondéral anti-D et anémie foetale



250 UHP/ml (1mcg/ml)

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

Allo-Immunsation et grossesse Réactivation prénatale de l'immunsation

- **Très fréquente** avec **anti-D et anti-petit c**
(Tous trimestres de grossesse)
- **Rare** avec **anti-Kell et les autres anticorps**
(essentiellement au 3^{ème} trimestre)

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

Éléments de surveillance du risque d'anémie foetale

- ❖ **Titrage/dosage pondéral des anticorps**
- ❖ **Echographie**
 - Petits signes d'anasarque ou Signes majeurs...mais souvent trop tardif

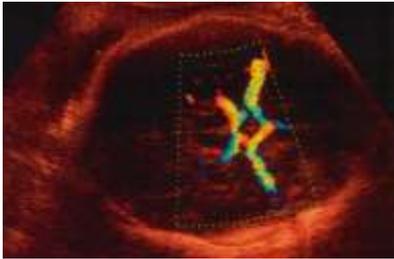


- ❖ **Amniocentèse ? IO 450nm:Liley**
- ❖ **RCF ?**
- ❖ **Doppler cérébral: PSV-ACM**

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

Éléments de surveillance du risque d'anémie foetale

- ❖ Titrage/dosage pondéral des anticorps
- ❖ Echographie
- ❖ Amniocentèse ? IO 450nm:Liley
- ❖ RCF ?
- ❖ **Doppler cérébral**: Pic de vélocité systolique de l'artère cérébrale moyenne

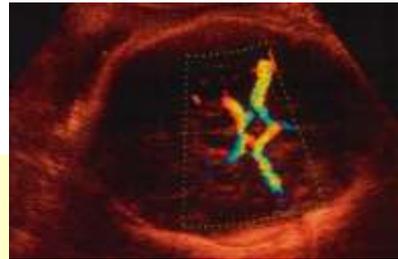


- ⌘ Accessible à tout échographiste entraîné
- ⌘ A supplanté l'échographie seule
- ⌘ A supprimé le recours à l'amniocentèse (IO 450nm)
- ⌘ Permet de limiter les prélèvements foetaux

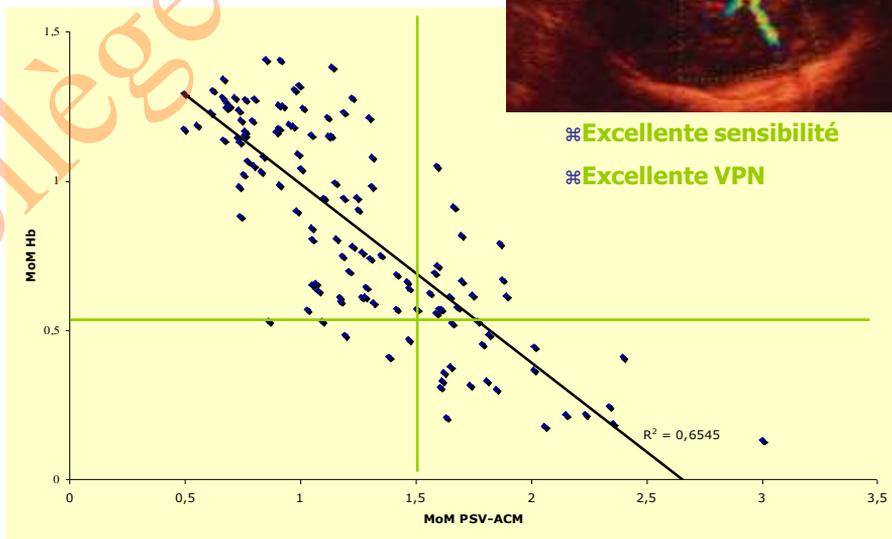
CNRHp

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

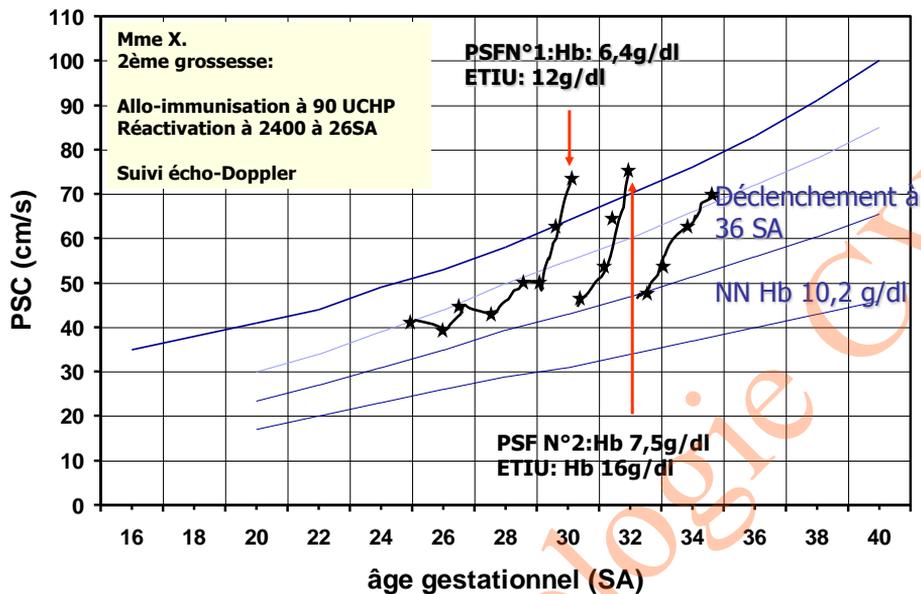
Vélocimétrie systolique de l'artère cérébrale moyenne



- ⌘ Excellente sensibilité
- ⌘ Excellente VPN



Suivi longitudinal: exemple



Objectifs de la surveillance d'une incompatibilité

- ❖ **Apprécier le risque d'anémie fœtale et sa sévérité**
 - Surveillance spécifique par une équipe expérimentée déterminée par l'Ac et son taux
 - déterminer nécessité d'une intervention transfusionnelle qui suivant le terme se fera in utero ou à la naissance
- ❖ **Anticiper l'accueil de l'enfant à la naissance**
 - Ictère: TOUJOURS ⇒ photothérapie intensive immédiate
 - Anémie hémolytique PARFOIS d'emblée ou différée jusqu'à 3 mois

DONC coordination multidisciplinaire

- ❖ Si alloimmunisation connue: consultation préconceptionnelle d'évaluer les risques potentiels d'une future grossesse à titre d'information du couple

Suivi des grossesses allo-immunisées

- Le **suivi longitudinal régulier non invasif couplant biologie et obstétrique spécialisées** permet de réduire le nombre d'urgences et d'accidents de grossesses allo-immunisées au minimum.
- Mais il suppose que **l'immunisation ait été « qualifiée » et « quantifiée »**
- La **naissance** devrait pouvoir être **programmée après 34 SA en coopération** avec une équipe pédiatrique et transfusionnelle.

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

CNRHP

**Immunoprophylaxie rhésus
ante et post-natale**

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

Allo-immunisation anti-RhD: Quel risque?

- **Permanent et lié à la survenue d'Hémorragies Foeto-Maternelles (HFM)**
 - Spontanées (surtout au troisième trimestre)
 - ou induites par une série d'évènements (accouchements, MFIU, IVG) ou manœuvres obstétricales (version, amniocentèse....)
- **Croît avec l'âge gestationnel**
- **Peut être prévenu par injection d'anti-D mais n'évite pas la réactivation d'une immunisation anti-D déjà présente.**

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

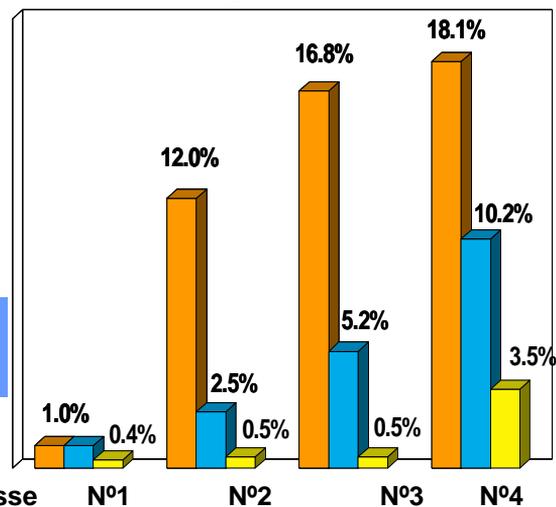
IMMUNOPROPHYLAXIE RHESUS

Taux cumulés d'immunisation anti-D en fin de grossesses chez la femme Rh négatif

⇒ Spontané

⇒ Après Ig Rh post partum seulement

⇒ + Ig Rh ante partum systématique



Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

CAUSES PROBABLES DES IMMUNISATIONS ANTI-D formes graves 2005

- Immunisation spontanée du troisième trimestre **29 %**
- Oubli probable de prévention Rh à la précédente grossesse **25%**
- Défaut de prévention (retard de traitement, défaut posologie...) **~ 30 %**
- Inconnue **15%**

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

Nouvelles recommandations : comment?

L'efficacité immunosuppressive des immunoglobulines anti-D dépend du :

Délai d'administration après introduction de l'antigène D

- Maximale dans les **72 heures**

Biodisponibilité: la **voie IV** doit être préférée à la voie IM si le test de Kleihauer est positif ou si l'on approche des 72h.

Ratio μg IgG anti-D/ml Gl.R. RhD positifs:

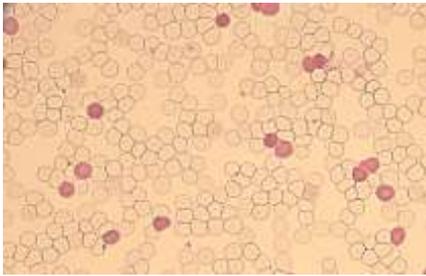
- Apport **IgG anti-D \geq à 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ GR** fœtaux RhD+: efficacité **100%**

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

IFME: Traitement préventif adapter les doses d'anti-D.

Quantifier L'HFM par un Test de Kleihauer et adapter les doses d'anti-D.

- 200µg pour couvrir une HFM jusqu'à 24 HF/10 000
- Puis: 20 µg par tranche de 4 HF/10 000 suppl...



RESULTAT : 500 HF /10 000 HA :
soit 250 ml de sang foetal
(gros passage)

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

Immunoprophylaxie rhésus: nouvelles recommandations: comment?

L'action immunosuppressive des IgG anti-D
persiste seulement quelques semaines
après l'administration IV ou IM.

Ne faut négliger aucune situation à risque
d'hémorragies foeto-maternelles ni les HFM de
survenue spontanée

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

< 15 SA	15 à 27 SA	27-29 SA	29 SA à Acct	Accouchement
Prélever une RAI avant toute injection d'IgRh				
Prévention ciblée : -FCS, IVG, GEU, IMG -Métrorragies, môle, réduction embryonnaire, cerclage, Traumatisme abdominal -Ponction amniotique, Biopsie Trophoblaste	Prévention ciblée - Risque élevé d'HFM (+) FC tardive, IMG, MIU, Traumatisme abdomino-pelvien, Cordocentèse - Risque faible d'HFM amniocentèse simple, métrorragies, cerclage tardif	Prévention Systématique	Prévention ciblée : Abstention si 300µg à 28 SA sauf si Risque élevé d'HFM (version, MIU, traumatisme abdomino-pelvien, Ponction cordon ou organe fœtal)	Si N-né RhD positif ⇒ Injection IgRh Abstention possible si : - <3 sem après IgRh - ET Kleihauer négatif - ET microtitrage anti-D >6ng/ml
Kleihauer : non	Kleihauer : oui si *	Kleihauer: non	Kleihauer :oui	Kleihauer :oui
Rhophylac® 200 IV dans les 72h	Rhophylac® 200 IV dans les 72h	Rhophylac® 300 IM ou IV	Rhophylac® 200 IV dans les 72h	Rhophylac® 200 IV dans les 72h
Avant toute injection de Rhophylac®, faire une RAI pour s'assurer de l'absence d'immunisation				
Calendrier des RAI : Premier trimestre (avec groupe sanguin si non fait) ; 6^{ème} mois (peut correspondre à la RAI avant l'injection systématique à 28 SA), 8^{ème} mois sauf si Rhophylac 300 à 28 SA, Quatre dernières semaines : sécurité transfusionnelle				

YB/AC avril 2006

www.cngof.asso.fr

CNRHp

Vers une optimisation de la prise en charge de la femme rhésus D négatif



ASSISTANCE PUBLIQUE HÔPITAUX DE PARIS

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

Immunoprophylaxie rhésus par anti-D polyclonaux

Utilisation d'immunoglobulines polyclonales anti-D (IgRh)

- Seule source : **fractionnement de plasma humain**, contenant un titre élevé d'anticorps dirigés contre l'antigène RhD; fourni par des donneurs RH-, hyperimmunisés par injections répétées de globules rouges RH+(rémunérés); plasmas collectés aux Etats-Unis + Canada
- **Spécialité commercialisée en France : RHOPHYLAC[®] (ZLB)**

MAIS: Médicaments dérivés du sang :

- Mesures maximales de sécurité virale et autres agents infectieux mais quid des agents non répertoriés
- Règles de traçabilité
- Information systématique des patientes concernant un médicament dérivé du sang
- Problème d'ordre éthique lié à l'immunisation de sujets volontaires sains

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

Immunoprophylaxie rhésus PERSPECTIVES

1- Ig MONOCLONALES

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

Immunoprophylaxie rhésus et Ig monoclonales

CANDIDAT IDEAL

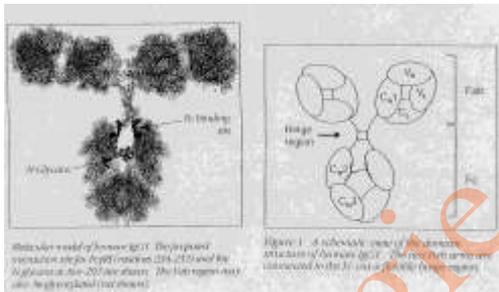
2-SPECIFICITE+++
pas de réaction croisée avec une autre cible antigénique

3- SENSIBILITE+++
reconnaissance d'un maximum de variant

4- PHARMACOCINETIQUE
équivalent à une IgG polyclonale

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

1- AFFINITE +++ pour l'antigène RhD (rendement de fixation, saturation des épitopes)



5- FORT POTENTIEL d'activation des récepteurs Fcγ : Importance de la glycosylation post-traductionnelle

Immunoprophylaxie rhésus et Ig monoclonales

Plusieurs anticorps monoclonaux sont en cours de développement

- **Rheseclone** : Russie , produit par une lignée lymphoblastoïde EBV, aucune donnée disponible (serait utilisé en clinique)

- **BRAD-3** (IgG3) et **BRAD-5** (IgG1) Royaume Uni par BPL (Bioproduct Laboratories) seuls ou en association : capable d'induire une immuno-suppression

- **MonoRh0** (IgG1 recombinante): Suisse, ZLB-CSL : testé chez 31 volontaires RhD- : immuno-suppression

-**R297- R593** : France, LFB, sélection d' un anticorps humain monoclonal recombinant sur la base de son activité fonctionnelle Essais cliniques en cours chez les volontaires RhD-

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

Immunoprophylaxie rhésus et Ig monoclonales

INCERTITUDES CONCERNANT LES MONOCLONAUX:

- **Problème des résistances éventuelles ?**
développement d'anti-idiotype après injection itérative ?
- Pour prouver **capacité d'immuno-suppression au moins égale à celle des anti-D polyclonaux**: besoin d'une évaluation à grande échelle chez la femme enceinte

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

Immunoprophylaxie rhésus PERSPECTIVES

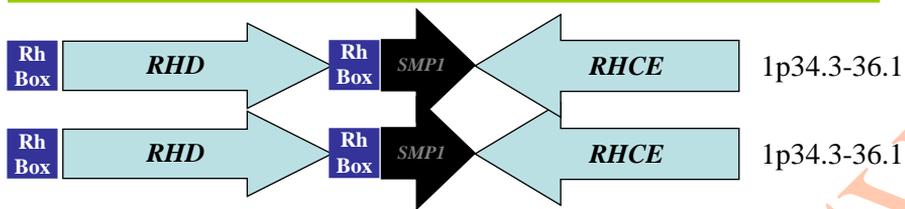
Actuellement l'immunoprophylaxie RH ante-natale concerne toutes les femmes RH- bien que 30 à 40 % d'entre elles portent un enfant RH-

2- GENOTYPAGE *RHD* FŒTAL sur plasma maternel

Il est possible aujourd'hui de connaître le Rhésus D du fœtus à partir d'1 échantillon de sang prélevé chez la mère RhD-

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

LE GENOTYPAGE RHD FŒTAL
LE LOCUS RH



	Caucasiens RhD Négatif (15 %)	Noirs Africains RhD Négatif (3%)
Gène(s) hybride(s) <i>D-CE-D</i>	< 1%	10-20 %
Gène(s) <i>D</i> muté(s) non fonctionnels	< 1 %	60-70 %
Gène <i>D</i> délété	> 99 %	10-25 %

LE GENOTYPAGE RHD FŒTAL
Liquide amniotique - Plasma

I - Génotypage RHD fœtal réalisable sur l'ADN des cellules amniotiques (année 90): Diagnostic invasif

P.R. BENNET et al. N.eng.J.Med. 1993; 329:607-610

J.T. AUBIN et al. Br J Haematol 1997 ; 98 (2) : 356-364.

II – Génotype RHD fœtal à partir du sang des femmes enceintes RhD – Suite à la découverte de la présence d'ADN fœtal dans le plasma des femmes enceintes (1 à 6 % d'ADN d'origine fœtale sous forme acellulaire): Diagnostic non invasif

LO Y.M. et al. Am J Hum Genet, 1998, 62 : 768-775.

-Limite du test : femme ne doit pas posséder dans leur génome des séquences non exprimées du gène RHD.

GENOTYPAGE RHD FOËTAL non invasif

Séries de la littérature

Equipes	Génotypages réalisés	Concordance Génotype RhD - Phénotype
Fass et coll. (1998)	31	31
Lo et Coll. (1998)	57	55
Finning et Coll. (2004)	359	347
Rouillac et Coll. (2004)	851	842
Van der Schott et Coll. (2004)	1257	1249
Gautier et Coll. (2005)	283	283
		97,4%

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

GENOTYPAGE RHD FOËTAL

Étude pré-diagnostique portant sur 851 cas

C. Rouillac-Le Sciellour et al Large scale Pre-Diagnosis study of Fetal RHD Genotyping by PCR on plasma DNA from RhD-negative Pregnant women. Mol Diagn 2004 ; 8; 23-31.

Génotype RHD Sur plasma Maternel	Génotype RHD sur L.A./ Phénotype RhD de l'enfant		TOTAL
	RH +	RH -	
Test POSITIF	649	5 ²	654
Test NEGATIF	4 ¹	193	197
TOTAL	653	198	851

¹ 3 termes précoces + 1 pb extraction

² 2 Dy paternels + 3 fx-pos

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

LE GENOTYPAGE *RHD* FŒTAL INDICATIONS actuelles et futures

I- GROSSESSES AVEC IMMUNISATION ANTI-D

Diagnostic d'Incompatibilité foeto-maternelle RhD
(environ 1000 cas / an en France avec 90% de fœtus Rh+)

II- GROSSESSES SANS IMMUNISATION ANTI-D :

- Cibler l'immunoprophylaxie Rh anténatale chez les femmes candidates à une amniocentèse

III- GROSSESSES SANS IMMUNISATION ANTI-D ???:

- Cibler l'immunoprophylaxie Rh anténatale des 2 derniers trimestres de grossesse chez toutes les femmes enceintes RhD- ?
- Optimiser la compliance au suivi et immunoprophylaxie

Drs A Mailloux, A Cortey, CNRHP, Hôpital St Antoine

Collège Gynécologie CVL