

l'anémie hémolytique

du nouveau-né

LabMed-CPLN

Neuchâtel, le 20 octobre 2008

**Dr Marie-José Stelling-Auderset
FAMH hématologie
cc Uni de Genève**



Anémie hémolytique du nouveau-né

☹ **Trois conditions doivent être réunies:**

- **présence d'un anticorps anti-érythrocytaire dans le plasma maternel**
- **passage de cet anticorps dans le sang fœtal par voie placentaire**
- **présence de l'antigène correspondant sur les hématies du fœtus**

Anémie hémolytique du nouveau-né

☹ L'immunisation maternelle peut être due par:

- transfusion
- grossesse (*passages transplacentaires d'hématies fœtales*)
- avortement spontané ou provoqué
- amniocentèse

Anémie hémolytique du nouveau-né

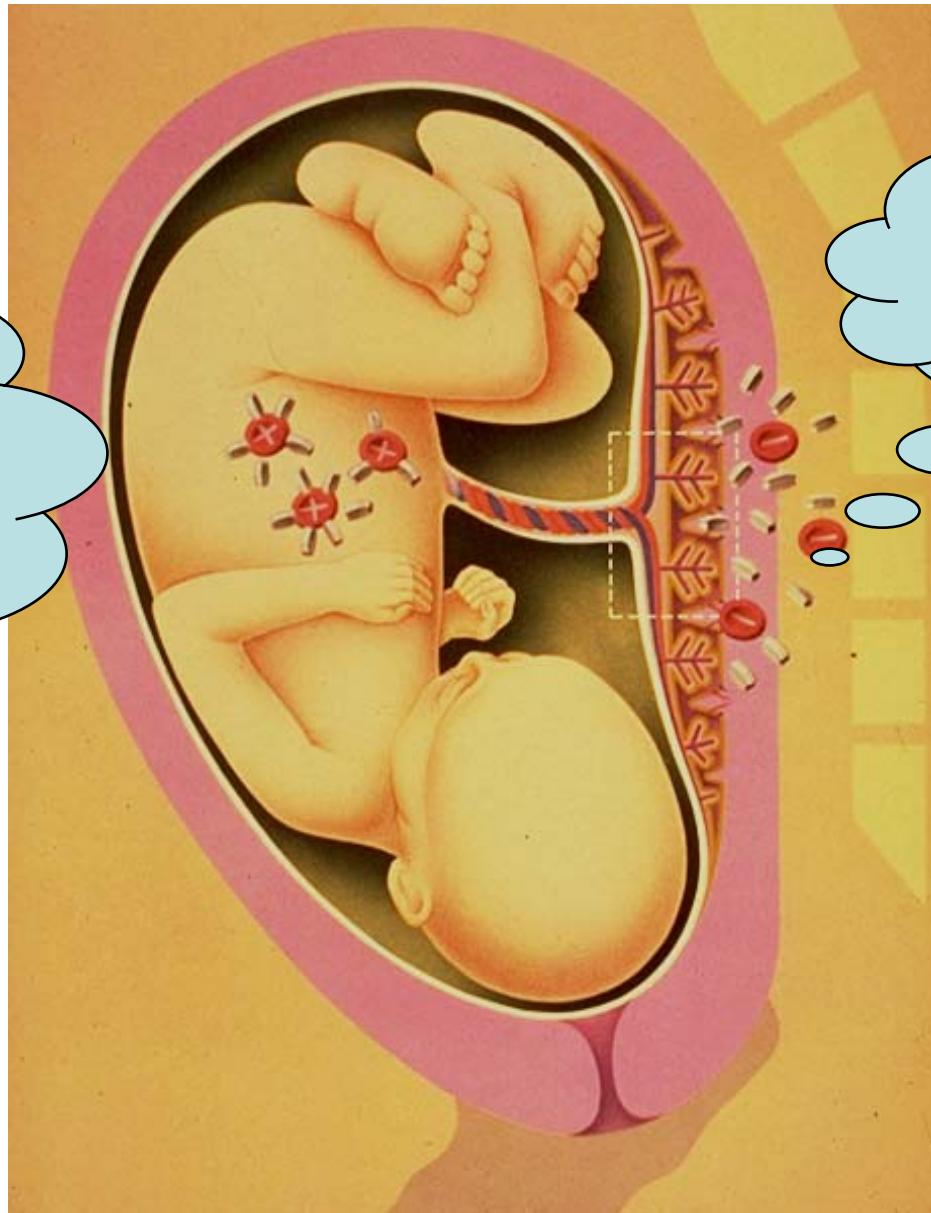
☺ **L 'immunisation maternelle la plus fréquente:**

- **envers l'ag D (mère Rh nég.)**
- **envers l'ag K (mère K-k+)**
- **envers l'ag c (mère Rh pos. DCCee)**

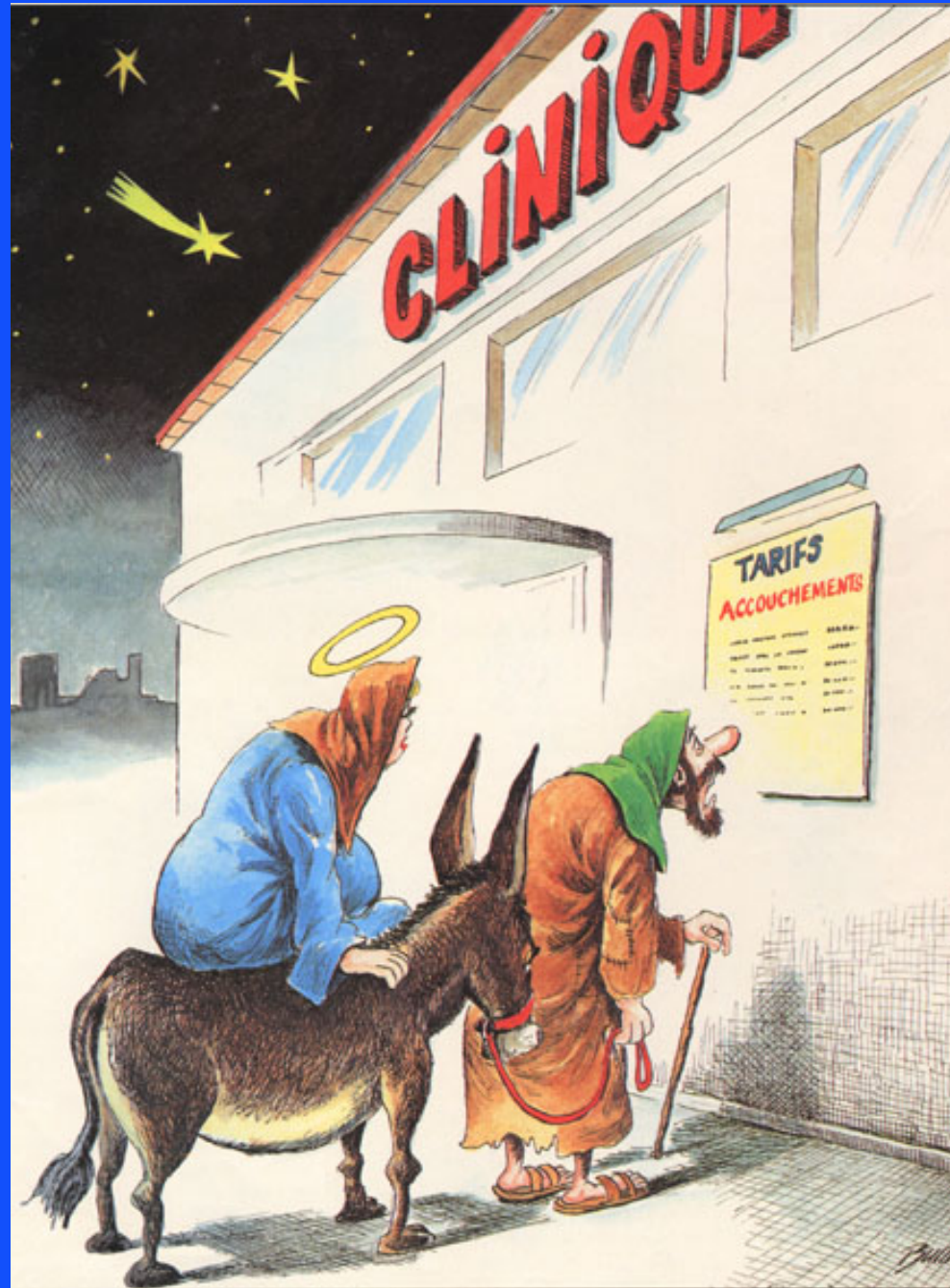
Anémie hémolytique du nouveau-né

- * La présence chez le fœtus d'un antigène hérité du père et absent chez la mère peut favoriser la formation d'anticorps correspondant dans l'organisme maternel.**
- * Ces anticorps diffusent par voie placentaire dans la circulation fœtale et peuvent se fixer sur les hématies du fœtus et provoquer une anémie sévère.**

Foetus Rh(D) pos.
anti-D sur ses
hématies



Mère Rh (D) nég
avec anti-D



surveillance biologique pendant la grossesse

- ➡ groupe ABO et typisation Rh
- ➡ génotypage en cas de D faible
- ➡ **détection et titration des anticorps irréguliers**



***Autres examens (héмато,
chimique, clinique)***

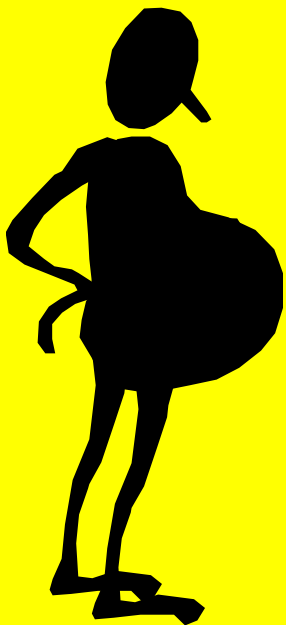
possibilités thérapeutiques pendant la grossesse



Accouchement prématuré



Transfusion in utero



Rappel: RAI positif chez parturiente

- ☛ congeler les échantillons plasmatiques pendant la grossesse
- ☛ titrer (*de préf. en tubes*) en parallèle toujours avec l'échantillon précédent.
- ☛ utiliser même technique, même hématies-test dans le même labo avec dosage pondéral pour anti-RH1



TITRE D'UN ANTICORPS

Sérum						
Dilution	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
+						
Suspension érythrocytaire (antigène spécifique)						
↓						
Incubation						
↓						
Lecture	POS	POS	POS	POS	NEG	NEG

Titre : 8

anti-D, immun ou passif???

- Technique permettant de distinguer le caractère **immun** ou **passif** de l'anti-RH1 chez les femmes enceintes RH: -1 après injection systématique de 300 μ g d'IgG anti-RH1 (Rhophylac) à la 28ème semaine (en France)
- Comparaison de la titration habituelle avec celle utilisant un standard (étalon anti-RH1: conc. finale 28 ng/ mL)
- Formule spécifique pour convertir en fonction des résultats obtenus
- Si la concentration en anti-RH1 mesurée est inférieure ou égale à la conc. attendue, un anticorps passif est présent
- Si la concentration est largement supérieure, suspicion d'alloimmunisation

anti-D, immun ou passif???

Tableau 1
Exemples de calcul de la concentration en anti-RH1 dans plusieurs échantillons (vu dans [8])

Dilutions	1/4	1/8	1/16	A	×	B	=	C
<i>Étalon</i> (28 ng/mL)								
Concentration (ng/mL)	7	3,5	1,75	Inverse de la dernière dilution réactive de l'échantillon		Concentration de la dilution étalon avec la même intensité de réaction		Concentration en anti-RH1 de l'échantillon
Résultats	++++	+++	+					
<i>Échantillons</i>								
1	+	-	-	4	×	1,75	=	7 ng/mL
2	++++	++++	+++	16	×	3,5	=	56 ng/mL
3	++++	++++	++++	>16	×	7	=	>112 ng/mL
4	+++	+	-	8	×	1,75	=	14 ng/mL

Sérologie Transfusionnelle
Responsable Dr. Marie-José Stelling
24, Rue Micheli du Crest 1211 Genève 14
Tél. 022 372.72.79 Fax 022 372.72.90

LCST

H.U.G. - HOPITAL CANTONAL
Dr TASIAS
P.GOS CONS.URGENCES

Tél : 24412

Pneu : 3426

Votre réf.:

Demandeur : H.C.U. - G E N E V E P.GOS CONS.URGENCES

Demande No : 02 0061 06 2000 Sang veineux

Prélèvement du 02/06/2000 10h 30

A N A L Y S E**Valeur** Unités V.Réf/Seuil**Groupe Sanguin**

ABO Rhesus A+

Système Rhesus

C	+
D	+
E	-
c	+
e	+

Recherche d'anticorps

RAI +

Anticorps anti-erythro.

Anti-E	PRES
enzymatique	+
enzymatique titre	2
Coombs Indirect	+
Coombs Indirect titre	2

Titre selon technique en tube.

Titre selon technique en tube

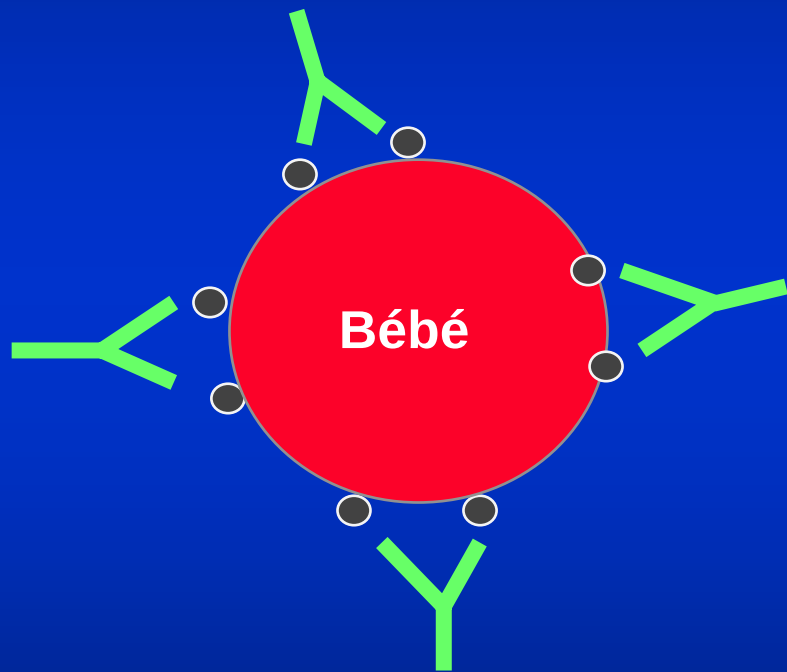
Message laboratoire:

Pour tout renseignement complémentaire, vous pouvez appeler la responsable
du LCST au téléphone 372 72 86.

Veuillez vous référer au Répertoire des Prestations d'Analyses concernant les données sur le matériel d'analyse, la méthode utilisée et la
sous-traitance. Ce rapport ne peut être reproduit sans autorisation du laboratoire. Ce rapport est le seul exemplaire qui reflète la mise à
jour des résultats disponibles au laboratoire à la date et l'heure indiquées sur le rapport.



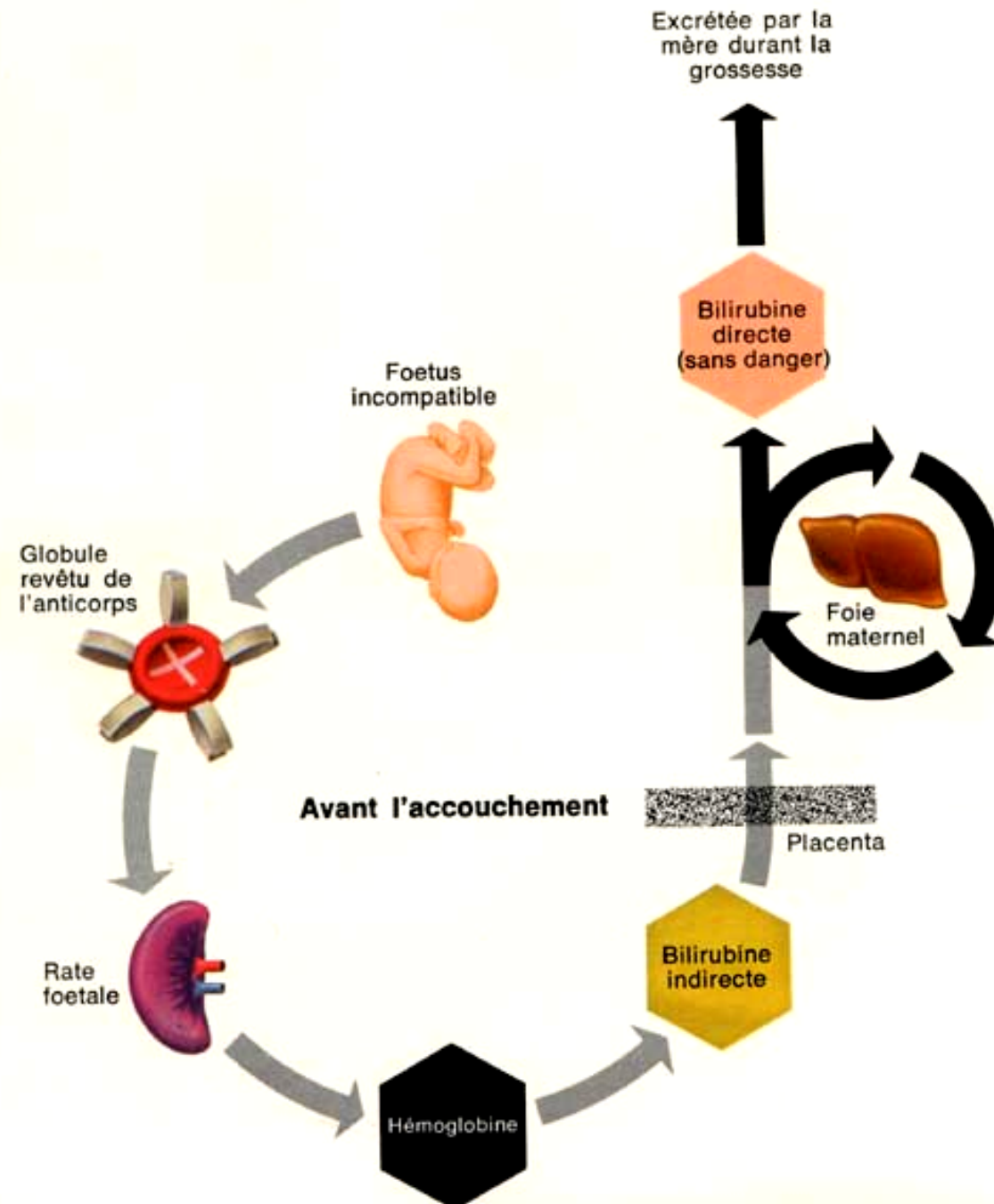
sensibilisation in vivo avec des alloanticorps

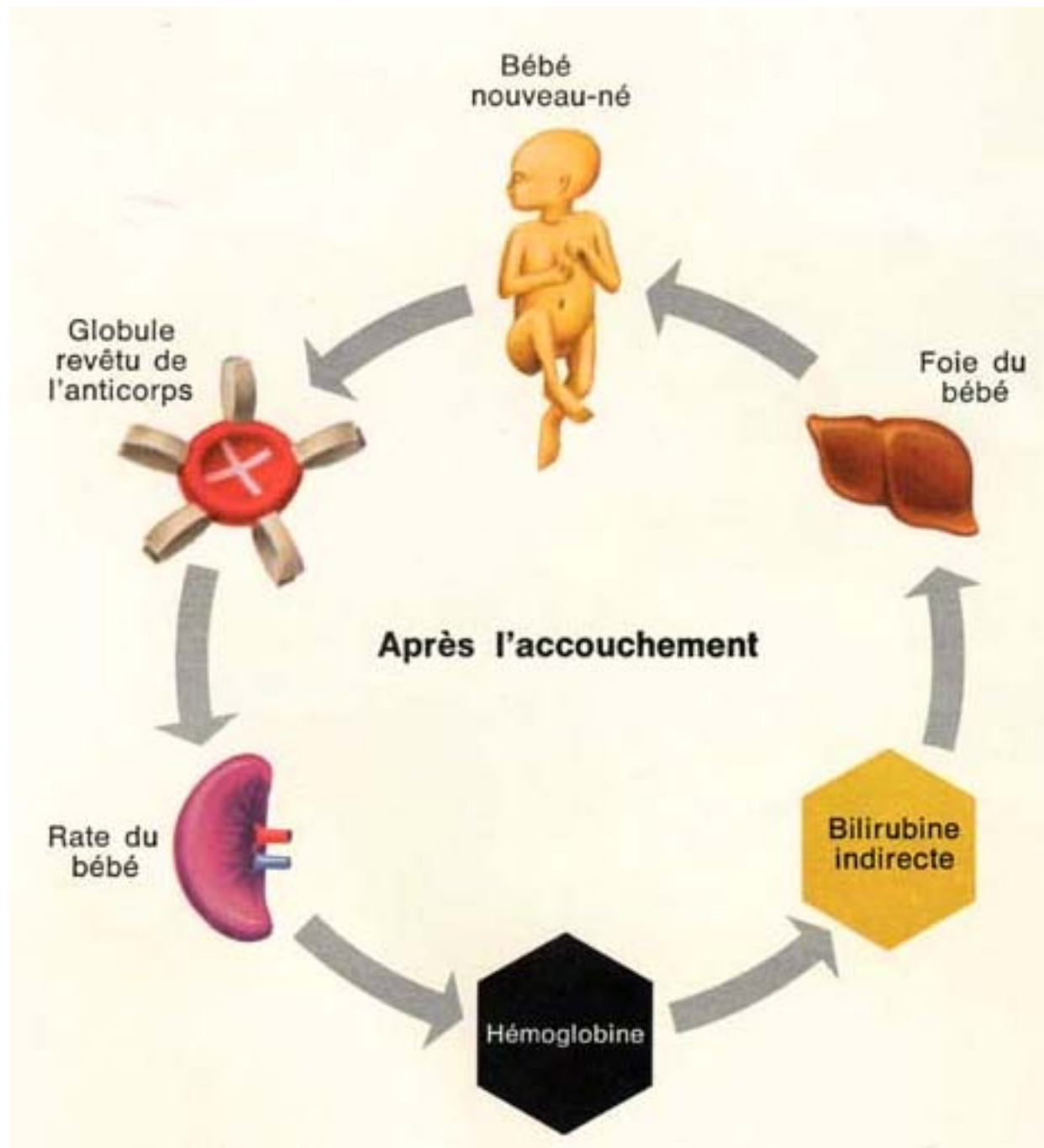


Anticorps maternels (IgG)

GR du fœtus ou du nouveau-né

DAT positif : AHN_x





Il existe 2 risques associés à l'hyperhémolyse:

- **L'anémie**
- **L'hyperbilirubinémie**

L'anémie concerne le fœtus et le nouveau-né

L'hyperbilirubinémie ne touche que le nouveau-né

ABO / RH



- Épreuve globulaire avec

**2 sérums-tests anti-A, anti-B (anti-AB)
de clones différents**

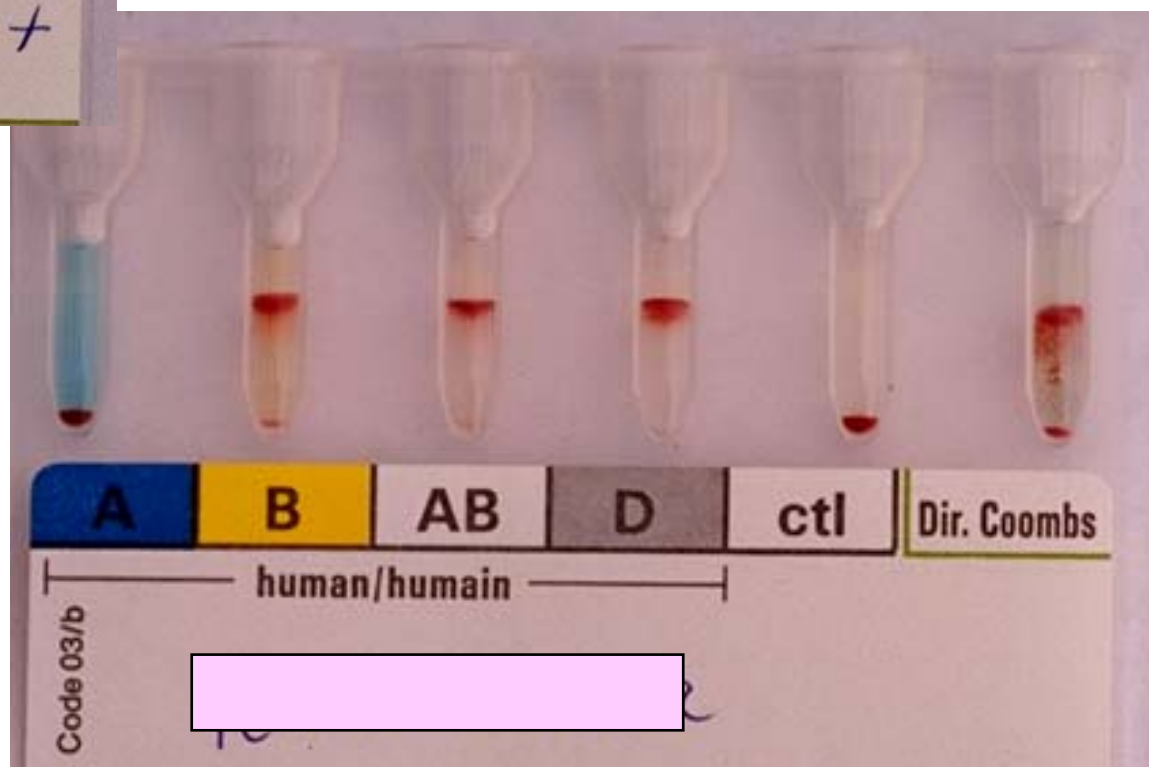
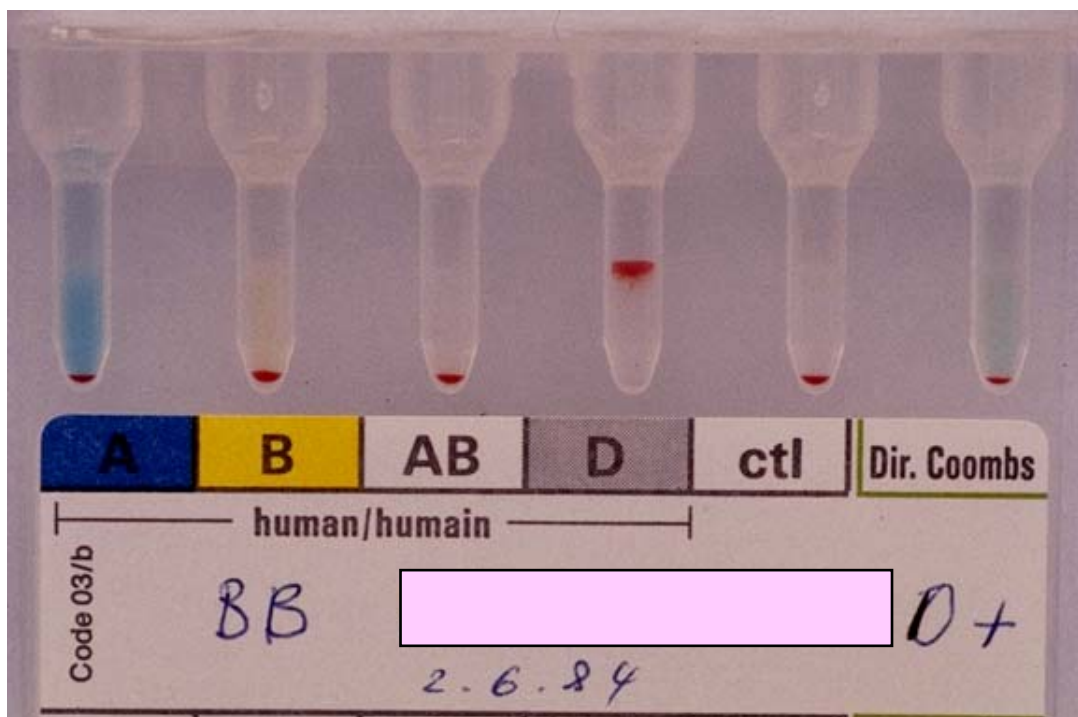
ou 2 techniques différentes (gel et tube)

- Typisation RH

- Coombs direct obligatoire avec éluat si +

Néonatalogie

- ❖ **Test de compatibilité**
*avec le **plasma** de la mère et les hématies du donneur (jusqu'à 3 mois)*
- ❖ **Test ultime au lit du bébé** *pas obligatoire jusqu'à 3 mois*
CE doit être de < 5j, CMV nég. et irradié
(tous les CE et les PFC sont déleucocytés depuis 1.07.99)



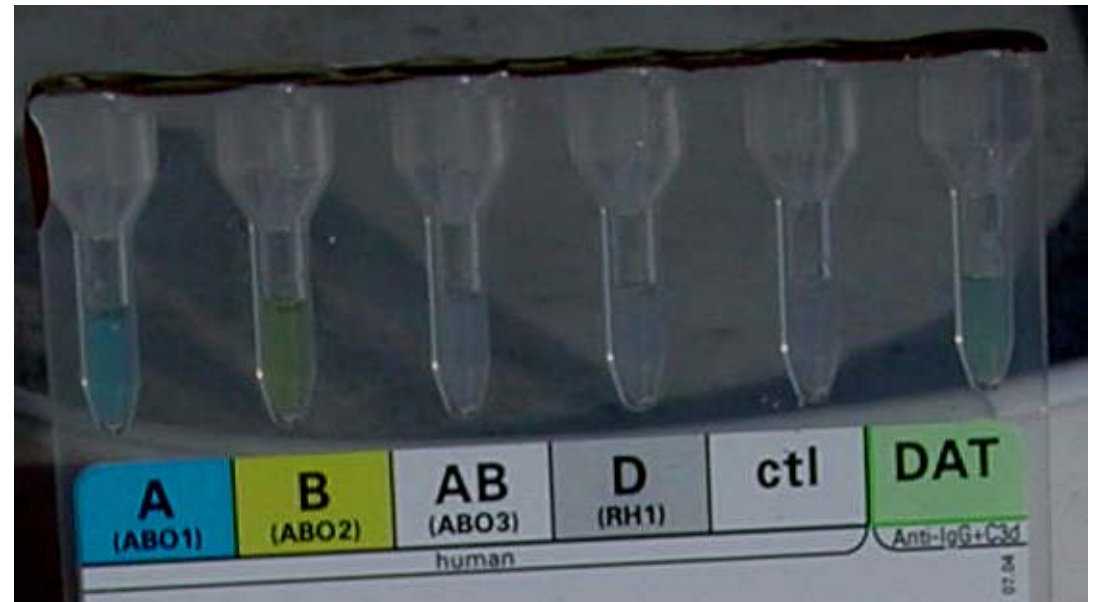
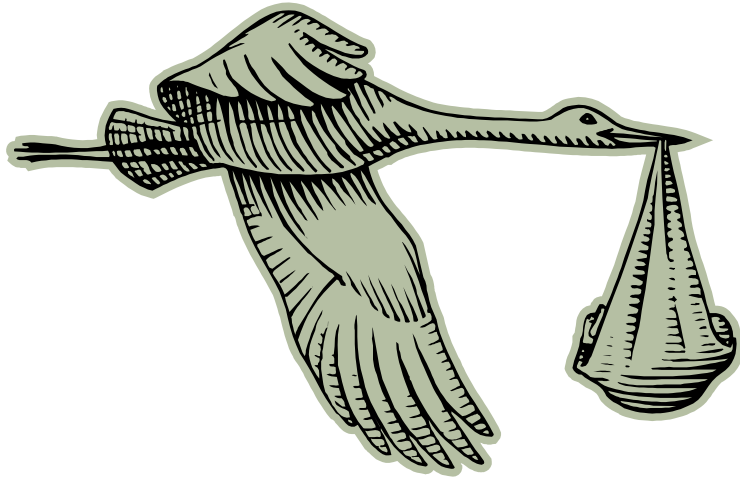
Bébé K
 Contrôle RL
 anti-D
 Bébé K
 Bébé K
 anti-B
 Bébé K
 anti-AB
 Bébé K.
 cbs direct

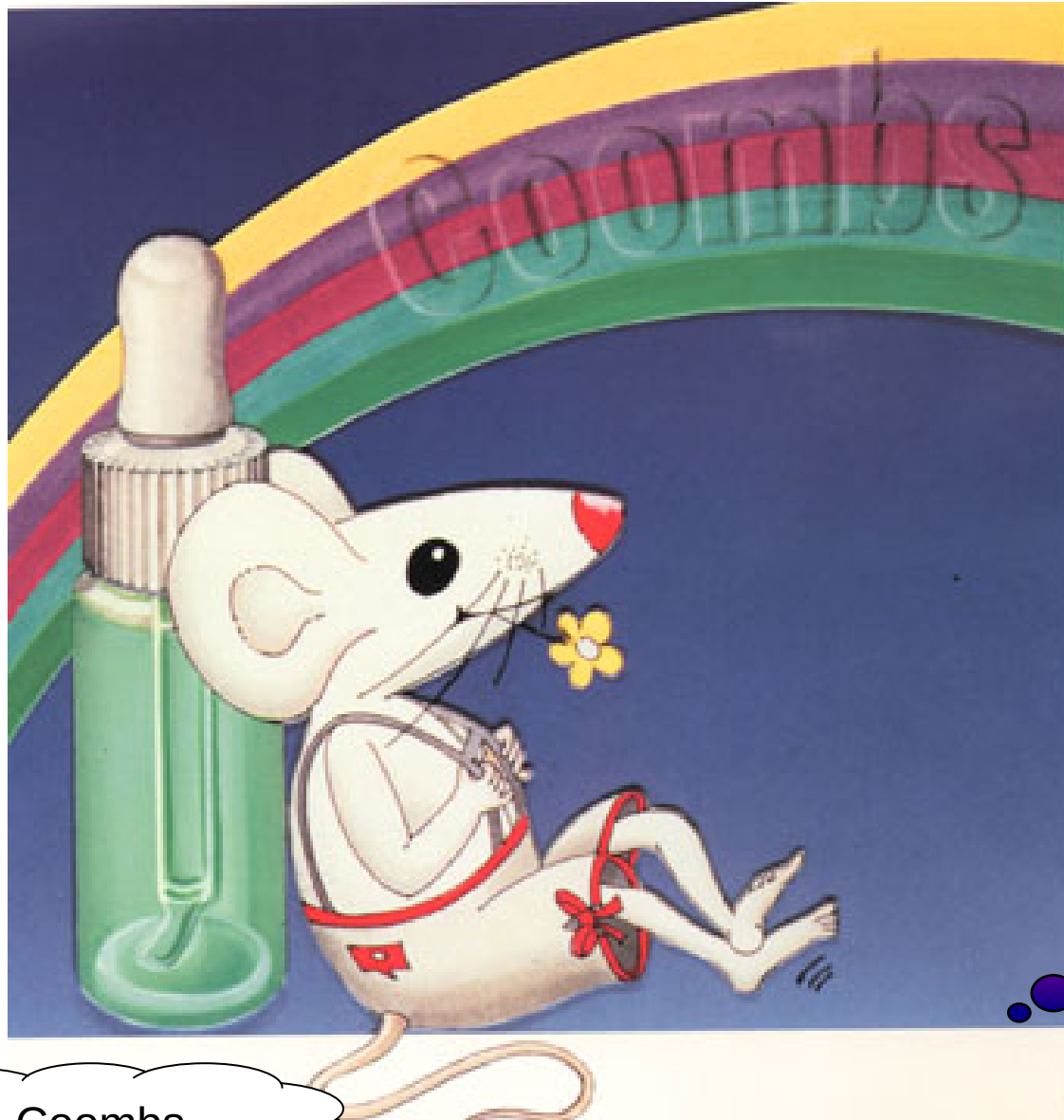
Code 03/b

A	B	AB	D	ctl	Dir. Coombs

human/humain
 BB K.
 chr.
 2.6.94
 A+
 Chs = nég.

(Results for A, B, AB, D, and control tests are visible as red lines in the microtubes)





Réactif de Coombs

Anti-IgG
Anti-C3d

CQI : test de Coombs direct

- * Utiliser *un témoin de Coombs direct faiblement positif* systématiquement lors d'une série d'analyses
- * si technique en tube: validé tout résultat négatif, par un « Coombs Contrôle »



détermination des sous-classes IgG

- ☛ Seules les IgG1 et IgG3 sont importantes
- ☛ **IgG1** aurait une plus grande corrélation envers la sévérité de l'AHNx

INCOMPATIBILITE FOETO-MATERNELLE ABO

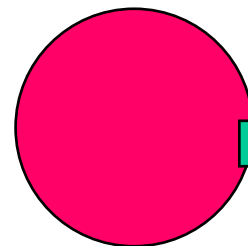
mère de groupe O

avec dans son plasma: anti-A (IgM)

anti-A (IgG)

anti-B (IgM)

Foetus de groupe A



ag A-anti-A maternel

placenta

♥ détection chez la mère des anti-A immuns (IgG)

♥ Coombs direct chez le nouveau-né et éluat

- 1) Neutraliser les isoagglutinines naturelles anti-A et / ou anti-B (IgM) avec les substances de Witebsky A et B
- 2) Rechercher des anti-A ou anti-B immuns, par Coombs indirect avec des hématies spécifiques A1 ou B
- 3) L'agglutination confirmera la présence d'anti-A ou / et anti-B immuns

Génotypage du fœtus

- Pour les cas sévères, on préconise (au lieu de la détermination du phénotype érythrocytaire du fœtus), le génotypage (RH, KEL, FY, JK) à partir du sang maternel.
- Passage des hématies fœtales dans la circulation maternelle:

4 %

1er trimestre

12 %

2ème trimestre

45 %

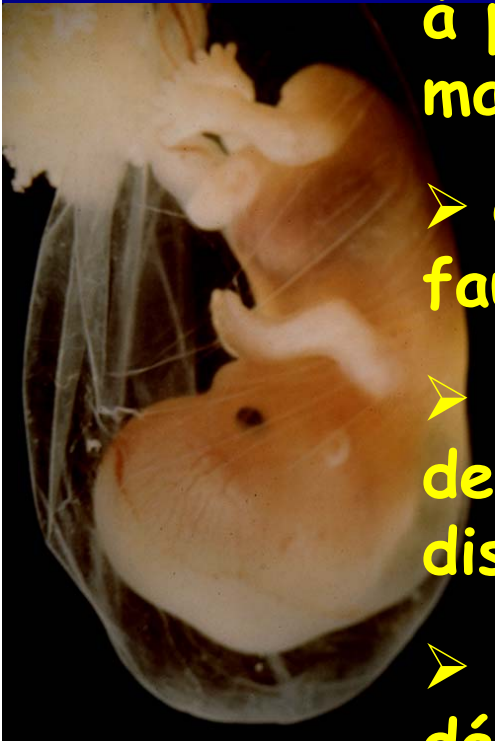
3ème trimestre

Evaluation of prenatal RHD typing strategies on cell-free fetal DNA from maternal plasma

by M. Grootkerk-Tax and coll. Amsterdam, NL

nouvelle méthode pour déterminer le génotype RH (D) à partir de l'ADN fœtal prélevé dans le plasma maternel:

- diminue le risque envers le fœtus et une éventuelle fausse couche
- apparition dès 5ème semaine et surtout les 8 dernières semaines de grossesse, puis l'ADN fœtal disparaît rapidement après l'accouchement
- mais, cet article montre aussi les limitations de détection de l'ADN fœtal libre



Choix du sang pour une exsanguino-transfusion

- Le sang doit être exempt de l'antigène responsable de l'iso-immunisation foeto-maternelle
- Le groupe ABO doit être compatible avec le sérum de la mère

(test de compatibilité majeur:
sérum maternel + GR donneur)



Choix du sang pour une exsanguino-transfusion

Lors d'une incompatibilité Rh (anti-D)

Si le sang est compatible (ABO) avec celui de la mère, donnez du sang de même groupe ABO que le bébé avec *Rh négatif*

Si le sang est incompatible avec celui de la mère, donnez un concentré érythrocytaire O Rh nég. mélangé avec du plasma frais AB



Choix du sang pour une exsanguino-transfusion

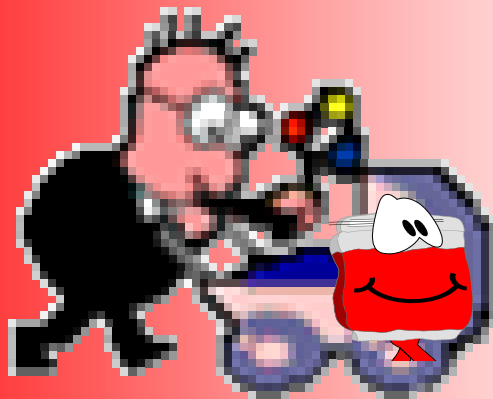
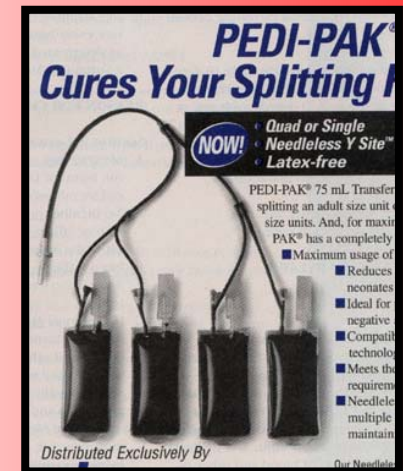
- **Lors d'une incompatibilité ABO**
Donnez toujours un concentré érythrocytaire de groupe O,
Rh du bébé avec du plasma frais congelé AB
- **Lors d'une incompatibilité autre**
Le sang est choisi en fonction du panel

en néonatalogie et pédiatrie

- ➔ CE plusieurs unités du même donneur pour transfusions répétées
- ➔ Ht 70-85%

Avantages:

- diminuer le nb de donneurs
- contrôle du volume injecté
- éliminer le max. de sol. de conservation



PEDI-PAK®
Cures Your Splitting

NOW!

- Quad or Single
- Needleless Y Site™
- Latex-free

PEDI-PAK® 75 mL Transfer
 splitting an adult size unit
 size units. And, for maxim
 PAK® has a completely

- Maximum usage of
- Reduces
- Ideal for
- Compatil
- Meets the
- Needlele

Distributed Exclusively By

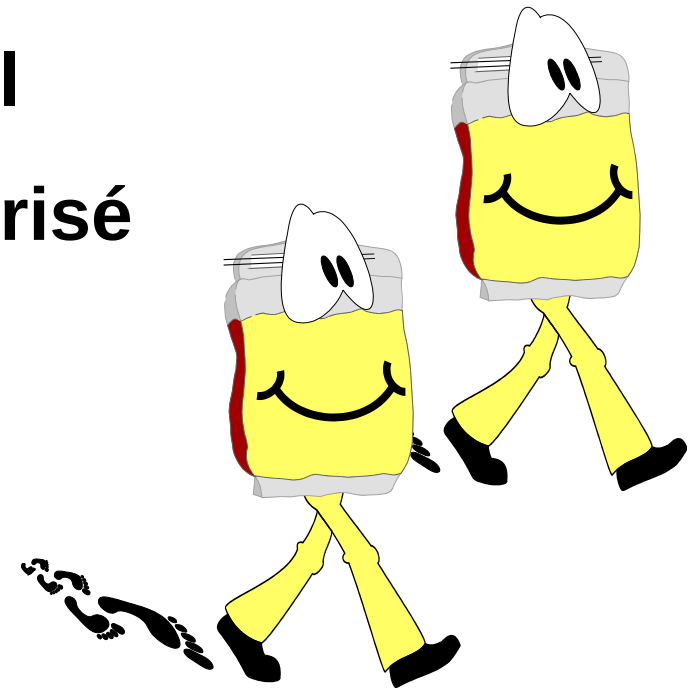
Our Needlele



pédiatrie

50 ml

sécurisé



CE phénotypé

Rhésus complet

- nx-né
- ‡ de la naissance à la période procréatrice



irradiation des CE

de 25 à 45 Gy afin de prévenir la survenue d'une maladie du greffon contre l'hôte (GVH) post-transfusionnelle

CE CMV nég.



Disponibilité limitée, car la séroprévalence est élevée (50-80%) chez les donneurs de sang

Le CMV étant intraleucocytaire (monocytes) la seule déleucocytation est déjà suffisante

INDICATIONS

- **♀ enceinte CMV nég**
- **nx-né prématuré, lorsque la mère est séronégative**

SYSTEME RH



Incompatibilité foeto-maternelle envers le système Rh

Mère: groupe O Rh positif

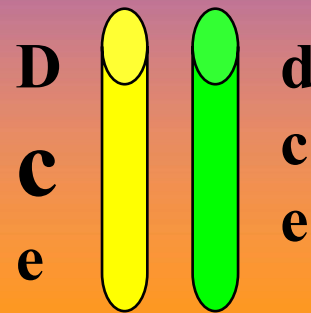
- détection et spécificité d'un ac. irrégulier **anti-c**
- titre en Coombs indirect (en tubes) **128**
- phénotype complet Rh: **D+ C+ c- E- e+ (DCCee)**

Père: groupe O Rh négatif

- phénotype complet Rh: **D- C- c+ E- e+ (ddccee)**

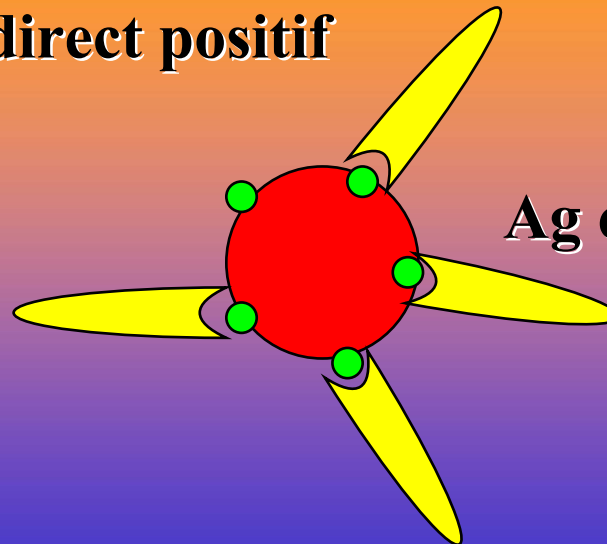
Prévision pour ce 4ème enfant:

Groupe O



A la naissance: le bébé est de groupe O Rh positif avec un test de Coombs direct positif

Éluat des hématies du nouveau-né confirme la présence de l'anti-c

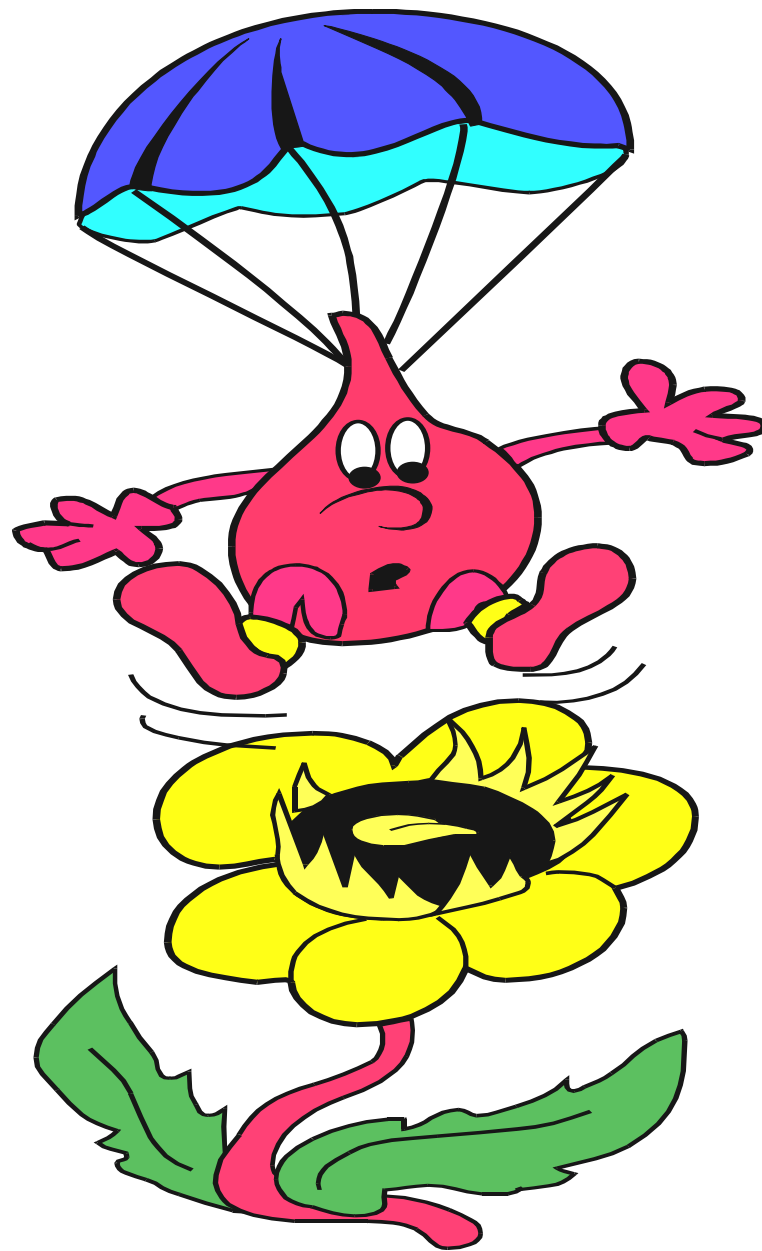


Ag c ~ anti-c maternel

Exsanguino-transfusion de ce bébé

Groupe O Rh positif avec c négatif

- ☛ **Le test de compatibilité est effectué avec le sang de la mère**
(sérum ou plasma maternel + **GR donneurs**)
- ☛ **Le sang transfusé est toujours exempt de l'ag**
(ici ag c) **ayant causé l'anémie hém. du nouveau-né**
- ☛ **Le sang à transfuser doit être CMV nég., de < 5j et irradié**



anti-K

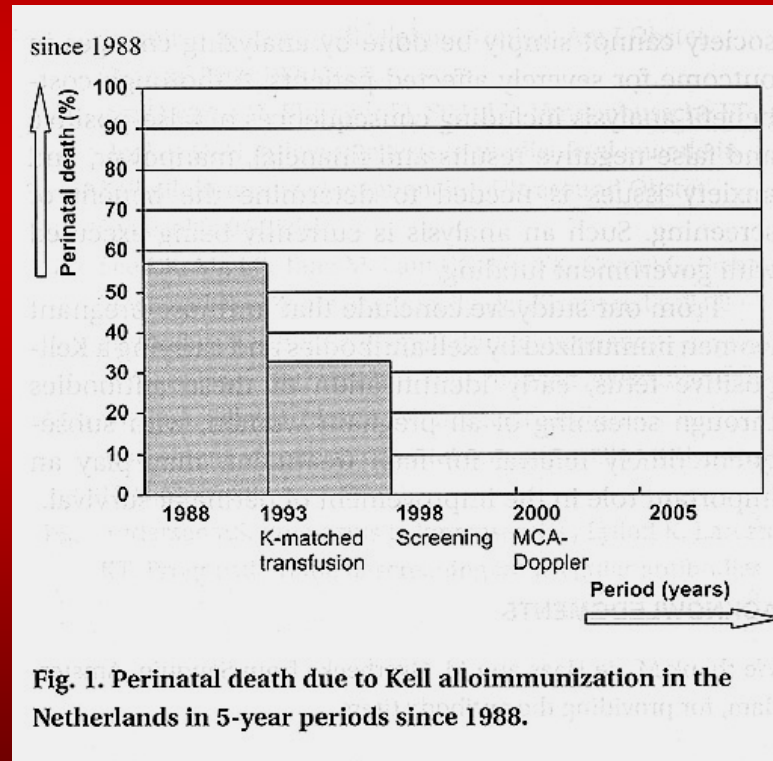
- l'AHNx liée aux anticorps KEL résulte d'une inhibition de l'érythropoïèse plutôt que d'une hémolyse des hématies
 - les antigènes KEL sont exprimés très tôt dans la vie fœtale sur les progéniteurs érythroïdes et la destruction aurait lieu à ce stade déjà, ainsi le titre de l'anti-KEL1 notamment maternel n'est pas un bon indicateur de l'anémie fœtale!
- Il serait souhaitable d'effectuer le génotype fœtal *KEL*

impact sur détection obligatoire des anticorps anti-K pendant la grossesse

- depuis 1998, RAI lors du 1er trimestre chez toutes les femmes enceintes
- démontrer l'impact sur la survie du fœtus lors de l'alloimmunisation maternelle envers l'antigène K
- car, les anticorps anti-K conduisent à la suppression des précurseurs érythroïdes chez le fœtus
- *Intervenir donc très tôt par des transfusions intrautérines*

impact sur détection obligatoire des anticorps anti-K pendant la grossesse

La survie passe de 61 % à 100 % après l'introduction
du dépistage



Transfusion, vol 48, 5, 2008, Dick Oepkes and coll, Leiden, NL

Incompatibilité foeto-maternelle envers le système Kell

Mère: groupe O Rh positif

5ème mois de grossesse, 1er enfant

- détection et spécificité de 2 ac. irréguliers:
 - anti-Le^a (IgM)
 - anti-K (IgG)
- titre en Coombs indirect (en tubes) *anti-K 128*
- phénotype Lewis, Le(a-b-), phénotype Kell, K-k+
- *Seul anti-K passe la barrière placentaire*

Père: groupe O Rh positif

Phénotype Kell, K-k+

Origine de l'immunisation de la mère

-  Mme X a reçu dans son enfance, de nombreuses unités de sang suite à un accident.
- ! Si le futur bébé est de phénotype K-k⁺, il n'y a aucun problème.

incompatibilité envers le système KELL

Mère: 7ème mois de grossesse, 1er enfant

Groupe O Rh (D) +

RAI: anti-k (anti-Cellano)

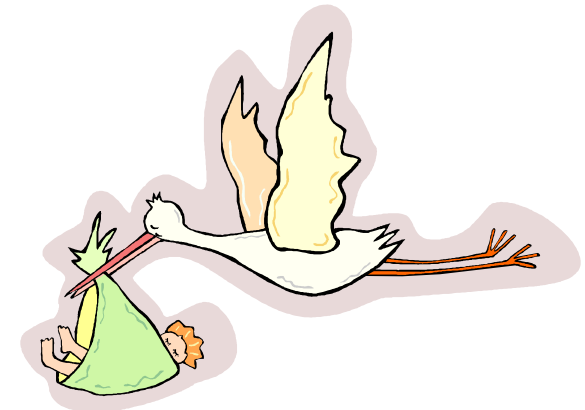
Phénotype: K+k- (KEL: 1,-2)

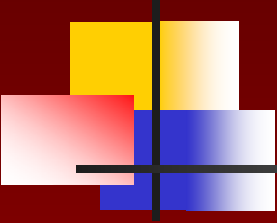
Génotype: KK (*KEL* 1/1) fréquence 0.2 %

Père: groupe AB Rh(D)+

K-k+ ou KEL: -1,2 fréquence 91 %

***KEL* 2/2**





Phénotypes

anti-K	anti-k	phénotype	génotype	fréquence
+	0	K+k-	KK	0.2 %
+	+	K+k+	Kk	8.8 %
0	+	K-k+	kk	91 %

incompatibilité envers le système KEL

Nouveau-né: Groupe A Rh (D) +

Phénotype: K+k+ (KEL: 1,2)

Génotype: Kk (KEL 1/2)

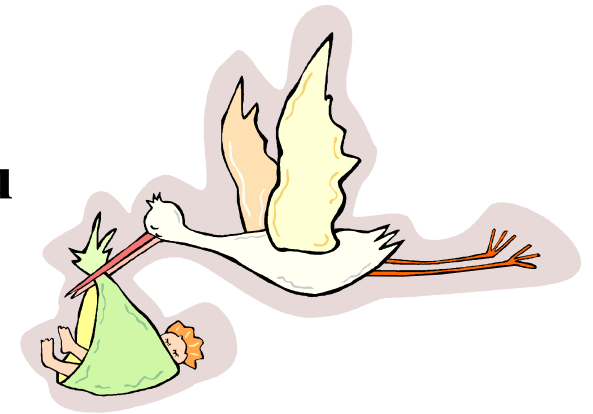
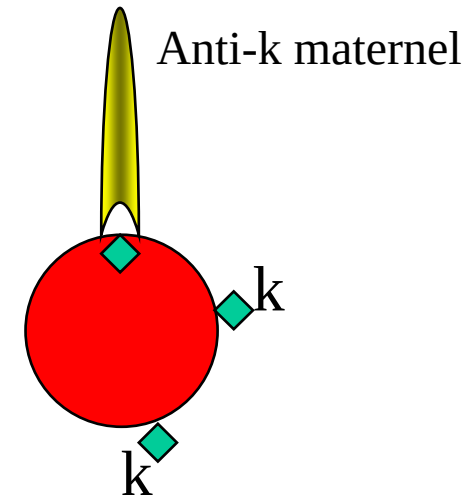
test de Coombs direct: +++

Choix du sang pour l'exsanguino-transfusion

exempt de l'antigène k donc K+k- (KEL: 1,-2)

test de compatibilité avec plasma maternel d'où

CE groupe 0 Rh(D) +



Groupe sanguin et Coombs direct des nouveau-nés en 1999 (HCUG)

Nombre total	1679	
Coombs direct négatif	1495	
Coombs direct faible ou +	145	8.6 %
Coombs direct ++ ou plus	39	2 %

Fetal hemolytic anemia and intrauterine death caused by anti-M immunization

Agneta Wikman, Ann Edner, Gunilla Gryfelt, Baldvin Jonsson, and Jan-Inge Henter

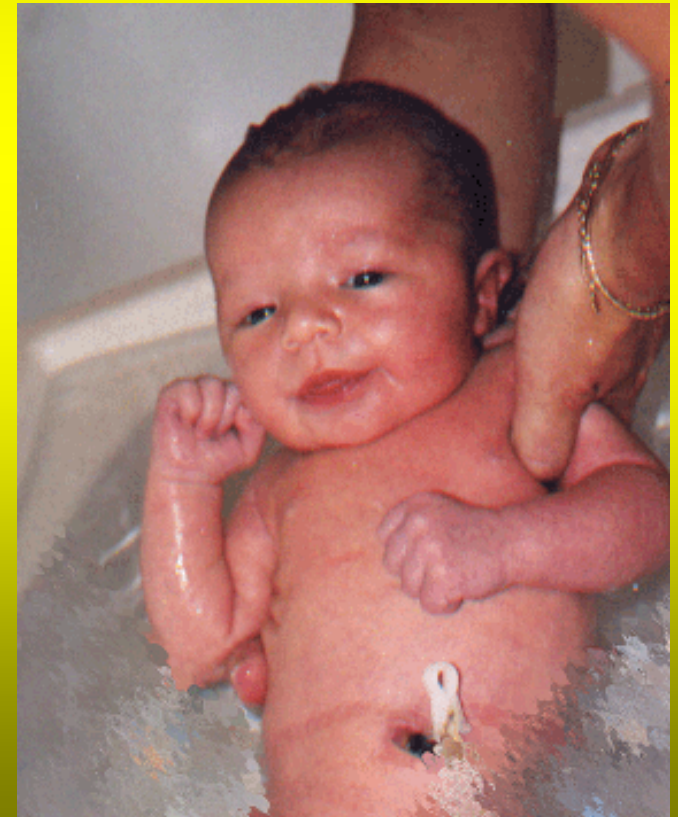


Stockholm, Sweden

Transfusion, vol 47, May 2007

Fetal hemolytic anemia and intrauterine death caused by anti-M immunization

Agneta Wikman, Ann Edner, Gunilla Gryfelt, Baldvin Jonsson, and Jan-Inge Henter



3 grossesses de la même maman suédoise avec problème aussi chez la grand-mère et la mère

- fœtus mort in utero d'hydrops fetalis après 20 semaines de gestation cause à l'époque inexpliquée (Parvovirus B19 chez la mère, anti-M?)
- accouchement provoqué après 28 semaines, bébé avec hydrops fetalis 1,4 kg, Hct 6 %, Hb 16 g/L, beaucoup d'exanguino-transfusions, l'enfant a 5 ans et est OK
- traité par transfusion in utero avant la délivrance à 28 semaines; 1,2 kg, **Hct 24 %**, Hb 78 g/L, mais réticulocytes chutent, d'où transfusions à la naissance, bronchopneumonie, autiste

TABLE 1. Blood types in the affected family

	ABO	Rh	MNS	Kell	Duffy, Kidd	Other
Mother	A	C+c+D+E-e+C ^w -	M-N+S+s+	K-k+Kp(a-b+)	Fy(a+b+), Jk(a+b-)	DAT-negative
Father	O	C+c-D+E-e+	M+N-	K-	Fy(a+b+), Jk(a+b+)	ND*
Child girl (Case 2)	A	D+	M+N+	ND	ND	DAT-negative
Child boy (Case 3)	A	D+	M+N+	ND	ND	DAT-negative

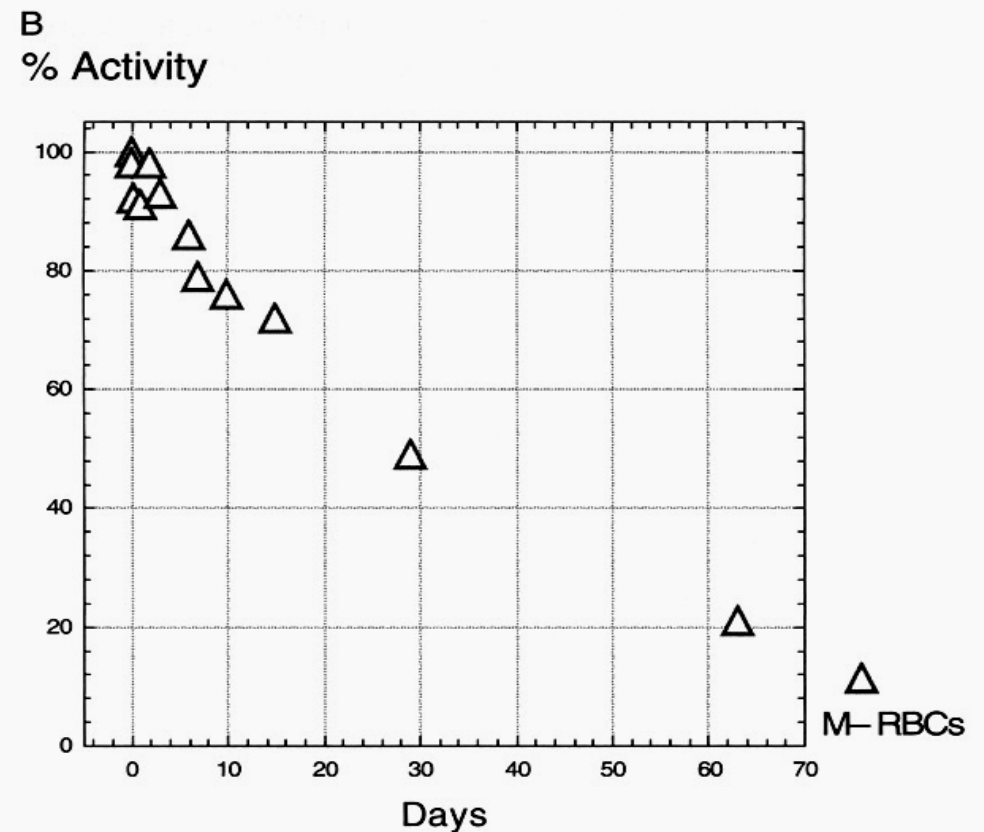
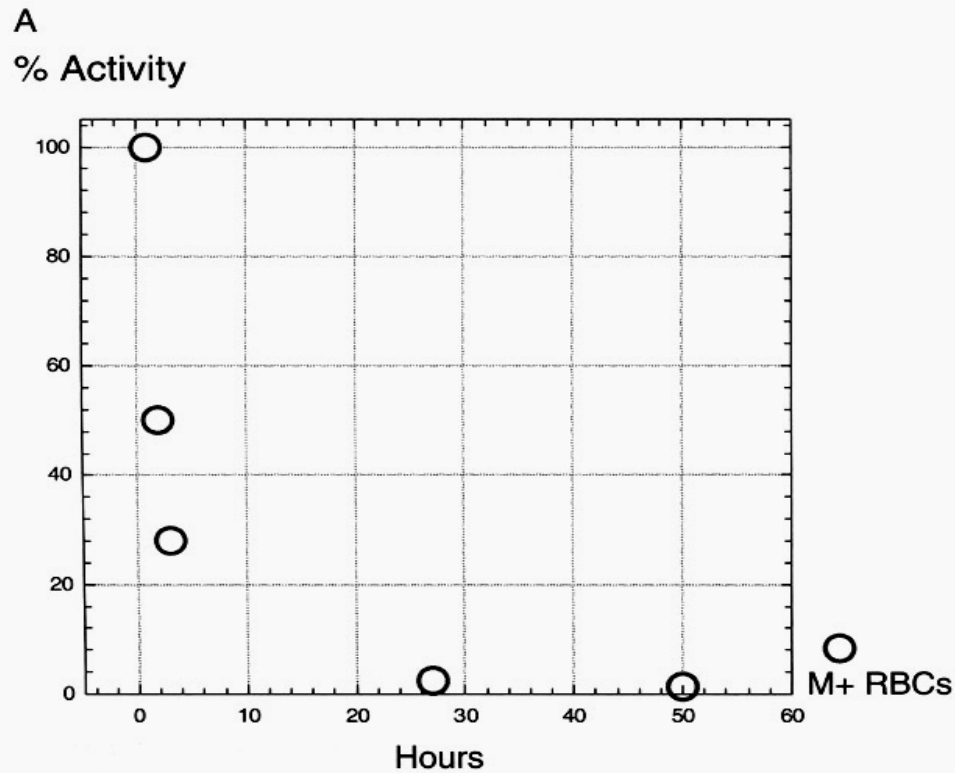
* ND = not done.

Pendant les 3 grossesses:

- ✓ DAT négatif chez mère et bébés
- ✓ anti-M en IAT avec homo (4+) et 1+ avec hétéro
- ✓ titre à bas titre (1 et 2) en IAT en gel et tube
- ✓ surtout IgM, faible IgG après traitement DTT
- ✓ IgM confirmé par Bristol, IgG?



on confirma le diagnostic de l'AHNx due à l'anti-M en infusant à la mère des hématies marquées au Cr^{51} M+ et M-



Anti-M est trouvé dans 10 % chez parturientes, mais est rarement associé à une AHNx

Dans la littérature, plusieurs cas cités d'AHNx et de morts in utero dus à un anti-M (1959, 1965, 1998, 1993 et 1996) mais le plus souvent avec des titres très élevés, avec toujours problème assez tôt dans la grossesse

Ici, anti-M agressif pouvant causer la mort in utero lors d'une grossesse et des AHNx chez les 2 autres, malgré un titre bas

Action de cet anti-M difficile à confirmer la proportion de l'IgG, mais action comme un anti-K destruction des hématies chez le fœtus très tôt in utero

Prophylaxie IgG anti-RH1

- **Chez toutes patientes D-, Dfaible de type non1,2,3 et Dpartiel:**
 - ➔ **Après accouchement d'un enfant Rh positif (avant 72h)**
 - ➔ **Après fausse couche**
 - ➔ **Après avortement**
 - ➔ **Après amniocentèse**
 - ➔ **Après transfusion accidentelle de sang Rh(D) pos.**
 - ➔ **Après hémorragie anti-partum**

prévention de l'immunisation anti-D

- Injection passive de RhIG à la mère pendant la grossesse et après la délivrance de bébé D+ (depuis 1960)
- Plusieurs mécanismes proposés: clearance des hématies D+, blocage des épitopes, inhibition des lymphocytes B
- Article présent: analyses de 17 cytokines, modulatrices de la réponse immune (notamment sur la réponse primaire)

prévention de l'immunisation anti-D

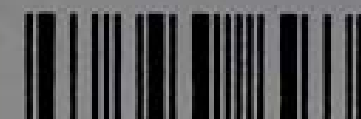
- 2 cytokines sont particulièrement impliquées: **TGF- β** (Transforming Growth factor- β) et **PGE2** (prostaglandine E2), modulatrices négatives de la réponse immune
- Action ciblée de TGF- β sur lymphocyte T helper, alors PGE2 agirait sur la production d'anticorps
- L'augmentation de ces 2 cytokines suite à l'injection de RHIG est liée à la quantité de cellules fœtales trouvées dans la circulation de la mère (3% dans le 1er trimestre, 12% dans le second et 45% dans le 3ème)

prévention de l'immunisation anti-D

- Après l'injection d'immunoglobulines anti-D, on demande toujours une RAI pour déterminer **l'anti-D résiduels**, en fait, pour confirmer le traitement (pendant la grossesse et 72h après accouchement!)
- Dans le rapport, on doit bien spécifier que l'anti-D provient vraisemblablement de la prophylaxie et non d'une immunisation.

no: [REDACTED]		[REDACTED]		NUNES		42704	
Groupe: AB	Date	Tube	Journal	Service			
Résus: NEG	L1.03.92	Yerso	POLI.GYN.				
de naissance: 24.1.94	lu 72	Gyn. - Obst.					
.05.1961	7294	lu 54	OB PN.				
Sexe: F	25.1.94	Anti C ^w	(C ^w : NEG)				
Compatible avec				Transfusion K 3			
e	No	Groupe	Date	Réaction			

AB Rh -
NEGATIF



Coombs

Coombs

Coombs

Coombs

Enzyme

Enzyme

Code 41/b
000241 10.93



Paciente ♀

53

[illegible]



1

6

Code 50/b

Panel en popaine

S3

24.1.94

7

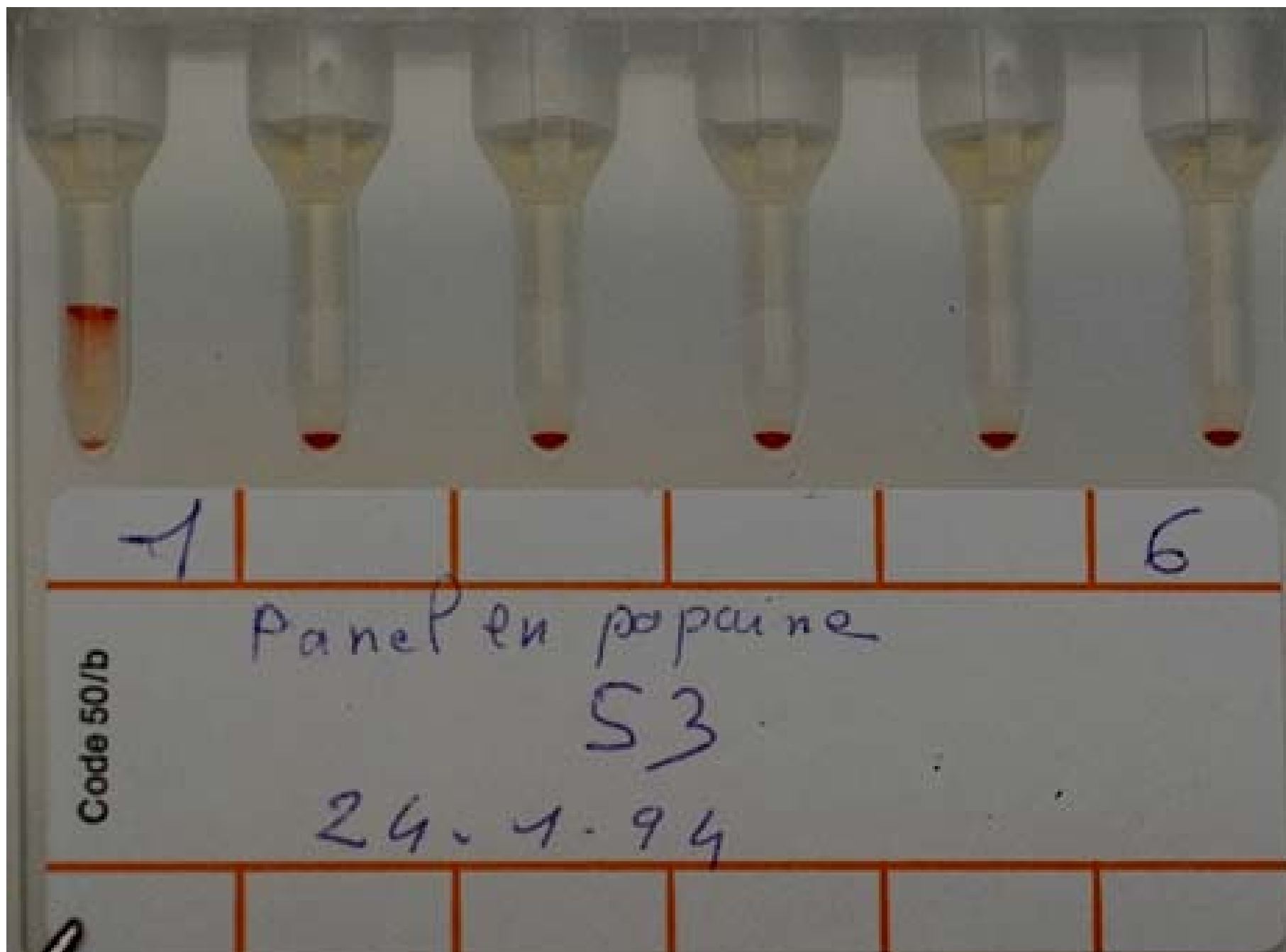
A7

Code 50/b

Panel en Popaine

S3

24.1.94





1 2 3

PANEL cu PAPAÎNĂ

Code 50/b

8.02.94

54







FIN