



Impact du génotypage fœtal dans la prise en charge des grossesses avec allo-immunisation anti-érythrocytaire

Exemple de la mise en place du génotypage *RHE* fœtal non invasif

Maud Deray

Centre National de Référence en Hémiobiologie Périnatale (CNRHP)
Hôpitaux Universitaires de l'Est Parisien – AP-HP - Paris

2^{ème} Journée « Yves Brossard »
d'hémiobiologie fœtale et néonatale

Jeudi 11 janvier 2018
Auditorium – Hôtel de Ville de Paris

Objectifs

Intérêt et mise en place d'un examen de génotypage foetal *RHE* en méthode non invasive

- Etude **épidémiologique** de l'immunisation anti-RH3
- Evaluation de l'intérêt du développement
- **Choix d'une méthode et test de ses performances**
- **Mise en place** au CNRHP

→ **À qui le proposer ?**

→ **Diagnostic des incompatibilités anti-RH3 : VPN de 100%**

→ **Dossier de validation de méthode qualitative en portée B**, selon la norme NF ISO 15189

Epidémiologie de l'immunisation anti-RH3

CNRHP entre 2014 et 2016 : 22467 titrages et/ou dosages pondéraux pour 9491 femmes immunisées

Anticorps	anti-RH1 (D)	anti-RH3 (E)	anti-RH4 (c)	anti-KEL1
Fréquence	28%	16%	11%	4%

L'**anti-RH3** est le 2^e anticorps le plus fréquemment retrouvé

Dosage pondéral max	<40 UCHP/mL	[40-100[UCHP/mL	[100-700[UCHP/mL	≥ 700 UCHP/mL
Nombre de cas	895 59,7%	190 12,7%	347 23,1%	67 4,5%

→ Majorité des **anti-RH3** < 40 UCHP/mL

→ Immunisations **anti-RH3** sévères = 4,5% des immunisations anti-RH3

VS 599 immunisations **anti-RH1** sévères (35,2%), 187 **anti-KEL1** sévères (47,7%) et 208 **anti-RH4** sévères (20,7%)

Incidence clinique de l'immunisation anti-RH3

	Incompatibles avec anti-RH3 > seuil (n = 8)	Incompatibles avec anti-RH3 < seuil (n = 12)	Compatibles (n = 11)
DPON Titre	600 – 6935 UCHP/mL* 16 – 256	< 40 – 155 UCHP/mL 1 – 4	<40 UCHP/mL 1
Hb moy (nadir)	8,4 g/dL	Données insuffisantes	Données insuffisantes
Bili totale moy au cordon	42,8 µmol/L*	31,3 µmol/L	35,6 µmol/L
Photothérapie intensive	0 – 132 h* (5 bébés)	0,4h (1 bébé)	0
Transfusion	0 – 2* (5 bébés)	0	0
Durée moyenne d'hospitalisation	7 jours* (4-10)	3 jours (3 – 5)	3 jours (3 – 3)

*différence significative ($p < 0,05$, test de Student)

n = 31 (total)

→ Le risque de MHFN liée à une IFM anti-RH3 est rare mais existe

Principe du génotypage *RHE* foetal non invasif

Méthode en deux étapes :

- **extraction** de l'ADN à partir de plasma maternel
 - Manuelle ou automatisée
 - Éluat : **ADN maternel + ADN foetal**
- **amplification** de la séquence spécifique de l'allèle *RHE* par **PCR**
Absente chez la **mère**
Transmise au **foetus** par le **père**

PCR *RHE* en triplicate : positive si amplification $Ct \leq 45,0$

PCR *mais* simplicate : positive si amplification $Ct < 35,0$

PCR *ABO* simplicate : reflet de la quantité de l'ADN extrait

Evaluation des performances du test

Études de sensibilité et de spécificité

36 plasmas de femmes enceintes RH:-3,5
terme 12 - 38 SA

Avec extraction automatisée			
	Fœtus RH:3,5	Fœtus RH:-3,5	Total
Test +	11	0	11
Test -	2	18	20
Indéterminé	3	0	3
Total	16	18	34

Avec extraction manuelle			
	Fœtus RH:3,5	Fœtus RH:-3,5	Total
Test +	14	1	15
Test -	2	19	21
Indéterminé	0	0	0
Total	16	20	36

Réanalyse

Après réanalyse :
Sensibilité : 100%
Spécificité 100%
VPP : 100%
VPN : 100%

Après réanalyse :
Sensibilité : 100%
Spécificité 100%
VPP : 100%
VPN : 100%

**Exigences
préanalytiques**

3x5 mL de sang total
maternel sur EDTA,
reçu dans les 72h
≥ 13 SA

formulaire de consentement signé

2 x [extraction automatisée
ou manuelle + amplification]

**2 tests indépendants pour
chaque échantillon**

2 «+»

Génotypage foetal
RHE positif

2 «-»

Génotypage
foetal *RHE*
négatif probable

A confirmer
sur un
2nd prélèvement

1 «-» et 1 «+»
ou 1 indéterminé

3^e Extraction
+ amplification

2 «+»

Génotypage
foetal *RHE*
positif

2 «-»

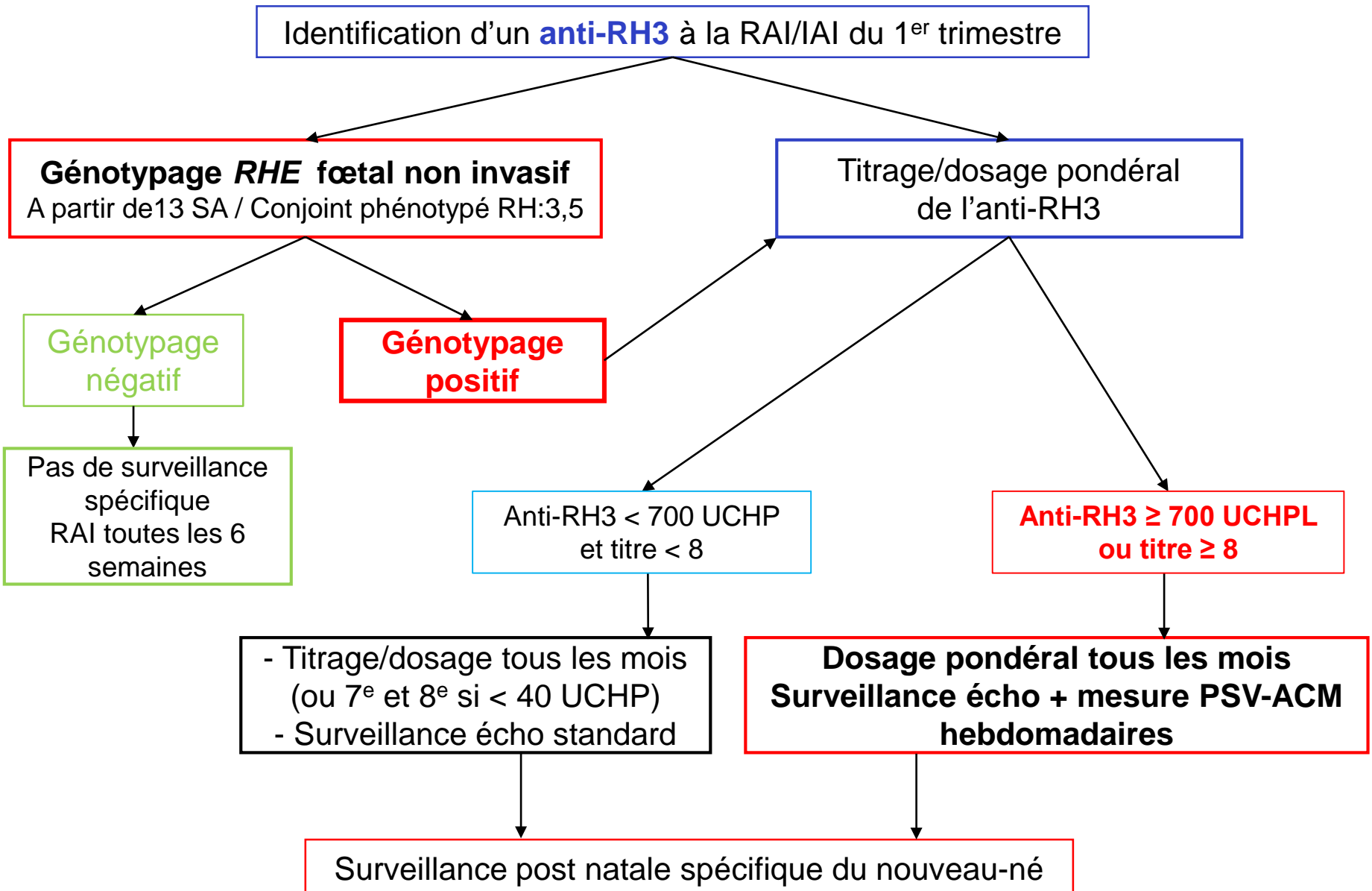
Génotypage
foetal *RHE*
négatif probable

A confirmer
sur un
2nd prélèvement

Courrier

**Stratégie de validation
biologique d'un examen de
génotypage *RHE* foetal sur sang
maternel au CNRHP**

Nouvelle prise en charge d'une immunisation anti-RH3



Conclusion

Génotypage *RHE* fœtal non invasif par l'analyse d'ADN fœtal circulant dans le sang maternel

- But : **diagnostiquer les cas réels d'IFM en cas d'immunisation maternelle anti-RH3**
- Intérêt lorsque dans les **immunisations sévères ou à risque de réactivation** → **diminuer suivis inutiles**

En 1 an → 29 prélèvements (terme moyen 21 SA)

Faible nombre de demandes VS épidémiologie :

- **Formation des prescripteurs :**

MHFN et IFME anti-RH3

Génotypage *RHE* fœtal non invasif : intérêt, performances et limites

- **Diffusion du test**



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

Pr J.M. JOUANNIC

Pôle biologie médicale et pathologie :

Dr M. VAUBOURDOLLE

Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale
Site: Saint Antoine et Armand Trousseau
Hôpitaux Universitaires de l'Est Parisien - AP-HP
184, rue de Valenciennes - 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 maternité et centre néonatal
Pôle Périnatalité - St Antoine
Responsable : Dr Anne Cordey
Tél. 01 71 97 03 05

Unité fonctionnelle d'expertise en Immuno-Hémobiologie Périnatale
Pôle de Biologie Médicale et Pathologie - St Antoine
Responsable : Dr Agnès Bellère
Tél. 01 71 97 03 24

Pôle Mère-Enfant :

Pr J.M. JOUANNIC