



11-13  
OCTOBRE  
2023



**ANTIPOLIS**  
PALAIS DES CONGRÈS  
ARTISÈS - JUAN-LES-PINS



ACNBH

[www.jfbm.fr](http://www.jfbm.fr)



Centre National de Référence  
en Hémodiagnostique Périnatale



# ALLO-IMMUNISATION CHEZ LA FEMME ENCEINTE

*Dr Agnès Mailloux*

*Service d'hémodiagnostique fœtale et périnatale*

Centre National de Référence en Hémodiagnostique Périnatale

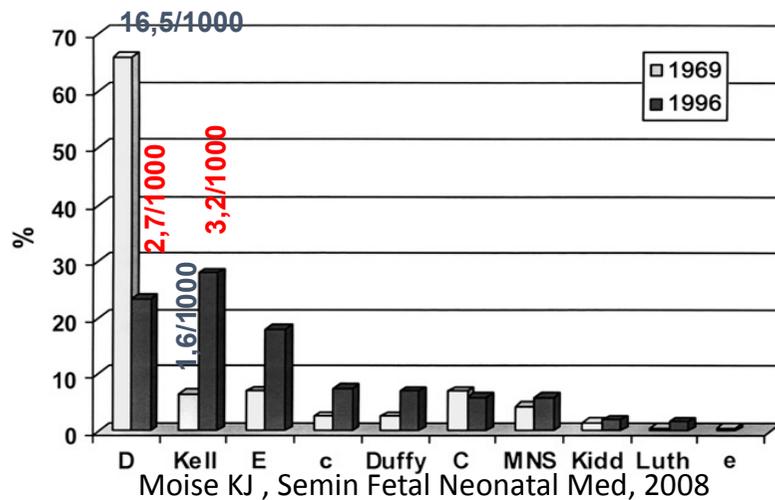
LBM Est Parisien – DMU BioGeMH

Hôpital Saint-Antoine – AP-HP.SU – Paris

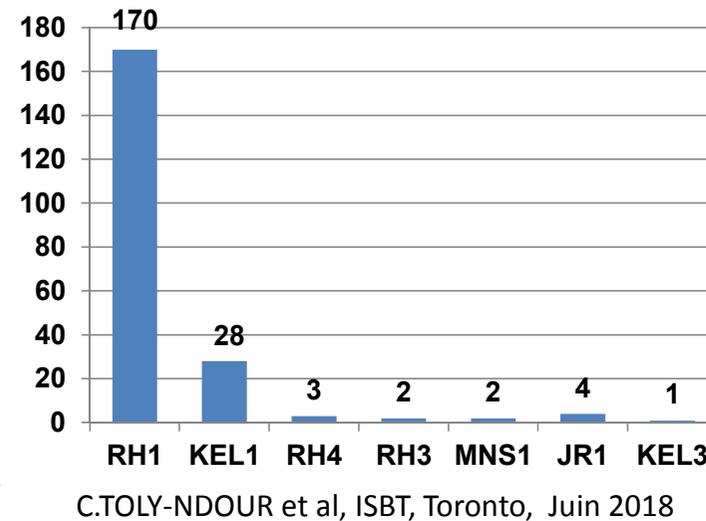
# INCOMPATIBILITES FŒTO – MATERNELLES ANTI-ERYTHROCYTAIRES

- Situations obstétricales rares
- 1 à 2 femmes enceintes allo-immunisées sur 1000 en dehors des incompatibilités ABO

☞ Part croissante des allo-immunisations autres qu'anti-D (RH1) : anti-Kell (KEL1) et anti-c (RH4)



☞ Etude rétrospective sur 10 ans au CNRHP : 210 cas d'anémie fœtale sévère



# SUIVI CLINIQUE DES FEMMES AVEC ALLO-IMMUNISATION MATERNO – FŒTALE

## Dépister une anémie fœtale

Surveillance échographique  
*hebdomadaire +++*

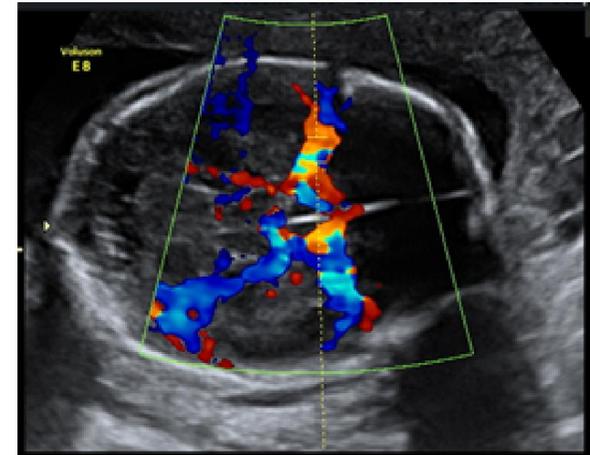
Mesure du PSV-ACM

Anémie si PSV > 1.5MoM

Mari *et al.*, NEJM, 2000

## Prise en charge de l'anémie fœtale

Transfusions fœtales  $\pm$  itératives



# SUIVI CLINIQUE DES FEMMES AVEC ALLO-IMMUNISATION MATERNO – FŒTALE

## Organiser la naissance

### Risques:

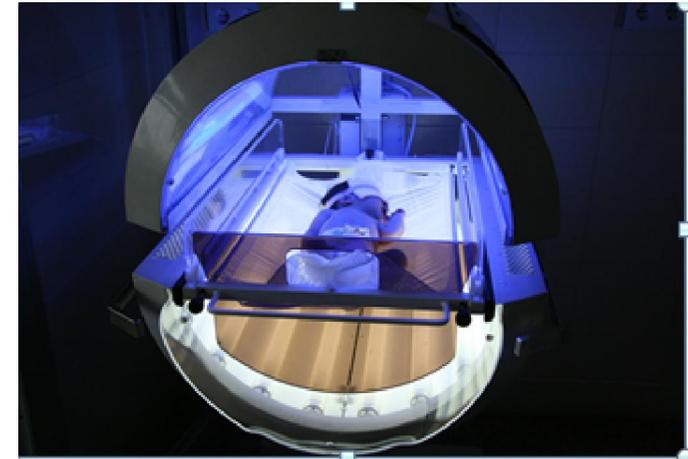
Anémie néonatale

Ictère

**Déclenchement en fonction du degré de sévérité de l'allo-immunisation et de l'histoire transfusionnelle prénatale**

**Photothérapie intensive continue**

**± Exsanguino-transfusion**



## PLACE DES EXAMENS IH DANS CE SUIVI

- **Ce sont des outils essentiels pour le diagnostic et le suivi des incompatibilités fœto-maternelles**
- **Les résultats de biologie permettent de répondre à des besoins cliniques.**
  - **Est-ce que cet anticorps est dangereux pour le fœtus ?**
  - **Est-ce que cet anti-D est immun ou passif résiduel ?**
  - **Est-ce que je dois traiter cette patiente par IgRH ?**
  - **Est-ce que le fœtus est incompatible ?....**

**QUEL EST L'ANTICORPS IDENTIFIÉ ?**

**IMPORTANCE DE LA RAI**

# SUIVI DE GROSSESSE RESPECT DU CALENDRIER DES RAI

Recommandations HAS 2007

	RAI d'intérêt fœtal			RAI d'intérêt maternel		
	1ere consultation (1 <sup>er</sup> trimestre)	6 <sup>ème</sup> mois	8 <sup>ème</sup> mois	RAI anesthésiste	RAI à l'entrée en salle de travail	
Patiente D- ou D+ avec un passé transfusionnel	X	X	X *	X	X	#
Patiente D+	X	X **		X	X	

\* sauf si injection d'IgRh à 28 SA (RCP CNGOF)

# patiente RH:-1 : avant toute injection d'IgRh (prophylaxie ciblée) (RCP CNGOF)

\*\* dans les recommandations HAS de 2007 (texte long - argumentaire et recommandé par le CNRHP)

# EXIGENCES TECHNIQUES

## Décrets, arrêtés, circulaires

### TEXTES GÉNÉRAUX

#### MINISTÈRE DES SOLIDARITÉS ET DE LA SANTÉ

Arrêté du 15 mai 2018 fixant les conditions de réalisation des examens de biologie médicale d'immuno-hématologie érythrocytaire

## RAPPELS SUR L'ARRETE IH DU 15 MAI 2018

- **RAI / Identification des Anticorps :**
  - **Seuil minimal de détection = 10 ng/ml**
  - **Si RAI + :** identification obligatoire de l'Ac dans un délai compatible avec la prise en charge du patient
- **Interprétation des résultats**
  - **Mention sur le CR** des situations critiques de type « Ac présentant un risque obstétrical », « Ac présentant un risque d'anémie foetale sévère », « Ac présentant un risque d'anémie hémolytique en post-natal »
  - Certains résultats nécessitent une **alerte rapide** du clinicien-prescripteur en charge du suivi de grossesse et de la parturiente ainsi que du site des délivrance des PSL du lieu d'accouchement
- **Résultats des RAI du 8<sup>ème</sup>/9<sup>ème</sup> mois** doivent être adressés au clinicien-prescripteur et au site présumé de délivrance des PSL pour anticiper un besoin transfusionnel de la mère ou de l'enfant

# DIAGNOSTIC – SUIVI BIOLOGIQUE

## 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-Kell	Anti-KEL1	OUI après 15SA	OUI
Anti-c	Anti-RH4	OUI après 20 SA	OUI
Anti-E	Anti-RH3	RARE (3ème T)	OUI
Anti-Jra	Anti-JR1	(3ème T)	OUI
Anti-e	Anti-RH5	Exceptionnel (3ème T)	OUI
Anti-Fya	Anti-FY1	Exceptionnel (3ème T)	OUI
Anti-Jka	Anti-JK1	Exceptionnel (3ème T)	OUI
Anti-Kpa	Anti-KELL3	Exceptionnel (3ème T)	OUI
Anti-M	Anti-MNS1	Exceptionnel (3ème T)	OUI

# DIAGNOSTIC – SUIVI BIOLOGIQUE

## ALLO-ANTICORPS COURANTS ET RISQUE DE MALADIE HEMOLYTIQUE

Spécificité (nomenclature traditionnelle)	Spécificité (nomenclature numérique)	Risque d'anémie foetale	Maladie hémolytique néonatale
Anti-G	Anti-RH12	Exceptionnel (3ème T)	OUI
Anti-Cw	Anti-RH8	Exceptionnel (3ème T)	OUI
« Anti- publics » et « privés » dans les systèmes RH, KEL et MNS		Exceptionnel (3ème T)	OUI
Anti-B	Anti- ABO2	Exceptionnel	OUI

# DIAGNOSTIC – SUIVI BIOLOGIQUE

## ALLO-ANTICORPS COURANTS ET RISQUE DE MALADIE HEMOLYTIQUE

Spécificité (nomenclature traditionnelle)	Spécificité (nomenclature numérique)	Risque d'anémie foétale	Maladie hémolytique néonatale
Anti-A	Anti-ABO1	NON	OUI
Anti-C	Anti-RH2	NON	OUI
Anti-Fyb	Anti-FY2	NON	OUI
Anti-Jkb	Anti-JK2	NON	OUI
Anti-N	Anti-MNS2	NON	OUI
Anti-s	Anti-MNS4	NON	OUI

# DIAGNOSTIC – SUIVI BIOLOGIQUE

## ALLO-ANTICORPS COURANTS ET RISQUE DE MALADIE HEMOLYTIQUE

Spécificité (nomenclature traditionnelle)	Spécificité (nomenclature numérique)	Risque d'anémie foetale	Maladie hémolytique néonatale
Anti-P1	Anti-P1PK1	NON	NON
Anti-Lua et Lub	Anti-LU1 et LU2	NON	NON
Anti-Lea et Leb	Anti-LE1 et LE2	NON	NON
Anti-H et anti- HI	Anti-H1 et H111	NON	NON
Auto-anticorps		NON	NON

# Quels sont les paramètres de l'anticorps influençant le risque hémolytique ?

⇒ **Spécificité** : *déterminée par la RAI + IAI*

⇒ **Affinité** : **différente selon la spécificité**  
*donnée par le titrage en Coombs indirect sur hématies tests natives*

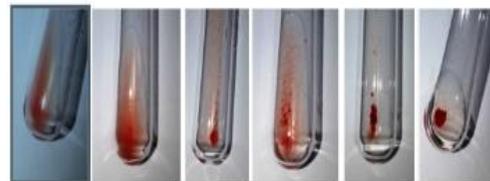
⇒ **Pouvoir d'activation des récepteurs Fc** :  
fonction de la sous-classe IgG<sub>1</sub> ou IgG<sub>3</sub> et de la glycosylation Fcγ  
*déterminée par des tests fonctionnels (type ADCC)*

⇒ **Concentration** : **très grande variation (de 1 ng à 100 µg/ml)**  
*déterminée / dosage pondéral ou approchée / titrage*

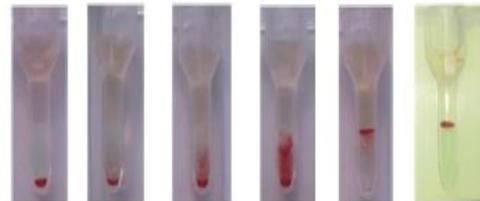
# QUANTIFICATION DES ANTICORPS ANTI-ERYTHROCYTAIRES

Quelle méthode ?

- **Titrage**
- Microtitrage
- Dosage Pondéral



négatif (+) 1+ 2+ 3+ 4+  
Score 2 Score 5 Score 8 Score 10 Score 12



# TITRAGE DES ANTICORPS



- Permet la quantification de tous les anticorps anti-érythrocytaire
- Fait en première intention dès qu'un anticorps d'intérêt obstétrical est identifié
- Titrage en technique de Coombs indirect (Test indirect à l'antiglobuline) en tube en milieu de force ionique normale (NaCl) à 37°C avec des hématies tests natives (=technique de référence). Différentes dilutions du sérum mises en contact avec une hématie ou un « pool » de 3 hématies test informatives :
  - R1R2 (DCcEe) pour Anticorps système RH et anti-public
  - Hématies test d'expression hétérozygote recommandées dans les autres cas.

# TITRAGE DES ANTICORPS

## RAPPEL TECHNIQUE

- **1ère étape : incubation à 37°C.**
- Centrifugation puis **lecture directe** (= en milieu salin avant addition de l'anti-IgG).
- **Titre** = inverse de la dernière dilution du sérum capable de donner une hémagglutination visible à l'œil nu = **reflet des IgM (sauf anti-A, anti-B, anti-M et anti-N où les IgG peuvent agglutiner en saline)**
- **Lavages**
- Addition de l'anti-IgG , centrifugation: lecture **du titre en test indirect à l'antiglobuline = reflet des IgG**
- Cotation de l'intensité d' agglutination obtenue à chaque dilution = **score**
- Lecture directe : **IgM**
- Addition de l'anti-IgG : lecture en test indirect à l'antiglobuline
- Réalisation en parallèle d'un témoin titrage
- Titrage comparatif / sérum précédent

# TITRAGE DES ANTICORPS

- **Score** de Marsh = somme des valeurs conventionnelles attribuées suivant l'aspect de la réaction :

++++ : score 12

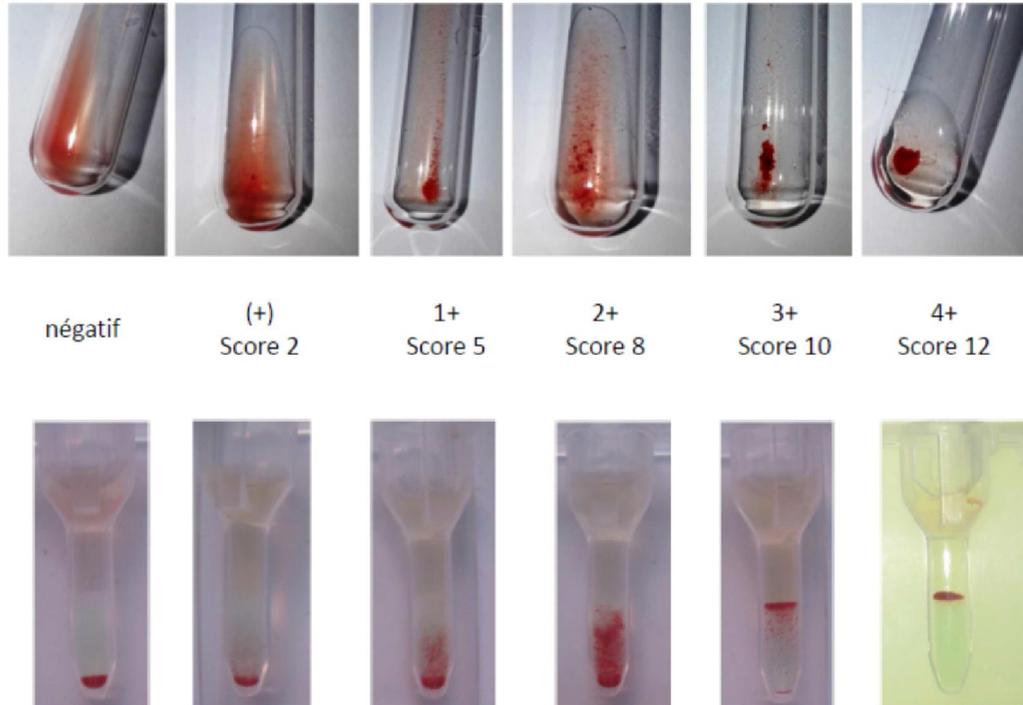
+++ : score 10

++ : score 8

+ : score 5

(+) : score 2

- : score 0



# COMMENT INTERPRETER UN RESULTAT DE TITRAGE ?

- **Quel chiffre regarder ?**
- **Est-ce que le titre augmente ?**
- **Est-ce que le résultat est pathologique ?**

# TITRAGE DES ANTICORPS

## Quel chiffre regarder ?

**Anticorps titré : Anti-RH1**

**Titre saline : < 1**

**Score : 25**

**Titre en Coombs indirect : 16**



$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{16}$
3+	2+	1+	(+)
10	8	5	2

**Lien très fort entre taux d'anticorps et risque hémolytique**

- ◆ Evolution conditionne la prise en charge obstétricale
- ◆ Valeur à prendre en compte : titre en Coombs indirect

## INTERPRETATION DU TITRAGE

Est-ce que le titre augmente ?

- Reflet à la fois de la concentration et de l'affinité de l'anticorps.
- Intérêt : Réalisable quelle que soit la spécificité de l'anticorps (choix d'une hématie test informative)
  - Grande variation de résultat intra et inter laboratoire selon les techniques utilisées (impact de nombreux paramètres)
  - Nécessité d'un titrage comparatif / sérum précédent pour Ac pour lesquels il n'y a pas de dosage
- **Augmentation significative si augmente de + de 2 dilutions**

## INTERPRETATION DU TITRAGE

### Est-ce que le résultat est pathologique ?

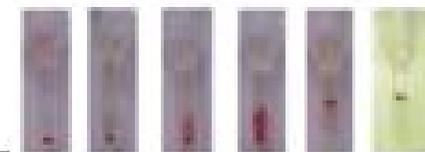
Définition d'un **seuil critique opérationnel** au-delà duquel il y a un risque d'anémie foétale sévère

Ce seuil dépend de la technique de titrage utilisée

Toutes les recommandations et publications se basent sur la technique de titrage tube

**Titre 16 pour anti-D**  
**Titre 16 pour anti-KELL**  
**Titre 8 pour anti-c**  
**Titre 8 pour anti-E**

# TITRAGE DES ANTICORPS EN SUPPORT GEL



	n total	n avec titre identique	n avec titre supérieur en tube	n avec titre supérieur en gel	moyenne des différences de titre (gel-tube) (en nb de dilutions)
Anti-D (RH1)	26	0	0	26	3,96
Anti-C (RH2)	3	1	0	2	1,33
Anti-E (RH3)	11	1	0	10	2,27
Anti-c (RH4)	21	2	0	19	3,29
Anti-e (RH5)	2	0	0	2	3,5
Anti-Cw (RH8)	3	0	0	3	1,67
Anti-Kell (KEL1)	16	2	1	13	1,81
Anti-Kpa (KEL3)	1	0	0	1	2
Anti-Jka (JK1)	8	1	0	7	1,38
Anti-Jkb (JK2)	3	1	0	2	1
Anti-Fya (FY1)	2	0	0	2	2,5
Anti-Fyb (FY2)	2	1	0	1	1
Anti-M (MNS1)	15	5	1	9	1,13
Anti-S (MNS3)	4	1	0	3	1,75
Anti-s (MNS4)	2	0	0	2	2
Anti-U (MNS5)	3	0	0	3	3,33
TOTAL	122	15	2	105	

Comparaison des résultats des titres obtenus sur 122 échantillons testés en technique tube semi-automatisée au CNRHP et en technique gel automatisée sur IH500

*SFTS 2019 C. TOLY et al Performance de la méthode de titrage des anticorps anti-érythrocytaires sur carte gel LISS Coombs IgG sur l'automate IH-500 (Bio-Rad®)*

# INTERPRETATION DU TITRAGE

Est-ce que le résultat est pathologique ?

Pour un anti-D – titrage en technique tube

**TITRE 16 : risque d'anémie foétale sévère**

A Anti-D (RH1) n= 26

	titre en gel												
titre en tube	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	> 2048
<2					1								
2				1									
4						1	1		1				
8								1	2				
16									2		1		
32										2	2		
64										2	2		
128										1			1
256													2
> 256													3

Pour un anti-D – titrage en technique gel

**TITRE 128 : risque d'anémie foétale sévère**

Dossier :	09003141	08071066	Unité
Date de saisie :	01/09/21	25/08/21	
Heure de saisie :	14h50	13h08	
Date de prélèvement :	28/08/21	21/08/21	
Heure de prélèvement :	09h53	10h30	

## EXEMPLE DE COMPTE RENDU INTERPRETATION DU TITRAGE

### TITRAGE D'ANTICORPS SERIQUES

#### Titration d'anticorps sériques réalisée sur plasma ou sérum

Anticorps titré	Anti-c(RH4)+ E(RH3) annoncés	Anti-c(RH4)+ E(RH3) annoncés
Score	20	23
Titre saline	<2	<2

Technique manuelle d'hémagglutination en tube, lecture directe en milieu salin sur hématies

RH:1,2,3,4,5

Titre en Coombs indirect	16	16
--------------------------	----	----

Technique manuelle d'hémagglutination en tube, test indirect à l'antiglobuline en milieu salin sur hématies RH:1,2,3,4,5

Anticorps titré	Anti-E(RH3) annoncé	Anti-E(RH3) annoncé
Score	0	0
Titre saline	<2	<2

Technique manuelle d'hémagglutination en tube, lecture directe en milieu salin sur hématies

RH:1,2,3,4,5

Titre en Coombs indirect	<2	<2
--------------------------	----	----

Technique manuelle d'hémagglutination en tube, test indirect à l'antiglobuline en milieu salin sur hématies RH:1,2,3,4,5

Anticorps titré	Anti-c(RH4) annoncé
Score	20
Titre saline	<2

Technique manuelle d'hémagglutination en tube, lecture directe en milieu salin sur hématies

RH:1,2,3,4,5

Titre en Coombs indirect	16
--------------------------	----

Technique manuelle d'hémagglutination en tube, test indirect à l'antiglobuline en milieu salin sur hématies RH:1,2,3,4,5

- Immunisation anti-petit c + E stable
- Titration différentielle révèle que l'anti-petit c est majoritaire
- Valeur supérieure au seuil critique pour risque d'anémie fœtale sévère > à 8

## EXEMPLE DE COMPTE – RENDU INTERPRETATION DU TITRAGE

### SECTEUR CNRHP

CNRHP - UF d'expertise en immuno-hématologie périnatale Responsable : Dr. Agnès MAILLOUX Tel: 01 71 97 03 00 Fax: 01 71 97 03 29

### RENSEIGNEMENTS

Date de début de Grossesse	27/01/21	27/01/21	
Age gestation	33	31	Semaine

### IMMUNO-HEMATOLOGIE

#### TITRAGE D'ANTICORPS SERIQUES

##### Titration d'anticorps sériques réalisés sur plasma ou sérum

Anticorps titré	Anti-c(RH4) annoncé	Anti-c(RH4) annoncé
Score	19	2
Titre saline	<2	<2

Technique manuelle d'hémagglutination en tube, lecture directe en milieu salin sur hématies

RH:1,2,3,4,5

Titre en Coombs indirect	16	2
--------------------------	----	---

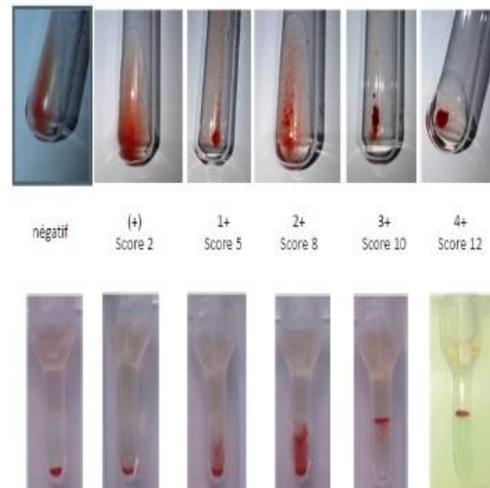
Technique manuelle d'hémagglutination en tube, test indirect à l'antiglobuline en milieu salin sur hématies RH:1,2,3,4,5

- **Immunisation anti-petit c en phase d'activation** : augmentation significative
- Valeur supérieur au seuil critique pour **risque d'anémie fœtale sévère**

# QUANTIFICATION DES ANTICORPS ANTI-ERYTHROCYTAIRES

Quelle méthode ?

- Titrage
- **Microtitrage**
- Dosage Pondéral



# TECHNIQUE DE MICROTITRAGE

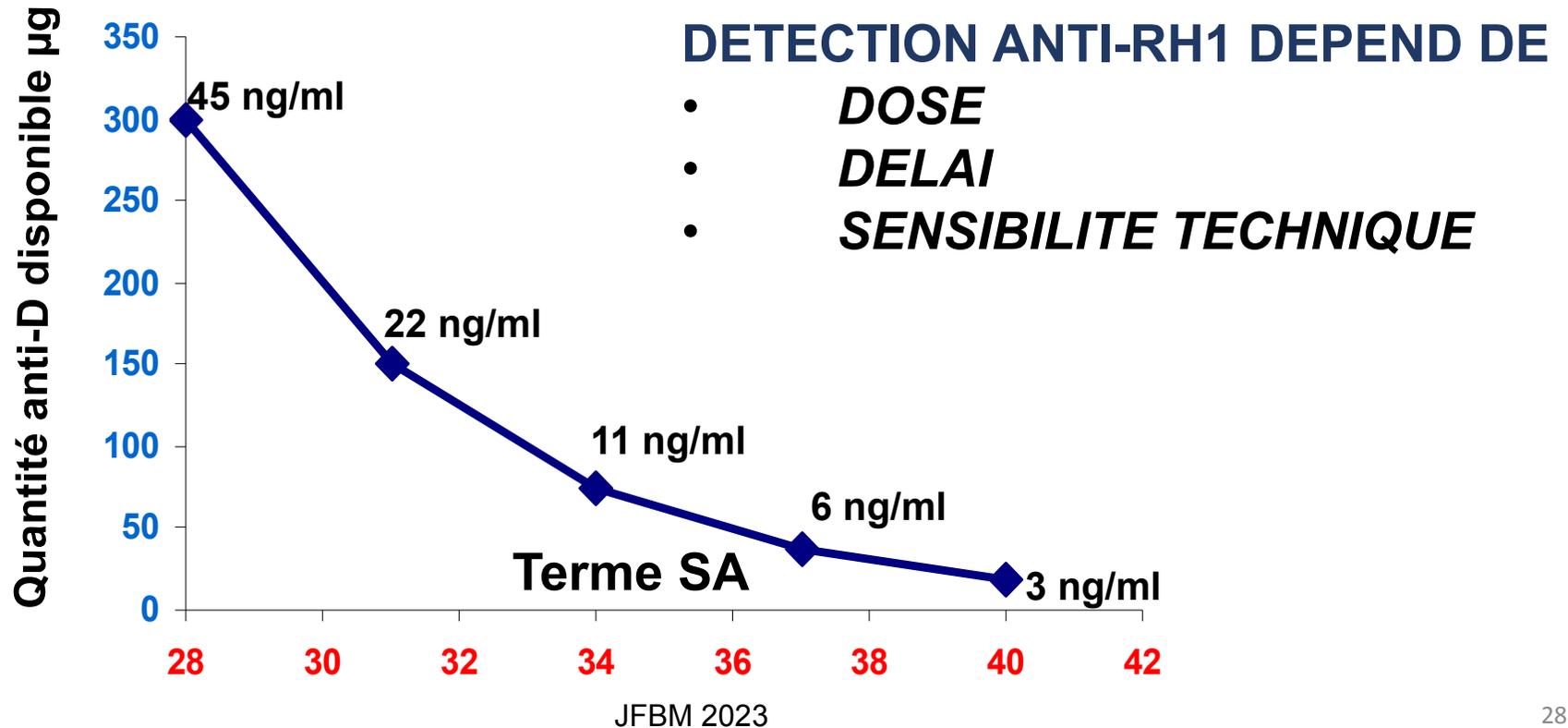
## TECHNIQUE SIMPLE FACILEMENT REALISABLE ET AUTOMATISABLE

- **Technique de quantification uniquement des anti-D** (anti-RH1) réalisée chez la femme enceinte.
- Technique en **support gel** adaptée à la quantification de **faibles taux** en anticorps (de 1,5 ng/ml à 48 ng/ml) utilisant un étalon anti-D.
- Technique adaptée à la **prophylaxie Rhésus et au dosage des anti-D passif**
- **Intérêt** : déterminer si l'Anti-D dosé est uniquement un Anti-D passif (résiduel) consécutif à une injection d'IgRH connaissant la posologie et la date d'injection.
- Technique réalisée dès qu'on identifie en anti-D
  - sans notion d'injection d'IgRH
  - sans notion de RAI négative avant injection
  - réactivité de l'anti-D en technique d'identification bien supérieure à la réactivité attendue après une injection

# POSITIVITE DE LA RAI

Après injection de 300 µg d'IgRH à 28 SA

$\frac{1}{2}$  VIE 3 SEMAINES  $\longleftrightarrow$  DIMINUTION DE MOITIE TOUTES LES 3 SEMAINES



## COMMENT INTERPRETER UN RESULTAT DE MICROTITRAGE DES ANTI-D ?

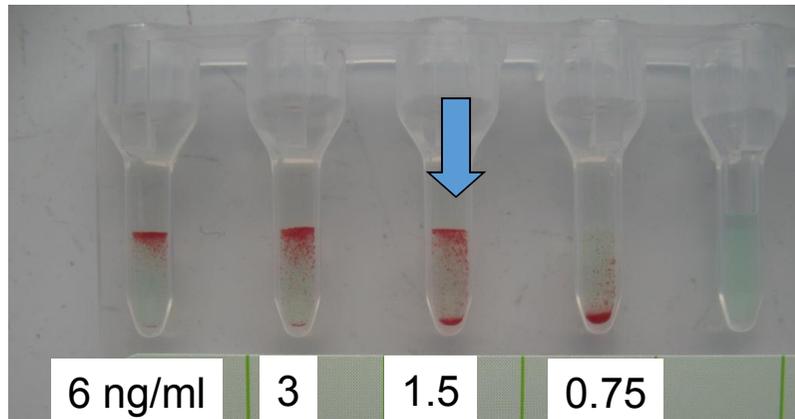
- **Est-ce que un anti-D est immun ou passif résiduel ?**
- **Est-ce que je dois traiter cette patiente par IgRH ?**

# TECHNIQUE DE MICROTITRAGE

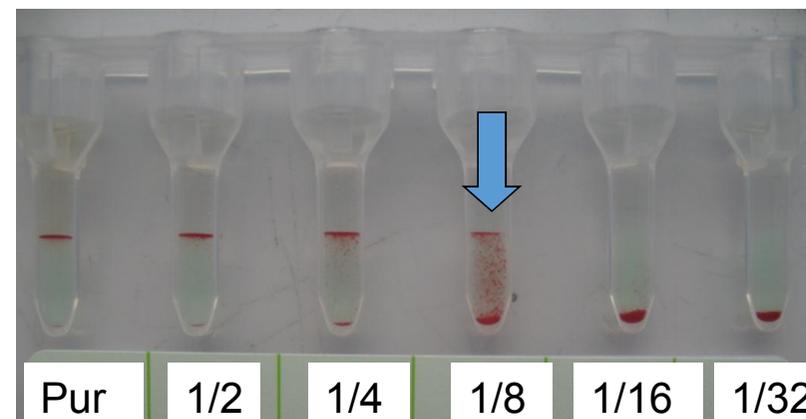
## INTERPRETATION DES RESULTATS

Fonction de l'intensité des réactions

**Concentration en anti-RH1 =** **Inverse de la dernière dilution réactive de l'échantillon** **X** **Concentration de la dilution du standard avec la même intensité de réaction**



**STANDARD**



**PATIENT**

**Concentration approchée =  $8 \times 1,5 = 12$  ng/ml**

## CONCENTRATIONS SERIQUES MOYENNES D'ANTI-RH1 PASSIF APRES ADMINISTRATION D'IgRh

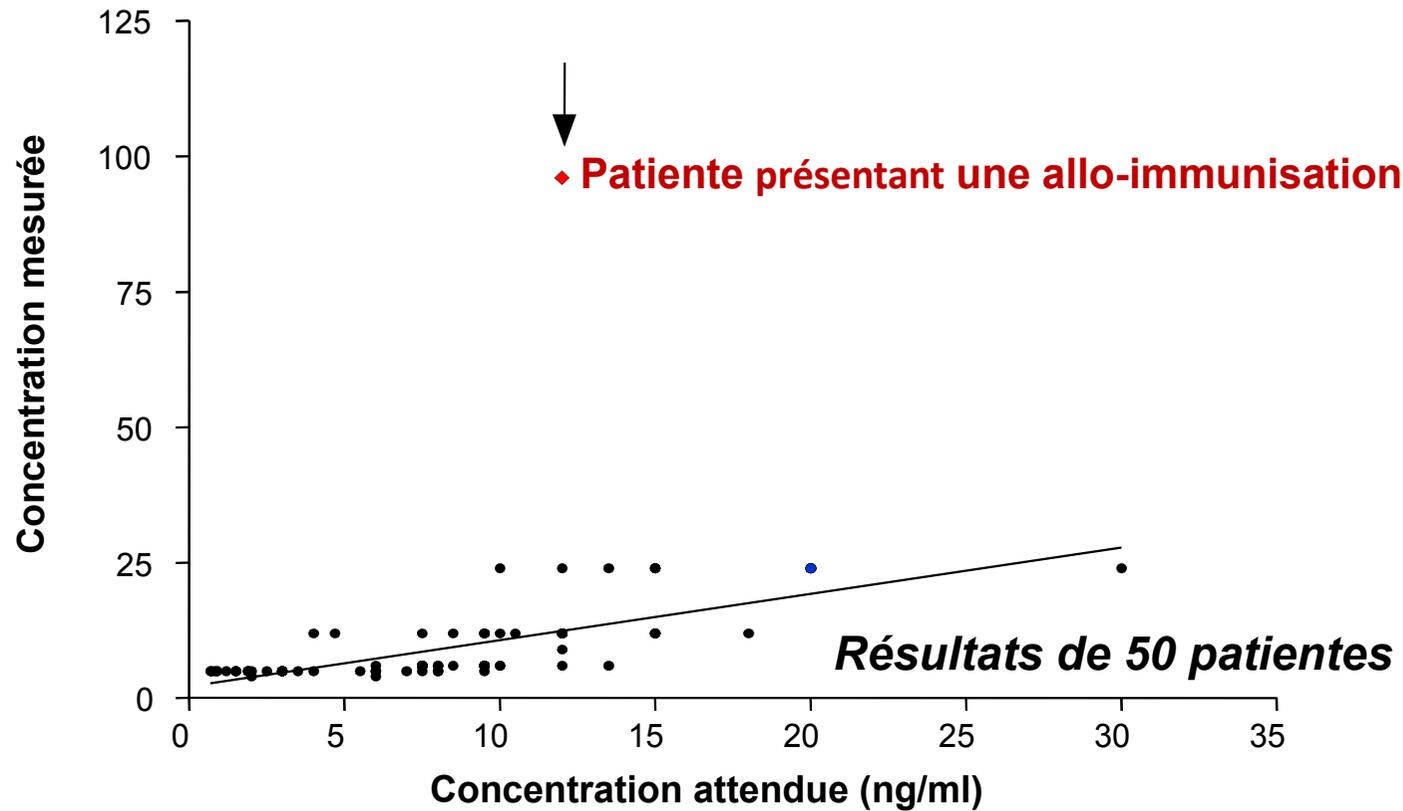
VOIE	DELAI APRES INJECTION	CONCENTRATION APRES INJECTION DE		
		100 µg	200 µg	300 µg
I. V.	1 heure	30 ng/ml	60 ng/ml	90 ng/ml
	24 heures	20 ng/ml	40 ng/ml	60 ng/ml
	48 heures	15 ng/ml	30 ng/ml	45 ng/ml
I. V. OU I. M.	1 semaine	12 ng/ml	24 ng/ml	36 ng/ml
	2 semaines	9.5 ng/ml	19 ng/ml	28.5 ng/ml
	3 semaines	7.5 ng/ml	15 ng/ml	22.5 ng/ml
	4 semaines	6 ng/ml	12 ng/ml	18 ng/ml
	5 semaines	4.7 ng/ml	9.4 ng/ml	14.1 ng/ml
	6 semaines	3.8 ng/ml	7.6 ng/ml	11.4 ng/ml
	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
	13 semaines	0.75 ng/ml	1.5 ng/ml	2.25 ng/ml
	14 semaines	0.6 ng/ml	1.2 ng/ml	1.8 ng/ml
	15 semaines	0.45 ng/ml	0.9 ng/ml	1.35 ng/ml

**Exemple :**

**Calcul de la concentration maximale attendue chez une patiente ayant reçu 300 µg anti-D 8 semaines avant, puis 200 µg anti-D 2 semaines avant le prélèvement sanguin :  $7,2 + 19 = 26,2$  ng/ml.**

# INTERPRETATION DU MICROTITRAGE

**Est-ce un anti-D immun ou passif résiduel ?**



## RENSEIGNEMENTS

Date d'injection des IgRh 11/08/21  
Nombre de doses d'IgRh 100µg 2  
Concentration en anti-D (RH1) attendue 16.97 ng/mL

## DOSAGE D'ANTICORPS

### Dosage réalisé sur plasma ou sérum

Microtitrage anti-D (RH1) 48 ng/ml  
*Technique d'hémagglutination en colonne gel-filtration automatisée (Técan) ou manuelle, utilisant des hématies tests RH:1,-2,-3,4,5 traitées par la papaine*

### Dosage pondéral réalisé sur plasma ou sérum

Anticorps dosés Anti-D(RH1)  
2 Temps 8 U.CHP/mL  
1 Temps 8 U.CHP/mL  
*Hémagglutination en flux continu en méthyl cellulose sur autoanalyseur (Proxima - AMS). Hématies tests utilisées RH:1,2,3,4,5 prétraitées par la broméline*

## COMMENTAIRES

Concentration en Anti-D légèrement supérieure à la Concentration attendue après une injection d'IgRH faite à la date annoncée.  
Faire un nouveau contrôle dans 3 semaines et préciser les dates et doses reçues d'IgRH.

DELAI APRES INJECTION	CONCENTRATION SERIQUE (en ng anti-D/ml)	
	200µg	300µg
48 heures	30 ng/ml	45 ng/ml
1 semaine	24 ng/ml	36 ng/ml
3 semaines	15 ng/ml	22,5 ng/ml
6 semaines	7,6 ng/ml	11,4 ng/ml
9 semaines	3,8 ng/ml	5,7 ng/ml
12 semaines	1,8 ng/ml	2,7 ng/ml
15 semaines	0,9 ng/ml	1,35 ng/ml
Anticorps non exclus		Anti-Cw(RH8)

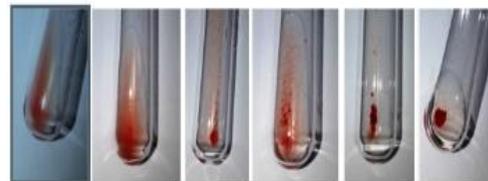
## EXEMPLE DE COMPTE RENDU INTERPRETATION DU MICROTITRAGE

- Identification d'un anti-D d'intensité 3 +
- Différence entre la valeur du microtitrage et la concentration attendue en anti-D : **significative**

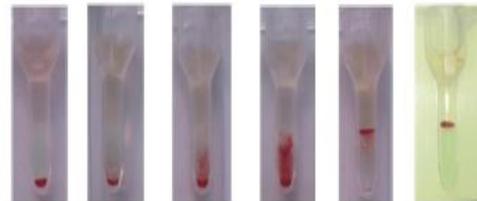
# QUANTIFICATION DES ANTICORPS ANTI-ERYTHROCYTAIRES

Quelle méthode ?

- Titrage
- Microtitrage
- **Dosage Pondéral**



négatif (+) 1+ 2+ 3+ 4+  
Score 2 Score 5 Score 8 Score 10 Score 12



# Qu'est-ce que le dosage pondéral des anticorps ?

- **Technique d'hémagglutination** automatisée réalisée sur un auto-analyseur à flux continu
  - **AutoAnalyzer** depuis les années 70 – Technicon®
  - puis 2000 – Alliance®, 2014 – Astoria® (anti-D uniquement) et 2017- Proxima®
- **Objectifs**
  - avoir une **approche quantitative** en mesure continue (gamme avec étalon international anti-D)
  - **doser l'ensemble des anticorps d'une spécificité donnée, quelque soit leur affinité pour leur antigène**
  - différence avec le titrage : mesure discontinue et titre fonction de la concentration et de l'affinité de l'anticorps

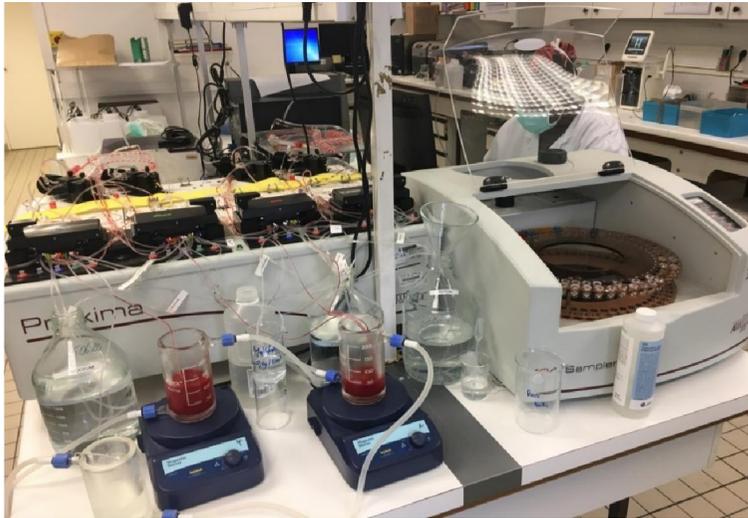
# DOSAGE PONDERAL DES ANTICORPS

## Pour quels anticorps ?

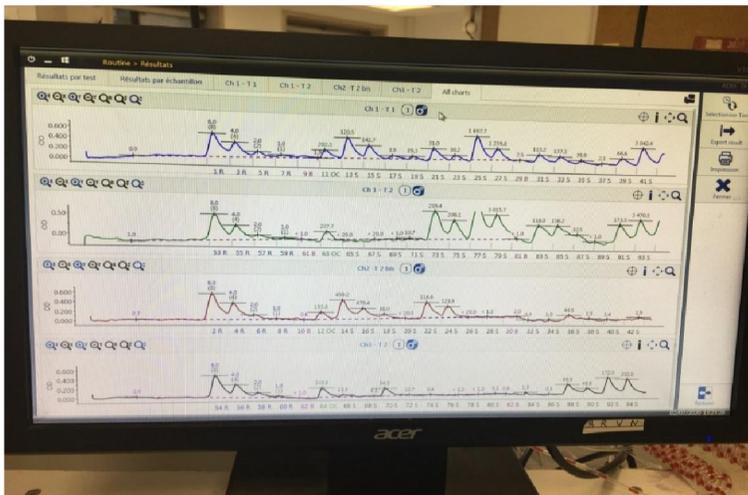
- Effectué sur hématies de phénotype R1R2 soit DCcEe (RH:1,2,3,4,5)
- Donc concerne uniquement les
  - Anticorps du système RH (RH1 à 5) soit anti-D, anti-C, anti-E, anti-c et anti-e
  - Anticorps anti-public

**Ne marche pas pour les anti-Kell : caractéristiques d'agglutination particulières de cet Ac - cf. difficultés de titrage**

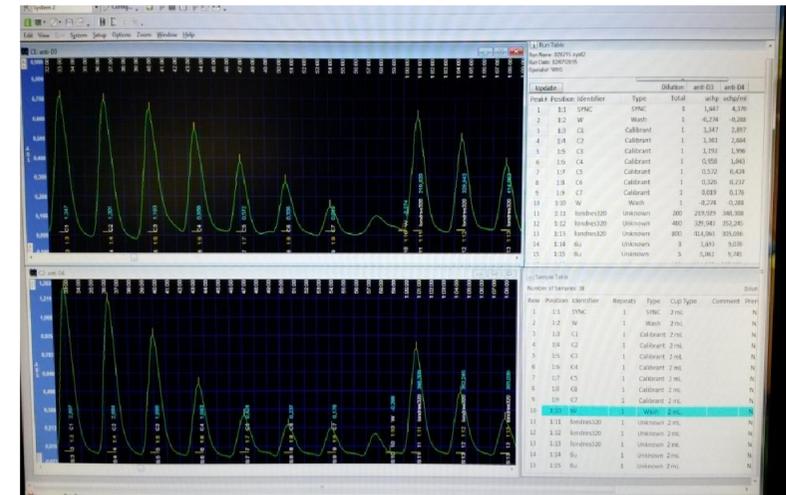
- Effectué en **complément du titrage** dès que le titre dépasse une valeur seuil
  - titre à 8 pour l'anti-D
  - titre à 4 pour l'anti-c
  - titre à 8 pour l'anti-E



Chaînes Proxima (AMS)



Astoria



## **COMMENT INTERPRETER UN RESULTAT DE DOSAGE PONDERAL ?**

- **Quel chiffre regarder ?**
- **Quelle est la valeur pathologique ?**
- **Est-ce que la concentration augmente ?**

# DOSAGE PONDERAL DES ANTICORPS

## Pourquoi 2 valeurs ?

**Variante 2 temps** : hématies tests traitées au préalable par la broméline : potentiel zêta très bas dès le début + amélioration reconnaissance des Ag du système RH: tous les Ac se fixent y compris ceux de faible affinité : résultat très proche de la **concentration réelle en Ac**

**Variante 1 temps** : broméline introduite directement dans le circuit.

### Conséquences:

- La broméline n'a pas beaucoup le temps d'agir: seuls les Ac de haute affinité se fixent sur les hématies
- Destruction des IgG<sub>3</sub> par la broméline (protéolyse)

Dosage 1 temps correspond en général (sauf IgM) aux **IgG1 de haute affinité = Ac les + dangereux en anténatal** car passent précocement le placenta (dès 13 SA) et ont un pouvoir hémolytique très important (examen réalisé uniquement pour les dosages anti-D)

# INTERPRETATION DU DOSAGE PONDERAL

## Quel chiffre regarder ?

- Approche de la concentration réelle en anticorps (variante 2 temps) et évaluation du risque hémolytique anténatal (variante 1 temps).
- Intérêt de conserver la technique **de titrage car complémentaire** (mesure de l'avidité des anticorps)
-  Technique dosage pondéral reste lourde  
**CV de la technique élevé (environ 15 %)**

**Incertitude de mesure élevée : augmentation significative lorsque progression du taux de plus de 30 %**

# DOSAGE PONDERAL DES ANTICORPS

## Lecture et interprétation des résultats

- Utilisation d'une gamme permettant de rendre les résultats en UCHP/ml.
- Grâce à un étalon international anti-D (étalon de Londres) : quantification possible également en UI/ml et en  $\mu\text{g/ml}$  pour les anti-D
- Conversion :  $250 \text{ UCHP/ml} = 5 \text{ UI/ml} = 1 \mu\text{g/ml}$

### Quelle est la valeur pathologique ?

- Seuils critiques définis pour chaque anticorps pour la mise en place d'une surveillance échographique fœtale (risque d'anémie fœtale sévère)

**250 UCHP/ml pour anti-D,**

**500 UCHP/ml pour anti-c,**

**700 UCHP/ml pour anti-E.**

# EXEMPLE DE COMPTE RENDU INTERPRETATION DU DOSAGE PONDERAL

## DOSAGE D'ANTICORPS

### Dosage pondéral réalisé sur plasma ou sérum

Anticorps dosés	Anti-c(RH4)+ E(RH3) annoncés	Anti-c(RH4)+ E(RH3) annoncés	
2 Temps	1298	1558	U.CHP/mL
1 Temps	Non réalisé	Non réalisé	

*Hémagglutination en flux continu en méthyl cellulose sur autoanalyseur (Proxima - AMS). Hématies tests utilisées RH:1,2,3,4,5 prétraitées par la broméline*

2 Temps : dosage de l'ensemble des Ac.

1 Temps : dosage des Ac de haute affinité (hors IgG3).

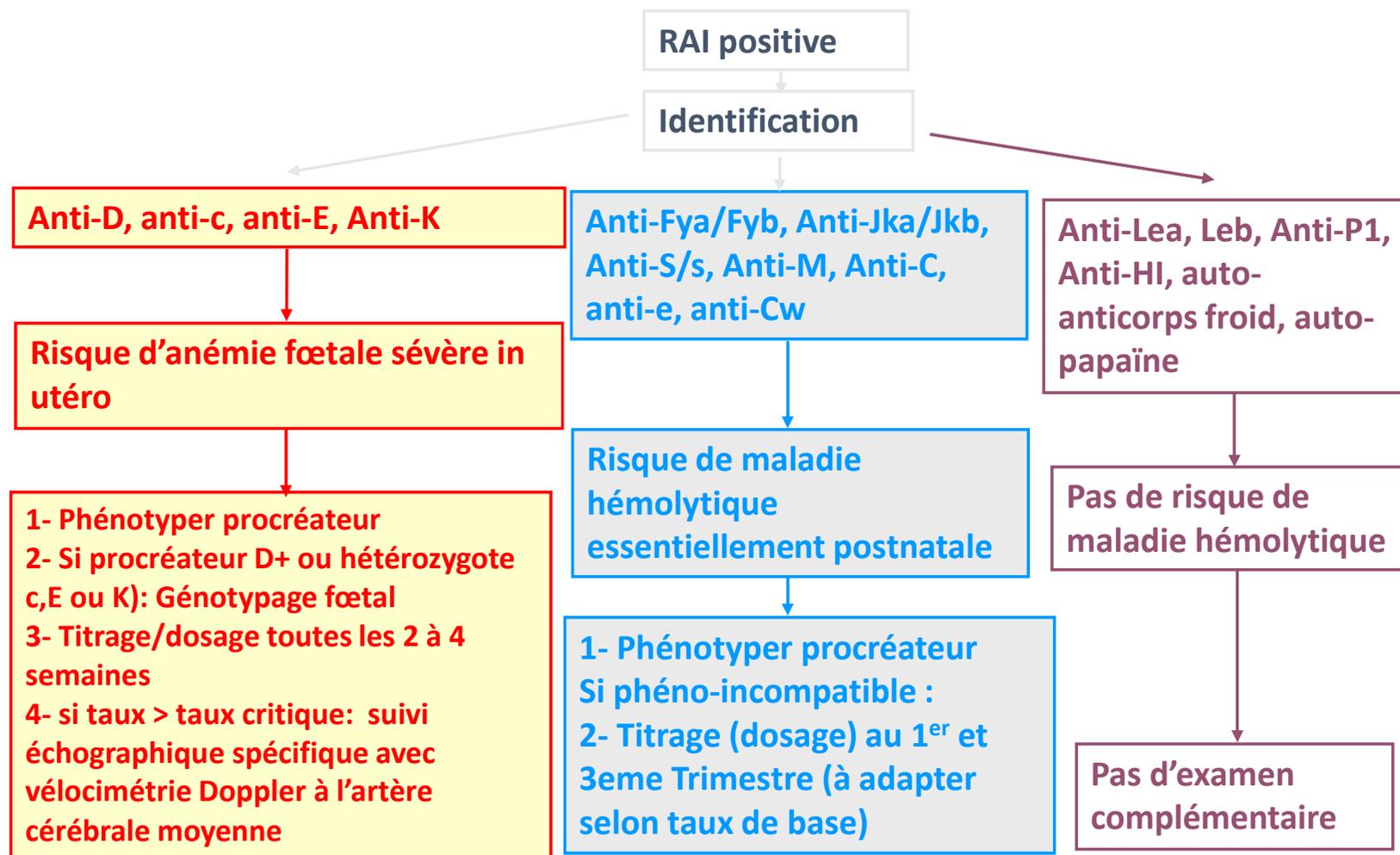
Pour les anticorps anti-C(RH2), anti-c(RH4), anti-E(RH3) et anti-e(RH5) : le dosage pondéral n'est pas réalisé si ces Ac sont réactifs uniquement sur hématies test papainées.

Pour les anticorps non D le dosage 1 temps n'est plus réalisé sur l'autoanalyseur Proxima.

- **Immunisation anti-petit-c + E**
- **Stable** : variation de 20 % du dosage pondéral entre les 2 prélèvements : Non significatif
- Valeur seuil pour **risque d'anémie foétale sévère**

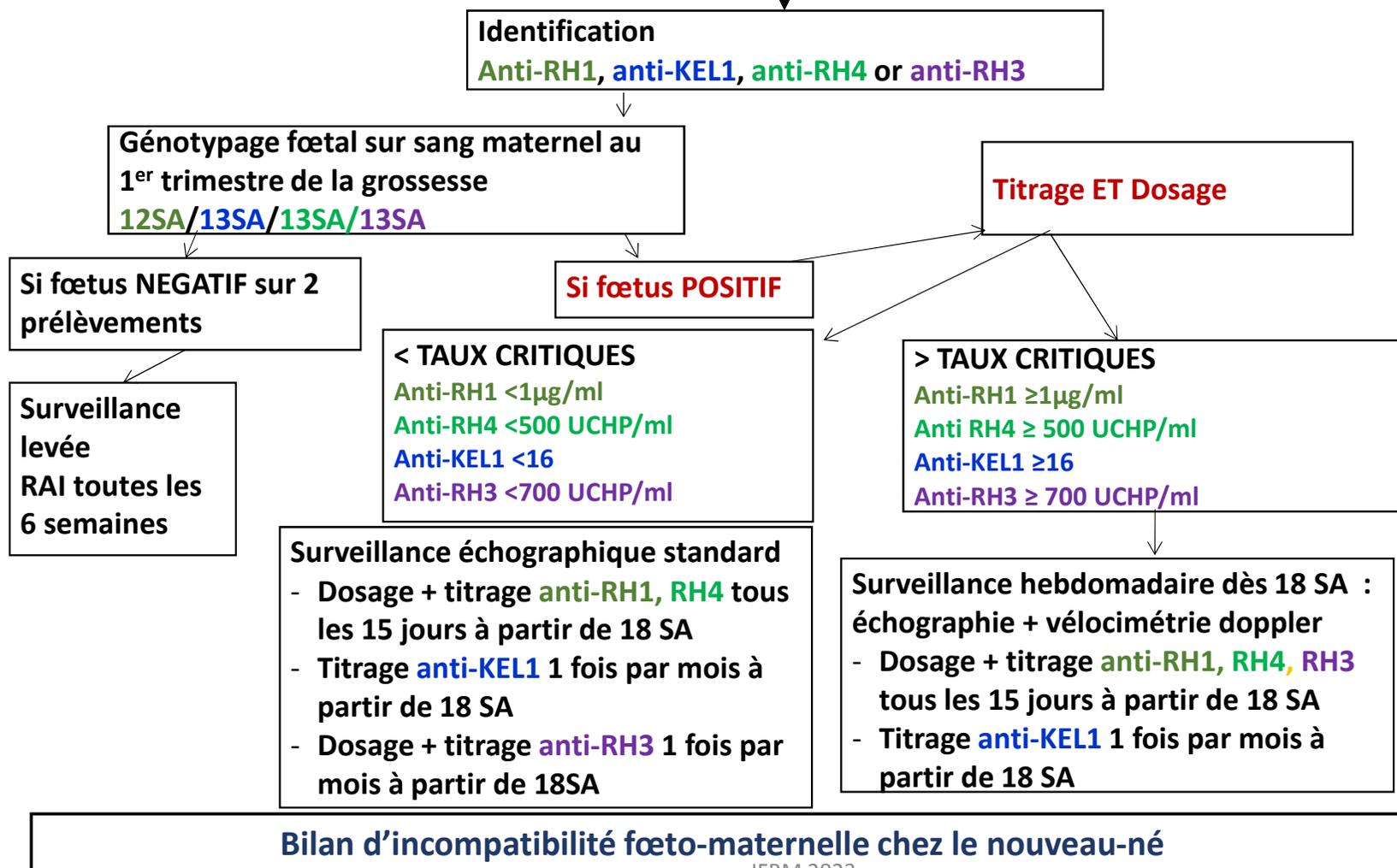
# **SCHEMA DE SURVEILLANCE IH DE LA FEMME ENCEINTE**

# Dépistage et surveillance des incompatibilités foëto-maternelles au cours de la grossesse



# CONCLUSION – SCHEMA DE PRISE EN CHARGE

RAI positive au premier trimestre



**CAS N°1**  
**EXEMPLE DE SUIVI DES**  
**PATIENTES RH:-1**

**Risque d'erreur dans l'interprétation de  
la présence d'un anti-RH1**

## Mme M. RH1 négatif, 3<sup>ème</sup> geste

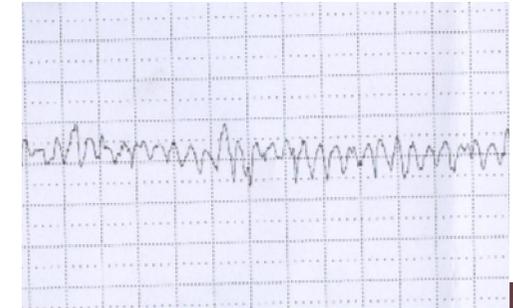
Une grossesse 14 ans auparavant, et une fausse couche

- **7 SA** : RAI négatives mais métrorragies ⇒ injection Rhophylac<sup>®</sup> 200
- **11 SA** : métrorragies
  - ⇒ RAI + injection N°2 de Rhophylac<sup>®</sup> 200
  - ⇒ RAI positives ⇒ **CNRHP: identification anti-RH1 et microtitrage :6-12ng/ml; µtitrage compatible avec l'injection à 7 SA**
- **13 SA et 18 SA** : RAI positives ⇒ EFS X: anti-RH1 « résiduel »
- **25 SA** : RAI positives ⇒ Laboratoire centralisateur : anti-RH1 identifié de titre <1 : « anti-RH1 passif résiduel »

## Mme M. RH1 négatif, 3<sup>ème</sup> geste

- **32 SA** : consultation à la maternité pour « Cholestase gravidique »
  - Anomalies du RCF sur J1
  - Anasarque sur J1 avec accélération des vitesses cérébrales

⇒ **Extraction en urgence**
- **Deux jumelles anémiques et ictériques** avec mauvaise adaptation et détresse respiratoire
  - J1 → **Hb : 2,9 g/dl** et Bili : 100 µmoles/l ⇒ **TNN + EST**
  - J2 → Hb : 7,9 g/dl et Bili : 120 µmoles/l ⇒ **EST**



## CONCLUSION CAS 1

Mme M. RH1 négatif, 3<sup>ème</sup> geste

### ECHEC DE LA PRISE EN CHARGE D'UNE FEMME ENCEINTE IMMUNISEE

- Obstétricien n'avait aucun moyen de mettre en doute le résultat donné par le laboratoire, pas de connaissance sur :
  - les techniques à réaliser
  - la sensibilité des techniques
  - l'intérêt de la transmission des examens à un laboratoire de référence

### ROLE DU BIOLOGISTE ESSENTIEL

- RAI positive dans un contexte d'injection d'IgRHD  
**Erreur d'interprétation** : anti-D faussement étiqueté comme passif résiduel  
**Seul le dosage des anti-RH1 permet de se prononcer**

### INTERET DU MICROTITRAGE

# **CAS N°2**

## **EXEMPLE DE SUIVI DES PATIENTES RH:1**

**Risque de défaut de suivi  
ou mauvaise prise en charge**

# CAS 2 Mme M. RH1 positif

- DDG : mi-octobre 2012
- 28 SA : RAI positives 24/04/13  
laboratoire privé → laboratoire centralisateur



## ÉTABLISSEMENT FRANÇAIS DU SANG PANEL NATIONAL DE RÉFÉRENCE D'HÉMATIES-TESTS DU C.N.R.G.S.

REF 51005 CE 0459

Identité patient:  
**CNRGS 21**

N° Donneur	N° Gr	RH								KEL				FY		JK		LE		MNS				P		LU				DO		YT		CO		XG	Informations complémentaires	RÉSULTATS			
		D1	C2	E3	c4	e5	C*	K1	k2	Kp <sup>a</sup> 3	Kp <sup>b</sup> 4	Fy <sup>a</sup> 1	Fy <sup>b</sup> 2	Jk <sup>a</sup> 1	Jk <sup>b</sup> 2	Le <sup>a</sup> 1	Le <sup>b</sup> 2	M1	N2	S3	s4	P1	Lu <sup>a</sup> 1	Lu <sup>b</sup> 2	19	Do <sup>a</sup> 1	Do <sup>b</sup> 2	Yt <sup>a</sup> 1	Yt <sup>b</sup> 2	Co <sup>a</sup> 1	Co <sup>b</sup> 2	Xg <sup>a</sup> 1	HN	PAP							
43189	1	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	KEL6 inconnu	++	++++			
29248	2	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	++	++++	
5382	3	0	0	0	+	+	0	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	++	++++	
18575	4	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	W	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	++	++++	
35972	5	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	0	0	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	++	++++
39624	6	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	++	++++
41799	7	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	++	++++
10617	8	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	0	0	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	-	-	
32391	9	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	-	-	
44479	10	+	+	0	0	+	0	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	0	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	++	++++
21353	11	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	++	++++
44480	12	+	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	+	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	-	-
14646	13	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
14651	14	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
42271	15	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	++	++++

## CAS 2 Mme M. RH1 positif

Identification : anti- RH4, Titrage <1

Pas de dosage pondéral :

« Quantité insuffisante pour transmettre le prélèvement pour dosage pondéral. Prévoir 10 mL de sang total et 5 mL de sérum lors du prochain prélèvement. »

Paragraphe sur la dangerosité de l'anti-RH4 dans un contexte de grossesse et les recommandations de suivi.

- **AUCUN AUTRE PRELEVEMENT**

## CAS 2 Mme M. RH1 positif

- 37 SA : 09/07/13 (Clinique)
- **Extraction en urgence pour souffrance fœtale d'un garçon**
  - Groupe : A DCcee Kell nég
  - TDA 4+
- Mauvaise adaptation initiale → transfert Hôpital X
- Anémie à 5 g/dL et détresse respiratoire sévère → transfert en réanimation dans nouvel Hôpital Y

**J0 : Transfusion en urgence vitale immédiate en O RhD nég**

**Les culots RH:-1 sont ccee: donc INCOMPATIBLE !**

**La mère n'avait pas le même nom que l'enfant et absence de notion de RAI chez la mère.**

## CAS 2 Mme M. RH1 positif

**J0 : Transfusion en urgence vitale immédiate en O RhD nég**

**Les culots RH:-1 sont ccee: donc INCOMPATIBLE !**

**La mère n' avait pas le même nom que l'enfant et absence de notion de RAI chez la mère.**

- **RAI de l' accouchement du 09/07/13: anti-RH4 identifié à l' EFS X prévient l' Hôpital Y mais la 1<sup>ère</sup> transfusion a déjà eu lieu.**
- **11/07/13 : 1<sup>er</sup> prélèvement CNRHP : anti-c (RH4)**
  - Anti-RH4 :** **Titrage : 16**
  - Dosage pondéral :** **2 temps : 1650 UCHP/ml**  
**1 temps : 1000 UCHP/ml**

**Conclusion CAS 2**  
**Mme M. RH1 positif**  
**MAUVAISE PRISE EN CHARGE PATIENTE ET NOUVEAU-NE**

- **Absence de surveillance adaptée d'une immunisation anti-RH4 : pas de quantification de cet anticorps pourtant signalé comme dangereux et pas de dosage régulier.**
- **Si prélèvement QI pour faire une identification ou un titrage / dosage: c'est **une URGENCE** de reprélever rapidement la patiente**
- **Retard à la prise en charge adaptée à la maladie hémolytique avec incident transfusionnel ayant pu avoir des conséquences graves: problème de communication entre les différents intervenants et absence de connaissance de cette femme au niveau des EFS régionaux délivrant les produits : conséquences transfusionnelles pour l'enfant.**

**Conclusion CAS 2**  
**Mme M. RH1 positif**  
**MAUVAISE PRISE EN CHARGE D'UNE PATIENTE RhD +**

**Problème de l'anti-RH4**

- **Patiente RhD + : intérêt du respect du calendrier des RAI et notamment importance de la RAI du 1<sup>er</sup> trimestre +++ car la RAI suivante est au 8<sup>ème</sup> mois.**
- **Importance de connaître la dangerosité de l'anti-RH4 et de comprendre la nécessité de le quantifier quand il est identifié**
- **L'immunisation anti-RH4 se réactive fréquemment en cours de grossesse et peut ne pas être vue à la RAI du 1<sup>er</sup> trimestre si pas d'utilisation de techniques suffisamment sensibles.**
- **Nette supériorité du dosage pondéral par rapport au titrage pour détecter les réactivations anti-RH4 +++**

# CONCLUSIONS

- Diagnostic des IFM : purement **biologique**
- **Pathologie rare** dépistable si respect du calendrier des RAI
- **Rôle du biologiste** dans la connaissance des techniques à mettre en œuvre, dans leur interprétation, dans le choix de l'orientation des prélèvements pour techniques complémentaires
- Les **échecs** de prise en charge sont souvent **multifactoriels** (découverte de l'immunisation trop tardive, non-respect du calendrier des RAI, conseils associés aux résultats non adaptés, défaut de transmission des résultats)
- Nécessité d'**harmonisation** sur les indications de réalisation d'examen de quantification autre que le titrage et sur la prestation de conseils : groupe de travail SFTS pour recommandations nationales
- **Diagnostic biologique spécialisé** : existence d'un **Centre de Référence** avec une biologie et une clinique périnatale de référence
  - **Biologie donne l'alerte** pour le déclenchement d'un suivi spécifique
  - **Interactions étroites** entre biologiste/biologiste de référence/clinicien

## Remerciements

**DMU BioGeM (Pr R. LEVY)**

**LBM EST PARISIEN (Dr M. VAUBOURDOLLE)**

**Service d'hémobiologie foetale et périnatale**

**Dr C. TOLY-NDOUR, Dr S. HUGUET-JACQUOT, Dr H. DELABY, Dr F. KHETTAB, Dr J. BEAUD, Dr J. BABINET**

**DMU ORYGINE (Pr J-M. JOUANNIC)**

**UF clinique du CNRHP (Pr J-M. JOUANNIC)**

**Permanence médicale du CNRHP**

**Infirmières**

**Dr M-G. GUILLEMIN, Dr P. MAURICE, Dr L. GUILBAUD, Dr F. DHOMBRES, Dr L. FRANCHINARD**

**SF coordinateur : B. LAFON**