



Hôpitaux  
Universitaires  
Est Parisien

CNRHP  
centre national de référence  
en hémiobiologie périnatale

ASSISTANCE  
PUBLIQUE  HÔPITAUX  
DE PARIS



# Conséquences pratiques du génotypage *RHD* foetal non invasif sur l'immunoprophylaxie au cours de la grossesse - A propos de cas cliniques

**Emeline Maisonneuve**

Unité clinique de soins des incompatibilités fœto-maternelles et ictère néo-natal – CNRHP - Service de Médecine fœtale

**Stéphanie Huguet-Jacquot**

UF Biologique et d'Expertise en Immuno-Hématologie Périnatale - CNRHP - Pôle biologie médicale et pathologie

Hôpitaux Universitaires de l'Est Parisien – AP-HP – Paris

Jeudi 8 Septembre 2016

**Soirée CNRHP**

**Hémobiologie Fœtale et Néonatale**



Hôpitaux  
Universitaires  
Est Parisien

CNRHP  
centre national de référence  
en hémiobiologie périnatale

ASSISTANCE  
PUBLIQUE  HÔPITAUX  
DE PARIS

## RAPPELS

### Recommandations CNRHP, CNGOF 2005, SFMP

*CNGOF, Prévention de l'allo-immunisation Rhésus-D fœtomaternelle.  
J Gynecol Obstet Biol Reprod 2005*  
*Cortey A, Prevention of fetomaternal rhesus-D allo-immunization.  
Practical aspects, J Gynecol Obstet Biol Reprod, 2006*

# Contexte

- 15% de la population française est RhD (RH1) négatif
- Fréquence du gène *RHD*: 61%
- 150-165 000 femmes RhD- enceintes par an, dont 90 000 d'un foetus RhD+ (75 000 après 28SA)
- Incidence AIFM 16% en 1971 → 0,5%
- Environ 750 femmes allo immunisées par an
- Recommandations CNGOF 2005
  - Prophylaxie ciblée+ systématique

*Urbaniak 2000, Tiblad 2013*

# Prophylaxie anténatale systématique

- Etude sur 1882 patientes RhD- non immunisées dans 23 maternités parisiennes
  - Groupe prophylaxie: 927 patientes traitées par 2 injections d'IgRh à 28 et 34SA
    - 599 enfants RhD+
  - Groupe témoin: 955 patientes non traitées
- Résultats:
  - 7 allo-immunisations dans groupe témoin: 1,1%
  - 1 allo-immunisation dans groupe traité: 0,2%
  - → Diminution significative AI

# Prophylaxie à 28SA

- Etude suédoise 2013, prospective en population avec contrôle historique
- 9380 patientes RhD-
  - 39% foetus *RHD* -
  - 61% foetus *RHD* +
- Incidence de l'immunisation
  - Référence: 0,46%
  - Cohorte avec prophylaxie: 0,26%
- RR=0,55 (IC95% 0,35-0,87)
- RAR=0,20% NNT=500

# MODALITES DE PREVENTION

- PREVENTION CIBLEE: Si événements sensibilisants: MTR, gestes invasifs, trauma abdo, VME...
  - Injection de Rhophylac 200 µg IV
  - Dans les 72h
  - APRES AVOIR PRELEVE RAI
  - Si génotypage foetal *RHD* positif ou inconnu
- PREVENTION SYSTEMATIQUE A 28SA:
  - Injection de Rhophylac 300 µg IV
  - HFM asymptomatique 3<sup>ème</sup> trim= 25% causes d'AIMF sévère

# AU 3<sup>ème</sup> TRIMESTRE

- Si la patiente a déjà reçu du Rhophylac 300
- Événement à risque d'HFM
- Injection de Rhophylac 200 dans les 72h
- On peut surseoir à l'injection de Rhophylac 200 seulement si les 3 items sont validés:
  - Injection de Rhophylac 300 dans les 3 semaines précédentes
  - Kleihauer négatif
  - Dosage pondéral des anti-D passifs > 6ng/mL

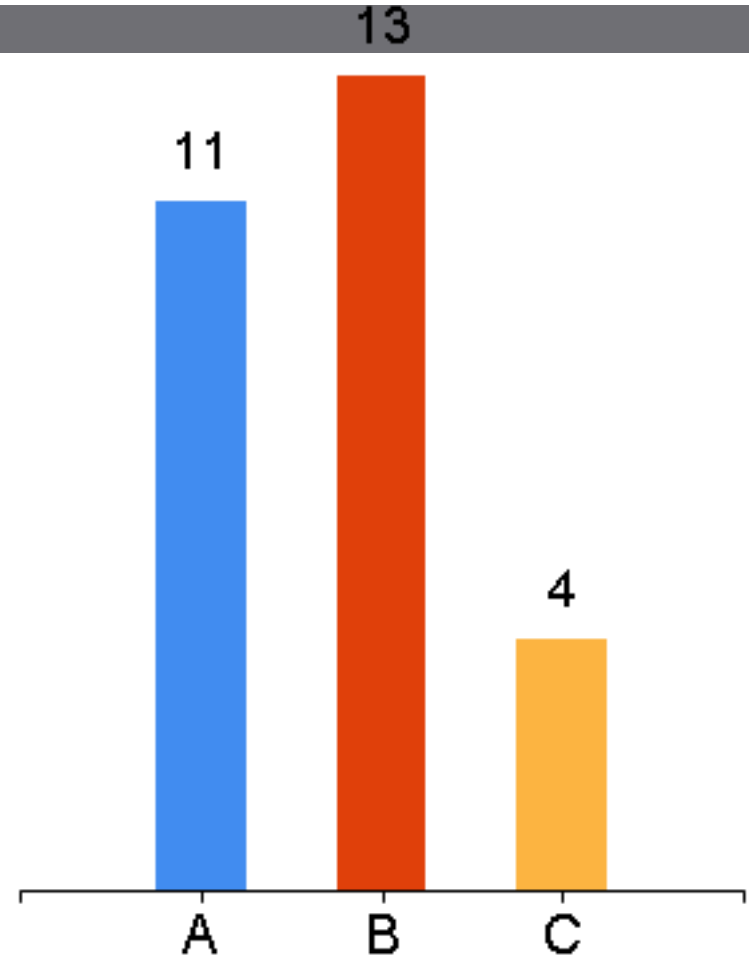
< 15 SA	15-27 SA	27-29 SA	29 SA à l'accouchement	Accouchement
<p><b>Prévention ciblée:</b> FCS, IVG, GEU, IMG Métrorragies, môle, Réduction embryonnaire, BT, cerclage</p>	<p><b>Prévention ciblée:</b> <u>Risque élevé HFM</u> *FC tardive, IMG, MFIU, trauma abdominal, PLA transplacentaire, PSF, métrorragies <u>Risque faible HFM</u> PLA simple, cerclage tardif</p>	<p><b>Prévention Systématique</b></p>	<p><b>Prévention ciblée :</b> <u>Risque élevé d'HFM</u> * + VME</p>	<p>Si nouveau-né RhD positif:  Injection d'IgRh anti-D</p>
<p>Génotypage <i>RHD</i> fœtal non invasif à partir de 12SA Prophylaxie si fœtus RH1 positif ou indéterminé</p>			<p>Génotypage non indiqué après 30SA</p>	
Kleihauer : non	Kleihauer : oui si risque élevé *	Kleihauer : non	Kleihauer : oui si risque élevé *	Kleihauer : oui
Rhophylac® 200IV (72h)	Rhophylac® 200IV dans les 72h	Rhophylac® 300IM ou IV	Rhophylac® 200IV dans les 72h	Rhophylac® 200IV (72h)
	<p>Abstention possible si : **</p>		<p>Abstention possible si : ** - &lt; 3 sem après IgRh - ET Kleihauer négatif - ET anti-D &gt;6ng/ml</p>	



## CAS : 1

Mme A. RH1 négatif est enceinte de 15 SA d'une grossesse gémellaire monochoriale biamniotique. Elle vous montre son résultat de génotypage fœtal sur sang maternel *RHD* positif et vous demande le Rhésus de ses fœtus :

- A. 2 fœtus RH1 positif
- B. Au moins 1 des 2 est RH1 positif
- C. On ne peut pas conclure



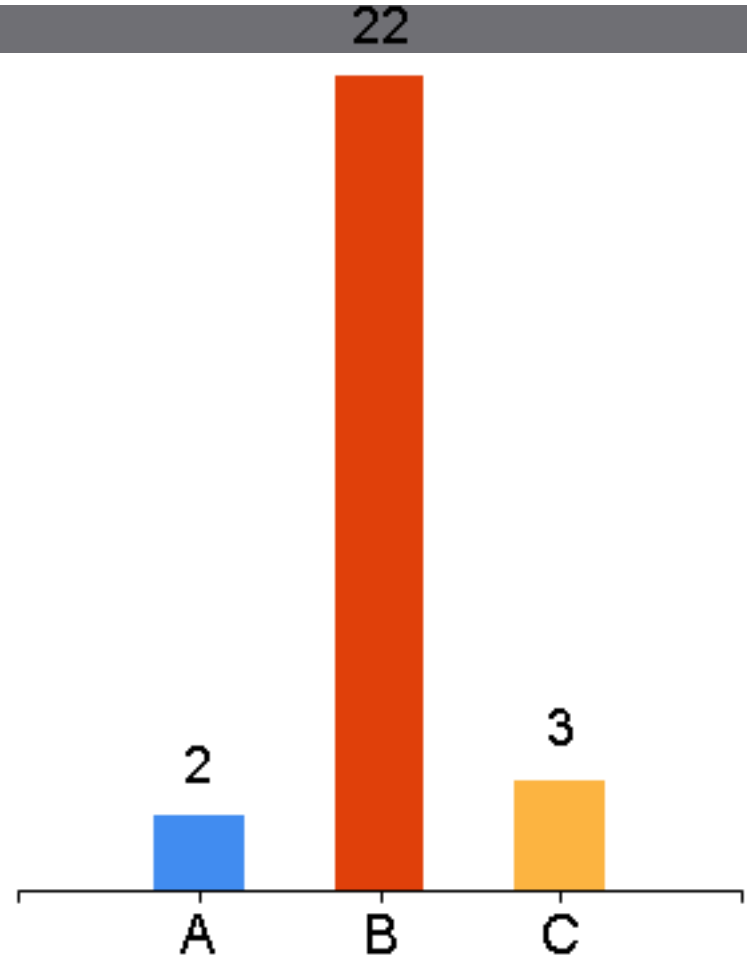
Votes:100

Not Voted:72

## CAS : 2

Mme B. RH1 négatif est enceinte de 16 SA d'une grossesse gémellaire bichoriale biamniotique. Elle vous montre son résultat de génotypage fœtal sur sang maternel *RHD* positif et vous demande le Rhésus de ses fœtus :

- A. 2 fœtus RH1 positif
- B. Au moins 1 des 2 est RH1 positif
- C. On ne peut pas conclure



Votes:100

Not Voted:73

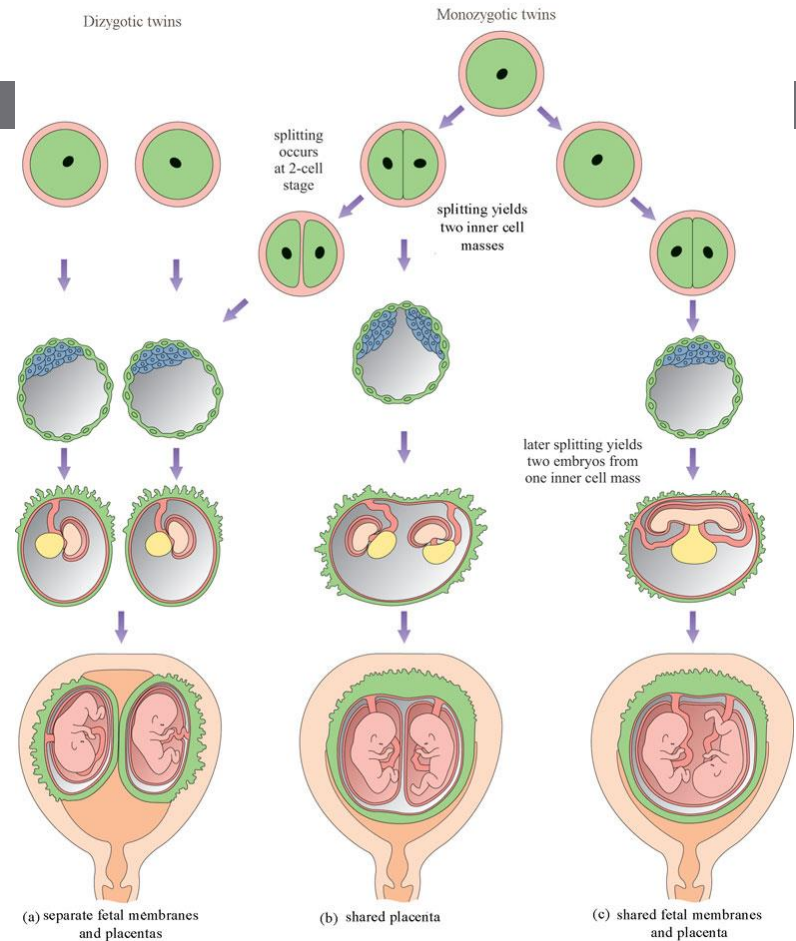
# Réponses

## CAS 1

monochoriale biamniotique: monozygote  
A 2 fœtus RH1 positif

## CAS 2

bichoriale biamniotique : mono ou dizygote  
B Au moins 1 des 2 est RH1 positif



Cas 2:  
Bichoriale

Cas 1:  
Monochoriale  
biamniotique

## CAS 3

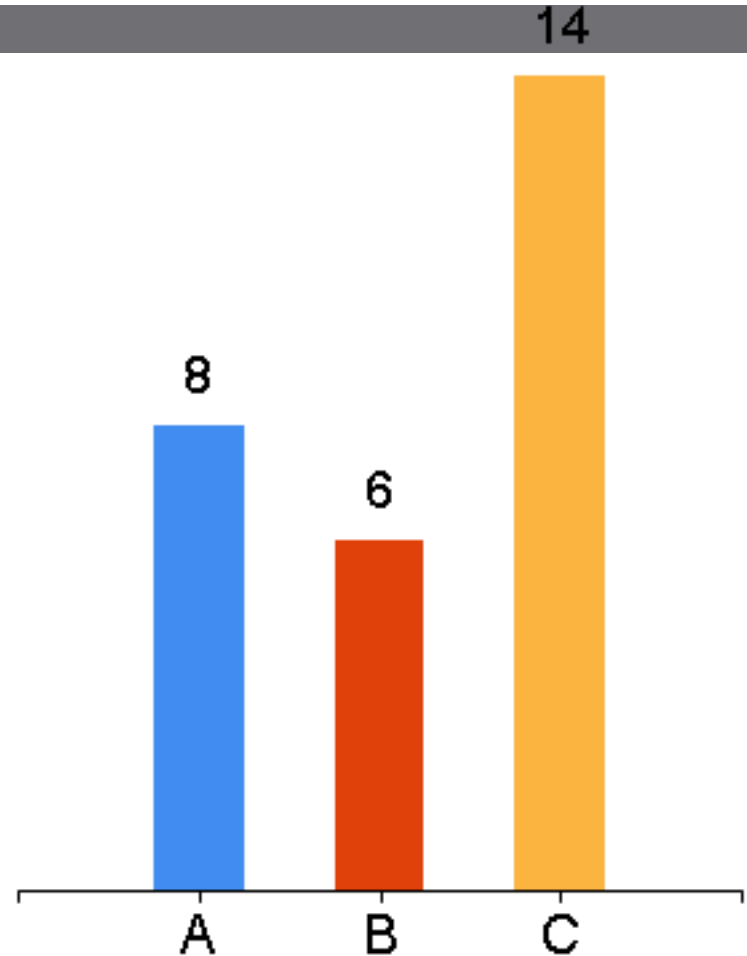
Mme C, RH1 négatif, a été suivie aux urgences gynécologiques pour des métrorragies répétées sur un décollement trophoblastique pour lesquelles elle a été traitée par Rhophylac 200 à 7SA puis à 11SA sans prélèvement de RAI au préalable. Elle revient à 15SA pour des métrorragies

## CAS : 3

Mme C, RH1 négatif, a été suivie aux urgences gynéco pour des métrorragies répétées sur un décollement trophoblastique pour lesquelles elle a été traitée par Rhophylac 200 à 7SA puis à 11SA sans prélèvement de RAI au préalable. Elle revient à 15SA pour des métrorragies

Quels examens prescrivez-vous?

- A. RAI
- B. Test de Kleihauer
- C. Génotypage *RHD* foetal non invasif



Votes:100

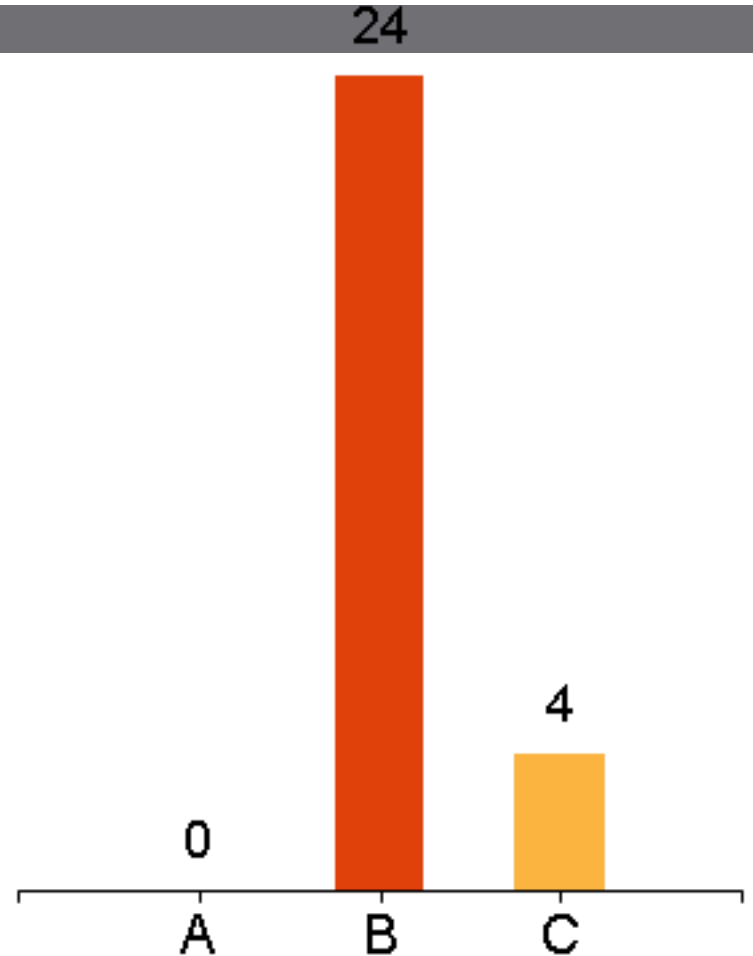
Not Voted:72

## CAS : 3

Mme C, RH1 négatif, a été suivie aux urgences gynéco pour des métrorragies répétées sur un décollement trophoblastique pour lesquelles elle a été traitée par Rhophylac 200 à 7SA puis à 11SA sans prélèvement de RAI au préalable. Elle revient à 15SA pour des métrorragies

On identifie un anti-RH1 faible en TIA et le test de kleihauer est négatif. Quelle est votre attitude ?

- A. Conclure à un anti-RH1 passif
- B. Envoi du prélèvement pour dosage
- C. absence d'indication à faire une 3ème injection de Rhophylac



Votes:100

Not Voted:72

## Réponses au CAS 3

Mme C, RH1 négatif, a été suivie aux urgences gynéco pour des métrorragies répétées sur un décollement trophoblastique pour lesquelles elle a été traitée par Rhophylac 200 à 7SA puis à 11SA sans prélèvement de RAI au préalable. Elle revient à 15SA pour des métrorragies

Question 1 : A – RAI B – Kleihauer C – Génotypage *RHD* fœtal non invasif.

Question 2 : B – Envoi du prélèvement pour dosage car seul le dosage de l'anti-RH1 (microtitrage) permet de conclure sur la nature passive ou immune de l'Ac.

Il ne fallait pas répondre C - L'injection de Rhophylac datant de plus de 3 semaines il est nécessaire de retraiter.

## CAS : 4

Mme D. RH1 partiel de type DIVb enceinte de 24 SA, RAI négative, doit avoir un génotypage *RHD* foetal en vue de l'application de l'immunoprophylaxie du 3<sup>ème</sup> trimestre.

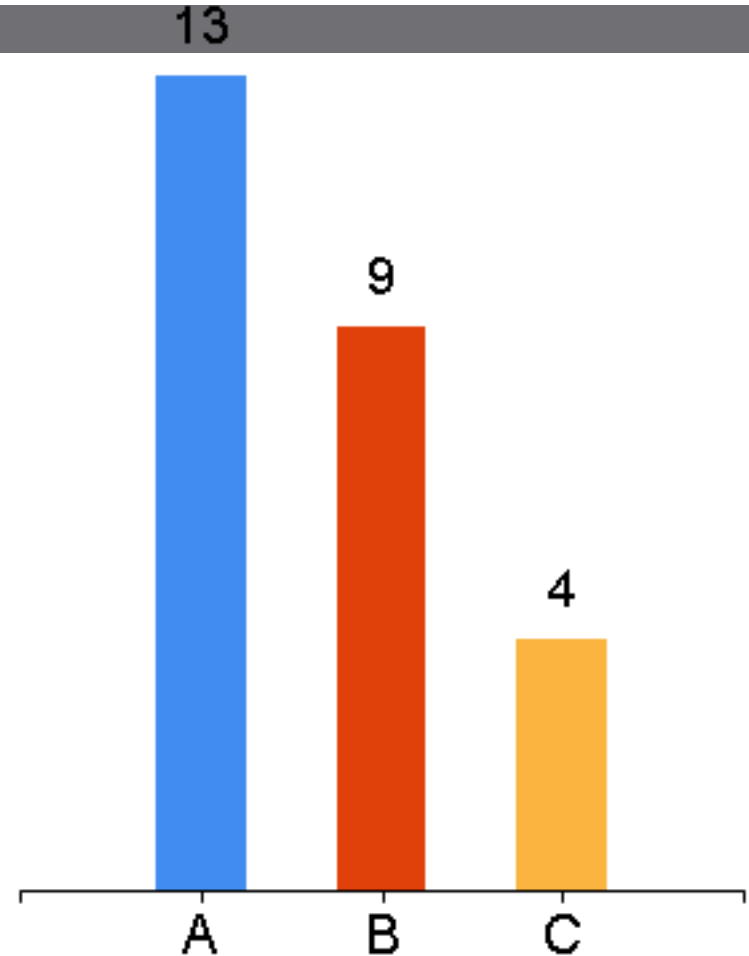


## CAS : 4

Mme D. RH1 partiel de type DIVb  
enceinte de 24 SA, RAI négative, doit  
avoir un génotypage *RHD* foetal en vue  
de l'application de l'immunoprophylaxie  
du 3<sup>ème</sup> trimestre.

Le génotypage *RHD* foetal est-il  
réalisable chez cette patiente ?

- A. OUI
- B. NON
- C. Ne sait pas



Votes:100

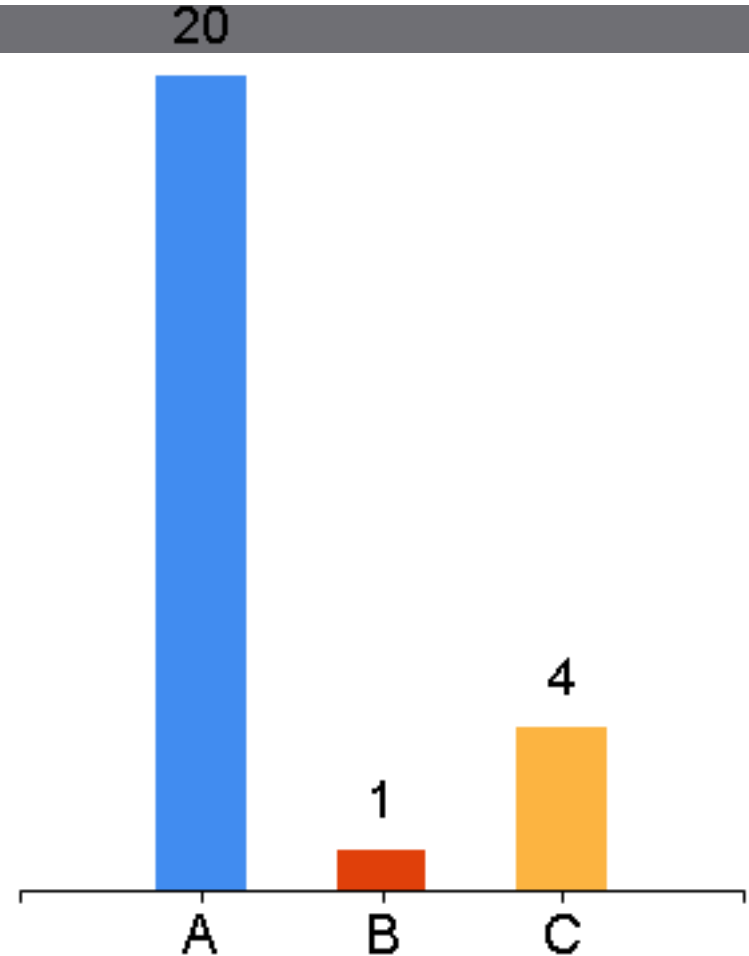
Not Voted:74

## CAS : 4

Mme D. RH1 partiel de type DIVb  
enceinte de 24 SA, RAI négative, doit  
avoir un génotypage *RHD* foetal en vue  
de l'application de l'immunoprophylaxie  
du 3<sup>ème</sup> trimestre.

Cette patiente doit-elle être traitée par  
IgRH au 3<sup>ème</sup> trimestre ?

- A. OUI
- B. NON
- C. Ne sait pas



Votes:100

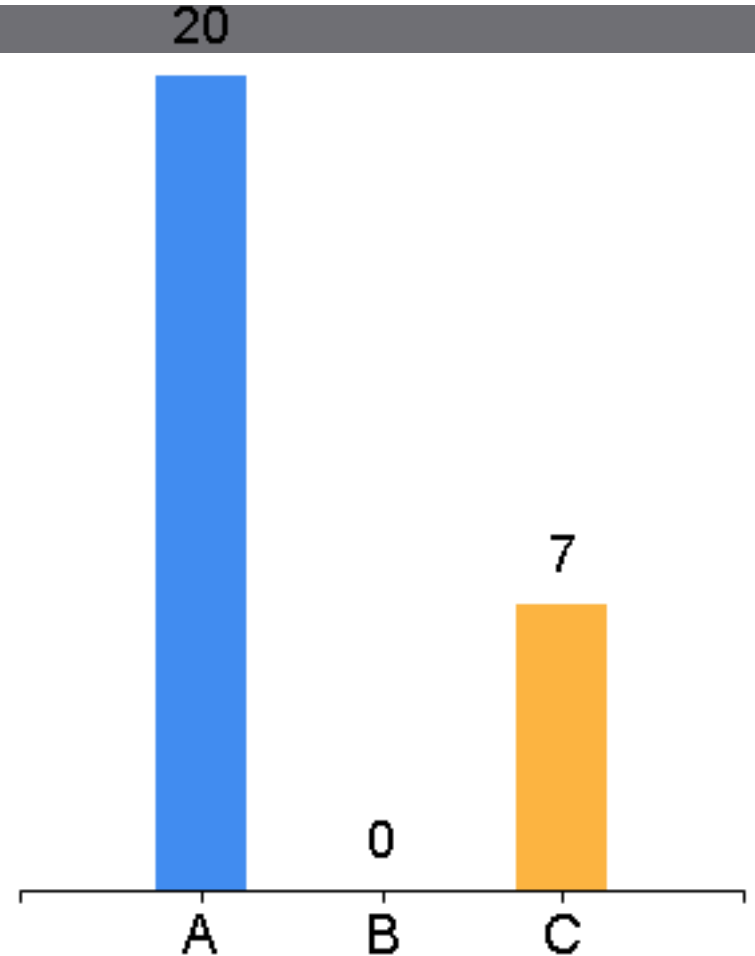
Not Voted:75

## CAS : 4

Mme D. RH1 partiel de type DIVb enceinte de 24 SA, RAI négative, doit avoir un génotypage *RHD* foetal en vue de l'application de l'immunoprophylaxie du 3<sup>ème</sup> trimestre.

Dans quels cas cette patiente doit-elle être traitée par IgRH au moment de l'accouchement ?

- A. Enfant RH1 positif
- B. Enfant RH1 négatif
- C. Enfant RH1 affaibli ayant le même profil que sa mère



Votes:100

Not Voted:73

## Réponses - CAS : 4

Mme D. RH1 partiel de type DIVb enceinte de 24 SA, RAI négative, doit avoir un génotypage *RHD* foetal en vue de l'application de l'immunoprophylaxie du 3<sup>ème</sup> trimestre.

Question 1 : B - NON

Amplification des séquences du gène *RHD* maternel rendant le génotypage foetal ininterprétable

Question 2 : A - OUI

Immunisation possible chez les patientes D partiel contre les parties de la molécule RH1 qu'elle ne possède pas.

Question 3 : A - Enfant RH1 positif

## CAS : 5

---

Mme E. RH1 négatif enceinte de 24 SA, RAI négative, doit avoir un génotypage *RHD* foetal en vue de l'application de l'immunoprophylaxie du 3<sup>ème</sup> trimestre.

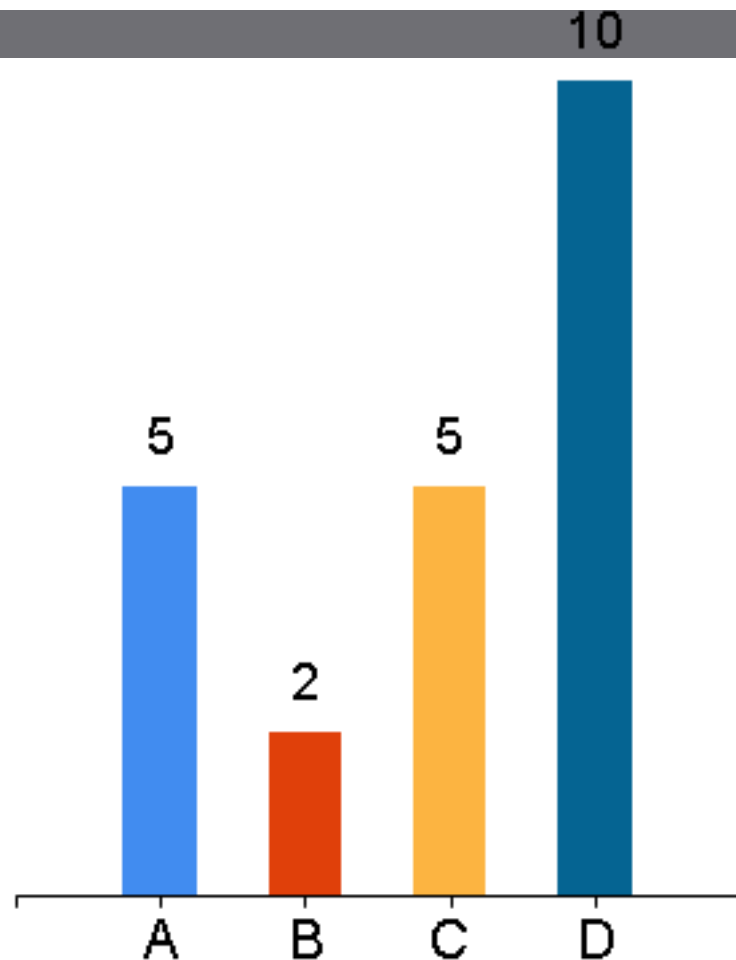
Le génotypage *RHD* foetal est rendu ininterprétable

## CAS : 5

Mme E. RH1 négatif enceinte de 24 SA, RAI négative, doit avoir un génotypage *RHD* fœtal en vue de l'application de l'immunoprophylaxie du 3<sup>ème</sup> trimestre. Le génotypage *RHD* fœtal est rendu ininterprétable

Quelles peuvent en être les causes?

- A. Prélèvement altéré
- B. Fœtus RH1 variant
- C. Problème technique
- D. Mère RH1 silencieux non Dpsi



Votes:100

Not Voted:78

## Réponses - CAS : 5

Mme E. RH1 négatif enceinte de 24 SA, RAI négative, doit avoir un génotypage RHD foetal en vue de l'application de l'immunoprophylaxie du 3<sup>ème</sup> trimestre.  
Le génotypage *RHD* foetal est rendu ininterprétable :

A - Prélèvement altéré et C - Problème technique  
Plusieurs Run avec autant d'exons positifs que négatif

↳ Demander un prélèvement de contrôle

B – Foetus *RHD* partiel ou *RHD* silencieux  
Un exon négatif (2X) et autres positifs

↳ Recommander de faire la prophylaxie rhésus par défaut

D - Mère RH1 silencieux non Dpsi (Cde ou non caractérisé)

Mère RH :-1,2,-3,4,5 possédant un exon 10 +, exon 7 - et exon 5 –

Si le génotypage montre un exon 10 + Ct précoce dû aux séquences maternelles et exon 7 - et exon 5 - : Foetus ininterprétable car on ne peut pas exclure un foetus RH1 partiel avec risque d'alloimmunisation pour sa mère.

↳ Recommander de faire la prophylaxie rhésus par défaut

## CAS : 6

---

Mme F. RH1 négatif enceinte de 15 SA doit avoir une amniocentèse à 17 SA sachant que son placenta est postérieur

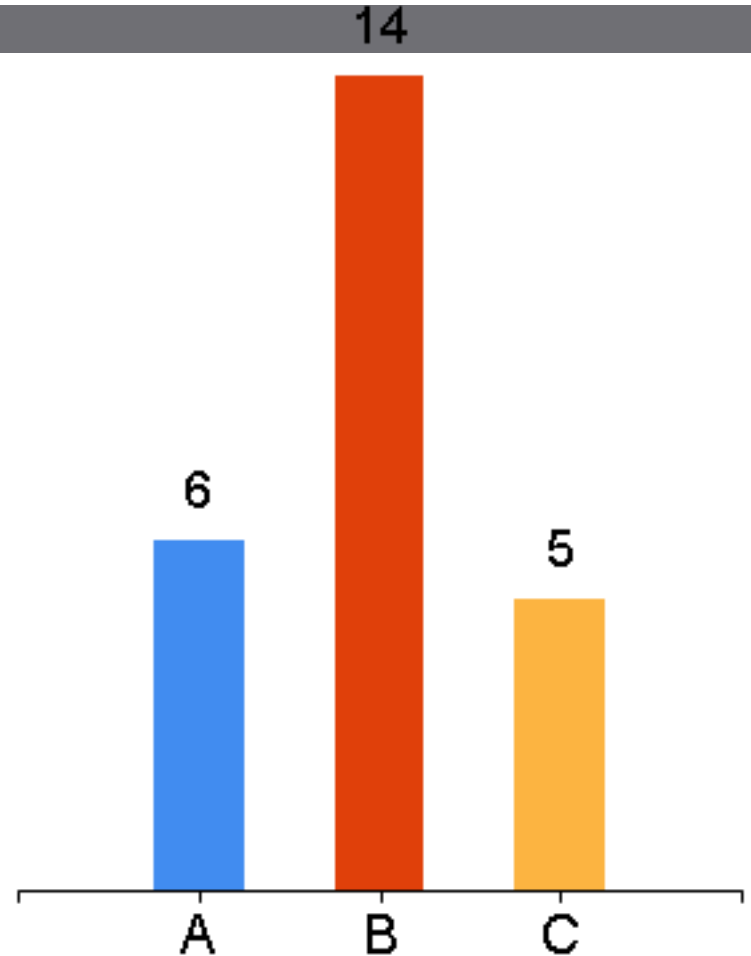


## CAS : 6

Mme F. RH1 négatif enceinte de 15 SA  
doit avoir une amniocentèse à 17 SA  
sachant que son placenta est  
postérieur

Quels examens doivent avoir été  
réalisés avant l'amniocentèse ?

- A. RAI du 1<sup>er</sup> trimestre
- B. Génotypage *RHD* foetal non invasif
- C. Pas besoin de faire le génotypage  
sur sang maternel, il sera fait sur  
liquide amniotique



Votes:100

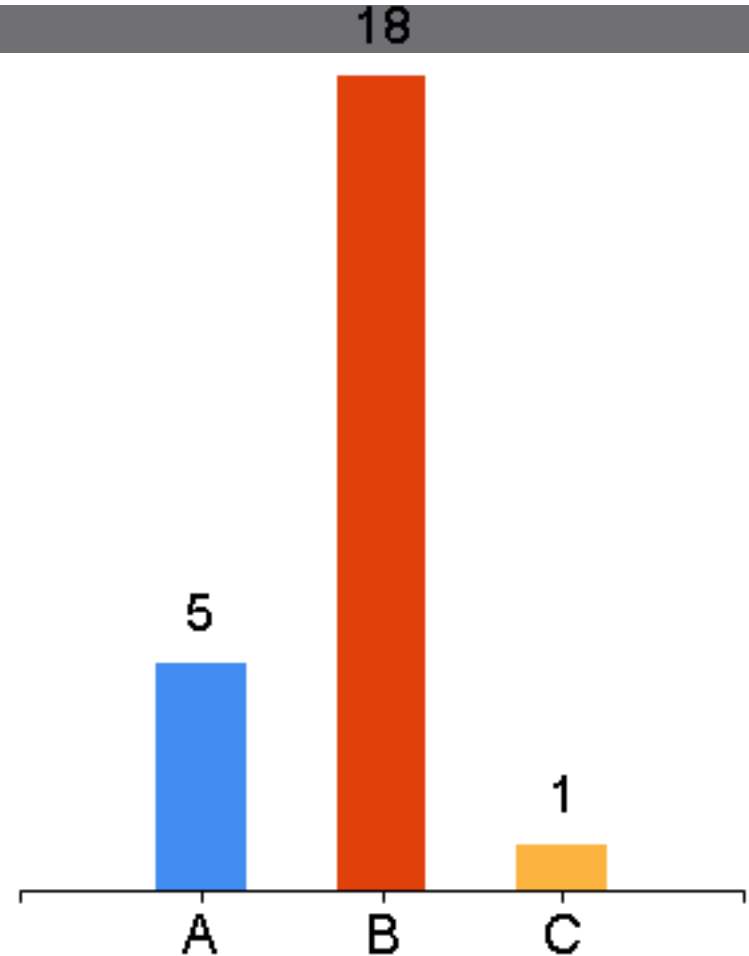
Not Voted:75

## CAS : 6

Mme F. RH1 négatif enceinte de 15 SA  
doit avoir une amniocentèse à 17 SA  
sachant que son placenta est  
postérieur

Quels examens doivent avoir été  
réalisés après l'amniocentèse ?

- A. RAI
- B. Test de Kleihauer
- C. Microtitrage



Votes:100

Not Voted:76

## CAS : 6

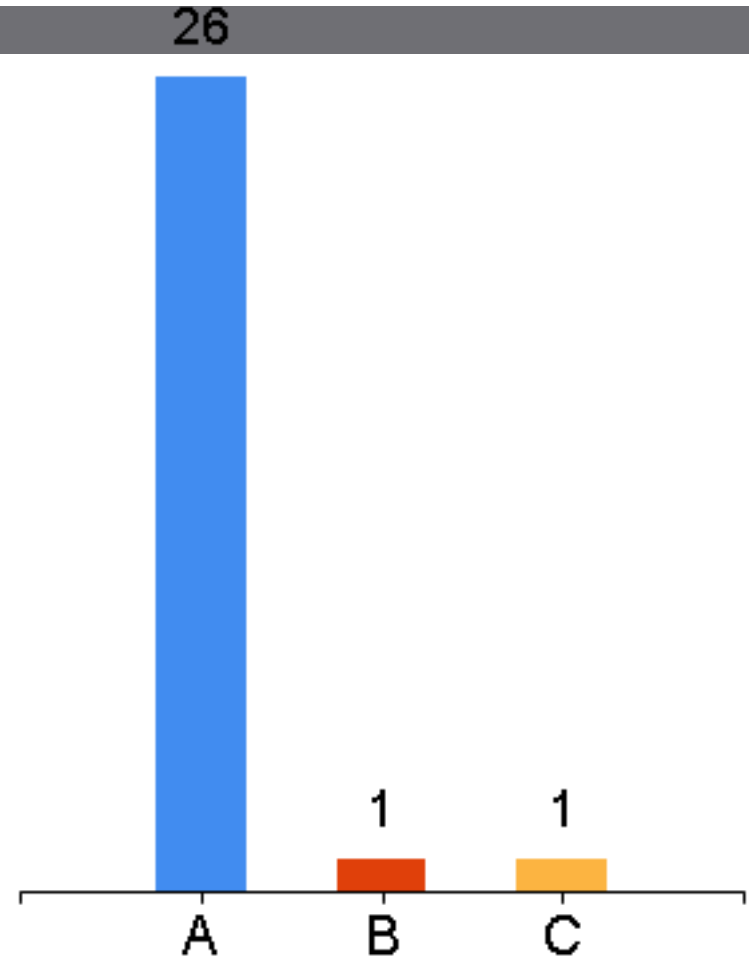
Mme F. RH1 négatif enceinte de 15 SA  
doit avoir une amniocentèse à 17 SA  
sachant que son placenta est  
postérieur

Y a-t-il un intérêt à réaliser une  
prophylaxie au 6<sup>ème</sup> mois de grossesse  
chez cette patiente?

A. OUI

B. NON

C. Ne sait pas



Votes:100

Not Voted:72

## Réponses - CAS : 6

### Question 1-

A - Vérifier que la patiente a bien eu une RAI au 1<sup>er</sup> trimestre

Résultat : RAI negative, patiente non immunisé

B - Indication du génotypage *RHD* foetal non invasif – Attention au timing

→ Si foetus *RHD* positif, « conclusion : patiente à traiter par IgRH dans les 72h suivant l'amniocentèse » - Faire ordonnance pour le Rhophylac

→ Si foetus *RHD* négatif à confirmer sur 2<sup>ème</sup> prélèvement maternel ou liquide amniotique.

### Question 2-

A - RAI

Juste avant l'injection d'IgRH réalisation d'une RAI (validité 3 jours)

Résultat : RAI negative

## Réponses - CAS : 6

### Question 3 -

A – OUI

Au 6<sup>ème</sup> mois prophylaxie recommandée car l'anti-RH1 résiduel est insuffisant pour protéger les 3 derniers mois.

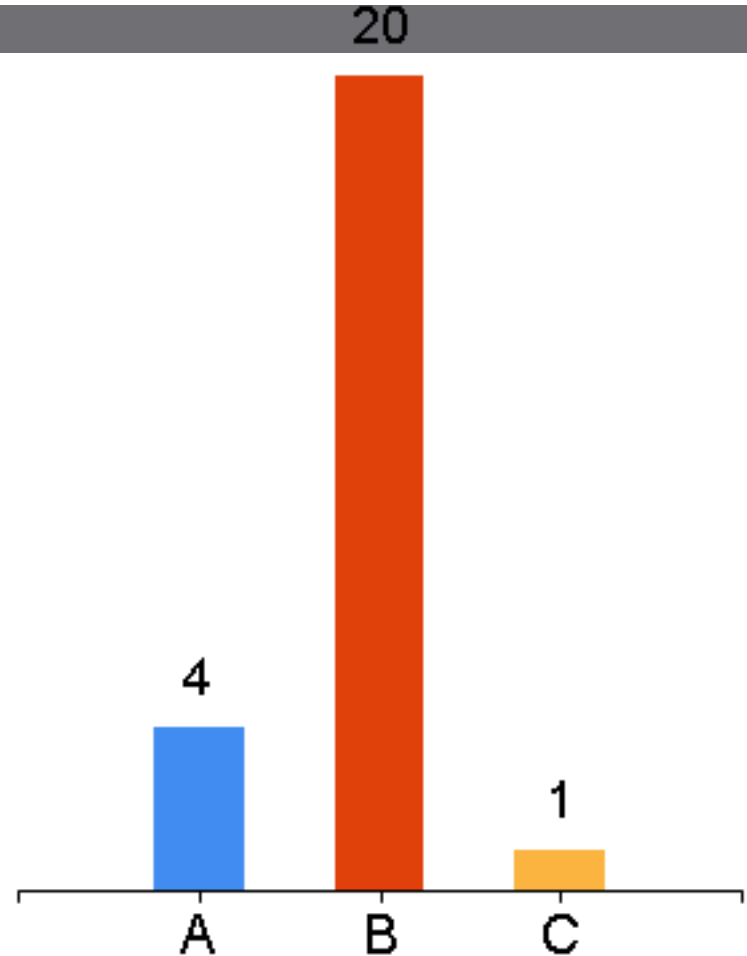
Réalisation d'une RAI avant injection : identification d'un anti-RH1 à 3 ng/ml, compatible avec une injection faite 11 semaines auparavant

## CAS : 6 suite

Le fœtus a été génotypé *RHD* positif.  
Mme F a bénéficié de la prophylaxie  
rhésus suite à son amniocentèse et à  
28SA. Elle accouche à terme. L'enfant  
est de phénotype RH1 négatif.

Ce résultat est-il possible ?

- A. NON
- B. OUI
- C. Ne sait pas



Votes:100

Not Voted:75

## Réponses - CAS : 6 suite

---

B – OUI

Patiente enceinte d'un fœtus possédant un gène *RHD* silencieux ne s'exprimant pas à confirmer en faisant le génotype *RHD* du nouveau-né.

## CAS : 7

---

Mme H. RH1 négatif enceinte de 34 SA est hospitalisée pour MFIU d'étiologie indéterminée. Elle avait eu un génotypage foetal sur sang maternel *RHD* négatif vérifié. Elle est déclenchée et accouche 48h après d'un enfant né sans vie :

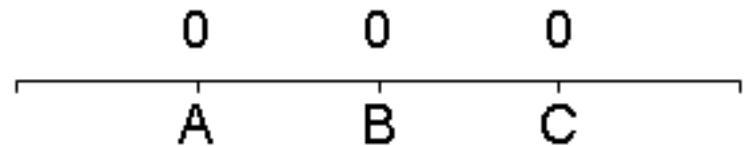


## CAS : 7

Mme H. RH1 négatif enceinte de 34 SA est hospitalisée pour MFIU d'étiologie indéterminée. Elle avait eu un génotypage foetal sur sang maternel *RHD* négatif vérifié. Elle est déclenchée et accouche 48h après d'un enfant né sans vie :

- Quels examens doivent être réalisés à la naissance ?

- A. Groupe rhésus sur sang de cordon
- B. Test de Kleihauer
- C. Génotypage *RHD* foetal non invasif



Votes:100

Not Voted:100

## CAS : 7

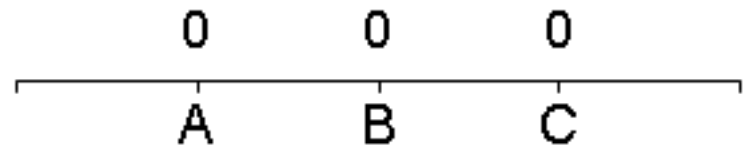
Mme H. RH1 négatif enceinte de 34 SA est hospitalisée pour MFIU d'étiologie indéterminée. Elle avait eu un génotypage fœtal sur sang maternel *RHD* négatif vérifié. Elle est déclenchée et accouche 48h après d'un enfant né sans vie :

L'immunoprophylaxie rhésus doit elle être faite?

A. OUI

B. NON

C. Ne sait pas



Votes:100

Not Voted:100

## Réponses - CAS : 7

### Question 1-

B – Test de Kleihauer pour adapter la posologie du Rhophylac®. Le statut rhésus du fœtus n'est pas accessible car le sang de cordon est coagulé dans ce contexte.

Le génotypage est impossible les brins d'ADN fœtaux circulant dans le plasma maternel étant très rapidement dégradés

### Question 2-

A – OUI

La prophylaxie rhésus à l'accouchement est basée sur le phénotype à la naissance

## CAS : 8

Madame G est de groupe A RH:-1,-2,-3,4,5 KEL:-1, elle a 40 ans et un petit garçon de 5 ans.

Pour sa deuxième grossesse actuellement en cours elle a eu une amniocentèse à et une injection de gammaglobulines IgRH à 24SA. Un génotypage fœtal sur sang maternel avait été fait à 13SA montrant un fœtus RH1 positif

Suite à son déménagement elle vient dans votre laboratoire pour la première fois faire son contrôle de RAI du 6ème mois selon la prescription de son médecin.

Vous trouvez la RAI POSITIVE en TIA

## CAS : 8

7

Vous concluez :  
« RAI POSITIVE suite à l'injection de gammaglobulines le JJ.MM.AAAA »

A. OUI

B. NON

C. Ne sait pas



Votes:100

Not Voted:93

## CAS : 8

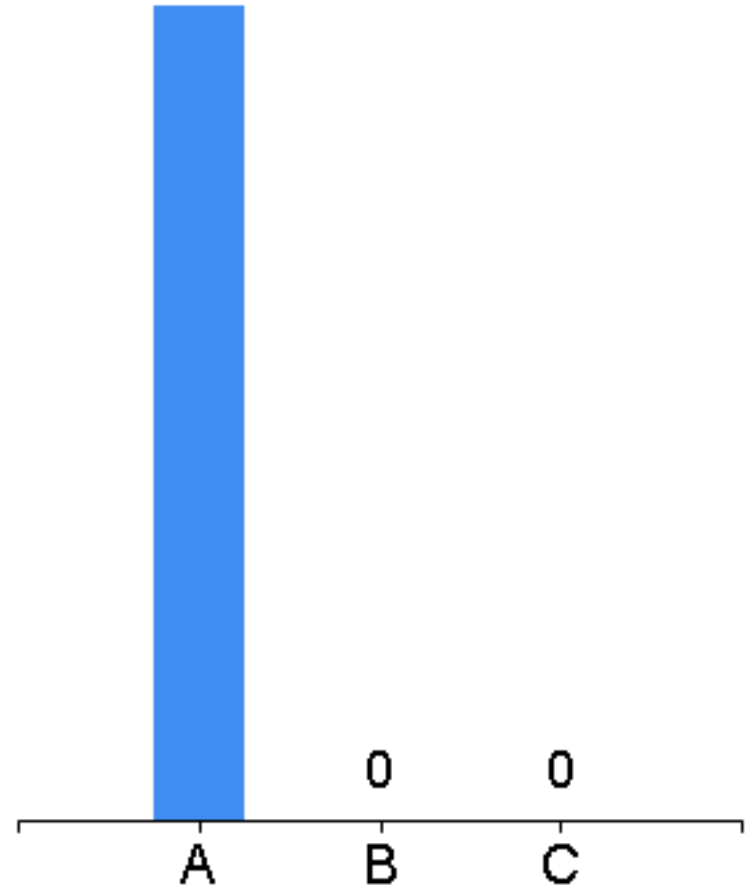
24

Vous faites ou faites faire une  
identification de la RAI POSITIVE

A. OUI

B. NON

C. Ne sait pas



Votes:100

Not Voted:76

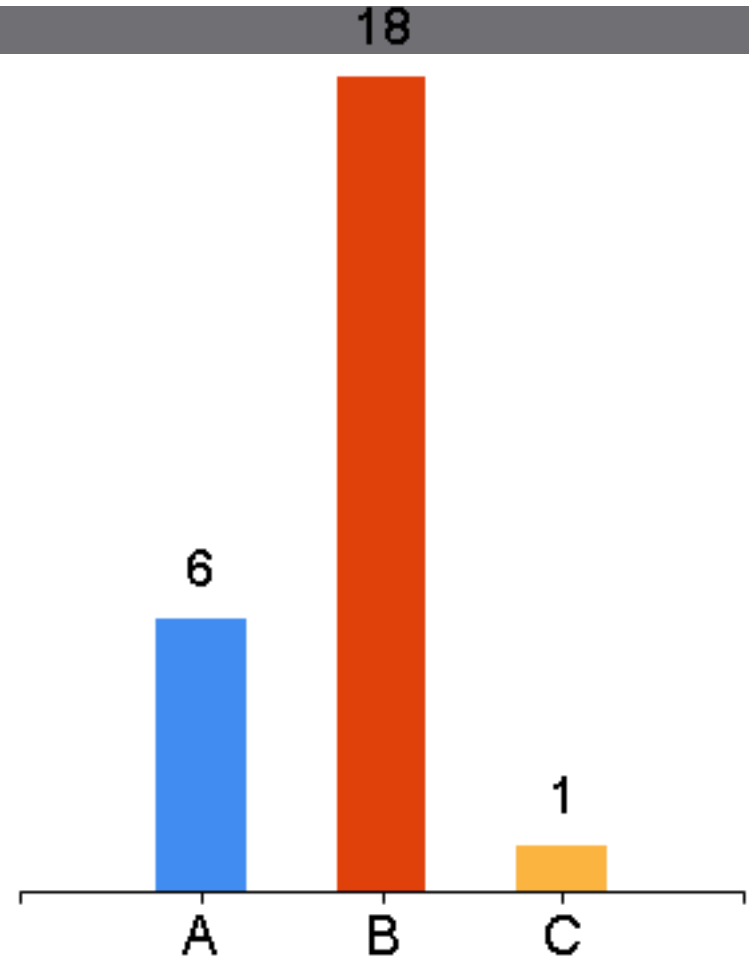
## CAS : 8

Vous avez identifié un anti-D (anti-RH1), vous concluez : présence d'anti-D (anti-RH1) passif suite à l'injection de gammaglobulines

A. OUI

B. NON

C. Ne sait pas



Votes:100

Not Voted:75

## CAS : 8

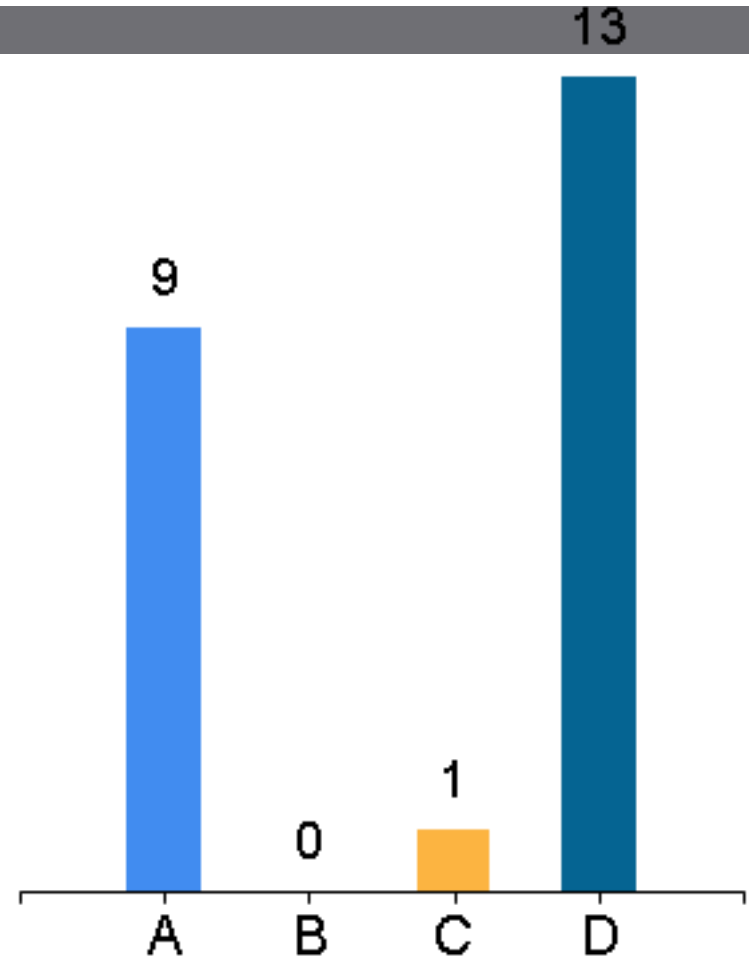
Quel examen complémentaire est nécessaire pour confirmer qu'il s'agit d'un anti-D passif,

A. Dosage pondéral

B. Kleihauer

C. Titrage

D. Microtitrage



Votes:100

Not Voted:77



## Réponses - CAS : 8

<u>Question 1-</u>	B – Non
<u>Question 2-</u>	A – OUI
<u>Question 3-</u>	B – NON
<u>Question 4-</u>	D - Microtitrage

Toute RAI positive doit être complétée par une identification avec un panel d'hématies tests complémentaires afin de pouvoir identifier clairement un anti-D. Tout anticorps identifié chez une femme enceinte doit être dosé. Pour un anti-D, seul le microtitrage permet de conclure sur la nature passive ou immune de l'anti-D.

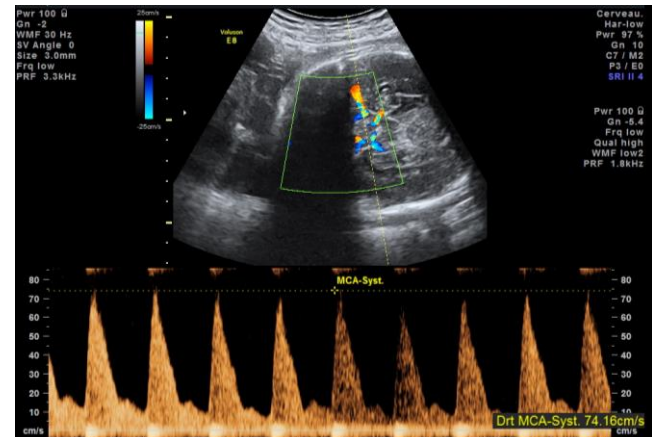
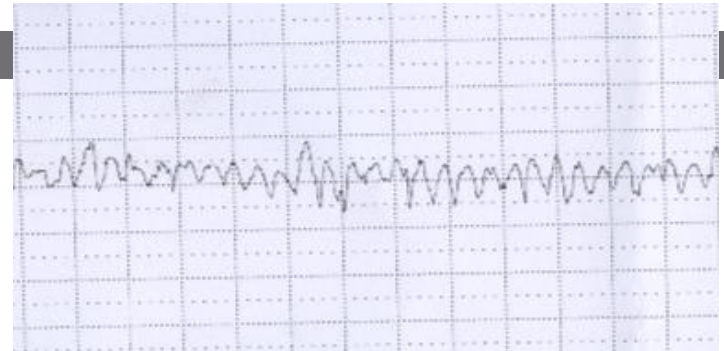
Ce schéma doit être respecté même si la patiente a déjà reçu du Rhophylac®

## CAS : 9

- Mme I. RH1 négatif, 3<sup>ème</sup> geste  
ATCD: Une grossesse 14 ans auparavant, et une fausse couche
- Nouvelle grossesse gémellaire bichoriale biamniotique
  - 7 SA: Métrorragies ⇒ RAI puis injection Rhophylac<sup>®</sup> 200  
⇒ RAI négatives
  - 11 SA: Métrorragies  
⇒ RAI + injection N<sup>o</sup> 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  
Prélèvement pour génotypage RHD foetal sur sang maternel  
⇒ foetus *RHD* positif
  - 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 »

# CAS : 9

- **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:2,9g/dl** et bili:100µmoles/l
  - ⇒ **Transfusion néonatale + exsanguino transfusion**
  - J2 → Hb:7,9g/dl et bili:120 µmoles/l
  - ⇒ **exsanguino-transfusion**



## CAS : 9

- 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

### **RÔLE DU BIOLOGISTE EST ESSENTIEL**

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

### **INTÉRÊT DU MICROTITRAGE**

# CONCLUSION

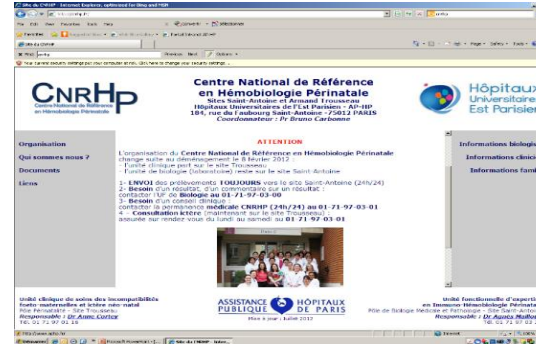
- Génotypage foetal non invasif : outil essentiel pour la prise en charge des patientes enceintes non allo-immunisées, permettant d'éviter des injections d'IgRh inutiles et de faciliter la prise en charge.
- La généralisation du génotypage *RHD* foetal chez la femme RH1 négatif sera favorisé par son inscription à la nomenclature

# REMERCIEMENTS

Dr Yves BROSSARD  
UF biologie CNRHP  
Dr A. MAILLOUX  
Dr C. TOLY-NDOUR  
Nelly Da-Silva  
Olivier OUDIN  
Priscilla SAULET  
Martine OGER

UF clinique CNRHP  
Dr A. CORTEY  
Dr F. PERNOT  
Pauline THOMAS  
Dr S. FRISZER  
Pr J.M. JOUANNIC

Pôle biologie médicale et pathologie :  
Dr M. VAUBOURDOLLE



Pôle de périnatalité : Pr D. MITANCHEZ