

SFTS

2021

XXX^e CONGRÈS

MARSEILLE

24-26 novembre 2021

PALAIS DU PHARO

Utilisation du génotypage *RHE* et *RHc* fœtal non invasif dans le suivi des femmes enceintes allo-immunisées anti-RH3 et anti-RH4 au le Centre National d'Hémobiologie Périnatale

Nelly DA SILVA

UF de biologie du CNRHP (responsable Dr Mailloux)

Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale

DMU BioGeM

AP-HP Sorbonne Université

ASSISTANCE
PUBLIQUE



HÔPITAUX
DE PARIS



Centre National de Référence
en Hémobiologie Périnatale

SFTS
SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE
TRANSFUSION SANGUINE 2021

XXX^e CONGRÈS
MARSEILLE
24-26 novembre 2021
PALAIS DU PHARO

Déclaration de conflits d'intérêts

☒ Je n'ai pas de conflit d'intérêt

ASSISTANCE
PUBLIQUE



HÔPITAUX
DE PARIS



Centre National de Référence
en Hémobiologie Périnatale

Epidémiologie de l'allo-immunisation des femmes enceintes au CNRHP

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

Anti-RH1, anti-KEL1, anti-RH4 et anti-RH3 peuvent conduire à un risque d'anémie fœtale sévère en fonction du taux d'anticorps et du terme de grossesse

Développement du génotypage fœtal non invasif pour ces 4 anticorps et en particulier pour les anti-RH4 et anti-RH3

→ intégration dans la prise en charge des femmes enceintes allo-immunisées

→ légitimer une surveillance lourde aux patientes porteuses d'un fœtus positif

Génotypage *RHc* foetal non invasif : -méthode au CNRHP-

mis en place 2016

Accréditation selon le norme CE ISO 15189 en 2019

I-Test basé sur

1-PCR allèle *RHc* spécifique en temps réel (TaqMan)

⇒ mise en évidence d'ADN foetal *RHc* Finning *et al*, *Transfusion*, 2007

2-PCR d'un DNA traceur (*Maïs*) en temps réel (TaqMan)

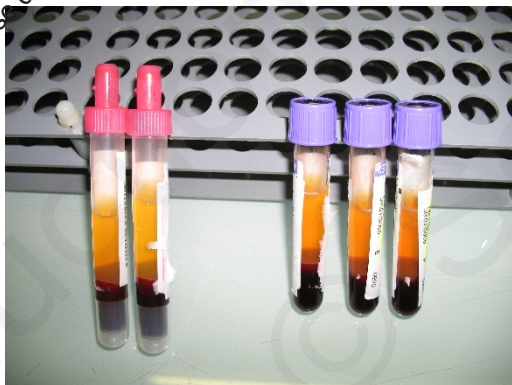
⇒ validation de l'étape d'extraction

II-Pour prévenir le risque d'erreur, tous les examens négatifs sont conclus sur 2 extractions et amplifications indépendantes et vérifiés sur un 2^{ème} échantillon prélevé plus tard au cours de la grossesse

Le génotypage foetal RHc non invasif -technique au CNRHP-

1 Prélèvement de sang total

- collecté sur EDTA
- patiente enceinte d'au moins 13SA
(tolérance à 12SA)
- reçu et congelé dans les 72h
(tolérance 5 jours)

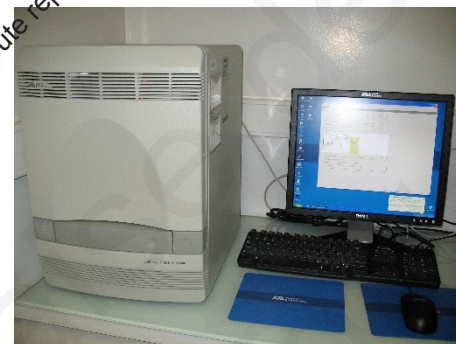


2 Extraction d'ADN manuelle

Kit QIAamp MinElute® Virus Vaccum Kit
(QIAGEN)



3 Amplification par PCR en temps réel de l'ADN traceur et du RHc en triplicate ABI7300



Grossesse avec allo-immunisation anti-RH4 Schéma de prise en charge

RAI positive au premier trimestre

Identification = Anti-RH4

Génotypage *RHc* fœtal sur sang maternel à partir de 13 SA

Titrage **ET Dosage**

Si fœtus *RHc* négatif sur 2 prélèvements

Si fœtus *RHc* positif

**Surveillance levée
RAI toutes les 6 semaines**

**Anti-RH4 < 500 UCHP/ml
Titration < 4**

Anti-RH4 > 500 UCHP/ml

- Surveillance échographique standard
- Dosage + titrage anti-RH4 tous les mois ou tous 15 jours

- Surveillance hebdomadaire dès 18 SA écho + velocimétrie doppler
- Dosage + titrage anti-RH4 tous les 15 jours à partir de 18 SA

Le génotypage fœtal RHc non invasif : bilan sur 5 ans-

471 femmes enceintes allo-immunisées anti-RH4

Ages gestationnels

39% entre 12-18 SA

Titres et dosages d'anticorps anti-RH4

6,53% aucune donnée

6,31% ≥ 500 UCHP/ml

	RHc
Fœtus - confirmé	90
Fœtus indéterminé	6
Fœtus - probable	10
Fœtus +	365

→ grossesse compatible (19%)

→ Patiente RH:4 (erreur de prescription)

Surveillance anténatale spécifique
en fonction du titre et du dosage
d'anticorps

23 patientes > 500 UCHP/ml et fœtus positif

sensibilité=100%

spécificité=91%

valeur prédictive positive=95,3%

Valeur prédictive négative=100%

Génotypage *RHE* foetal non invasif : -méthode au CNRHP-

mis en place 2016

Accréditation selon le norme CE ISO 15189 en 2019

I-Test basé sur

1-PCR allèle *RHE* spécifique en temps réel (TaqMan)

⇒ mise en évidence d'ADN foetal *RHE* Finning *et al*, *Transfusion*, 2007

2-PCR d'un DNA traceur (*Mais*) en temps réel (TaqMan)

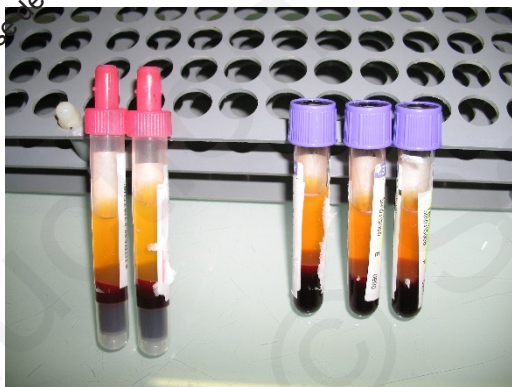
⇒ validation de l'étape d'extraction

II-Pour prévenir le risque d'erreur, tous les examens négatifs sont conclus sur 2 extractions et amplifications indépendantes et vérifiés sur un 2^{ème} échantillon prélevé plus tard au cours de la grossesse

Le génotypage foetal *RHE* non invasif -technique au CNRHP-

1 Prélèvement de sang total

- collecté sur EDTA
- patiente enceinte d'au moins 13SA
(tolérance à 12SA)
- reçu et congelé dans les 72h
(tolérance 5 jours)

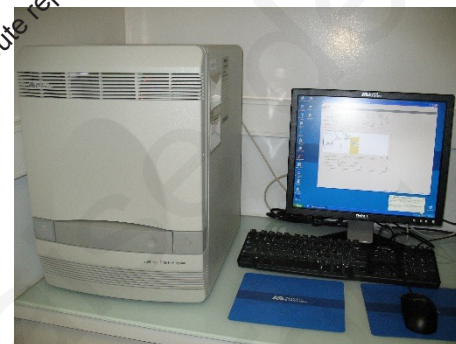


2 Extraction d'ADN manuelle

Kit QIAamp MinElute® Virus Vaccum Kit
(QIAGEN)



3 Amplification par PCR en temps réel de l'ADN traceur et du *RHE* en triplicate ABI7300



Grossesse avec allo-immunisation anti-RH3

Schema de prise en charge

RAI positive au premier trimestre

Identification = Anti-RH3

Génotypage *RHE* fœtal sur sang maternel à partir de 13 SA

Titrage *ET* Dosage

Si fœtus *RHE* négatif sur 2 prélèvements

Si fœtus *RHE* positif

**Surveillance levée
RAI toutes les 6 semaines**

**Anti-RH3 < 700 UCHP/ml
Titration < 8**

Anti-RH3 > 700 UCHP/ml

- Surveillance échographique standard
- Dosage + titrage anti-RH3 tous les mois

- Surveillance hebdomadaire écho + vélocimétrie doppler au 3^{ème} trimestre
- Dosage + titrage anti-RH3 tous les 15 jours

Le génotypage fœtal *RHE* non invasif : - bilan sur 5 ans -

333 femmes enceintes allo-immunisées anti-*RHE*

Âges gestationnels

39% entre 12-18 SA

Titres et dosage d'anticorps anti-RH3

10,5 % aucune donnée

7,6 % ≥ 700 UCHP/ml

	<i>RHE</i>
Fœtus - confirmé	129
Fœtus - probable	43
Fœtus +	159

→ grossesse compatible (39 %)

Surveillance anténatale spécifique
en fonction du titre et dosage
d'anticorps

14 patientes >700 UCHP/ml et fœtus positif

sensibilité=100%
spécificité=100%
valeur prédictive positive=100%
Valeur prédictive négative=100%

Conclusion et perspective

I- Le CNRHP dispose de tests non invasif avec une VPN de 100% permettant de diagnostiquer les incompatibilités fœto-maternelles RH1, KEL1, RH4 et RH3 afin de guider le suivi anténatal chez les femmes immunisées

→ entre 2016 et 2020, 219 patientes allo-immunisées anti-RH4 ou anti-RH3 ne présentaient aucun risque d'incompatibilité fœto-maternelles et n'ont pas eu de surveillance anténatale spécifique

II- Entre 2016 et 2020, 804 patientes ont été diagnostiquées pour un risque d'incompatibilité fœto-maternelle anti-RH4 ou anti-RH3. Au vu de l'activité, l'extraction automatisée a été développée

SFTS

2021

XXX^e CONGRÈS
MARSEILLE
24-26 novembre 2021
PALAIS DU PHARO

Remerciements

**UF de biologie et d'expertise
CNRHP Site St-Antoine**

Responsable Dr Agnès MAILLOUX

Olivier OUDIN

Priscilla SAULET

Manuella MORDIER

Dr Stéphanie HUGUET-
JACQUOT

Dr Cécile TOLY-NDOUR

Dr Hélène DELABY

**UF obstétrique et unité
clinique CNRHP Site Trousseau**

**Responsable Pr Jean-Marie
JOUANNIC**

Fédération CNRHP

Responsable Pr Jean-Marie JOUANNIC

**Coordinateur adjoint Dr Michel
VAUBOURDOLLE**

**ASSISTANCE
PUBLIQUE**



**HÔPITAUX
DE PARIS**



Centre National de Référence
en Hémobiologie Périnatale