



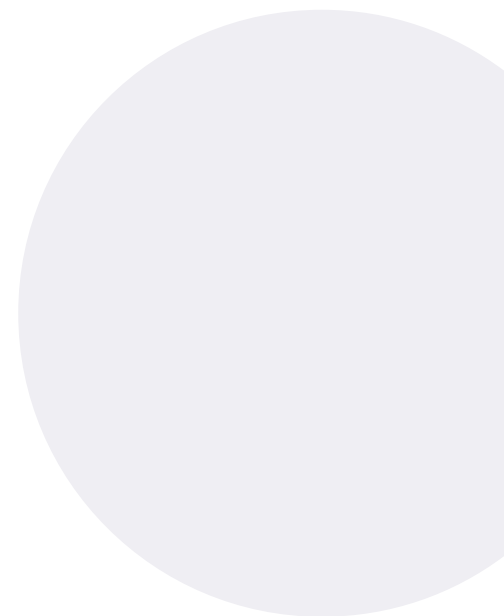
# LE TEST DE KLEIHAUER

## PRINCIPE ET INDICATIONS

# SOMMAIRE



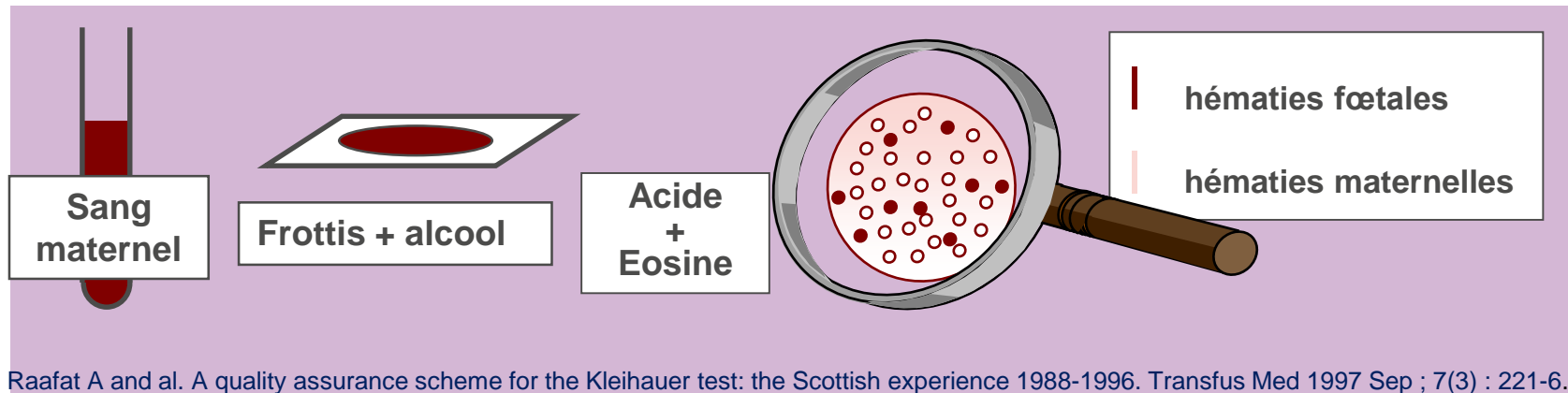
- 1) Principe
- 2) Indications
- 3) Limites
- 4) Cas cliniques



# PRINCIPE (1)

Réalisé chez les femmes enceintes, le test de Kleihauer permet de quantifier le nombre d'hématies fœtales circulant dans le sang maternel.

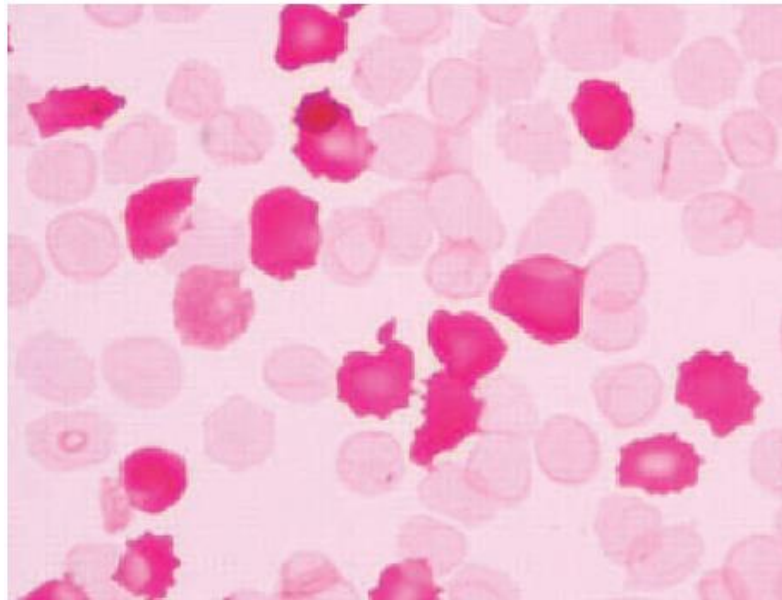
Ce test cytochimique sur frottis sanguin est basé sur la résistance de l'hémoglobine fœtale à une solution acide [1].



[1]: Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear. *Klin Wochenschr* 1957;35:637-8

## PRINCIPE (2)

L'examen microscopique permet après élution acide et coloration des lames le comptage des hématies fœtales restées intactes et colorées parmi les hématies maternelles dénaturées et fantomatiques [2].



[2]: Huissoud C, Divry V, Rudigoz RC. Fetomaternal hemorrhage : practitioner's point of view. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris). 2009 Jun;38(4):286-97

## PRINCIPE (3)


Le nombre d'hématies fœtales comptées pour 10 000 hématies adultes (HF/10000 HA) permet de déduire le volume de sang fœto-placentaire présent dans la circulation maternelle [3].

Un test de Kleihauer à  $X$  HF/10 000HA correspond à un passage d'environ  $X/2$  mL de sang fœto-placentaire dans la circulation maternelle.

[3]: Betke K, Kleihauer E, Lipps M. Comparative studies on spontaneous oxidation of hemoglobin in umbilical cord and adult blood. Z Kinderheilkd. 1956;77(5):549-53

# INDICATIONS (1)

## A] La plus connue

Participation à la prévention de l'allo-immunisation maternelle anti-RH1 (D) par injection d'immunoglobulines anti-RH1 (Rhopylac®) 

### ↪ Comment?

La quantification de l'hémorragie fœto-maternelle permet d'adapter la dose de Rhophylac® à injecter [4]

### ↪ Chez qui?

Ne concerne que les femmes Rhésus négatif (RH:-1)

[4]: Marpeau L. et CNGOF Prevention de l'allo-immunisation Rhésus-D maternelle: texte des recommandations J Gynecol Obstet Biol Reprod 2006;35: 1S131-1S135

# INDICATIONS (2)

## ↪ Quand? [4]

- ❖ Systématiquement: à l'accouchement de toute femme Rhésus négatif (RH:-1) dont le nouveau-né est Rhésus positif (RH:1).
- ❖ Et en toute situation prénatale à risque élevé d'hémorragie fœto-maternelle

### **Au premier trimestre** (*Risque modéré de passage d'hématies fœtales*)

- Toute fausse couche spontanée ou menace de FCS du 1<sup>er</sup> trimestre
- Toute interruption de grossesse (IVG ou IMG), quel que soit le terme et la méthode utilisée
- Grossesse molaire
- Grossesse extra-utérine (GEU)
- Métrorragies
- Choriocentèse (biopsie de villosités choriales), amniocentèse
- Réduction embryonnaire
- Traumatisme abdominal
- Cerclage cervical

*Circonstances pouvant induire des hémorragies fœto-maternelles au cours de la grossesse [4]*

### **Aux deuxième et troisième trimestres**

#### *Risque important de passage d'hématies fœtales :*

- Interruption médicale de grossesse
- Fausse couche spontanée tardive
- Mort fœtale in utero (MFIU)
- Version par manœuvres externes (VME)
- Traumatisme abdominal ou pelvien (quel que soit le terme de la grossesse)
- Intervention chirurgicale abdominale ou pelvienne (quel que soit le terme de la grossesse)
- Prélèvement ovulaire : amniocentèse, cordocentèse, placentocentèse

- ❖ Inutile avant 15SA

[4]: Marpeau L. et CNGOF Prévention de l'allo-immunisation Rhésus-D maternelle: texte des recommandations J Gynecol Obstet Biol Reprod 2006;35: 1S131-1S135

# INDICATIONS (3)

Tableau: adaptation de la dose d'immunoglobulines anti-D en fonction du volume d'hémorragie fœto-maternelle estimé par le test de Kleihauer [4]

KLEIHAUER (HF/10000 HA)	Dose de 100 µg*		Dose de 200 µg*		Dose de 300 µg		Voie d'administration
	Doses	µg	Doses	µg	Doses	µg	
0-4	1	100	1	200	1	300	IV directe
5-24	2	200	1	200	1	300	
25-44	3	300	2	400	1	300	
45-64	4	400	2	400	2	600	PERFUSION sur 4 heures Dilué dans 250 ml de NaCl à 9 pour mille
65-84	5	500	3	600	2	600	
85-104	6	600	3	600	2	600	
105-124	7	700	4	800	3	900	
125-144	8	800	4	800	3	900	
145-164	9	900	5	1000	3	900	
165-184	10	1000	5	1000	4	1200	
185-204	11	1100	6	1200	4	1200	
205-224	12	1200	6	1200	4	1200	
225-244	13	1300	7	1400	5	1500	
245-264	14	1400	7	1400	5	1500	
265-284	15	1500	8	1600	5	1500	
285-304	16	1600	8	1600	6	1800	

\* La dose la plus basse actuellement commercialisée en France est de 200 µg. Dans les cas où une dose de 100 µg serait suffisante, il est recommandé de ne pas fractionner les doses.

HF : hématies fœtales ; HA : hématies adultes

[4]: Marpeau L. et CNGOF Prévention de l'allo-immunisation Rhésus-D maternelle: texte des recommandations J Gynecol Obstet Biol Reprod 2006;35: 1S131-1S135



# INDICATIONS (4)

## ➔ Quel type d'échantillon?

- ❖ Prélèvement de sang maternel effectué au moins une heure après toute situation à risque élevé d'hémorragie fœto-maternelle.
- ❖ L'échantillon doit être prélevé sur anticoagulant (EDTA) et le test de Kleihauer doit être pratiqué rapidement (sang frais conservé à température ambiante).

# INDICATIONS (5)

## **B]** La plus urgente

Mise en évidence en contexte anténatal d'une hémorragie foëto-maternelle associée ou non à des signes cliniques de souffrance foëtale.

### ↪ Comment?

La quantification de l'hémorragie foëto-maternelle permet d'alerter le clinicien sur le risque d'anémie foëtale.

### ↪ Chez qui?

Peut concerner toutes les femmes enceintes, quelque soit leur Rhésus.

# INDICATIONS (6)

## ↪ Quand?

Devant tout signe évocateur d'une souffrance fœtale:

- Diminution des mouvements actifs fœtaux
- Anomalies du RCF (rythme cardiaque fœtal) ou échographiques
- RCIU (retard de croissance In Utero)
- ...

Et devant tout contexte à risque élevé d'hémorragie fœto-maternelle:

- Accident de la voie publique
- Chute ou coup sur le ventre
- ...

# LIMITES (1) [5]

↪ = l'inconvénient de son avantage

😊 Simple car nécessite peu de matériel (non automatisé)

☹ Non automatisé donc variabilité inter-opérateurs

Moyens de maîtrise:

❖ Oculaire quadrillé

❖ Comptage systématique des tests positifs par 2 techniciens



↪ Limite due à la qualité des échantillons

☹ Possibilité de résultats faux-positifs chez les patientes présentant une anomalie de l'hémoglobine (persistance d'hémoglobine fœtale)

☹ Possibilité de résultats faux-négatifs en cas d'incompatibilité fœto-maternelle (hématies fœtales détruites par la présence d'anticorps maternels)

[5]: Duckett JR, Constantine G. The Kleihauer technique: an accurate method of quantifying fetomaternal haemorrhage? Br J Obstet Gynaecol. 1997 Jul;104(7):845-6

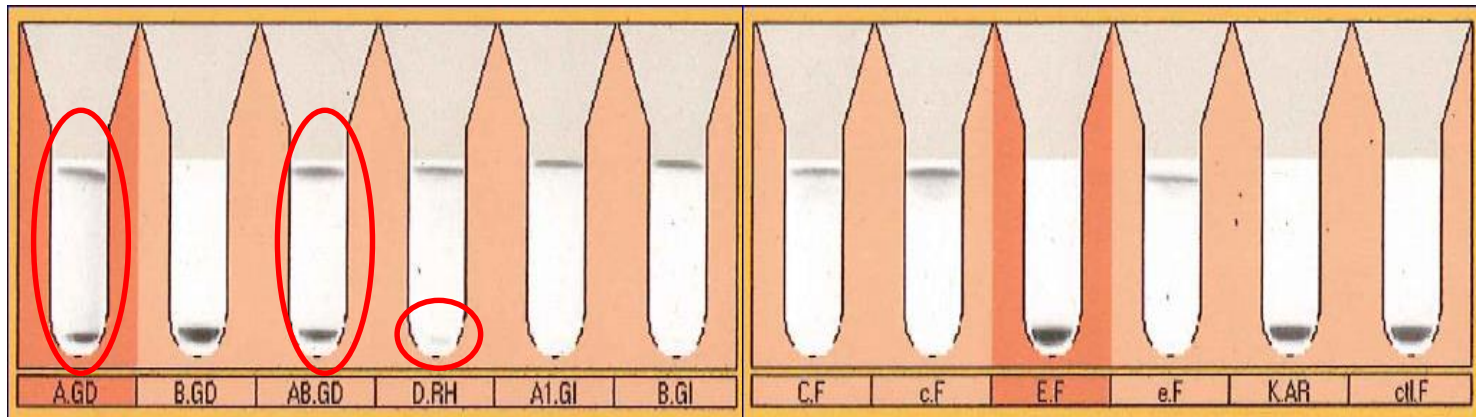
# CAS CLINIQUES (1)

Mme RUG., 37 ans

➔ G3P1, admise à 39SA + 5 jours

En début de travail, un prélèvement sanguin pour groupage sanguin et RAI est adressé à l'EFS.

➔ Un aspect de double-population érythrocytaire est observé au groupage sanguin réalisé en technique gel-filtration sur automate Wadiana (Grifols®)



Agglutination partielle avec les réactifs anti-A, anti-A+B et anti-D au groupage sanguin en gel-filtration.

## CAS CLINIQUES (2)

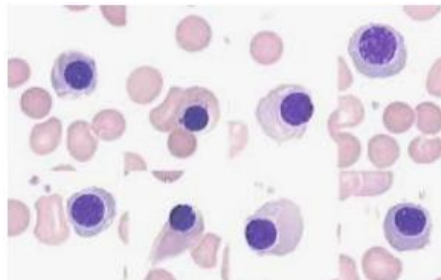
Mme RUG., 37 ans

- ➔ L'envoi d'un prélèvement de sang de cordon avec coprésence des populations érythrocytaires maternelles et fœtales est suspecté.
- ➔ Or la patiente n'a pas encore accouché et elle n'a jamais été transfusée.
- ➔ Le service de soins est contacté et préconise d'annuler les examens, la carte de groupe sanguin ayant été retrouvée
- ➔ Un test de Kleihauer est réalisé: il montre une HFM à 100 hématies fœtales pour 10000 hématies adultes (100 HF/10 000HA) soit un passage d'environ 50 mL de sang fœto-placentaire dans la circulation maternelle (1/6<sup>e</sup> du volume sanguin à ce terme).

## CAS CLINIQUES (3)

Mme RUG., 37 ans

- ➔ Naissance par ventouse d'un garçon, poids 3890g.  
Prise en charge pédiatrique:  
Pâleur importante, oxygénothérapie, anémie avec Hb 80g/L.
- ➔ Transfert en service de réanimation néonatale  
Transfusion en Urgence Vitale d'un CGR O RH négatif CMV- (76 mL)  
Hb 109g/L à J1.
- ➔ La présence importante d'érythroblastes (28,7%) à l'hémogramme du nouveau-né oriente vers une HFM d'installation progressive.



## CAS CLINIQUES (4)

Mme MAR..., 24 ans

- ➔ G4P1 se présente à 35SA + 4 jours au service des urgences obstétricales d'un Centre Hospitalier pour diminution des Mouvements Actifs Foetaux (MAF).
- ➔ Examens cliniques:  
Score de Manning (profil biophysique foetal) à 8/8,  
TA 105/60, ERCF normal.
- ➔ Un prélèvement sanguin est adressé à l'EFS pour réalisation d'un test de Kleihauer dans le cadre d'un bilan systématique
- ➔ Devant la normalité des examens cliniques, la patiente retourne à son domicile



## CAS CLINIQUES (5)

Mme MAR., 24 ans

- Le test de Kleihauer met en évidence une HFM importante, estimée à 417 hématies fœtales pour 10000 hématies adultes (417HF/10 000HA) soit un passage de plus de 200 mL de sang fœto-placentaire dans la circulation maternelle (au moins les 2/3 du volume sanguin à ce terme).

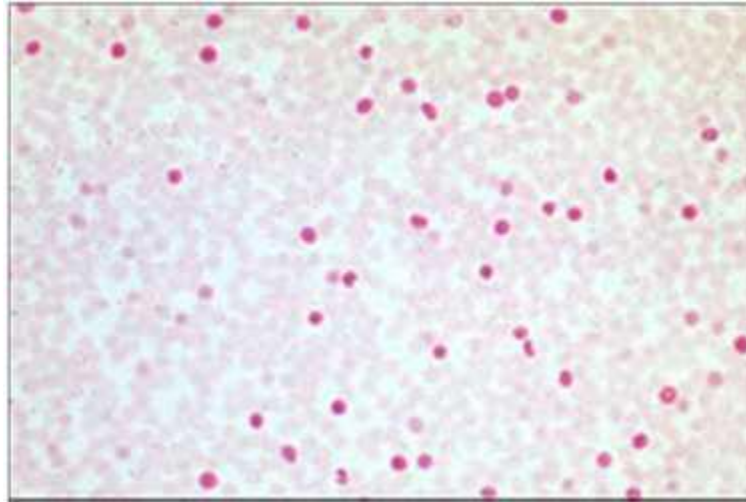


Figure: Test de Kleihauer fortement positif avec coloration rose-foncée des hématies fœtales et persistance des hématies maternelles à l'état fantomatique.

## CAS CLINIQUES (6)

Mme MAR..., 24 ans

- La patiente est rappelée en urgence  
Un prélèvement de contrôle est réalisé: le test de Kleihauer confirme l'HFM massive, malgré un ERCF normal.
- Une césarienne en urgence est réalisée (liquide amniotique sanglant, RCF toujours normal).
- Naissance d'une fille, APGAR 7 8 9, poids 1940g.  
Prise en charge pédiatrique:  
Pâleur importante, anémie majeure avec Hb 44g/L
- Transfert en service de réanimation néonatale.  
Transfusion en Urgence Vitale d'un CGR O RH négatif CMV- (80 mL)  
Hb 152g/L à J1, 162g/L à J7.



# CAS CLINIQUES (7)

Mme PIN..., 30 ans

➔ G2P1, terme 30SA + 2 jours

Se présente un mercredi après-midi aux urgences obstétricales d'un CH pour diminution des mouvements actifs foetaux.

➔ Un bilan systématique comprenant un test de Kleihauer est prescrit.

➔ Un prélèvement sanguin est réalisé à 15h20 et adressé au LBM de ville où il est enregistré à 17h00.

➔ Il est ensuite pris en charge par une société de transport le jeudi à 14h00 pour transmission à un LBM sous-traitant qui lui-même adresse le prélèvement à un site de l'EFS-AURA le vendredi à 15h30.



# CAS CLINIQUES (8)

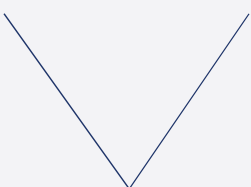
Mme PIN..., 30 ans

- ➔ Le test de Kleihauer est positif à 133 HF/10 000 HA soit un passage d'environ 67 mL de sang fœto-placentaire dans la circulation maternelle (soit ½ du volume sanguin à ce terme).
- ➔ Le prescripteur est contacté en urgence le vendredi vers 18h30. La patiente est rappelée et hélicoptérée vers un CHU. Une césarienne est réalisée en urgence.
- ➔ Naissance d'un garçon:  
Prise en charge pédiatrique:  
anémie sévère (Hb à 43 g/l) nécessitant une transfusion en UVI dès la naissance au bloc opératoire.  
Une nouvelle transfusion est réalisée dans la soirée.
- ➔ Mise en évidence d'un circuit inadapté avec retard de prise en charge et risque de perte de chance pour le nouveau-né.



# CONCLUSION (1)

Le test de Kleihauer est un examen simple à réaliser, nécessitant peu de moyens matériels, mais exigeant une grande expérience de lecture.




En dépit de ses limites <sup>[5]</sup> (variabilité inter-opérateurs, faux-positifs chez les patientes présentant des anomalies de l'hémoglobine), et malgré l'éventail d'examens cliniques disponibles pour détecter une souffrance fœtale, cet examen biologique peut permettre le diagnostic rapide et précoce de l'HFM et la prise en charge optimisée des patientes et de leurs nouveau-nés.

[5]: Duckett JR, Constantine G. The Kleihauer technique: an accurate method of quantifying fetomaternal haemorrhage? Br J Obstet Gynaecol. 1997 Jul;104(7):845-6

## CONCLUSION (2)

Dans les cas présentés, seul le test de Kleihauer a permis le diagnostic d'hémorragie fœto-maternelle et la prise en charge adaptée des femmes enceintes.



Forts de ces expériences qui ont sans doute sauvé des nouveau-nés, l'ensemble des techniciens IHE de l'EFS-AURA ont été formés à la réalisation et à la lecture des tests de Kleihauer, y compris ceux travaillant de nuit.

[5]: Duckett JR, Constantine G. The Kleihauer technique: an accurate method of quantifying fetomaternal haemorrhage? Br J Obstet Gynaecol. 1997 Jul;104(7):845-6



**Merci pour votre attention**

[magali.dupont@efs.sante.fr](mailto:magali.dupont@efs.sante.fr)

# ALLO-IMMUNISATION FŒTO-MATERNELLE ANTI-RH1 (D)

Se produit chez la femme enceinte RH:-1 (Rhésus négatif) porteuse d'un fœtus RH:1 (Rhésus positif)

Fait suite au passage dans la circulation maternelle d'hématies fœtales RH:1

Se caractérise par la synthèse d'anticorps maternels anti-RH1 qui vont traverser la barrière placentaire et détruire les hématies fœtales RH:1

L'allo-immunisation fœto-maternelle anti-RH1 représentait plus de 50% des cas d'allo-immunisations recensées [A], ce qui a conduit à la mise en place des recommandations de prévention et la commercialisation d'immunoglobulines anti-RH1 (Natead<sup>®</sup> puis Rhophylac<sup>®</sup>)



[A]: Poissonnier MH, Brossard Y, et al. [Incompatibilité foeto-maternelle érythrocytaire] Encycl Med Chir, Gynécologie/Obstétrique, 5-020-A-20, Pédiatrie, 4-000-R-25, 1998,12p.