

SUVI DE LA FEMME ENCEINTE

Suivi de la RAI positive :

Titrage – microtitrage

**Prise en charge clinique et biologique de
la femme immunisée**

INCOMPATIBILITES FOETO-MATERNELLES ERYTHROCYTAIRES

Epidémiologie

Incidence (clinique) = 4 pour 1000 naissances

**Ictère hémolytique = IFM ABO surtout.
(>50% des cas)**

**Anémie fœtale sévère = IFM Rh D 50 cas (85%)
CNRHP Kell 8 cas (13%)
2003-2006 Rh c 1 cas (2%)**

ANTI-KELL

- **Est toujours identifiable au 1er trimestre**
- **Son titre en CIN est d'emblée très élevé**
- **Intérêt des Hématies-Test Enzyme : aucun**
- **Piège : l'agglutination est parfois faible**

ANTI-c (RH4)

- **Est toujours identifiable au 1er trimestre**
- **Intérêt des H-test enzyme: détection très facilitée**
- **Piège : titre en CIN souvent faible , non prédictif d'une atteinte sévère**

ANTI-D (RH1)

- **Est le plus souvent présent au 1er trimestre mais il peut être (rarement) à la limite de détection**
- **Sa détection est facilitée par les hématies-test enzyme**
- **Pièges : confusion avec anti-D passif
fréquence élevée des réactivations**

RAI et GROSSESSE

Femme RHD +

une seule mais dès le 1er trimestre de grossesse

Femme RHD –

une aux 1er, 2ème, 3ème trimestres.

en fin de grossesse (valide si délai à l'accouchement de moins de 3 jours avec prolongation espérée de 2 à 4 semaines).

DIAGNOSTIC et SUIVI BIOLOGIQUE PRENATALS

- Soit **RAI SUR HEMATIES-TEST NATIVES SEULEMENT:**
cela suffit réglementairement
- Soit **RAI AVEC EN PLUS DES HEMATIES-TEST ENZYME:**
et si positive enzyme seulement, ne retenir pour
l'identification que les profils réactionnels évoquant un
anti-D ou un anti-c.

RAI et IMMUNOPROPHYLAXIE RH (1)

RAI avant administration d'IgRh

INDISPENSABLE : l'absence d'immunisation anti-D fait partie de la décision

Datant de moins d'une semaine

La présence d'anticorps autres que anti-D est indifférente

Si urgence : Prélever RAI juste avant l'injection

RAI et IMMUNOPROPHYLAXIE Rh (2)

Contrôle 24 à 48 h après

- **Si absence d'anti-D:**
 - pas d'injection ou injection IM(passage différé des anticorps) ou
 - HFM massive.
- **Si présence d'anti-D :**
 - anticorps en excès ?
 - Ratio de 20µg/ml de GR atteint ?

RAI et IMMINOPROPHYLAXIE Rh (3) ...

RAI à distance de l'injection d'IgRh

1 . 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)

→ **Microtitrage**

TECHNIQUE DE MICROTITRAGE (1)

- **Technique de microtitrage** en gels au CNRHP mise en place en 1999
FEUILLETS DE BIOLOGIE , 2002 –Vol.XXXVIII-N°245, 11-17
- **Intérêt** : Déterminer si l'Anti-D dosé est uniquement un Anti-D passif (résiduel) consécutif à une injection d'Ig anti-D connaissant la posologie et la date d'injection.
- **Domaine d'application** : Prélèvements de femmes de 15 à 45 ans avec titre d'anti-D en technique tube $< 1/8$

TECHNIQUE DE MICROTITRAGE (2)

FEUILLETS DE BIOLOGIE , 2002 –Vol.XXXVIII-N°245, 11-17.

Dilution du standard Anti D

Standard ANTI-D 6 U CHP/ml (24 ng/ml) fait et congelé au CNRHP dilué en NaCl à 0,9 % au $\frac{1}{4}$ (6 ng/ml) , $\frac{1}{8}$ (3 ng/ml) , $\frac{1}{16}$ (1.5 ng/ml) et au $\frac{1}{32}$ (0.75 ng/ml).

Dilution du patient

Echantillon testé du pur au $\frac{1}{32}$ ^{ème}

Distribution

Distribution des hématies test (Hématies R₀r papainées à 0.8% en diluant 2 (Diamed) dans les gels (Gels DIAMED Liss/ Coombs), 50 µl par puits.

Distribution des dilutions de standard et des patients, 25 µl par puits .

TECHNIQUE DE MICROTITRAGE (3)

1- Méthode princeps : distribution par alternance

Standard 1/4	Patient pur	Standard 1/8	Patient 1/2	Standard 1/16	Patient 1/4	Standard 1/32	Patient 1/8
-----------------	----------------	-----------------	----------------	------------------	----------------	------------------	----------------

Incubation gel à 37°C pendant 15 minutes

Centrifugation 10 minutes

Réaction interprétable uniquement quand puits échantillon négatif

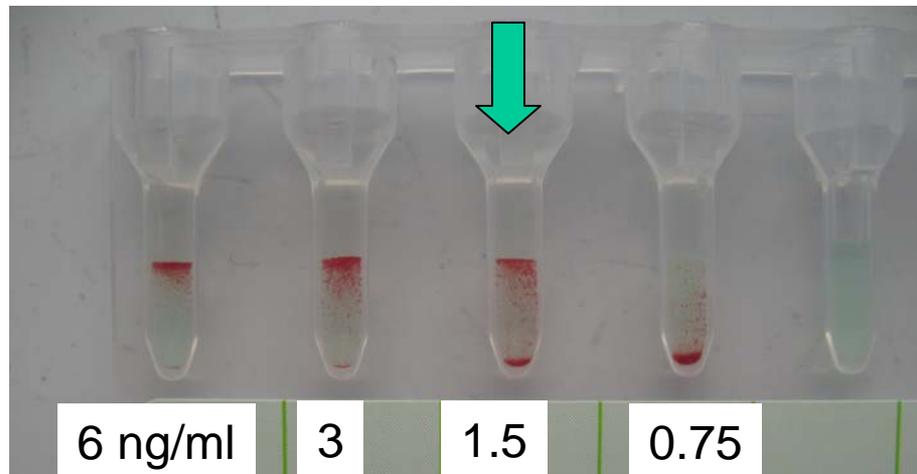
2- Méthode simplifiée : Série de 10 patients encadrée par une gamme

Standard 1/4	Standard 1/8	Standard 1/16	Standard 1/32						
Patient pur	Patient 1/2	Patient 1/4	Patient 1/8	Patient 1/16	Patient 1/32				

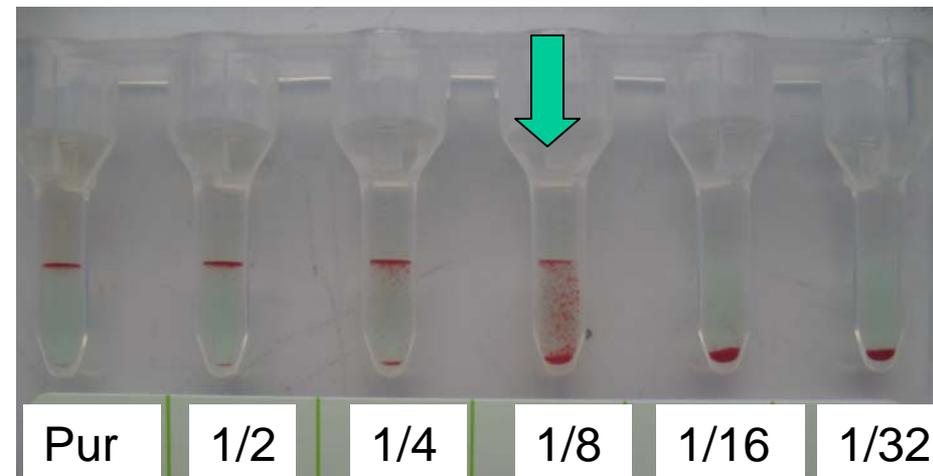
TECHNIQUE DE MICROTITRAGE (4)

INTERPRETATION RESULTATS (Fonction de l'intensité des réactions)

Concentration en anti-D = Inverse de la dernière dilution réactive de l'échantillon \times Concentration de la dilution du standard avec la même intensité de réaction



STANDARD



PATIENT

25.
Concentration approchée = $8 \times 1.5 = 12 \text{ ng/ml}$

DIAGNOSTIC ET SUIVI BIOLOGIQUE PRENATALS

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

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

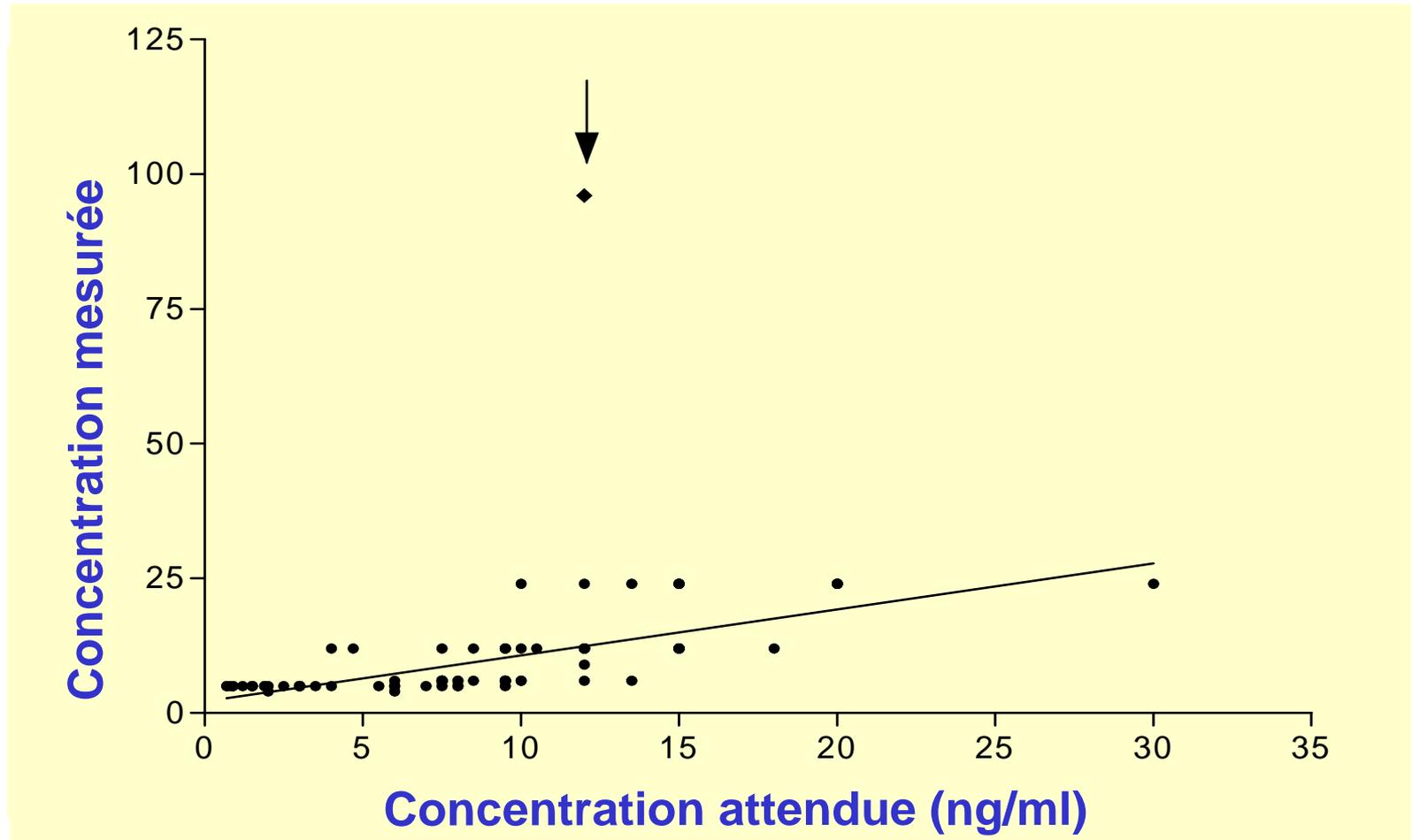
2 doses à J = 28
et
1 dose à J = 2

Concentration attendue

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

DIAGNOSTIC ET SUIVI BIOLOGIQUE PRENATALS

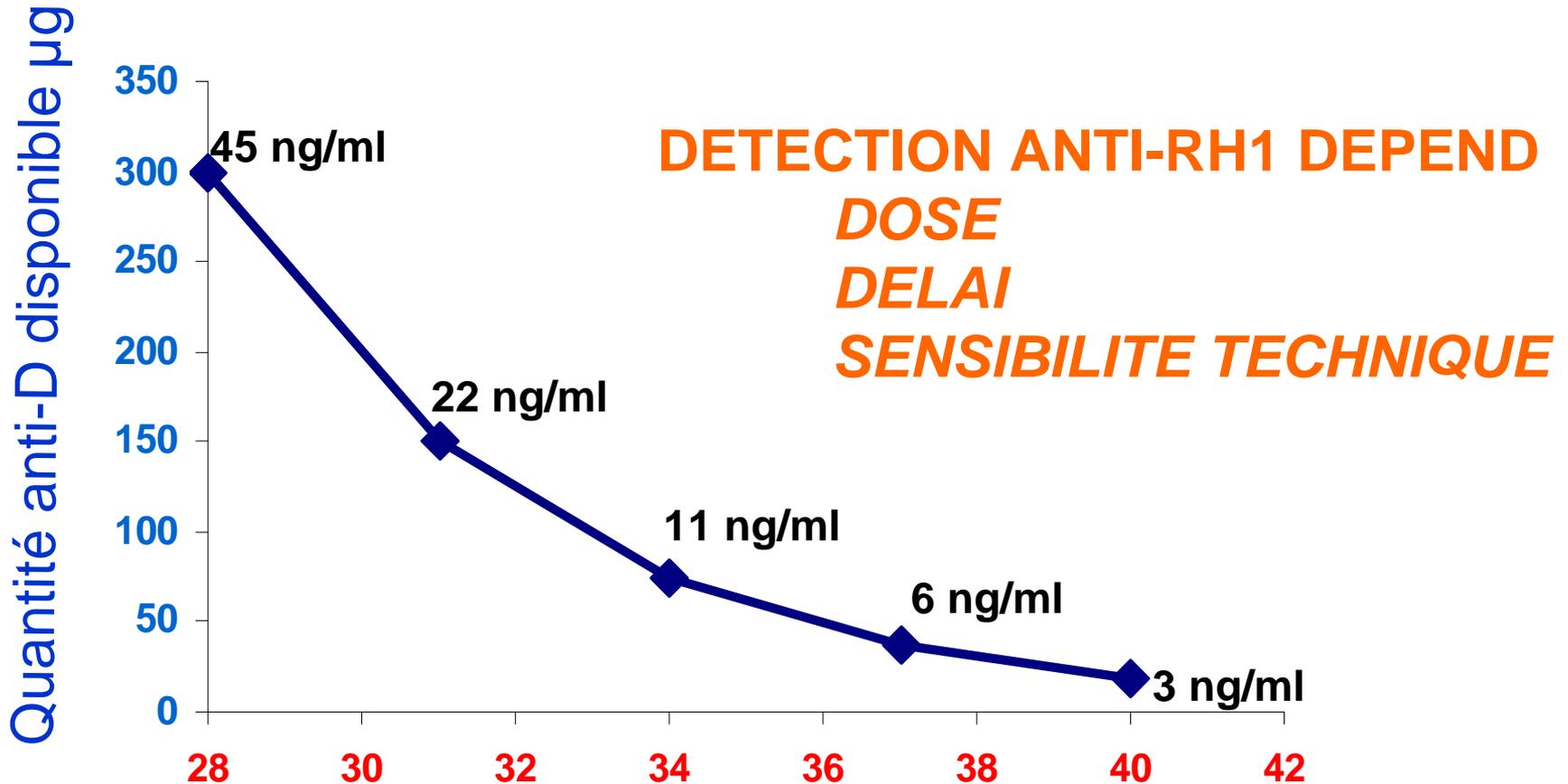
Anti-D après injection d'Ig Rh : Résultats du microtitrage



POSITIVITE DE LA RAI

APRES INJECTION DE 300 µg D'IgRH A 28 SA

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



DETECTION ANTI-RH1 DEPEND
DOSE
DELAI
SENSIBILITE TECHNIQUE

CNRHP 25 Juin 2010

Terme SA

2 QUESTIONS

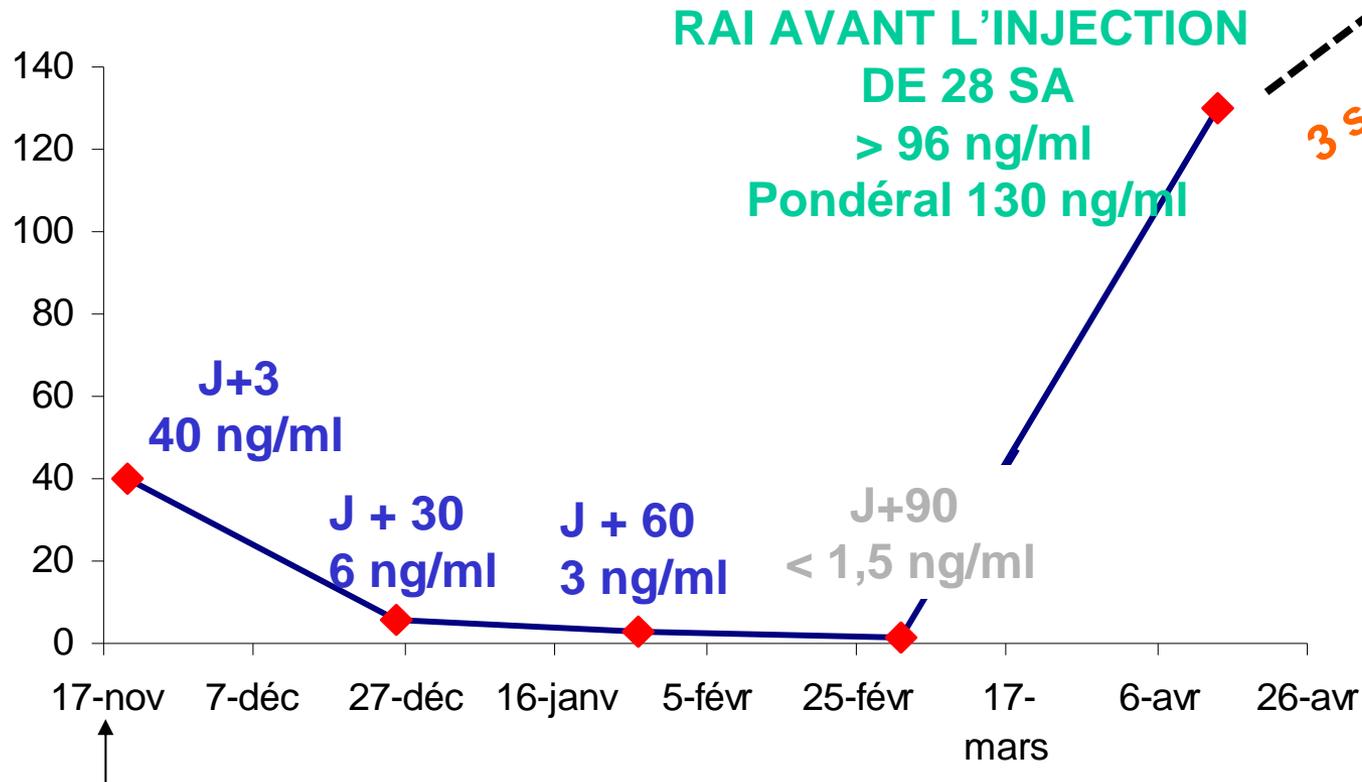
- 1- **ANTICORPS TROUVE DANS LE SERUM UNIQUEMENT EXPLICABLE PAR ANTI-RH1 PASSIF (ALLO-IMMUNISATION EN PLUS) ?**
- 2- **EST-CE QUE LA QUANTITE D'ANTICORPS EST SUFFISANTE POUR PROTEGER ?**

INTERET DU MICROTITRAGE

INTERET DU MICROTITRAGE

SUIVI ANTI-RH1 APRES INJECTION D'IgRH

GROSSESSE MME X



INJECTION DE RHOPHYLAC A 6 SA

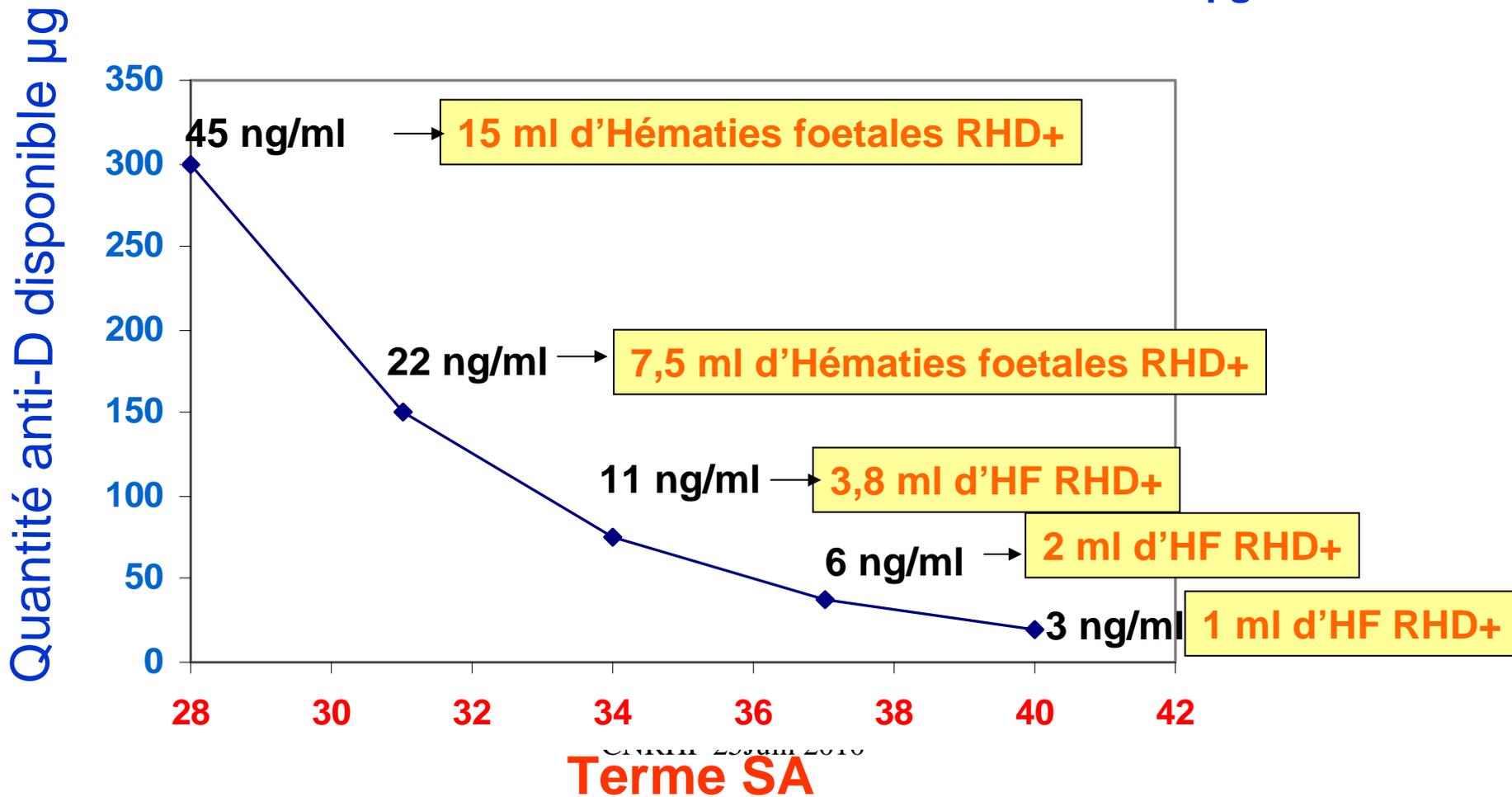
PAS DE RESULTAT DE RAI AVANT INJECTION

CNRHP 25 Juin 2010

INTERET DU MICROTITRAGE

CAPACITE IMMUNOSUPPRESSIVE

EFFICACITE IMMUNO-SUPPRESSIVE 100% si \geq à 20 $\mu\text{g/ml}$ GR



RAI et IMMINOPROPHYLAXIE Rh (3) ...

à distance de l'injection d'IgRh

2. Rechercher une immunisation autre que anti-D (intérêt transfusionnel)

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

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