



HAL
open science

État des lieux et suivi de l'allo-immunisation anti-érythrocytaire des femmes enceintes, par l'EFSAM de 2006 à 2016

Constance Paci

► **To cite this version:**

Constance Paci. État des lieux et suivi de l'allo-immunisation anti-érythrocytaire des femmes enceintes, par l'EFSAM de 2006 à 2016. Sciences pharmaceutiques. 2017. dumas-01609299

HAL Id: dumas-01609299

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01609299>

Submitted on 3 Oct 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

MÉMOIRE
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPECIALISÉES
DE BIOLOGIE MÉDICALE

Soutenu le Vendredi 15 septembre 2017

Par M^{elle} PACI Constance
Née le 23/05/1990

Conformément aux dispositions du décret n°2003-76
du 23 janvier 2003, tenant lieu de

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

----oOo----

TITRE

Etat des lieux et suivi de l'allo-immunisation anti-érythrocytaire des femmes enceintes,
par l'EFSAM de 2006 à 2016

----oOo----

JURY :

Président : Pr CAMOIN Laurence

Membres : Pr CHIARONI Jacques

Dr DETTORI Isabelle

Dr LAGET Laurine

Dr DESBRIERE Raoul

MÉMOIRE
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPECIALISÉES
DE BIOLOGIE MÉDICALE

Soutenu le Vendredi 15 septembre 2017

Par M^{elle} PACI Constance
Née le 23/05/1990

Conformément aux dispositions du décret n°2003-76
du 23 janvier 2003, tenant lieu de

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

----oOo----

TITRE

Etat des lieux et suivi de l'allo-immunisation anti-érythrocytaire des femmes enceintes,
par l'EFSAM de 2006 à 2016

----oOo----

JURY :

Président : Pr CAMOIN Laurence

Membres : Pr CHIARONI Jacques

Dr DETTORI Isabelle

Dr LAGET Laurine

Dr DESBRIERE Raoul

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

ADMINISTRATION :

Doyen : Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
Vice-Doyens : M. Jean-Paul BORG, M. Philippe CHARPIOT, M. Pascal RATHELOT
Chargés de Mission : M. David BERGE-LEFRANC, M. François DEVRED, Mme Caroline DUCROS, Mme Pascale BARBIER
Conseiller du Doyen : M. Patrice VANELLE
Doyens honoraires : M. Jacques REYNAUD, M. Pierre TIMON-DAVID, M. Patrice VANELLE
Professeurs émérites : M. José SAMPOL, M. Jean-Pierre REYNIER
Professeurs honoraires : M. Guy BALANSARD, M. Jacques BARBE, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Aimé CREVAT, M. Bernard CRISTAU, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. José MALDONADO, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI,
Chef des Services Administratifs : Mme Florence GAUREL
Chef de Cabinet : Mme Sandrine NOURIAN
Responsable de la Scolarité : Mme Myriam TORRE

DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

PROFESSEURS

BIOPHYSIQUE

M. Vincent PEYROT
M. Hervé KOVACIC

GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE

M. Christophe DUBOIS

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETIQUE

M. Philippe PICCERELLE

MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

M. Robert GILLI
Mme Odile RIMET-GASPARINI
Mme Pascale BARBIER
M. François DEVRED
Mme Manon CARRE
M. Gilles BREUZARD
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pascal PRINDERRE
M. Emmanuel CAUTURE
Mme Véronique ANDRIEU
Mme Marie-Pierre SAVELLI

NUTRITION ET DIETETIQUE

M. Léopold TCHIAKPE

A.H.U.

CULTURE ET THERAPIE CELLULAIRE

M. Jérémy MAGALON

ENSEIGNANTS CONTRACTUELS

ANGLAIS

Mme Caroline MONTET

DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe CHARPIOT

PROFESSEURS

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

M. Philippe CHARPIOT

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
Mme Laurence CAMOIN
Mme Florence SABATIER-MALATERRE

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET
ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

Mme Dominique JOURDHEUIL-RAHMANI
M. Thierry AUGIER
M. Edouard LAMY
Mme Alexandrine BERTAUD
Mme Claire CERINI
Mme Edwige TELLIER
M. Stéphane POITEVIN

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Nathalie BARDIN
Mme Dominique ARNOUX
Mme Aurélie LEROYER
M. Romaric LACROIX

MICROBIOLOGIE

Mme Michèle LAGET
M. Michel DE MEO
Mme Anne DAVIN-REGLI
Mme Véronique ROUX
M. Fadi BITTAR
Mme Isabelle PAGNIER
Mme Sophie EDOUARD

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE

Mme Carole DI GIORGIO
M. Aurélien DUMETRE
Mme Magali CASANOVA
Mme Anita COHEN

BIOLOGIE CELLULAIRE

Mme Anne-Catherine LOUHMEAU

A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Sylvie COINTE

DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

M. Henri PORTUGAL
Mme Catherine BADENS

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. Philippe GALLICE

CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE –
CHIMIE THERAPEUTIQUE

M. Pascal RATHELOT
M. Maxime CROZET

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE

M. Patrice VANELLE
M. Thierry TERME

PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE

Mme Evelyne OLLIVIER

PROFESSEURS ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (P.A.S.T.)GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE
ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE

M. Jean-Pierre CALISSI

MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE

Mme Anne FAVEL
Mme Joëlle MOULIN-TRAFFORT

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Elisabeth SCHREIBER-DETURMENY
Mme Catherine DEFOORT
M. Alain NICOLAY
Mme Estelle WOLFF
Mme Elise LOMBARDCHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET
NUISANCES TECHNOLOGIQUESM. David BERGE-LEFRANC
M. Pierre REBOUILLON

CHIMIE THERAPEUTIQUE

Mme Catherine DIANA
Mme Sandrine FRANCO-ALIBERT
Mme Caroline DUCROS
M. Marc MONTANACHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE
HYDROLOGIEM. Armand GELLIS
M. Christophe CURTI
Mme Julie BROGGI
M. Nicolas PRIMAS
M. Cédric SPITZ
M. Sébastien REDON

PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE

M. Riad ELIAS
Mme Valérie MAHIOU-LEDDER
Mme Sok Siya BUN
Mme Béatrice BAGHDIKIAN**MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)**

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Anne-Marie PENET-LOREC

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET
NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. Thierry ATHUYT

DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE

M. Marc LAMBERT

DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE
ET GESTION DE LA PHARMAFAC

M. Philippe BESSON

AHU

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE

Mme Manon ROCHE

ATER

CHIMIE ANALYTIQUE

Mme Camille DESGROUAS

DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

PROFESSEURS

PHARMACIE CLINIQUE	Mme Diane BRAGUER
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Athanassios ILIADIS
TOXICOLOGIE GENERALE	M. Bruno LACARELLE
TOXICOLOGIE DE L'ENVIRONNEMENT	Mme Frédérique GRIMALDI

MAITRES DE CONFERENCES

PHARMACODYNAMIE	Mme Suzanne MOUTERDE-MONJANEL
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET Mme Emmanuelle MANOS-SAMPOL
TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Hot BUN M. Joseph CICCOLINI Mme Raphaëlle FANCIULLINO
TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE CLINIQUE	M. Pierre-Henri VILLARD M. Stéphane HONORÉ Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU Mme Marie-Anne ESTEVE

A.H.U.

PHARMACODYNAMIE	M. Philippe GARRIGUE
-----------------	----------------------

ATER

PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlel BOUHLEL
-----------------	---

CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Nathalie AUSIAS, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Gérard CARLES, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Nicole FRANCOIS, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Christine PENOT-RAGON, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire
M. Alain RAGON, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

Mise à jour le 1^{er} décembre 2015

A mon jury de thèse,

Mme le Professeur Laurence Camoin

Vous avez été mon professeur à la faculté de pharmacie. Je n'oublierai pas le soutien que vous m'avez apporté lors de ma préparation à l'internat. Vous me faites aujourd'hui l'honneur de présider ce jury de thèse et de juger ce travail, je vous en remercie.

Permettez-moi de vous exprimer ma sincère reconnaissance et mon profond respect.

Monsieur le Professeur Jacques Chiaroni

Vous m'avez permis d'accéder à cette passionnante discipline qu'est l'immuno-hématologie. Vous me faites l'honneur de siéger dans ce jury de thèse et de juger ce travail, je vous en remercie.

Soyez assuré de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

Madame le Docteur Isabelle Dettori

Vous m'avez encadré tout au long de la rédaction de ce mémoire. Je vous remercie pour votre disponibilité, vos bons conseils et toutes les connaissances que vous m'avez apportées au cours de mon stage.

Recevez ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Madame le Docteur Laurine Laget

Tu as su me donner envie de découvrir l'immuno-hématologie quand tu étais encore interne. Aujourd'hui biologiste, tu m'encadres pour ce travail. Tes nombreux conseils ont été d'une aide précieuse dans la rédaction de ce mémoire. Tes qualités, aussi bien humaines que professionnelles, font que c'est un vrai plaisir de travailler avec toi.

Pour tout cela, je te remercie sincèrement.

Monsieur le Docteur Raoul Desbrière,

Vous avez accepté de juger ce travail et de siéger dans ce jury, je vous en remercie. Veuillez trouver ici le témoignage de ma sincère reconnaissance.

A l'équipe du laboratoire d'IH de l'EFS,

A Elisabeth et Caroline, merci pour toutes les connaissances que vous m'avez transmises. Vous avez rendu ce stage très enrichissant !

A toute l'équipe des techniciens, sans oublier Samia et Sabrina. Merci pour votre accueil, votre disponibilité et votre gentillesse.

A Pierra,

Tu partages ma vie depuis quatre ans maintenant. Pour ton optimisme à toute épreuve, ton écoute attentionnée, ton soutien sans faille, ta patience (surtout !) et tout le bonheur que tu m'apportes chaque jour : merci infiniment. J'ai hâte de commencer cette nouvelle vie qui nous attend.

A mes parents,

Votre soutien et votre patience depuis toutes ces années m'ont été indispensables. Je vous dois tant ! Merci du fond du cœur pour tout ce que vous faites pour nous, pour tous ces bons moments passés ensemble, et tous ceux à venir. Vous êtes des parents parfaits !

A ma sœur, Marine

Quelle chance de t'avoir comme grande sœur ! C'est aussi grâce à toi que j'en suis-là aujourd'hui. Merci pour tous tes bons conseils, ta bienveillance, ton écoute, et cette complicité que nous avons. Je suis très admirative de ce que tu fais, et surtout de ce que tu es. Malgré tout, n'oublie pas que tu n'as jamais dit « il neige pas papa ».

A Yann,

Je suis très heureuse de t'avoir comme beau-frère. Merci pour ta gentillesse et ta bonne humeur. Grâce à vous deux, la famille s'est agrandie et j'ai la chance d'avoir deux neveux dont je ne peux plus me passer, mon petit Arthur qui va maintenant à l'école et Loulou qui nous fait déjà tant de sourires.

A mon frère, Clément

Tu nous surprendras toujours ! A la maison, au tennis à « Roland », à la fac et jusque chez Nagui ! Tu as toujours le mot pour rire, merci pour ta bonne humeur et ces phrases qui n'appartiennent qu'à toi. Sans oublier Caro, toujours souriante. C'est un plaisir de partager ces moments avec toi !

A mes grand-parents et mon arrière-grand-mère,

Mes oncles et tantes, mes cousines et cousins (mention spéciale à Lucas, à mes côtés depuis toujours : en famille, au lycée et en soirée, nous avons tout partagé !)

Merci pour tous ces bons moments partagés en famille, quel plaisir de se retrouver !

A Christine, Jean-Marie, Pauline et Cyril,

Merci pour votre accueil chaleureux et votre gentillesse. Déjà tant de bons moments passés ensemble !

A mes amis « pharma »,

A ces années pharma, à ces soirées inoubliables, et aux vacances passées ensemble !

A Camille, ma super binôme. Merci pour toutes nos discussions, nos fou-rires, nos révisions nocturnes, nos lendemains de soirées difficiles et nos aventures rocambolesques. Sans ton grain de folie, mes années fac n'auraient pas été pareilles !

A Charlotte, ma bouillotte ! Merci pour ton écoute, ta générosité et ta bonne humeur. Les vidéos avec « papa », la passion du pesto, la « coloc » du 6^{ème} étage.. Que de bons moments passés ensemble, quelle chance de t'avoir rencontrée !

A Aurélie, merci pour ta gentillesse et ta sincérité. Je suis très heureuse de te compter parmi mes amis.

A Marion notre maman à toutes, **Lauriane** ma femme, **Caro** mon petit lynx, ... et vos maris !!
Merci pour tous ces bons moments, c'est toujours un plaisir de se retrouver !

A Sophie, ou Bichon, Theresa, michmich. Merci de me fait toujours autant rire !

A Louis, le temps passe mais rien ne change ... Tu es maintenant un vrai petit Parisien mais tu restes notre Loulou !

A Thibault, à nos aprem « patio » et nos interminables parties de tarot !

A Sophie et Yas, merci pour votre spontanéité et votre sens de l'humour. Ne changez rien !

Sans oublier **Alexandra, Deven, Alen** et bien évidemment **Viken** !

A mes co-internes,

A Pascal et Omar, au souvenir de PP TO CP, notre trio de choc de Biochimie ! Avec vous deux l'internat ne pouvait que bien commencer. Que de bons souvenirs !

A Noémie et à **Lisa**, les deux best ! Merci Noé pour nos rdv M6 du lundi, notre hiver passé dans la « bulle » avec Lisette, ces midis à l'internat...et tous ces bons moments passés si vite !

A Anne-Sophie, ma binôme du « capi ». Merci pour ton côté « zen » et ta gentillesse !

Sans oublier **Shirley** et son rire communicatif, **Anne-K** qui a toujours le mot qu'il faut, **Lucie** le « clown de table », **Mathieu**, toujours de bonne humeur et **Anne-Sophie**, merci pour ta gentillesse et tes bons conseils !

A Emilie, Fanny et Juliette, merci pour ces années lycée mémorables ! A tous nos souvenirs, nos fou-rires, ... et nos we Parisiens !

Et à tous ceux que j'ai oubliés... !

Table des matières

TABLEAUX ET FIGURES	1
INTRODUCTION.....	2
I. REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	3
A. L'allo-immunisation Foeto-maternelle (AIFM).....	3
1. Définition et épidémiologie de l'AIFM en France	3
2. Physiopathologie de l'allo-immunisation Foeto-maternelle	4
3. Conséquences pathologiques de l'hémolyse	7
4. Les principaux antigènes et anticorps concernés	8
5. Analyses disponibles pour dépister l'allo-immunisation Foeto-maternelle	13
6. Analyses disponibles pour la prise en charge d'une AIFM	14
B. Les recommandations du suivi de grossesse en IH : évolution et état des lieux	23
1. Calendrier du groupe ABORHK et des RAI	23
2. Prévention de l'AIFM	26
3. Suivi de l'AIFM avérée.....	39
4. Place du génotypage foetal non invasif RH1	45
5. Traitement de l'anémie foetale.....	47
6. La prise en charge post-natale.....	50
C. Généralités sur l'Etablissement Français du Sang	53
1. Organisation du laboratoire de biologie médicale de l'EFS ALPES Méditerranée	53
2. Rôles de l'EFS dans le suivi obstétrical.....	54
3. Organisation et collaboration avec les autres laboratoires dans le cadre du suivi obstétrical	55
II. PATIENTS ET METHODE	57
A. Les patientes.....	57
B. La méthode.....	57
III. RESULTATS	61
A. Allo-immunisation et grossesse	61
B. Transfusion In Utero (TIU).....	68
IV. DISCUSSION	72
A. Etat des lieux de l'allo-immunisation foeto-maternelle	72
B. Transfusions In Utero	81
C. Recommandations du suivi IH chez la femme enceinte.....	84
D. Place de l'EFS dans le suivi de la femme enceinte	89
V. PERSPECTIVES ET CONCLUSION	92
Liste des abréviations.....	95
BIBLIOGRAPHIE	96
ANNEXES.....	102

TABLEAUX ET FIGURES

Tableau 1 Anticorps et risque fœtal et néonatal d'anémie	12
Tableau 2 Décrets et lois relatifs au suivi IH de la femme enceinte	23
Tableau 3 Groupes d'experts et recommandations de suivi IH de la femme enceinte	24
Tableau 4 Politique de prévention comparée dans les principaux pays industrialisés	32
Tableau 5 Tableau des indications à l'usage du praticien qui suit la grossesse	35
Tableau 6 Taux "critiques" des principaux anticorps à risque fœtal	41
Tableau 7 Suivi de l'allo-immunisation en fonction de l'anticorps identifié	42
Tableau 8 comparaison de l'efficacité de TIU simples et ETIU	49
Tableau 9 Sélection des patientes enceintes immunisées	61
Tableau 10 Anticorps à risque d'anémie fœtale et maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN)	62
Tableau 11 Anticorps à risque de MHNN	62
Tableau 12 Anticorps anti-public	63
Tableau 13 Anticorps anti-privé	63
Tableau 14 Anticorps sans incidence obstétricale	63
Tableau 15 Evolution de la prévalence de l'allo-immunisation chez les femmes enceintes entre 2006 et 2015.....	65
Tableau 16 Evolution de l'incidence de l'allo-immunisation anti-RH1 entre 2006 et 2015.....	65
Tableau 17 Estimation de la proportion d'anti-RH4 identifiés après la RAI du 1er trimestre	67
Tableau 18 Proportions des grossesses présentant un anticorps avec un seuil critique.....	67
Tableau 19 Anticorps à taux critiques et recours aux TIU	70
Tableau 20 Titre et dosage pondéraux des anticorps impliqués dans les TIU	70
Tableau 21 Associations d'anticorps impliqués dans les TIU	71
Tableau 22 Comparaison des proportions respectives des différentes spécificités d'anticorps retrouvées chez les femmes enceintes dans la littérature et dans notre étude	75
Tableau 23 Comparaison de la prévalence de l'allo-immunisation chez les femmes enceintes dans la littérature et dans notre étude	75
Figure 1 Organisation du locus RH	17
Figure 2 Base moléculaire et absence de protéine RHD	19
Figure 3 Base moléculaire RHC/RHc	19
Figure 4 Base moléculaire K/k	20
Figure 5 Technique du microtitrage	37
Figure 6 Exemple de suivi d'une femme avec un anti-RH1 à un taux très élevé, avec un suivi de PSV-ACM 2 fois par semaine. A la naissance, enfant en bonne santé	44
Figure 7 Construction de la cohorte : les différentes étapes	58
Figure 8 Répartition* des anticorps par système.....	64
Figure 9 Estimation de l'évolution de l'allo-immunisation anti-RH1 chez les femmes enceintes de 2006 à 2015, en région PACA	66
Figure 10 400 grossesses présentant un anticorps à risque foetal à un seuil critique : répartition par spécificité.....	68
Figure 11 Répartition des indications de TIU, en %.....	69
Figure 12 Répartition de la spécificité des allo-anticorps, en %	69

INTRODUCTION

L'allo-immunisation anti-érythrocytaire chez la femme enceinte est une situation rare pouvant être à l'origine de graves conséquences chez le fœtus et le nouveau-né. La maladie hémolytique qui en résulte peut présenter des formes cliniques variées, allant d'une anémie avec hyperbilirubinémie néonatale modérée jusqu'à une atteinte fœtale majeure avec mort *in utero* par anasarque fœto-placentaire. C'est pourquoi il convient d'identifier ces immunisations pendant la grossesse et non en urgence devant les complications anémiques fœtales ou hyperbilirubinémiques postnatales. En France, une immunoprophylaxie visant à empêcher l'allo-immunisation anti-RH1 pendant la grossesse a été mise en place dès les années 1970. Cette prévention s'est vue renforcée en 2005 par l'injection systématique d'immunoglobulines anti-RH1 à la 28^{ème} semaine d'aménorrhée (en plus de la prévention ciblée lors de la grossesse et à l'accouchement)[1]. Par ailleurs, les progrès en biologie moléculaire ces dernières années ont permis d'améliorer le diagnostic des incompatibilités fœto-maternelles avec la mise en place du génotypage fœtal non invasif sur plasma maternel. De plus, l'évaluation de l'anémie fœtale par l'étude du pic de vélocité du flux sanguin de l'artère cérébrale moyenne a permis une meilleure prise en charge de l'allo-immunisation fœto-maternelle. Cependant, des cas d'allo-immunisation persistent, du fait de l'échec de prévention anti-RH1 d'une part, mais également de l'absence d'immunoprophylaxie concernant les autres antigènes érythrocytaires.[2][3]

Dans ce travail, après avoir défini l'allo-immunisation fœto-maternelle (AIFM) et ses conséquences possibles, nous décrirons les différents outils disponibles pour le dépistage et la prise en charge de l'AIFM. Nous porterons également une attention particulière sur les recommandations du suivi immuno-hématologique chez la femme enceinte.

Nous ferons ensuite l'état des lieux de l'allo-immunisation chez les femmes enceintes suivies par l'Etablissement Français du Sang Alpes Méditerranée (EFSAM). Nous nous intéresserons à la prévalence de l'allo-immunisation, aux différentes spécificités d'anticorps, ainsi qu'à la sévérité des AIFM par l'étude des Transfusions *In Utero* (TIU) en région PACA.

Enfin, nous nous efforcerons de comparer les données mises en avant dans ce travail au regard de celles publiées dans la littérature. Aussi, nous discuterons des recommandations du suivi immuno-hématologique chez la femme enceinte et nous tenterons de définir la place occupée par l'Etablissement Français du Sang dans ce suivi.

I. REVUE DE LA LITTERATURE

A. L'allo-immunisation Fœto-maternelle (AIFM)

1. Définition et épidémiologie de l'AIFM en France

a) Définition

L'allo-immunisation fœto-maternelle se définit par la synthèse d'anticorps, dont les cibles sont les antigènes de groupes sanguins, en réponse au passage transplacentaire d'hématies fœtales dans la circulation maternelle. Elle s'observe lorsque le fœtus est porteur d'un antigène érythrocytaire paternel absent des globules rouges maternels. Elle entraîne alors une situation d'incompatibilité fœto-maternelle érythrocytaire (IFME) : présence d'allo-anticorps maternels transmis *in utero* sur les antigènes érythrocytaires du fœtus.[1][4][5]

Il existe deux grands types d'IFME : l'IFME ABO et l'IFME non ABO. L'incidence clinique des IFME n'est pas si rare puisqu'elle serait de 4 pour 1000 naissances. [3]

b) L'IFME ABO

C'est la plus fréquente des IFME. Environ 5% des nouveau-nés ont un Test Direct à l'Antiglobuline (TDA) positif relevant d'une IFME ABO et l'ictère hémolytique des IFME est dans plus de 50% des cas lié à l'incompatibilité ABO. En revanche, le risque d'ictère hémolytique avec hyperbilirubinémie sévère (supérieure à 340 $\mu\text{moles/l}$) est faible, évalué à 0.5 à 2 pour 1000 naissances. Le rang de grossesse ne semble pas influencer sur la gravité de l'expression clinique et, sauf exception, l'IFME ABO n'est pas responsable d'anémie fœtale sévère. Dans ce travail, nous n'évoquerons pas les IFME de type ABO.

c) L'IFME non ABO

Elles se distinguent classiquement en IFME anti-RH1 et IFME non anti-RH1.

Les IFME anti-RH1 arrivent en seconde position de fréquence avec une incidence en France de 0.9 pour 1000 naissances. Elles sont symptomatiques dans 50% des cas, dont un quart de formes sévères à manifestations anténatales s'exprimant pour moitié avant 34 semaines d'aménorrhées (SA).[5]

Les IFME non anti-RH1 représentent 0.5 pour 1000 naissances, avec la moitié liée à une IFME RH4 ou RH3.

2. Physiopathologie de l'allo-immunisation Foeto-maternelle [4]

a) *Hémorragie fœto-maternelle*

L'immunisation fœto-maternelle nécessite un « contact » entre un antigène de groupe sanguin et une mère « réactive » qui ne le possède pas. Les hémorragies fœto-maternelles (HFM) sont à l'origine de ce contact. Elles sont d'autant plus fréquentes que l'âge gestationnel est élevé, et particulièrement importantes au moment de l'accouchement. Une hémorragie fœto-maternelle peut survenir dès le premier trimestre de grossesse chez près de 3 % des femmes enceintes. La possibilité d'un transfert très précoce de cellules de la lignée érythroïde est attestée dès 8 SA. Cette fréquence s'élève à 12 % au 1^{er} trimestre, puis 45 % au cours des second et troisièmes trimestres de grossesse et jusqu'à 64 % au moment de l'accouchement.[6] Le volume de l'HFM est généralement faible. Cependant, 3 % des accouchées ont une HFM supérieure à 3 ml et 0,3 % des accouchées ont une HFM supérieure à 10 ml.

b) *Allo-immunisation foeto-maternelle (AIFM)*

La capacité à développer des anticorps est très variable selon les femmes. Certaines s'immunisent très facilement (une immunisation peut survenir même après une HFM très faible de l'ordre de 0,1 ml), alors que d'autres ne s'immunisent quasiment jamais et sont appelées « mauvaises répondeuses ». Selon certains auteurs, l'incompatibilité ABO confèrerait une protection partielle contre l'AIFM par destruction intravasculaire rapide des globules rouges fœtaux ABO incompatibles.[6] Cette hypothèse n'est cependant pas évoquée par tous les auteurs. Le volume des HFM étant faible durant la grossesse (< 0.25ml), il n'y a, en général pas d'allo-immunisation décelable au cours de la grossesse du 1^{er} enfant. En revanche, un volume

plus important d'HFM observé pendant l'accouchement peut conduire à une augmentation du nombre de femmes immunisées dans les 6 mois qui suivent.

Réponse primaire :

Le mécanisme de l'allo-immunisation implique plusieurs étapes et acteurs du système immunitaire. L'antigène érythrocytaire fœtal est dans un premier temps présenté par le Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) de classe II situé sur une Cellule Présentatrice d'Antigène (CPA : cellules dendritiques, lymphocytes B, et dans une moindre mesure les macrophages) aux lymphocytes T CD4 Helper (interaction CMH classe II-TCR). Cette rencontre oriente la réponse immunitaire vers une réponse de type TH2 : interaction LTCD4-Lymphocytes B, conduisant à une différenciation de ces derniers en plasmocytes sécréteurs d'anticorps spécifiques. Ces phénomènes d'activation peuvent être modulés et inhibés par des lymphocytes T régulateurs (Treg). Différents facteurs peuvent impacter la susceptibilité d'un individu à s'immuniser tels que le polymorphisme génétique du CMH de classe II et l'activité de lymphocytes T régulateurs.[7] De plus, la grossesse serait un état immunitaire « paradoxal » dans lequel la mère « tolère » son fœtus, pourtant 50% différent génétiquement. Ces changements immunitaires, par des mécanismes complexes, favoriseraient une réponse de type TH2 (réponse humorale et production d'anticorps) plutôt qu'une réponse de type TH1 (réponse cellulaire). [8]

Lors de ce premier contact, les premiers anticorps maternels produits sont des immunoglobulines de type M (IgM), progressivement remplacés par des IgG (réponse immune primaire). C'est un processus qui se développe lentement : les anticorps apparaissent exceptionnellement avant 4 semaines, habituellement à 8-9 semaines et parfois seulement 6 mois après le premier contact avec les antigènes étrangers.

Réponse secondaire :

Elle a lieu lors d'une nouvelle exposition antigénique, c'est-à-dire lors de la grossesse suivante incompatible pour cet antigène. La réponse immunitaire secondaire fait intervenir des lymphocytes B mémoires et se caractérise par une réponse rapide et dont les anticorps sont de type IgG, capables de traverser la barrière placentaire. Des expositions itératives augmentent

encore la rapidité et la production d'anticorps. C'est donc cette réponse secondaire qui est à l'origine d'une incompatibilité fœto-maternelle.

Il faut cependant souligner que la présence d'HFM répétées peut entraîner, au cours d'une première grossesse incompatible, une réponse secondaire et donc une IFME chez des patientes primigestes.

c) Transfert des allo-anticorps maternels [9]

Ce transfert peut se produire dès le début de la grossesse (2^{ème} mois) mais reste peu important avant le 4^{ème} mois. Ce transport actif dépend de la présence de récepteurs Fc des IgG situés sur la face maternelle du trophoblaste et de la concentration en anticorps qui peut varier de quelques nanogrammes à quelques microgrammes.

d) Formation des complexes antigène-anticorps sur les hématies fœtales

La fixation des anticorps maternels sur les antigènes spécifiques de la surface des hématies fœtales forme ainsi des complexes antigènes-anticorps. Le nombre de complexes dépend du nombre de sites antigéniques et de la constante d'affinité des anticorps.

e) Mécanisme de destruction des globules rouges fœtaux

La destruction des globules rouges se fait principalement dans le système réticuloendothélial (en particulier au niveau de la rate). On observe une phagocytose et lyse des hématies fœtales sensibilisées par les anticorps IgG, via les récepteurs Fc des IgG macrophagiques.

f) Les paramètres influençant le risque hémolytique [2]

Le risque hémolytique dépend de plusieurs paramètres :

- La spécificité de l'anticorps

- L'affinité de l'anticorps, appréciée par la technique de titrage.
- Le pouvoir d'activation des récepteurs Fc macrophagiques par l'anticorps : il est fonction de la sous-classe et de la glycosylation de la partie Fc terminale. Les IgG1 traversent le placenta de façon massive dès la 20SA tandis que les IgG3 atteignent le taux de celui du sang maternel entre la 28 et 30^{ème} SA. Les sous-classes IgG1 et 3 sont celles majoritairement responsables de maladie hémolytique du nouveau-né. Les IgG1 sont réputées pour entraîner des anémies plus sévères que les IgG3. A la naissance, l'augmentation de la bilirubine est cependant plus élevée en présence d'IgG3 que d'IgG1.[9] Des tests fonctionnels de type ADCC permettent d'évaluer l'activité cytolytique de l'anticorps.[10] Ces tests très spécialisés et non utilisés en routine pour le suivi des IFME ne seront pas décrits dans ce travail.
- La concentration en anticorps influence directement le pouvoir hémolytique de l'anticorps. On observe une très grande variation du taux d'anticorps, pouvant aller de 1 ng à 100 µg/ml. C'est le dosage pondéral qui permet d'apprécier au mieux cette concentration.

3. Conséquences pathologiques de l'hémolyse [4]

La fixation des anticorps maternels sur les antigènes érythrocytaires fœtaux va entraîner une hémolyse responsable d'une anémie et d'une augmentation de bilirubine, produit de dégradation de l'hémoglobine libérée.

a) *Sur le fœtus*

Pendant la vie intra-utérine, le degré de l'anémie a une grande incidence sur l'évolution fœtale. A l'état physiologique, le taux d'hémoglobine croît de 9g/dl (à 20SA) à 16g/dl. Au-dessous d'une valeur proche de 7g/dl au 2^{ème} trimestre et 9g/dl au 3^{ème} trimestre, l'accroissement du débit cardiaque s'accompagne d'anomalies du rythme cardiaque fœtal (RCF), puis d'épanchements liquidiens touchant les séreuses et enfin d'œdèmes tissulaires et placentaires. Lorsque l'anémie est sévère, elle aboutit à un anasarque (œdème généralisé) fœto-placentaire

avec infiltration hydrique du fœtus et des annexes. D'abord réversible par transfusion, ce tableau peut évoluer vers la mort *in utero* ou périnatale après que l'état d'anoxie chronique ait induit des lésions tissulaires profondes. La résistance du fœtus à l'anémie semble plus importante au 2^{ème} trimestre puisque l'anasarque est rencontrée avec des taux d'hémoglobine compris entre 2 et 6g/dl. [5]

En revanche, pendant la vie fœtale, l'élimination de la bilirubine est assurée par l'organisme maternel (épuration par le trophoblaste).

b) Sur le nouveau-né

L'hyperbilirubinémie a une plus grande incidence en période néonatale, lorsque l'élimination de la bilirubine par un processus de glucuroconjugaison et son excrétion par la bile sont saturées du fait d'une immaturité hépatique. On parle alors d'ictère « hémolytique ».

Lorsque le transport de la bilirubine non conjuguée (libre) par l'albumine est à son tour dépassé, la bilirubine libre en excès peut diffuser dans le milieu extravasculaire et entraîner de graves conséquences. Sa localisation dans le cerveau où elle exerce une toxicité irréversible au niveau des noyaux gris centraux en fait toute la gravité : cet ictère est qualifié « d'ictère nucléaire ».

4. Les principaux antigènes et anticorps concernés

a) Les principaux systèmes antigéniques et les anticorps correspondants [11]

Les antigènes les plus impliqués sont exclusivement érythrocytaires et bien développés chez le fœtus entre les 4^{ème} et 6^{ème} SA.

Les anticorps immuns :

Ils résultent d'une allo-immunisation lors d'une situation d'incompatibilité antigénique par voie transfusionnelle ou transplacentaire et sont de nature IgG.

- Le système RH

Système très immunogène, il est à l'origine de la majorité des AIFM. Par ordre décroissant, les anticorps impliqués sont les :

- anti- RH1
- anti-RH3
- anti-RH4
- anti-RH2
- anti-RH5
- anti-RH8

L'antigène RH1 est de loin l'antigène le plus immunogène. L'immunogénicité d'un antigène de groupe sanguin est évaluée en comparant la fréquence observée des anticorps spécifiques par rapport au risque de rencontre de l'antigène incompatible. Cette classification devrait donc être fonction de l'origine géographique. L'antigène RH1 reste néanmoins le plus immunogène. [12]

A noter que les anti-RH8 et anti-RH3 sont peu concernés car ils sont souvent d'origine naturelle et leur titre est souvent très faible. Quant aux anti-RH12, de par leur capacité à agglutiner des hématies RH1 et/ou RH2 positives, des analyses immuno-hématologiques (IH) devront être mises en œuvre pour différencier la présence d'un anti-RH12 ou d'un mélange anti-RH1 + anti-RH2. Cette distinction permet non seulement d'adapter le suivi obstétrical mais aussi la prophylaxie par antiglobuline IgG anti-RH1.

Les allo-immunisations les plus souvent graves et responsables d'atteintes sévères sont les allo-immunisations anti-RH1 ou anti-RH4. Elles représentent respectivement 35 et 37% des anticorps immuns, 88 et 8% des IFM graves nécessitant un traitement transfusionnel *in utero* ou à la naissance.

- Autres systèmes immunogènes : KEL, FY, JK, MNS

L'antigène KEL1 est le plus immunogène après l'antigène RH1. Il représente environ 13% des anticorps immuns et est responsable de 2% des IFME graves nécessitant des

transfusions *in utero*. L'antigène KEL1 étant présent sur les progéniteurs érythroïdes, des anémies sévères fœtales, avec altération profonde de l'érythropoïèse sont observées. Cette particularité explique les tableaux d'anémie prononcée, non corrélée avec les taux de réticulocytes et de bilirubine, liée à une érythroblastopénie plutôt qu'à une hémolyse.[13]

L'antigène FY1 est l'antigène le plus immunogène du système FY. Les IFME sont peu fréquentes mais peuvent être à l'origine d'immunisation sévère.

L'antigène JK1, comme l'antigène FY1, est l'antigène le plus immunogène du système JK et, bien que les IFME dues à cet antigène sont rares elles peuvent également être très sévères.

Les antigènes du système MNS sont rarement impliqués dans les IFME. Quelques IFME impliquant l'anti-MNS3 ont été décrites mais sont en général bénignes.

Les anticorps naturels :

Ils pré-existent en dehors de toute stimulation foeto-maternelle ou transfusionnelle. Ces anticorps, de nature IgM, ne peuvent franchir la barrière foeto-placentaire et n'ont donc pas d'incidence fœtale. De plus, les antigènes correspondants à ces anticorps sont le plus souvent absents (LE1, LE2) ou mal développés chez le fœtus (H, P1).

Les anticorps « anti-privés » et « anti-publics »

- Les anticorps « anti-privé »

Ce sont des anticorps dirigés contre des antigènes de très faible fréquence, présents chez quelques familles (<1%). [14] Par conséquent, leur présence n'est généralement pas détectée lors de la recherche d'anticorps anti-érythrocytaires sur le plasma maternel puisque les hématies-test utilisées ne possèdent pas cet antigène. En revanche, les hématies du nouveau-né, porteuses de cet antigène privé d'origine paternelle, seront sensibilisées par l'anticorps d'origine maternelle. Cette incompatibilité est objectivée par un TDA positif à la naissance. La confirmation repose sur une épreuve de compatibilité entre le sérum maternel (ou l'éluat obtenu à partir des hématies de l'enfant) et les hématies du père biologique, quand la compatibilité ABO le permet.[15]

- Les anticorps « anti-public »

Ce sont des anticorps dirigés contre des antigènes de très grande fréquence (absents chez moins de 2 sujets pour 1000) et s'observent chez les individus « public négatif », dépourvus de cet antigène.[3] Ces individus peuvent posséder de façon naturelle l'anticorps anti-public ou le développer suite à une transfusion ou grossesse incompatible, les antigènes publics étant généralement très immunogènes. La présence d'un tel anticorps est non seulement à prendre en compte pour l'avenir du fœtus et le risque d'anémie sévère, mais aussi pour l'avenir transfusionnel de la mère. En effet, ces individus au phénotype rare doivent recevoir uniquement leur propre sang ou celui d'autres individus possédant un phénotype identique.

Les auto-anticorps :

Ils n'ont aucune incidence fœtale mais entraînent des difficultés lors des recherches et identifications d'allo-anticorps. La pan-agglutination des hématies-test du panel due à la présence d'auto-anticorps peut ainsi masquer d'autres anticorps d'intérêt obstétrical ou transfusionnel.

b) Classification habituelle des anticorps impliqués dans les IFME [3]

Classiquement, les anticorps identifiés lors de la grossesse sont répartis selon leur risque d'induire une maladie hémolytique chez le fœtus et le nouveau-né.

On distingue ainsi :

- Les anticorps ne présentant aucun risque pour l'enfant ni le fœtus :

Très souvent, l'anticorps ne présente aucun risque pour l'enfant. C'est le cas des anti-Lewis, anti-P1, anti-lutheran, auto-anticorps, etc...

- Les anticorps présentant un risque de retentissement fœtal :

L'anti-RH1, l'anti-RH4 ainsi que l'anti-KEL1 sont les 3 principaux anticorps pour lesquels un risque d'anémie fœtale sévère doit imposer un suivi de grossesse spécialisé. A noter qu'ils sont également associés à un impact néonatal.

- Les anticorps présentant un risque de retentissement exclusivement néonatal

Impact limité à l'éventualité d'un ictère hémolytique post-natal : anti-RH3, anti-FY1, anti-MNS3, anti-RH8...

L'impact fœtal et/ou néonatal des anticorps est représenté dans le tableau suivant [3] :

Tableau 1 Anticorps et risque fœtal et néonatal d'anémie

Alloanticorps et risque de maladie hémolytique					
	Spécificité (nomenclature traditionnelle)	Spécificité (nomenclature numérique)	Maladie hémolytique néonatale	Risque d'anémie fœtale < 6 g/dl	Incidence des cas symptomatiques (pour 1 000 naissances)
Alloanticorps courants	Anti-A	Anti-ABO1	Oui	Non	~ 2
	Anti-B	Anti-ABO2	Oui	Non	~ 1
	Anti-c	Anti-RH4	Oui	Oui (après 20 SA)	0,1
	Anti-C	Anti-RH2	Oui	Non	< 0,1
	Anti-Cw	Anti-RH8	Oui	Non	< 0,1
	Anti-D	Anti-RH1	Oui	Oui (après 15 SA)	0,8
	Anti-e	Anti-RH5	Oui	Exceptionnel	0,1
	Anti-E	Anti-RH3	Oui	Rare (3 ^e trimestre)	0,1
	Anti-Fya	Anti-FY1	Oui	Exceptionnel	< 0,1
	Anti-Fyb	Anti-FY2	Oui	Non	< 0,1
	Anti-G	Anti-RH12	Oui	Non	< 0,1
	Anti-H, HI (sujets A, B, AB)	-	Non	-	0
	Anti-Jka	Anti-JK1	Oui	Exceptionnel	< 0,1
	Anti-Jkb	Anti-JK2	Oui	Non	< 0,1
	Anti-Kell	Anti-KEL1	Oui	Oui (après 15 SA)	0,05
	Anti-Kpa	Anti-KEL3	Oui	Exceptionnel	< 0,1
	Anti-Lewis	Anti-LE1, LE2	Non	-	0
	Anti-Luthéran	Anti-LU1, LU2	Non	-	0
	Anti-M	Anti-MNS1	Oui	Exceptionnel	< 0,1
	Anti-N	Anti-MNS2	Non	-	0
	Anti-P1		Non	-	0
	Anti-S	Anti-MNS3	Oui	Non	< 0,1
Anti-s	Anti-MNS4	Oui	Non	< 0,1	
Alloanticorps publics	Anti-U	Anti-MNS5	Oui	Exceptionnel	< 0,1
	Anti-publics RH	Anti-RH17, 29, 46	Oui	Exceptionnel	< 0,1
	Anti-publics Kell	Anti-KEL 2, 4, 5, 7	Oui	Exceptionnel	< 0,1
Autoanticorps	Auto-agglutinines		Non	-	0
	Autopapaïne		Non	-	0

SA: semaines d'aménorrhée.

5. Analyses disponibles pour dépister l'allo-immunisation foeto-maternelle

- a) *Le groupage ABO-RH1*
- b) *Le phénotypage RH-KEL1*
- c) *Recherche d'Agglutinines Irrégulières (RAI)*
- d) *Le Test Direct à l'Antiglobuline (TDA)*

La description de ces analyses est disponible dans *l'arrêté du 26 avril 2002 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale*. [16] (annexe 1)

- e) *Le test de Kleihauer (TK) [17]*

Le Test de Kleihauer-Betke (TK) a été initialement mis au point en 1957 par Kleihauer, dans le but de mettre en évidence par un test de réalisation simple et rapide une HFM.

Principe du test : [18]

Ce test cytochimique est fondé sur la résistance différentielle de l'hémoglobine fœtale et de l'hémoglobine adulte (HbA1 et HbA2) à l'acidité. L'examen microscopique permet après élution acide et coloration par éosine des lames d'observer et de compter les hématies fœtales intactes (rose-rouges) parmi les hématies maternelles dénaturées (hématies « fantômes »). Sensible et rapide, le test de Kleihauer est actuellement l'examen biologique de référence du diagnostic direct de l'HFM.

Limites :

- Dans un faible pourcentage de cas, le test de Kleihauer est ininterprétable en raison de la présence d'hématies maternelles possédant un contenu élevé en hémoglobine fœtale (HbF).
- Technique manuelle mal standardisée avec une variabilité inter et intra-opérateur, impactant sur la reproductibilité et la justesse.

Technique alternative : la cytométrie de flux [19]

La cytométrie de flux repose sur le marquage antigénique des membranes érythrocytaires grâce à un fluorochrome. Elle permet une analyse quantitative plus précise de l'HFM et n'est réalisée que par des laboratoires spécialisés.

- La cytométrie anti-HbF : elle permet de repérer les faux positifs maternels grâce à un double marquage : un anticorps spécifique dirigé contre les chaînes γ de l'HbF et un anticorps spécifique dirigé contre l'anhydrase carbonique exprimée uniquement chez la mère.
- La cytométrie anti-RH1 : un anticorps anti-RH1 détecte les globules rouges fœtaux chez les femmes RH-1.

Interprétation : [20]

Les résultats du TK sont présentés sous forme de pourcentage : nombre d'hématies fœtales sur 100 hématies maternelles, voire sur 10 000. Une formule simplifiée permet ensuite d'estimer le volume d'HFM : **HFM(ml) = TK × 50** (TK est exprimé en pourcentage). On considère donc que 1 globule rouge fœtal /10000 hématies représente un volume d'HFM de 0,5 ml.

Lorsque la RAI met en évidence un anticorps chez une femme enceinte, d'autres analyses sont à mettre en œuvre pour adapter le suivi et la prise en charge de cette allo-immunisation foeto-maternelle.

6. Analyses disponibles pour la prise en charge d'une AIFM

a) *Titration des allo-anticorps immuns autres que les anti-A et anti-B*

La description de cette analyse est disponible dans *l'arrêté du 26 avril 2002 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale*. [16] (Annexe 1)

Le titrage, indissociable de la RAI, est obligatoire chez toutes les femmes enceintes possédant un anticorps immun. Le pouvoir hémolytique de l'anticorps est dépendant de sa concentration et de son affinité, il est donc nécessaire, pour les anticorps du système RH, d'y associer le dosage pondéral.

b) Le dosage pondéral des allo-anticorps du système RH [2]

Le dosage pondéral, applicable pour les allo-anticorps du système RH uniquement, consiste à mesurer par méthode semi-quantitative et automatisée la concentration en anticorps. La technique de référence est une technique d'hémagglutination automatisée en flux continu (Autoanalyser®).

Des hématies-tests de phénotype RH : 1,2,3,4,5 sont traitées par broméline et sont mises en présence du sérum des patientes permettant à la réaction antigène-anticorps de se réaliser. Après élimination des agglutinats, l'auto analyseur réalise une mesure photolorimétrique de l'hémolysat des hématies restantes non agglutinées, inversement proportionnelle à la concentration en anticorps. La comparaison des mesures d'absorbance avec une gamme étalon d'anticorps de concentration connue permet de déduire la concentration pondérale apparente de l'anticorps testé.

Il existe 2 variantes dans ce dosage :

- La variante 2 temps : les hématies sont prétraitées par la broméline ce qui facilite la fixation des anticorps sur les hématies. Le dosage concerne toutes les fractions d'immunoglobulines : toutes les sous-classes d'IgG et IgM.
- La variante 1 temps : la broméline est introduite directement dans le circuit, les anticorps IgG3 sont en grande partie détruits. Le dosage concerne des anticorps de moyenne ou de haute affinité, essentiellement des IgG1.

Le résultat du dosage pondéral des anti-RH1 s'exprime en µg/ml, unités internationales (UI/mL) ou unités locales (unités CHP/mL) avec la correspondance suivante : 1 µg d'IgG anti-RH1/mL = 5UI = 250 UCHP. Pour les autres anticorps du système RH le résultat s'exprime uniquement en unité locale.

Il s'agit d'une technique lourde avec un coefficient de variation élevé de 5 à 20 %, une augmentation du taux en anticorps n'est considérée comme significative que pour des variations au-delà de 30 %.

c) Le génotypage fœtal à partir du sang maternel : diagnostic non invasif

Suite à l'isolement et au séquençage des gènes RHD puis RHCE et KEL1, le génotypage fœtal de ces gènes par amplification PCR (Polymerase Chain Reaction) est réalisable dès les années 1990 à partir de l'ADN des cellules amniotiques. Néanmoins, cette méthode invasive présente des risques tels que les pertes fœtales (1%) mais aussi les hémorragies fœto-maternelles à l'origine de réactivation ou apparition de nouveaux allo-anticorps.

Dès 1998, Lo et al met en évidence la présence d'ADN fœtal dans la circulation maternelle.[21] En effet, en se basant sur des observations antérieures mettant en avant la présence d'ADN tumoral extracellulaire en grande quantité dans le plasma de patients atteints de cancer, il a été démontré que l'ADN fœtal pouvait également être détecté dans le plasma ou sérum maternel. Dès lors, il est suggéré que cette source d'ADN fœtal peut être utilisée à des fins de diagnostic prénatal non invasif, palliant ainsi aux inconvénients que présente le génotypage fœtal sur liquide amniotique. Pour que l'ADN fœtal puisse être détecté dans la circulation maternelle, il faut que sa présence y soit en quantité suffisante. La quantité d'ADN fœtal dans le sang maternel augmente au cours de l'âge gestationnel : elle représente en moyenne 3.4% (25.4 copies/ml) de l'ADN total plasmatique en début de grossesse, puis atteint jusqu'à 6.2% (292.2 copies/ml) à un âge gestationnel avancé. Cet ADN fœtal pourrait provenir des cellules lysées lors du développement fœtal, associé à une apoptose des tissus, mais aussi des cellules apoptotiques trophoplastiques placentaires. Son augmentation s'expliquerait par une augmentation de l'interface foeto-maternelle au cours de la grossesse, mais également par une diminution de la clairance associée aux différents désordres physiologiques lors de la grossesse.

Contrairement aux cellules fœtales qui peuvent rester dans la circulation maternelle des semaines voire décennies, l'ADN fœtal présente une clairance très rapide, de quelques minutes, puisqu'il n'est plus détectable seulement 2h après l'accouchement.[22] Cette observation suggère qu'une grande quantité d'ADN fœtal doit être libérée pour maintenir une telle concentration dans la circulation maternelle. De plus, une clairance rapide met à l'abri de faux positifs qui pourraient être dus à la détection d'ADN fœtal présent lors de grossesses

antérieures. Cette rapide élimination de l'ADN fœtal circulant extracellulaire serait, en partie, due à la présence de nucléases plasmatiques.

Le premier gène mis en évidence avec le génotypage fœtal fut le gène RHD, suivi du génotypage KEL1 fœtal sur plasma maternel en 2010 et enfin, plus récemment le génotypage RHCE, en 2014. Le génotypage fœtal permet alors d'identifier des gènes portés par le fœtus et que ne possède pas la mère dans l'ADN extrait de son plasma. Le principe de base de la technique reste identique pour les 3 génotypages : il s'agit actuellement d'une extraction d'ADN fœtal circulant à partir de sang total suivi d'une amplification spécifique des exons cibles par PCR en temps réel. La détection se fait grâce à des sondes hybrides spécifiques fluorescentes. Une quantité d'ADN fœtal suffisante ainsi que le respect de conditions pré-analytiques sont indispensables pour assurer la fiabilité des résultats (âge gestationnel adéquate, prélèvement sur sang total EDTA, acheminement au laboratoire inférieur à 48h, deux centrifugations successives et congélation à -35°C). [23]

Pour mieux comprendre le choix des exons amplifiés et les difficultés rencontrées pour l'interprétation des résultats, il est utile de connaître brièvement les bases moléculaires du système RH et du système KEL.

Bases moléculaires :

- du système RH [12]

Dès 1985, la biologie moléculaire permet d'établir la base génétique du système RH : locus situé sur le chromosome 1 (1p34-1p36), il s'agit d'un haplotype constitué de 2gènes : le gène RHD, produisant l'antigène D, et le gène RHCE, produisant les antigènes C ou c, et E ou e, grâce à 4 allèles majeurs : Ce, cE , ce, CE. Ces 2 gènes, constitués de 10 exons chacun, sont en tandem inversé et séparés par le gène SMP1. Le gène RHD est entouré de 2 Rhesus box.

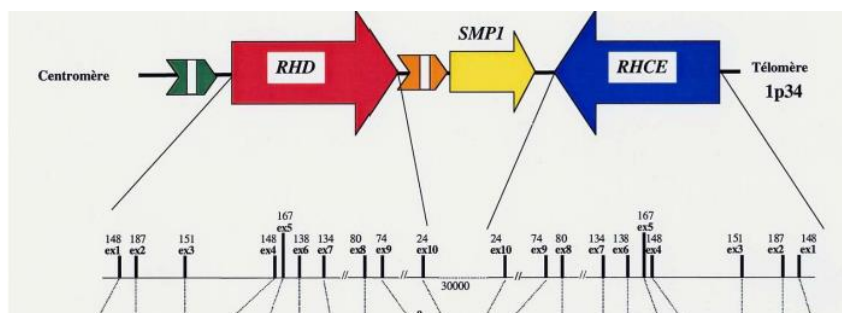


Figure 1 Organisation du locus RH

➤ Le gène RHD :

Un phénotype D positif (D+) correspond à l'expression de l'antigène D, un phénotype D négatif (D-) à une absence d'expression antigène D. Il existe différents mécanismes moléculaires conduisant à un phénotype D- et ce fonction de l'origine géographique.

Chez les populations Européennes :

- Le phénotype D négatif est dû, en grande majorité, à une délétion du gène RHD à l'état homozygote, entre les 2 boîtes Rhésus.

Chez les populations Africaines :

- 2/3 des phénotypes D négatifs sont dus à la présence d'un gène RHD inactif appelé pseudogène RHD ou encore RHD Ψ . Il s'agit d'une duplication de 37pb en début de l'exon 4 conduisant à codon stop prématuré.
- Dans certains cas, le phénotype RHD- est dû à un gène RHD hybride RHDIIIa-CE (4-7)-D. Il s'agit d'une conversion génique conduisant à une absence d'antigène RHD et à un antigène RhC plus ou moins affaibli et partiel. En effet, les exons 4 à 7 du gène RHCE sont transférés dans le gène RHD proche de l'exon 2, permettant l'expression de la spécificité conformationnelle RhC.
- Quelques cas de délétions du gène RHD peuvent également s'observer.

Chez les populations asiatiques :

- Le phénotype D négatif est très rare (1%). De plus, près de 30% des sujets asiatiques étiquetés D négatif seraient en fait D positif : phénotype Del. Ce phénotype est dû à un très faible nombre de sites antigéniques, parfois trop faible pour être détecté par les techniques sérologiques classiques.

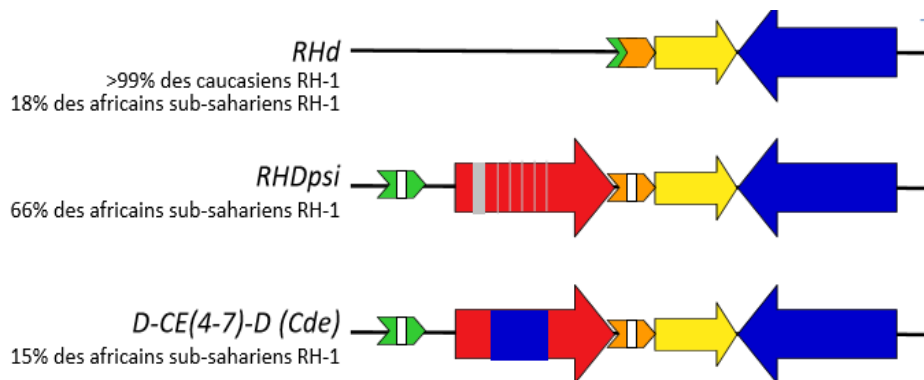


Figure 2 Base moléculaire et absence de protéine RHD [24]

➤ Le gène RHC et RHc [12]

Les différences entre les antigènes RHC et RHc sont associées à 4 mutations de substitutions dont une extracellulaire : 307T>C.

La détection de l'allèle RHCE*c repose sur la mise en évidence de la cytosine en position 307 qui est spécifique de cet allèle et qui code pour une proline en position 103.

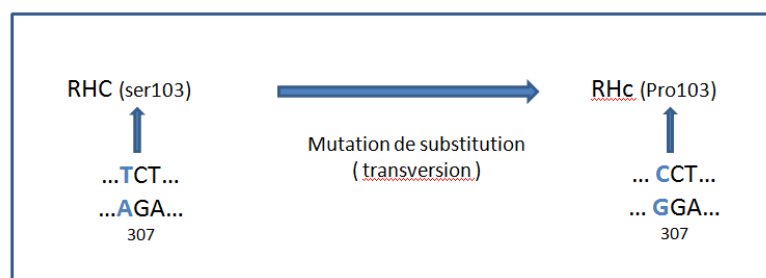


Figure 3 Base moléculaire RHC/RHc

L'expression de l'antigène RHC, conformationnel, est liée au transfert, par conversion génique, de l'exon 2 du gène RHD dans le gène RHCE. Il est retrouvé de façon spécifique une insertion de 109 pb dans l'intron 2 de l'allèle RHCE*C.

➤ Le gène RHE et RHe [12]

La détection de l'allèle RHCE*E est basée sur la mise en évidence de la cytosine en position 676 aboutissant à une proline en position 226.

La détection de l'allèle RHCE*e doit faire appel à un second polymorphisme spécifique car la guanine en position 676 est aussi partagée par l'exon 5 du gène RHD.

- **Le système KEL** [25]

Le locus Kell est situé sur le chromosome 7 (position 7q33), comporte 19 exons et 19 introns. Il code pour une protéine transmembranaire. L'ISBT répertorie 35 antigènes dans le système Kell, les bases moléculaires ont été décrites pour la majorité d'entre eux. Le polymorphisme antigénique résulte de mutations ponctuelles entraînant la substitution d'acide aminé, localisées au niveau de la partie extracellulaire amino-terminale de la protéine.

Les deux principaux antigènes sont l'antigène KEL1 (ou K), et son antigène antithétique de haute fréquence, l'antigène KEL2 (k ou encore Cellano) dont la base moléculaire se situe sur l'exon 6. La différence entre les antigènes KEL1 et KEL2 est associée à une mutation de substitution 578C>T. La détection de l'allèle KEL*1 repose sur la mise en évidence de la thymine en position 578 codant pour une méthionine en position 193.

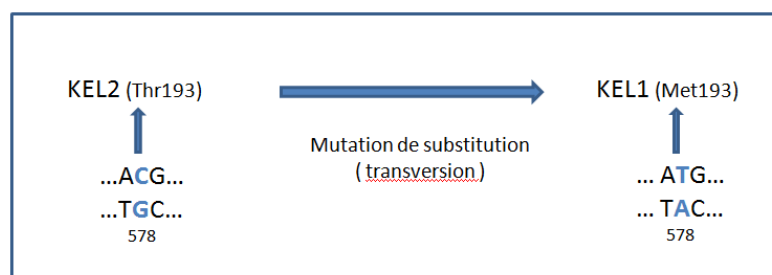


Figure 4 Base moléculaire K/k

Contrairement au système RHD, les gènes RHCE et KEL1 ne présentent pas de polymorphismes géniques selon les origines géographiques.

Aspect pratique et difficultés rencontrées pour le génotypage fœtal non invasif RHD /KEL :

o Le génotypage RHD [26]

En 2004, une étude portant sur 851 femmes enceintes de 12SA au minimum fut menée par Rouillac et al. et permit au CNRHP de valider le génotypage RHD fœtal non invasif. Les séquences spécifiques amplifiées du gène RHD étaient initialement l'exon 7 (spécifique du gène RHD et RHD ψ , mais moins sensible car absent chez certains sujets RHD partiels) et l'exon 10 (plus sensible car mieux conservé, commun aux gènes RHD, RHD ψ et gène hybride).

Une coopération entre les équipes de recherche et l'industrie conduit, quelques années plus tard, à l'élaboration d'un kit de génotypage « FreeDNAFetal Kit[®] RhD » produit par l'institut de biotechnologies J.Boy. Ce kit de **1^{ère} génération** obtient le marquage CE en juin 2007 et permet par amplification d'un ADN exogène (maïs) de vérifier la qualité de l'étape d'extraction. Ainsi, un fœtus RHD positif présente une amplification positive des exons 7 et 10 alors qu'un fœtus RHD négatif ne montre aucune amplification pour ces 2 exons.

Comme nous l'avons évoqué précédemment, chez les sujets d'origine africaine, le phénotype RhD négatif correspond le plus souvent à un gène RHD ψ . Le Kit de génotypage de 1^{ère} génération n'est donc pas adapté pour ces patientes car, bien que considérées comme RHD négatif, leur ADN présente les exons 7 et 10 du gène RHD. Cela rend alors ininterprétable le résultat du génotype fœtal et risque de conclure à des faux positifs.

Le développement d'un kit de **2^{ème} génération** : « Free DNA Fetal Kit[®] RhD » commercialisé par la société Biorad permet l'amplification d'un troisième exon supplémentaire : l'exon 5 « non D ψ ». Cet exon est absent dans le gène RHD ψ et permet de génotyper le fœtus de ces patientes. Autrement dit cela permet de rechercher un gène RHD actif dans le génome fœtal mais absent dans le génome maternel. De plus, les 3 amplifications distinctes permettant d'augmenter la sensibilité du test et détecter un maximum de variant RHD. A noter que d'autres exons sont également strictement spécifiques d'un gène RHD actif, tels que l'exon 4 et l'exon 6. Certaines équipes ont donc ciblé l'amplification de ces exons pour augmenter les performances du génotype fœtal RHD non invasif. [27]

Très récemment, le génotypage fœtal non invasif RH1 a fait l'objet d'une inscription à la nomenclature des actes de biologie médicale. [28]

- o Génotypage KEL1

Le génotypage KEL1 ne présente pas de difficulté liée au polymorphisme selon l'origine géographique mais un défaut de spécificité lié au gène KEL2 présent chez la mère. En effet, l'utilisation d'amorces classiques ne permet pas de cibler de façon spécifique la mutation correspondant au gène KEL1. Le recours à des amorces particulières permet d'améliorer nettement la spécificité. Il est donc ici d'autant plus important de respecter un délai d'acheminement <48 heures afin de limiter la quantité d'ADN maternel libérée dans le sang. [29] [30]

B. Les recommandations du suivi de grossesse en IH : évolution et état des lieux

1. Calendrier du groupe ABORHK et des RAI

Le suivi IH de la femme enceinte est prévu par la loi et prévoit la validation d'un groupe ABORHK ainsi que la Recherche d'Agglutinine Irrégulière. Concernant la RAI, le suivi sera fonction :

- Du statut RH1 ou RH-1 de la patiente
- Des antécédents transfusionnels, offrant une susceptibilité d'allo-immunisation.

Plusieurs textes officiels et publications de groupes d'experts font part des recommandations du suivi IH de la femme enceinte.

a) Les décrets et lois

Tableau 2 Décrets et lois relatifs au suivi IH de la femme enceinte

	Groupe ABO RHK	RAI chez les femmes enceintes RH-1 et/ou avec antécédents transfusionnels	RAI chez les femmes enceintes RH1 sans antécédents transfusionnels
<p><i>Arrêté du 19/04/1985 relatif aux examens médicaux pré et postnataux [31]</i></p> <p><i>Circulaire DGS du 17/05/1985 relative à la prévention des accidents transfusionnels et des accidents d'allo-immunisation [32]</i></p>	<p>« Il doit être pratiqué chez toutes les primipares lors du premier examen prénatal la détermination du groupe sanguin, du phénotype RH [...] et du phénotype Kell. Cette mesure s'applique également aux multipares n'ayant pas été soumises à ce dépistage. »</p>	<p>A 4 reprises :</p> <p>Avant la fin du 3^{ème}M*</p> <p>Au cours du 6^{ème}M</p> <p>Au début du 8^{ème} M</p> <p>A l'accouchement ou dans les 8 semaines suivantes</p>	<p>Au moins une fois :</p> <p>Au cours du 6^{ème} ou 8^{ème}M</p>
<p><i>Décret n°92-143 du 14/02/1992 relatif aux examens obligatoires prénuptial, pré et postnatal [33]</i></p>	<p>1^{ère} détermination avant la fin du 3^{ème} M</p> <p>2^{ème} détermination au cours du 8^{ème} ou 9^{ème}M</p>	<p>A 4 reprises :</p> <p>Avant la fin du 3^{ème} M</p> <p>Au cours du 6^{ème} M</p> <p>Au cours du 8^{ème} M</p> <p>Au cours du 9^{ème} M</p>	<p>Au moins une fois :</p> <p>Avant la fin du 3^{ème}M</p>

M* : Mois

Si la RAI est positive, l'identification et le titrage des anticorps sont obligatoires.

b) Les groupes d'experts

Tableau 3 Groupes d'experts et recommandations de suivi IH de la femme enceinte

	Groupe ABO RHK	RAI chez les femmes enceintes RH-1 et/ou avec antécédents transfusionnels	RAI chez les femmes enceintes RH1 sans antécédents transfusionnels
<p>Conclusions de la table ronde organisée par l'EFS : « traitement des urgences transfusionnelles obstétricales » (26.09.2000) [34]</p> <p>(Société Française d'Anesthésie et de Réanimation (SFAR) Collège des obstétriciens, EFS, Société Française de Transfusion Sanguine (SFTS))</p>	<p>1^{ère} détermination avant la fin du 3^{ème} M*</p> <p>2^{ème} détermination au cours du 8^{ème} ou 9^{ème} M</p>	<p>A 4 reprises :</p> <p>Avant la fin du 3^{ème} M</p> <p>Au cours du 6^{ème} M</p> <p>Au cours du 8^{ème} M</p> <p>Au cours du 9^{ème} M</p> <p>En post-partum : à préconiser</p>	<p>Au moins 2 reprises avant l'accouchement :</p> <p>3^{ème} M 8^{ème} ou 9^{ème}</p> <p>En post-partum : à préconiser</p> <p>Préférence pour le 9^{ème} M si RAI négative au 3^{ème} M en raison de la fréquence des HFM au cours du 3^{ème} trimestre de la grossesse.</p> <p>Cette 2^{ème} RAI est à visée transfusionnelle : elle répond de manière adaptée en cas d'urgence vitale.</p>
<p>Recommandations du Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français (CNGOF) (2005) [1]</p>	<p>Double détermination</p>	<p>Au cours du 1^{er} Trimestre</p> <p>Au cours du 6^{ème} M:26-28 SA</p> <p>Suppression RAI 8^{ème} M si injection anténatale d'IgRH (300µg) à 28 SA</p> <p>Si absence d'injection IgRH 300µg à 28 SA : maintien RAI du 8^{ème} M</p> <p>RAI ultérieures à visée transfusionnelle : à réaliser à l'admission pour accouchement.</p> <p>Avant administration IgRH: RAI < 1 semaine pour s'assurer de l'absence d'allo-immunisation anti-RH1 (ne pas attendre les résultats en cas de situation d'urgence).</p>	<p>Les recommandations du CNGOF de 2005 concernent le suivi immuno-hématologique des femmes RH-1 principalement</p>

<p>Présentation du 25/06/2010 : suivi de la femme enceinte, Centre national de référence en hémiobiologie périnatale (CNRHP) [35]</p>		<p>Au cours du 1^{er} Trimestre Au cours du 2^{ème} Trimestre Au cours du 3^{ème} Trimestre Fin de grossesse</p> <p><u>RAI/immunoprophylaxie</u> Avant administration IgRH : RAI < 1 semaine Contrôle 24-48h après A distance de l'injection</p>	<p>Au cours du 1^{er}Trimestre En fin de grossesse</p>
<p>Cortey, CNRHP (2012) [3]</p>		<p>A 4 reprises :</p> <p>Au cours du 1^{er} Trimestre Au cours du 6^{ème} M Au début du 8^{ème} M A l'accouchement</p>	<p>Au cours du 1^{er} trimestre Au début du 8^{ème} M A l'accouchement</p>
<p>Mannessier CNRHP (2011) [11]</p>		<p>Au cours du 1^{er} trimestre Au cours du 6^{ème} M Au cours du 8^{ème} M Au cours du 9^{ème} M Dans les 8 semaines suivant l'accouchement</p> <p><u>RAI/immunoprophylaxie</u></p> <p>Avant l'injection d'IgRH, RAI<1 semaine</p> <p>Suppression RAI 8^{ème}M si injection anténatale d'IgRH (300µg) à 28 SA, à condition que le calendrier des RAI soit révisé</p>	<p>Au cours du 1^{er} trimestre Au début du 8^{ème} M A l'accouchement</p>
<p>Haute Autorité de Santé (2016) [36]</p>	<p>1^{ère} détermination 1^{er} trimestre (avant 10SA) 2^{ème} détermination 8^{ème}M</p>	<p>1^{er} trimestre (10SA)</p> <p>Au cours 6^{ème}M : 26-28 SA</p> <p>Suppression RAI 8^{ème}M si injection anténatale d'IgRH (300µg) à 28 SA</p> <p>9^{ème} M : Pas de RAI</p>	<p>1^{er} Trimestre</p>

M* : Mois

Là encore, l'identification et le titrage des anticorps sont obligatoires en cas de RAI positifs.

Concernant le calendrier du groupage ABORHK, les textes de loi et groupes d'experts recommandent tous 2 déterminations au cours de la grossesse : au cours du premier examen prénatal (3^{ème} mois) et lors du 8^{ème} ou 9^{ème} mois.

En revanche, concernant la RAI, même si dans l'ensemble le calendrier recommandé semble être identique pour tous les groupes d'experts et textes de loi, quelques subtilités sont mises en évidence dans ce tableau. Elles concernent principalement la RAI de fin de grossesse (9^{ème} mois et accouchement) mais également les RAI dans le cadre de l'immunoprophylaxie anténatale systématique. En effet, les recommandations du CNGOF en 2005 ont bouleversé le calendrier de suivi des RAI chez la femme enceinte en préconisant une RAI avant injection systématique d'IgRH à 28SA et, dès lors une suppression de la RAI du 8^{ème} mois chez les femmes RH-1. En 2016, l'HAS s'est appuyé sur les recommandations du CNGOF et représente les dernières recommandations à ce jour. Celles-ci feront l'objet d'une discussion dans la suite de ce travail.

2. Prévention de l'AIFM

a) *La prévention primaire*

- Immunoprophylaxie anti-RH1 : immunoglobuline polyclonale anti-RH1 (IgRH1) :

Généralités :

o Historique [6]

L'antigène RH1, découvert dès 1940, est le premier antigène du système RH mis en évidence. Très immunogène, il est impliqué dans la majorité des maladies hémolytiques sévères du fœtus comme du nouveau-né. De par ces éléments, il paraissait évident qu'une prophylaxie visant à empêcher l'immunisation anti-RH1 devait être mise en place.

L'hypothèse qu'une injection passive d'anticorps dirigés contre un antigène puisse empêcher l'immunisation contre cet antigène fut émise lors d'une expérience sur des lapins par Von Dungen en 1900, bien avant la découverte de l'antigène RH1. Ce n'est pourtant que 60 ans plus tard que des travaux sur la prévention de l'allo-immunisation par injection passive d'immunoglobulines anti-RH1 ont vu le jour.

Dans un premier temps, des essais ont été menés sur des hommes RH-1. Les premiers ont été réalisés par Stern, qui leur a injecté des IgG anti-RH1 fixés sur globules rouges RH1+. D'autres équipes ont ensuite injecté chez ces hommes des globules rouges RH1+, suivi d'une injection de sérum contenant des anticorps anti-RH1 issus de femmes immunisées. Outre les études menées par Liverpool qui n'ont pas obtenu de bons résultats à cause de l'utilisation d'anti-D de nature IgM, l'ensemble des équipes a montré que, sous certaines conditions, l'injection passive d'un anticorps anti-RH1 était sécuritaire et efficace pour prévenir l'allo-immunisation.

Par la suite, des essais ont été appliqués chez des femmes enceintes RH-1. Nous retenons 3 grands essais cliniques dans les années 60 menés à Liverpool, au Canada et aux Etats-Unis. Des résultats satisfaisants auxquels viennent s'ajouter d'autres études provenant de nombreux pays marquent le début de l'utilisation de la prophylaxie par immunoglobuline anti-RH1 chez les femmes enceintes RH-1 au début des années 1970.

o Production et effets indésirables

Les immunoglobulines anti-RH1 sont de nature IgG et obtenues par fractionnement alcoolique ou chromatographique de pools de plasma à haute teneur en IgG anti-RH1. Ces immunoglobulines sont issues de femmes immunisées après grossesse ou, plus souvent, chez des volontaires masculins délibérément immunisés par micro-transfusions répétées d'hématies RH1+ et sécurisées après quarantaine prolongée. [37] Les immunoglobulines actuellement commercialisées proviennent exclusivement de donneurs sains d'Amérique du Nord, hyperimmunisés et rémunérés le plus souvent. Les IgRh constituent un médicament dérivé du sang (MDS) et à ce titre, leur prescription doit satisfaire à des règles de traçabilité et d'information. Concernant les effets indésirables, ils comportent de très rares réactions allergiques et d'hypersensibilité. Quant au risque de transmission virale, il est extrêmement faible du fait des traitements appliqués pour éliminer les virus. Peu d'études se sont intéressées au retentissement fœtal de l'exposition aux anti-RH1 pendant la grossesse. Néanmoins, toutes s'accordent à montrer que l'immunoprophylaxie par IgRh anti-RH1 peut être à l'origine d'un TDA positif chez 10% des nouveau-nés, mais ne s'accompagnent pas de signes cliniques d'hémolyse fœtale ou néo-natale. [38] [39]

o Mécanismes d'action des IgRh

Levine est l'un des premiers à remarquer que l'incompatibilité ABO entraînerait une clairance augmentée des globules rouges fœtaux de la circulation maternelle et ainsi une diminution de l'allo-immunisation anti-RH1.[39] De plus, les IgM ne traversent pas la barrière placentaire et seraient donc sécuritaire pour le fœtus possédant des globules rouges RH1+. Pour ces raisons, des tentatives d'immunoprophylaxie avec des immunoglobulines anti-RH1 de type IgM ont été réalisées. Cependant, nous savons aujourd'hui que ces immunoglobulines ne procurent aucune protection car, contrairement aux anticorps du système ABO, ces IgM n'activent pas le complément et ne provoquent pas d'hémolyse intra-vasculaire. En revanche, les IgRH de type IgG confèrent bien une protection contre l'immunisation anti-RH1. Leur mécanisme, non complètement élucidé, est complexe et multifactoriel.

A ce jour, plusieurs mécanismes complémentaires se dégagent :

- « **masquage** » **des sites antigéniques RH1** vis-à-vis du système immunitaire maternel. Cependant, le calcul de la dose suffisante pour assurer une protection efficace montre que tous les sites antigéniques ne sont pas masqués.[8][39][40] De plus, certains auteurs évoquent une protection contre l'allo-immunisation anti-RH1 par injection passive d'IgG anti-KEL1 (étude portant sur 62 hommes ayant reçu des globules rouges RH1 KEL1, associés ou non à des d'IgG anti-KEL1). [6] [8]

- **Clairance et dégradation rapide de l'antigène RHD** : les globules rouges fœtaux RH1+ sont éliminés de la circulation maternelle. La formation de complexes immuns active les récepteurs FcγRIII des macrophages et lymphocytes NK entraînant ainsi l'élimination extravasculaire des globules rouges fœtaux. [5] Cette destruction se produisant dans la rate, organe riche en lymphocytes où sont synthétisés les anticorps, il semblerait que la prévention de l'allo-immunisation ne puisse se limiter à la clairance des globules rouges fœtaux. [6]

- **Inhibition des cellules B spécifiques** : la présence d'une immunoglobuline IgG sur l'antigène RH1 inhibe l'activation des lymphocytes et leur différenciation en plasmocytes sécréteurs d'anticorps spécifiques. Le blocage est assuré par l'interaction entre la région Fc des immuns complexes et les récepteurs FcγRII des lymphocytes. Ce mécanisme de rétrocontrôle participe à la régulation de la production d'anticorps. [5] [6]

- **Mécanisme de rétrocontrôle négatif « antigen blocking-central inhibition »**. Cet autre mécanisme de rétrocontrôle serait assuré par les lymphocytes T suppresseur et le blocage de lymphocytes T helper lorsqu'un complexe immun antigène-anticorps est formé. [6] [39]

- **Eloignement des globules rouges fœtaux RH1+ de cellules dendritiques (CD)**. Les CD sont des cellules présentatrices de l'antigène (CPA) hautement susceptibles d'entraîner une réponse immune, mais dépourvues de récepteurs Fc des anticorps. A l'inverse, les macrophages possèdent les récepteurs Fc des anticorps leur permettant d'assurer l'élimination des complexes immuns mais ne sont pas des CPA hautement susceptibles d'entraîner une réponse immune. [5] [39]

- **« Antigen modulation »** : la perte de l'antigène serait observée en présence de l'anticorps correspondant. Chez la souris, l'antigène Kel deviendrait indétectable par cytométrie de flux après injection passive d'IgG anti-Kel. Même si cette hypothèse est recevable, il reste difficile d'établir quelle serait sa part dans le mécanisme de la prévention de l'allo-immunisation. [40]

Les IgRh, bien qu'utilisées depuis de nombreuses années, présentent un mécanisme qui reste encore peu élucidé actuellement. Elles sont efficaces dans la prévention de la réponse immune primaire mais sont inutiles pour empêcher une réponse immune secondaire.

La prévention de l'allo-immunisation anti-RH1 de 1970 à 2005 (37)

Avant la fin des années 1960, l'incidence en France de l'allo-immunisation anti-RH1 est comprise entre 6 et 10 pour 1000 naissances.

En 1969 débute l'immunoprophylaxie anti-RH1, son indication est dans un premier temps posée exclusivement lors du post-partum chez les femmes RH-1 non allo-immunisée anti-RH1, donnant naissance à un nouveau-né RH1. Pour une efficacité maximale, l'injection doit avoir lieu dans un délai de 72h après l'accouchement. Cette recommandation s'appuie sur de nombreuses études témoignant d'un taux d'efficacité de 90% du traitement délivré au premier accouchement. Très rapidement, l'indication va s'étendre au post-abortum (Morts Fœtales In Utero, interruptions volontaires de grossesses, fausses couches), l'existence d'allo-immunisations imputables aux avortements étant largement reconnues depuis 1965. Par la suite,

le traitement préventif sera également proposé en cours de grossesse lors de l'existence d'un risque d'hémorragies foeto-maternelles et constitue dès lors une prophylaxie ciblée. Il s'agit de manœuvres obstétricales ou interventions touchant l'utérus : cerclage, amniocentèse, cordocentèse, prélèvement de trophoblaste ou de villosités choriales, traumatisme maternel, décollement placentaire, saignement vaginal...

La mesure du volume d'HFM est primordiale pour adapter la posologie d'IgRH, d'où la nécessité d'effectuer un TK lors de l'accouchement. Le prélèvement ne doit pas être effectué trop tôt (30 min) afin de ne pas sous-estimer le volume d'un passage transplacentaire. La posologie recommandée correspond à la présentation commerciale du produit de 100 µg (Natead®), par voie Intra-Veineuse, pour des HFM inférieures à 1,25 ml de globules rouges (rapport de 5 pour 10000). En cas d'HFM supérieure, la posologie doit être adaptée sur la base de 100 µg par tranche de 5 ml (rapport de 20 pour 10000) de globules rouges fœtaux en circulation.

Ainsi, l'incidence de l'IFM anti-RH1 s'effondre grâce au début de l'immunoprophylaxie et à la chute de l'indice de fécondité pour atteindre, 25 ans plus tard, un taux situé à 0.9 pour 1000 naissances (région Parisienne, 1995). Cette baisse importante d'un facteur 10 en moins de 30 ans touche surtout les grossesses de rang supérieures ou égales à 2.

Les recommandations du CNGOF de 2005 : la prophylaxie anténatale systématique

o L'allo-immunisation résiduelle :

La persistance des cas résiduels d'AIFM anti-RH1 en France, malgré une prophylaxie anténatale ciblée et post-natale systématique, s'estime à 750 cas environ par an. Plusieurs facteurs peuvent en être l'origine et se répartissent par tiers entre posologie ou délai non adapté, oubli de prévention (notamment après une fausse couche ou IVG), et échec d'une prévention bien conduite. Parmi ces échecs, la principale cause est une HFM passée inaperçue. La fréquence et le volume de l'HFM augmentent avec l'âge gestationnel et 0.94% des femmes ont une HFM supérieure à 5 ml de sang fœtal (2.5 ml d'hématies fœtales) entre la 30 et 39SA. On estime alors que 20 à 45% des allo-immunisations résiduelles sont liées à la survenue d'HFM spontanées occultes en fin de grossesse et pourraient être prévenues par une prophylaxie anténatale systématique au 3^{ème} trimestre. [41] [42]

- o Certaines réticences sont évoquées face à cette nouvelle recommandation :
 - Insuffisance de la collecte nationale de plasmas immuns, qui devraient tripler en cas de généralisation de la prévention anténatale systématique du 3^{ème} trimestre.
 - Risque infectieux des IgRh : l'affaire du « sang contaminé » reste présente dans les esprits.
 - Incidence des IFM RH1 rassurante et témoignant d'un bon niveau d'efficacité de la prophylaxie ciblée et post-natale systématique déjà en place.
 - Progrès du dépistage et du traitement des IFM RH1 permettent de réduire la mortalité périnatale des cas d'IFM RH1 à 1-2 %, soit un taux de 1-2 pour 100 000 naissances.
 - Traitement inutile chez 40% des femmes enceintes RH-1: seulement 60% d'entre elles porteront un fœtus RH1.
 - Immunisation du 3^{ème} trimestre statistiquement faible par rapport à un accouchement.
 - Retards potentiels de mise à disposition de concentrés de globules rouges (CGR) dans le péri-partum par confusion entre anti-RH1 d'immunisation et anti-RH1 passif
 - Rapport coût/bénéfice élevé [37] [42]

- o Les schémas de prévention des autres pays Européens et Nord-Américains

La politique de l'injection anténatale systématique au 3^{ème} trimestre d'IgRH chez les femmes RH-1 est mise en vigueur dans la plupart des pays Européens et Nord-Américain depuis de nombreuses années. Les modalités d'administration (posologie et âge gestationnel) sont variables d'un pays à l'autre. [41]

Tableau 4 Politique de prévention comparée dans les principaux pays industrialisés [41]

	Existence de RPC	Type de prophylaxie Anténatale	Si prophylaxie anténatale systématique	
			Dose	Age gestationnel
Australie	Oui	Systématique	155	28 et 34 SA
Autriche	Non	Systématique/ciblée	300	28 SA
Canada	Oui	Systématique	300	28 SA
Espagne	Non	Systématique/ciblée	300	28 SA
France	Non	Ciblée	-	-
Italie	Non	Ciblée	-	-
Pays-Bas	Oui	Systématique	200	30 SA
Roy. Uni	Oui	Systématique	2 x 100	28 et 34 SA
Suisse	Oui	Systématique	300	28 SA
USA	Oui	Systématique	300	28 SA

RPC : recommandation pour la pratique clinique

Le premier pays à avoir effectué des essais thérapeutiques de la Prévention Anténatale de Routine Anti-D (PARAD) est le Canada, dans les années 1970. Avec un protocole d'injection unique de 300 µg d'IgRH à 28 SA, une réduction d'environ 80 % des immunisations anténatales fut obtenue.[42] Ainsi, l'incidence des AIFM anti-RH1 résiduelle semble inférieure à celle constatée en France et s'élève à 0.4 pour 1000 naissances, ce qui représente approximativement 1 à 2% des femmes enceintes RH-1. [43]

Au Pays-Bas, la PARAD est limitée aux femmes nullipares et fait l'objet d'un plan national depuis juillet 1998 avec une injection unique de 200 µg à 30 SA. Une étude comparative historique entre un groupe de femmes ayant bénéficié d'une PARAD à la grossesse précédente et un groupe témoin de femmes enceintes de même parité n'ayant pas bénéficié de la PARAD (1er accouchement < 1998) a montré une diminution de 50% du taux d'AIFM avec diminution des formes graves. Les auteurs ne jugent actuellement pas nécessaire d'étendre en Hollande la PARAD aux femmes enceintes RH :-1 ayant déjà accouché.[44]

Dans le district de santé d'Oxford (Royaume-Uni), la PARAD est proposée depuis 1986 à toutes les femmes enceintes nullipares sous la forme de deux injections de 100 µg à 28 SA et 34 SA et elle n'a pas été étendue dans ce district aux multipares, malgré les recommandations faites en 2002 par le National Institute for Clinical Excellence (NICE).[44] [42]

La supériorité de la PARAD a été démontrée lors d'une revue bibliographique menée en 2006 par Parant, de 11 études comparatives, incluant 2 méta analyses (NICE et Cochrane) et plus de 30 000 patientes traitées. Malgré l'hétérogénéité des études (groupe témoin parfois absent, protocoles d'administration variables dans la posologie et la date d'administration, parité des patientes, moment de l'évaluation de l'immunisation), la quasi-totalité des auteurs concluent à l'efficacité clinique de la prophylaxie anténatale systématique, soit à la posologie de 300µg à 28SA, soit à la posologie de 100µg à 28 et 34 SA, sans exclure une prévention ciblée supplémentaire en cas de situation à risque. [41]

o Les recommandations CNGOF 2005

Dans un contexte d'allo-immunisations anti-RH1 résiduelles, d'absence de recommandations pour la pratique clinique formalisées et d'une prophylaxie différente dans la plupart des autres pays industrialisés, de nouvelles recommandations sont mises en œuvre par le CNGOF, en collaboration avec le CNRHP et la SFPM, en 2005. Ce sont les dernières recommandations en vigueur actuellement.

Outre la mise en place d'une prophylaxie anténatale systématique au 3^{ème} trimestre de grossesse, ces nouvelles recommandations mettent l'accent sur d'autres points importants visant à améliorer les pratiques déjà mises en place et adapter les nouveaux produits imposés par le marché (Rhophylac[®]200 IV et Rhophylac[®]300 IM ou IV). [44]

Ainsi, les principales recommandations de 2005 insistent sur : [1] [44]

La traçabilité et l'information des patientes :

« Si la femme est RhD négatif, une information doit être délivrée sur l'immunisation anti-D : dépistage, suivi, prévention. À cette occasion, le groupe RhD du conjoint est à documenter ».

« Le consentement de la patiente doit être systématiquement obtenu avant toute administration d'immunoglobulines anti-D. »

« Lors de toute injection d'immunoglobulines, le nom du produit et le numéro de lot doivent être notés dans le dossier patient ».

Eviter une prophylaxie inutile et inclure le génotypage fœtal RH1 sur sang maternel :

« Lorsqu'une indication d'immunoprophylaxie se présente, si le conjoint est RhD négatif et la paternité certaine : la prophylaxie anti-D peut être évitée. Si le conjoint est RhD positif ou inconnu : la prophylaxie anti-D doit être proposée. » « Lorsque le génotypage fœtal RhD sur sang maternel peut être réalisé, il est recommandé de l'appliquer afin de limiter la prophylaxie Rh aux seules femmes enceintes d'enfant RhD positif. »

Un nouveau schéma de prophylaxie incluant prévention ciblée, une prévention systématique à 28SA et prévention post-natale en cas de nouveau-né RH1 positif.

Ce schéma tient compte de :

- La voie d'administration

Les IgRh peuvent être injecté par voie intra-musculaire (IM) ou intra-veineuse (IV). Une étude menée en 1970 par le secteur d'hémobiologie périnatale de Paris vise à comparer l'efficacité, à quantité équivalentes, d'immuno-globulines anti-D introduites par voie intra-musculaire et par voie intra-veineuse chez des femmes RH-1 venant d'accoucher d'enfant RH1+ ABO compatibles. Cette étude montre une activité très supérieure de la IV à la voie IM, à quantité égale d'anticorps injectés pour un volume donné d'hémorragie fœtale. [45]

Ainsi, « Toute femme enceinte RhD négatif, non immunisée contre l'antigène D et dont le fœtus est connu ou présumé RhD positif, se verra proposer une injection d'immunoglobuline anti-D de **300 µg par voie intramusculaire** à 28 semaines d'aménorrhée (\pm 1 semaine) » et « **la voie intraveineuse sera toujours préférée pour la prophylaxie post-exposition.** La voie IV est hautement recommandée lorsqu'on s'approche du délai de 72 heures ou en cas d'hémorragie fœto-maternelle identifiée. »

- Des dosages disponibles

Plusieurs dosages existent selon les pays et varient de 100 à 300µg. En France, les immunoglobulines anti-RH1 sont initialement disponibles sous le nom de Natead[®] au dosage de 100µg.[37] Actuellement, les immunoglobulines pour la prophylaxie anti-RH1 sont présentées au dosage de 200µg et 300µg sous le nom de RHOPHYLAC[®]. [1]

- De la différenciation des situations à faible risque et à risque élevé d'immunisation (Annexe 2)
- De la quantification des HFM pour adapter la posologie d'IgRH à partir du 2^{ème} trimestre, grâce au TK, inscrit à la nomenclature en Avril 2007. (Annexe 3)

Le tableau suivant présente une synthèse de la prévention de l'allo-immunisation anti-RH1 recommandée depuis 2005 :

Tableau 5 Tableau des indications à l'usage du praticien qui suit la grossesse [1]

Femmes Rhésus-D négatif : prévention de l'allo-immunisation anti-RhD - Juin 2006

< 15 SA	15 à 27 SA	27 à 29 SA	29 SA à accouchement	Accouchement
Prélever une RAI avant toute injection d'IgRh				
Prévention ciblée : - FCS, IVG, GEU, IMG - Métorragies, môle, réduction embryonnaire, cerclage, traumatisme abdominal - Ponction amniotique, biopsie de trophoblaste	Prévention ciblée : -Risque élevé d'HFM(*) (HFM↑↑) FC tardive, IMG, MIU, traumatisme abdomino-pelvien, cordocentèse -Risque faible d'HFM Amniocentèse simple, métorragies, cerclage tardif	Prévention Systématique	Prévention ciblée : Abstention si 300µg(28SA) SAUF SI risque élevé d'HFM (HFM↑↑) (version, MIU, traumatisme abdomino-pelvien, ponction cordon ou organe foetal)	Si nouveau-né RhD positif : ⇒ Injection d'IgRh Abstention possible si : - < 3 semaines après IgRh - ET Kleihauer négatif - ET anti-D>6ng/ml
Kleihauer : non	Kleihauer : oui si HFM↑↑	Kleihauer : non	Kleihauer : oui si HFM↑↑	Kleihauer : oui
Rhophylac® 200 IV dans les 72h	Rhophylac® 200 IV dans les 72h	Rhophylac®300 IM ou IV	Rhophylac®200 IV dans les 72h	Rhophylac®200 IV dans les 72h
Avant toute injection d'IgRh, prélever une RAI (sans attendre le résultat) pour s'assurer a posteriori de l'absence d'immunisation				
Après toute injection d'IgRh, assurer la traçabilité (dossier patiente ET pharmacie ; 2 étiquettes dans la boîte)				
Calendrier des RAI : Premier trimestre (avec groupe sanguin si non fait) ; 6^e mois (peut correspondre à la RAI avant l'injection systématique à 28 SA) ; 8^e mois seulement si Rhophylac® 300 non fait à 28 SA ; quatre dernières semaines : sécurité transfusionnelle				

(*)HFM : hémorragie foeto-maternelle. ; HFM↑↑ : risque élevé d'HFM

o Impact sur la RAI

L'injection de RHOPHYLAC[®] à 28SA peut perturber l'interprétation des RAI ultérieures lors du suivi de grossesse. En effet, les IgRH ont une demi-vie de 21 jours et il reste en théorie après leur injection : 50% à trois semaines, 25% à six semaines et 12.5% à douze semaines, correspondant à des taux décelables par la technique utilisée pour la RAI. [9]. Ainsi, lorsqu'une dose de 300µg d'IgRh est administrée, la RAI peut rester positive pendant une durée de 3 à 4 mois. [38]

Deux types d'erreur d'interprétation sont possibles: [46]

- Conclure à une allo-immunisation anti-RH1. Cette erreur peut s'observer lorsque la notion d'injection de RHOPHYLAC[®] n'est pas connue du laboratoire ou lorsque la date est erronée. Il en résulte deux conséquences : un suivi obstétrical rapproché inutile et souvent anxiogène pour la patiente et l'absence d'indication de RHOPHYLAC[®] lors de l'accouchement, la patiente étant considérée déjà allo-immunisée.
- Conclure à un anti-RH1 passif alors que la patiente présente une vraie allo-immunisation anti-RH1. Cette erreur peut s'observer lorsque le statut immunologique de la patiente avant injection est méconnu. Le risque est alors de ne pas indiquer un suivi obstétrical adapté pouvant conduire à des conséquences sévères sur le fœtus ou le nouveau-né.

Ces difficultés ont conduit à l'élaboration d'une technique appelée micro-titrage permettant de distinguer un anticorps-passif anti-RH1 d'un anticorps immun anti-RH1 issu d'une allo-immunisation foeto-maternelle.

o Intérêt du micro-titrage [2]

Le micro-titrage permet de répondre à 3 grandes questions en cas d'injection d'IgRh :

- Existe-t-il une allo-immunisation anti-RH1 associée à la présence de l'anti-RH1 passif ? En connaissant la date et la dose injectée, il est possible de comparer la concentration d'anti-RH1 mesurée avec une concentration attendue.

- La quantité d'anti-RH1 passif est-elle suffisante pour assurer une protection en cas d'hémorragie foeto-maternelle ? Une efficacité optimale de 100% est obtenue avec une concentration d'IgRh supérieure à 20 ng/ml de globules rouges fœtaux RH1+.
- Le dosage pondéral est-il nécessaire ? Le dosage pondéral est à utiliser en seconde intention, lorsque le résultat du microtitrage est douteux et ne permet pas de trancher sur la présence d'un allo-anticorps anti-RH1 immun.
 - o Technique du micro-titrage [35]

Il s'agit d'une technique simple d'hémagglutination en support gel mise en place par le CNRHP, utilisant des hématies papainées RH : 1, -2,-3,4,5. Plusieurs dilutions d'un étalon standard d'anti-RH1 de concentration connue et de l'échantillon de sérum de la patiente contenant un anti-RH1 sont effectuées en parallèle. Les dilutions sont de raison géométrique 2, du pur au 1/32^{ème}. La concentration de l'anti-RH1 présent dans le sérum de la patiente, exprimé en ng/ml, est égale à l'inverse de la dernière dilution réactive multiplié par la concentration de la dilution du standard anti-RH1 avec la même intensité d'agglutination.

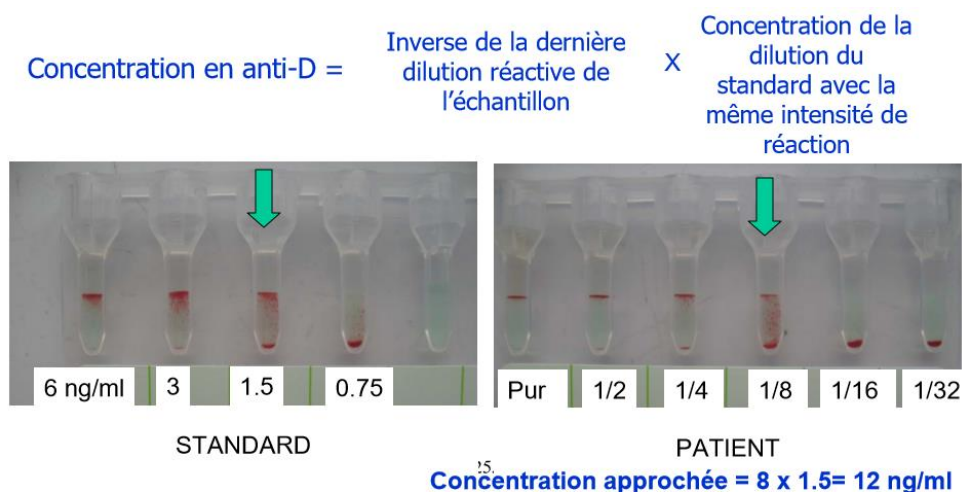


Figure 5 Technique du microtitrage [35]

La concentration mesurée est ensuite comparée avec une concentration attendue, qui dépendra du délai d'administration mais aussi de la dose injectée. Ainsi, une concentration inférieure ou égale à la concentration attendue permet de conclure à un anti-RH1 passif. En revanche, une concentration en anti-RH1 supérieure à la concentration attendue signera une allo-immunisation anti-RH1.

En pratique, il est également possible de s'aider des intensités de réaction (0 à 4+) de l'anti-RH1 à la RAI pour s'orienter vers un anticorps passif ou une allo-immunisation, lorsque la date d'injection est connue. En effet, un travail réalisé en 2016 par l'EFSAM montre que l'intensité d'un anticorps passif diminue ainsi dans le temps : $\leq 3+$ un mois après ; $\leq 2+$ plus de 50 jours après et $\leq 1+$ plus de 70 jours après. Une intensité supérieure à celle attendue doit faire suspecter une allo-immunisation et conduire à la réalisation d'un microtitrage. (Annexe 4)

➤ Prévention de l'allo-immunisation des autres anticorps

Il n'existe à ce jour aucune immunoprophylaxie pour les autres anticorps impliqués dans les maladies hémolytiques du nouveau-né. La prévention des MHNN existe pour les anticorps anti-RH2, RH3, RH4, RH5 et l'anti-KEL1 et repose exclusivement sur les recommandations des sélections des produits à transfuser chez les femmes en âge de procréer. [3] En effet, « Il est recommandé de prescrire la qualification phénotypé RH-KEL1 [...] avec pour objectif de prévenir l'apparition d'allo-anticorps, chez les femmes, de la naissance jusqu'à la fin de la période procréatrice ». [47] Cette prévention reste limitée puisqu'elle ne permet uniquement la prévention des MHNN lors des premières grossesses.

b) Prévention secondaire

La question d'une prévention secondaire d'incompatibilité fœto-maternelle se pose lors d'un désir de nouvel enfant chez une femme immunisée. Il est important d'aborder avec le couple l'importance et la lourdeur du suivi à envisager pour avoir les meilleures chances d'une issue favorable. [3] Deux éléments vont permettre de mieux conseiller le couple :

- La cinétique des titrages des anticorps au cours de la grossesse précédente et l'histoire de la maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN) du dernier enfant. Le pic du taux d'anticorps s'observe entre 4 et 6 semaines après l'accouchement, suivi d'une décroissance au fil des mois dont le rythme est propre à chaque patiente. En moyenne, une baisse très nette est observée 2 ans après l'accouchement ; il n'est donc pas raisonnable de débiter une nouvelle grossesse avant ce délai.

- La détermination du caractère homo-ou hétérozygote du père pour l'antigène concerné par l'anticorps de la mère. Cela sert en pratique à mieux informer les couples qui souhaitent connaître leur chance d'avoir une grossesse compatible.

En France, le diagnostic pré-implantatoire (DPI) peut être proposé dans le cadre d'une AIFM. [48] Il consiste en l'analyse génétique de cellules embryonnaires avant le transfert d'embryons dans l'utérus. C'est une procédure permettant à des couples à risque d'éviter la naissance d'enfants atteints d'une maladie génétique connue, le risque étant ici la présence chez le fœtus de l'antigène érythrocytaire correspondant à l'allo-anticorps maternel. A ce jour, quatre grands centres sont autorisés par l'Agence de la Biomédecine à proposer un DPI : Strasbourg, Paris, Montpellier et Nantes ; la liste des maladies pour lesquelles un DPI est disponible dans chacun d'eux est consultable sur le site de l'Agence de biomédecine. Il n'existe pas de liste précise quant aux indications d'un DPI, celles-ci ne cessent de s'allonger en fonction des demandes émises par les couples et les généticiens.

Plusieurs éléments peuvent justifier un DPI pour les allo-immunisations sévères, en particulier pour les allo-immunisation anti-RH1 et anti-KEL1. Nous avons retrouvé dans la littérature deux cas mettant en avant la réussite et le bénéfice que peut apporter le DPI dans le cas où le père est hétérozygote pour l'antigène concerné. En effet, malgré une prise en charge adaptée, des allo-immunisations sévères peuvent compromettre les grossesses ultérieures entraînant des souffrances fœtales et néonatales, allant parfois jusqu'au décès des nouveau-nés ou des pertes fœtales répétées. De plus, le traitement n'est sans risque pour le fœtus puisqu'il s'agit d'un traitement invasif : la transfusion in utero.[49] [50]

Le DPI pourrait donc être envisagé dans le cas où la grossesse semble être compromise ou accompagnée de complications importantes. En France, les demandes sont étudiées par les centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal (CPDPN). [51]

3. Suivi de l'AIFM avérée

L'objectif de ce suivi est de déceler les signes d'anémie fœtale mal tolérée (parfois présente dès le 4^{ème} mois de grossesse), devant conduire sans délai à un acte thérapeutique. La prise en charge consiste en une anamnèse de la patiente ainsi que la mise en œuvre d'examen immunohématologiques, biologiques et cliniques.

a) *L'anamnèse*

Le mode d'immunisation, transfusionnel ou fœto-maternel, impacte le pronostic : une allo-immunisation due à une transfusion incompatible est souvent plus grave. La connaissance des antécédents obstétricaux est essentielle dans la prise en charge car l'IFM pour la grossesse actuelle survient en général de façon au moins aussi sévère que la grossesse précédente. [52]

b) *Les analyses immuno-hématologiques*

○ Le phénotypage du procréateur :

Une allo-immunisation maternelle est sans risque, même si l'anticorps est puissant, si le fœtus est compatible. Il convient de déterminer le phénotype du géniteur pour savoir s'il possède l'antigène correspondant et s'il est d'expression hétérozygote ou homozygote.[52] [19]. Cette analyse impose une paternité certaine et ne sera pas contributif en cas d'antigène RH1 positif ou d'hétérozygotie pour les autres antigènes.

○ Le génotypage fœtal sur sang maternel :

Comme nous l'avons détaillé précédemment, le génotypage fœtal non invasif sur sang maternel est disponible pour les gènes RHD et KEL1 et plus récemment RHCE. La présence de l'antigène correspondant à l'anticorps témoignera d'une IFM et imposera une surveillance lourde. En revanche, en cas d'absence, la patiente sera exemptée de surveillance. Le génotypage fœtal est réalisable à partir de 11-12 SA pour le gène RHD, 13 SA pour les gènes KEL et RHCE. (24) Le CNRHP préconise, même en absence de situation d'incompatibilité, un suivi de RAI toutes les 6 semaines environ, ces patientes étant plus à risque de développer d'autres anticorps (« bonnes répondeuses »). [2]

○ Titrage et Dosage pondéral (DP) [14]

Le titrage est une méthode peu performante car il ne mesure que la quantité d'anticorps capables de se fixer *in vitro* sur les hématies (quantité qui dépend de la constante d'affinité) et non pas la quantité totale d'anticorps présente dans le sérum. De plus, il est peu reproductible d'un laboratoire à l'autre : l'évolution du titre doit être estimée dans un même laboratoire, dans

des conditions techniques très rigoureuses, chaque sérum étant testé en parallèle avec l'échantillon de sérum précédent.

Le dosage pondéral (DP), reproductible et automatisé, reflète la concentration en $\mu\text{g/ml}$ des IgG et une approche de la concentration réelle en IgG dans le sérum maternel. Il présente l'inconvénient de n'être disponible que pour les anticorps du système Rhésus.

L'association titrage et DP (réalisable dès 12SA), permet une meilleure appréciation du risque anténatal : le potentiel hémolytique d'un anticorps dépend de sa concentration et de son affinité : à concentration égale, un anticorps ayant un titre puissant (forte affinité) entraîne un risque hémolytique majeur *in utero*, alors qu'un anticorps ayant un titre faible (faible affinité) n'entraîne pas de risque anténatal grave.

Plus le taux d'anticorps est élevé, plus le risque d'anémie peut survenir tôt. Les valeurs de titre et/ou de DP sont donc à interpréter en fonction du terme de la grossesse.

Tableau 6 Taux "critiques" des principaux anticorps à risque fœtal [53]

Risque fœtal présent à partir de	18 SA	24 SA	28 SA	32 SA	36 SA
Anti-D (RH1) Dosage pondéral : (titre > 16)	> 4 $\mu\text{g/ml}$	3 $\mu\text{g/ml}$	2 $\mu\text{g/ml}$	1 $\mu\text{g/ml}$	0,7 $\mu\text{g/ml}$
Anti-Kell (KEL1) Titre :	> 1/128	1/128	1/64	1/16	1/16
Anti-c (RH4) Dosage pondéral :	2000 UCHP/ml	1500 UCHP/ml	1000 UCHP/ml	750 UCHP/ml	500 UCHP/ml
Anti-E (RH3) (titre > 4)					
Profils immunologiques des anti-D : interprétation et signification pronostique					
	Titre en Coombs indirect normal	Dosage pondéral 2 temps	Dosage pondéral 1 temps		
Profil 1	1/32	1 $\mu\text{g/ml}$	1 $\mu\text{g/ml}$	Profil habituel : anticorps d'affinité moyenne, anémie fœtale sévère possible à partir de 7 mois de grossesse	
Profil 2	1/128	0,3 $\mu\text{g/ml}$	0,6 $\mu\text{g/ml}$	Anticorps de forte affinité, de concentration relativement basse, sans risque fœtal immédiat	
Profil 3	1/128	3 $\mu\text{g/ml}$	0,4 $\mu\text{g/ml}$	Anticorps de sous-classe IgG3, potentiel hémolytique atténué	
Profil 4	1/8	8 $\mu\text{g/ml}$	0,8 $\mu\text{g/ml}$	Anticorps de basse affinité, de concentration élevée, anémie fœtale sévère possible en fin de grossesse : ce profil \approx à l'anti-c (RH4)	

En pratique :

Tableau 7 Suivi de l'allo-immunisation en fonction de l'anticorps identifié

Anticorps		Fréquence des titrages* +/- DP	Seuil d'alerte**	Génotypage foetal non invasif	Remarques
Anticorps à risque d'anémie foetale	RH1	Tous les 15 jours à partir de 18SA	Titre : 1/16 DP>1µg/ml	OUI Dès 11-12 SA	Présent au 1 ^{er} trimestre Parfois en limite de détection, peut être renforcée par hématies-test traitées par enzymes
	RH4	Toutes les 2 à 4 semaines à partir de 18-20SA	1 /4 (titre souvent faible et non prédictif d'une atteinte foetale, peut augmenter tardivement en cas de réactivation). DP : + prédictif ***	OUI Dès 13 SA (génotypage RHCE)	Toujours présent au 1 ^{er} trimestre si dangereux Parfois en limite de détection, peut être renforcée par hématies-test traitées par enzymes
	KEL1	1/ mois à partir de 16SA	1/32 ou 1/16 après 32SA	OUI Dès 13 SA	Titre souvent d'emblée élevé Risque de réactivation faible
RH3		Peut être considéré comme un anticorps à risque d'anémie foetal lorsque sa concentration élevée. Ainsi, pour des taux faibles (<100 UCHP/ml) au 1 ^{er} trimestre, il suffit de réévaluer l'anticorps vers le 7 ^{ème} et 8 ^{ème} mois de grossesse. Pour des taux plus élevés, un dosage mensuel est nécessaire à partir du 5 ^{ème} mois.		OUI Dès 13 SA (génotypage RHCE)	Dangereux uniquement s'il est de nature IgG
Anticorps à risque de MHNN	FY1 FY2 JK1 JK2 MNS1 MNS3 MNS4 RH2	3 ^{ème} puis 8 ^{ème} mois de grossesse (Anticiper l'atteinte néonatale)		OUI RH2 génotypage RHCE)	
Anticorps Rares	Privé public	Suivi au cas par cas		NON	
Anticorps Sans incidence obstétricale	Le HI MNS2 Auto-anticorps ...	Aucun examen complémentaire n'est réalisé et le suivi de RAI est inchangé		NON	

D'après les auteurs du CNRHP [2] [14] [53] [54]

* La fréquence des titrages et dosages d'anticorps est guidée par le risque de réactivation : les taux peuvent rester rassurant ou s'élever brutalement, notamment en cas de microtransfusions foetales. De manière générale, une augmentation du taux d'anticorps signe une situation d'incompatibilité.

**Lorsque le titrage atteint ce seuil, un dosage pondéral doit être réalisé (anticorps RH). A noter que les seuils décisionnels ont été définis avec la méthode classique de Test Indirect à l'Antiglobuline et ne peuvent être appliqués aux autres techniques de titrage. L'EFSAM anticipe toute transfusion *in utero* en réalisant le phénotype étendu de la patiente (JK FY MNS) et préconise un suivi de grossesse dans une maternité de niveau 3.

*** Une étude menée par le CNRHP en 2008 a montré qu' « Une concentration anti-RH4 élevée avec un dosage pondéral >1000UCHP en fin de grossesse est prédictive d'une atteinte postnatale parfois sévère tout en s'accompagnant d'un titre modéré en Test de Coombs Indirect (au 1/8) .Le dosage pondéral de l'anti-RH4 permet d'anticiper les moyens médico-techniques pour la prise en charge immédiate du nouveau-né et pour le suivi durant les 3 premiers mois » [55]

c) *Les autres examens à réaliser*

Une situation d'IFM établie, la spécificité des anticorps ainsi leur taux vont conduire à rechercher régulièrement des signes de souffrance fœtale.

- Mesure du pic systolique de vélocité à l'artère cérébrale moyenne (PSV-ACM)

Cette mesure est réalisée par Doppler et représente actuellement le paramètre de choix dans l'évaluation du degré d'anémie chez le fœtus entre 16 et 35 SA. Une valeur au-delà de 1.5MoM (multiple de médiane) évoque un risque d'anémie. [19] L'augmentation de la vitesse, liée principalement à la viscosité sanguine, est très bien corrélée au taux d'hémoglobine fœtale. Son excellente sensibilité pour la détection d'anémie fœtale modérée et sévère a été démontrée en 2000 par Deter et Mari lors d'une étude multicentrique. Une étude rétrospective menée par le CNRHP entre 2003 et 2006 a évalué, à partir de 47 femmes enceintes allo-immunisées à haut

risque, la valeur prédictive du PSV-ACM. Cette étude a confirmé l'excellente corrélation entre le PSV-ACM et le taux d'hémoglobine fœtale avec une valeur prédictive négative du PSV-ACM de 97,8% et une sensibilité de 86,7%. Le PSV-AM permet donc de détecter précocement l'apparition d'une anémie fœtale et d'intervenir avant la constitution d'une anasarque fœtale, mais aussi de limiter les gestes invasifs (prélèvements sanguins fœtaux). [56] [57]

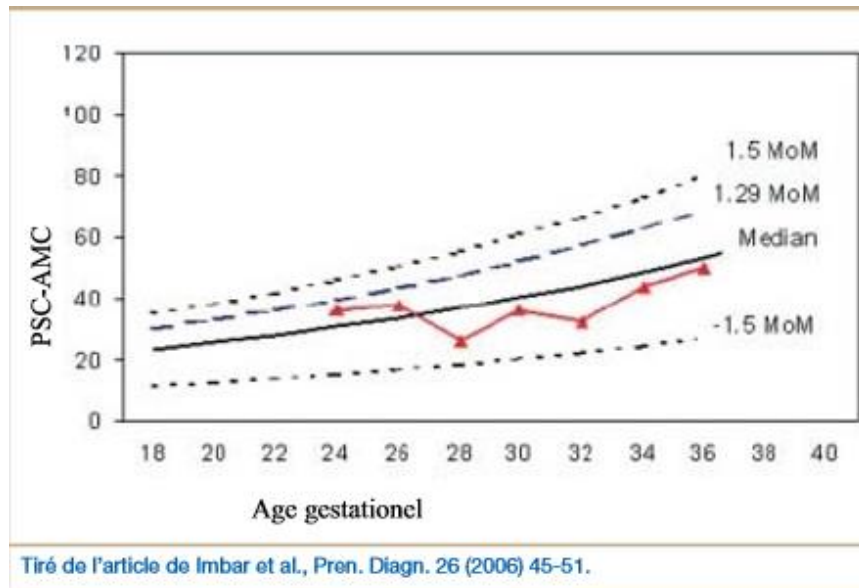


Figure 6 Exemple de suivi d'une femme avec un anti-RH1 à un taux très élevé, avec un suivi de PSV-ACM 2 fois par semaine. A la naissance, enfant en bonne santé [57]

- Enregistrement du rythme cardiaque fœtal (RCF) [57] [58]

Cet examen n'est pas utilisé en dépistage d'anémie fœtale car des tracés parfaitement normaux peuvent se rencontrer en cas d'anémie profonde. De plus, les anomalies caractéristiques du RCF, comme les anomalies sinusoïdales, sont tardives. Cette surveillance est en revanche indispensable chaque fois qu'il existe des signes d'atteinte fœtale, objectivés par le Doppler.

- Les signes échographiques [58]

L'existence d'une anasarque franche est le signe d'une anémie déjà profonde et installée depuis un certain temps. C'est un signe de gravité exposant à un risque de mortalité périnatale plus élevée. Les techniques actuelles permettent de détecter de manière fiable l'anémie, bien avant la constitution d'une anasarque. Elles sont fondées sur les manifestations débutantes de souffrance fœtale : épanchement péricardique, péritonéal ou pleural, œdème sous-cutané, excès de liquide amniotique, épaissement du placenta. Ces manifestations restent de sensibilité et spécificité variables selon les équipes.

- L'étude du liquide amniotique : dosage de la bilirubine (indice de Liley). [57]

Cet examen n'est plus recommandé de nos jours car l'amniocentèse est un geste invasif. De plus, la mesure de la bilirubinémie n'est qu'un reflet indirect de l'hémolyse, valable qu'à partir de 24 SA, et non fiable pour les allo-immunisation anti-Kel (l'anémie étant en partie due à une suppression de l'érythropoïèse en plus de l'hémolyse).

4. Place du génotypage fœtal non invasif RH1

Depuis 2005, les groupes d'experts recommandent vivement cet examen avec deux indications bien distinctes :

- Chez les femmes non immunisées, préconiser une injection systématique et ciblée d'IgRH en cas de fœtus RH1 ; et *A contrario* éviter une injection inutile de produit dérivé du sang en cas de fœtus RH-1
- Chez les femmes immunisées, légitimer, en cas de fœtus RH1, une surveillance anténatale lourde et anxiogène pour la patiente.

En 2009, une étude multicentrique intitulée GENIFERH (« Genotypage Non Invasif Foetal Rhésus D ») est réalisée dans le cadre d'un STIC (Soutien aux Techniques Innovantes et Coûteuses). [59]

- Objectif principal : évaluer le rapport coût-efficacité d'un génotypage RH1 foetal non invasif systématique dans le cadre de l'immunoprophylaxie selon les recommandations 2005.
- Objectif secondaire : évaluer la faisabilité de la stratégie de génotypage RH1 foetal systématique :
 - analyser les génotypes « indéterminés » et les discordances génotypes phénotypes
 - aider à la décision publique de diffusion du génotypage RHD foetal non invasif au sein du réseau français de soin en obstétrique
 - aider à la décision du tarif de remboursement du test

Les résultats de cette étude n'ont pas été publiés.

En 2011, l'HAS fait part d'une analyse bibliographique visant à déterminer l'intérêt de la détermination prénatale du génotype RHD foetal à partir du sang maternel. Cette revue comprend 33 études dont la majorité a été réalisée sur des femmes RH:-1 non immunisées. Les conclusions appuient les recommandations du CNGOF et montrent l'importance du génotypage dans ces 2 indications, à condition que celui-ci soit réalisé dans le respect des exigences techniques (éviter le risque de faux négatifs).[60] « Le service attendu est considéré suffisant. Par conséquent, l'avis de la HAS sur l'inscription de l'acte à la liste des actes prévue à l'article L. 162-1-7 du Code de la sécurité sociale est favorable. » A noter que l'HAS s'appuie sur un kit de génotypage de 1ère génération (exon 7 et 10 du gène RH1)

D'un point de vue réglementaire :

- Le génotypage foetal RHD peut être effectué uniquement dans un laboratoire autorisé par l'Agence Régionale d'Hospitalisation, par des praticiens agréés par l'Agence de Biomédecine.
- Obligation d'un consentement de la patiente

Ainsi, au cours de la dernière décennie, le génotypage fœtal RH1 non invasif a pris une place de plus en plus importante dans le suivi des femmes enceintes RH-1 et son inscription à la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale a été décidée très récemment (décision du 24 mai 2017). [28] La technique utilisée est la PCR en temps réel utilisant au moins deux exons dont la nature sera précisée sur le compte rendu d'examen. Le génotypage pourra être proposé à partir de la onzième semaine d'aménorrhée et des renseignements cliniques seront nécessaires (date de la grossesse, groupe sanguin ABORH1, origine géographique, notion d'allo-immunisation anti-RH1 connue ou non). Lorsque le résultat est négatif ou indéterminé, il est nécessaire de réaliser 15 jours après (ou avant ce délai de 15 jours en cas de grossesse de terme avancé) une seconde détermination. L'indication de cet examen est la suivante : prise en charge des grossesses de femmes de phénotype RH : - 1.

5. Traitement de l'anémie fœtale

a) *La transfusion In Utero (TIU) [3] [5] [58]*

L'objectif de la TIU est de prolonger la durée de la grossesse normale : elle compense les effets de la maladie hémolytique en fournissant au fœtus *in utero* des globules rouges compatibles. Les premières transfusions fœtales ont été réalisées par voie intrapéritonéale, puis par voie intravasculaire dès 1980 grâce à l'avènement de l'échographie.[3] Le seuil de transfusion se situe entre 5 et 7g d'Hb/dL au 2^{ème} trimestre et entre 7 et 9g d'Hb/dL au 3^{ème} trimestre compte-tenu de la moindre tolérance du fœtus à l'anémie. Les quantités de sang à transfuser sont estimées à l'aide d'abaques faisant intervenir l'âge gestationnel, le poids fœtal estimé, le taux d'hémoglobine initial, le taux d'hémoglobine recherché (14-16g d'Hb/dl), l'hématocrite du sang contenu dans la poche du culot globulaire.

Outre l'acte transfusionnel qui nécessite une équipe expérimentée et pluridisciplinaire, la difficulté de la TIU réside dans la sélection des CGR. Ces derniers doivent être frais (< 5jours) de groupe O et respecter le phénotype RHK et étendu (FY JK MNS) de la mère. Ces restrictions imposent à l'EFS d'anticiper une TIU. Les CGR doivent également répondre à d'autres caractéristiques : irradiés, déplasmatisés, hématocrite > 70% (pour minimiser le volume à transfuser et la surcharge volémique) et compatibilisés avec le sérum maternel.

➤ Les risques :

- Pertes fœtales (3% par TIU) : thrombose, hématome des vaisseaux du cordon ou rétroplacentaire, hémorragie point de ponction, HFM
- Blessures fœtales par atteintes directes
- Accouchement ou rupture prématurée des membranes (10-15%)
- Accidents maternels (exceptionnels)

➤ Pronostic de l'anémie fœtale :

Il est généralement considéré comme favorable lorsqu'on observe une régression des symptômes d'anasarque. Les études prospectives de suivi des enfants nés après TIU rapportent un développement fœtal normal dans 90 à 98% des cas en l'absence d'anasarque, ce qui signifie que dans les cas les plus défavorables, un enfant sur 10 aura un développement anormal. En présence d'anasarque à la 1^{ère} TIU, ce taux chute à 70%. L'expérience montre qu'un retard de prise en charge est associé à des lésions cérébrales fœtales, malgré des TIU apparemment efficaces. Ce point insiste sur l'importance d'un suivi régulier en cas d'anémie fœtale profonde.

➤ Plusieurs modalités de TIU

La TIU intravasculaire :

Elle est réalisée par abord du cordon sous guidage échographique, habituellement entre 17-20SA et 34SA. Elle doit très souvent être répétée, à intervalle de 1 à 4 semaines, d'autant plus que le fœtus est jeune et que le taux d'hémoglobine atteint lors de la transfusion précédente est bas.

Exsanguino-Transfusion In Utero (ETIU) :

L'ETIU présente des avantages théoriques tels qu'éviter une surcharge volémique et épurer le sang fœtal des globules rouges incompatibles, dont l'hémolyse se poursuit après une transfusion simple aboutissant à une récurrence plus précoce de l'anémie fœtale.

Une étude menée par le CNRHP a comparé des TIU simples et des ETIU sur 2 périodes : l'une avant 2003 (TIU simples), l'autre après 2003 (ETIU systématiques).[58]

Tableau 8 Comparaison de l'efficacité de TIU simples et ETIU [57]

	TIU n = 27	ETIU n = 20	p
Hb initiale (g/dl)	6,8 ± 1,9	5,4 ± 2,3	< 0,05
Hb après TIU (g/dl)	14,3 ± 1,2	13,2 ± 1,8	NS
Délai entre les TIU	2,1 semaines	1,6 semaines	< 0,05
Delta Hb entre les TIU (g/dl)	6,5 ± 2,5	4,8 ± 2,0	< 0,05
Chute d'Hb par semaine	3,2 ± 1,3 g/dl	3,1 ± 1,2 g/dl	NS

TIU : transfusion in utero ; Hb : hémoglobine.

L'effet attendu est non retrouvé puisqu'on n'observe pas de baisse moins rapide de l'hémoglobine fœtale entre 2 transfusions. De plus, l'ETIU présente l'inconvénient d'un allongement de la durée d'intervention associé à un risque accru de complication fœtale. Ainsi, plus simple et plus rapide, la TIU intravasculaire reste la technique actuelle de référence.

La Transfusion intrapéritonéale :

Elle peut s'avérer utile à des âges gestationnels très précoces, à des termes inférieurs à 20SA, lorsque l'abord pour la TIU intravasculaire est difficile. Néanmoins, toutes les transfusions intrapéritonéales décrites ont été suivies de transfusions intravasculaires dès que l'âge gestationnel le permettait. De plus, le taux de pertes fœtales est plus élevé (5%).

b) L'extraction fœtale

Passé le stade de grande prématurité, l'évaluation bénéfices/risques doit être soigneusement pesée. De manière générale, l'accouchement prématuré est recommandé après 34SA et on s'y résout avant 34 SA en cas de souffrances fœtales et d'échec de TIU.

Néanmoins, la naissance d'un prématuré présentant une anasarque représente des difficultés de réanimation néonatale et une forte probabilité de décès. La TIU pourrait donc être recommandé même après 34SA, et permettre de voir régresser l'anasarque avant la naissance.

En revanche, au-delà de 37SA, il n'y a aucun bénéfice à prolonger la grossesse et l'extraction fœtale est toujours recommandée. En effet, le transfert placentaire des anticorps augmente de manière importante au cours de la grossesse et à terme, la concentration dans la circulation fœtale est beaucoup plus importante que dans la circulation maternelle.

6. La prise en charge post-natale

A la naissance, l'anticorps est responsable non seulement de l'anémie, mais aussi de l'augmentation du taux de bilirubine, conséquence de l'hémolyse : elle n'est plus prise en charge par le métabolisme maternel, alors que le foie nouveau-né est encore immature.

a) *Prise en charge de l'ictère [3] [5]*

L'ictère nucléaire, à l'origine d'encéphalopathies graves, peut être en général redouté au cours des premiers jours de vie lorsque la bilirubinémie dépasse 340 μ M/L.

o La photothérapie

Il s'agit d'un traitement symptomatique utilisant un rayon lumineux dans le spectre bleu (430-490nm). L'énergie lumineuse transforme la bilirubine libre liposoluble (donc toxique) localisée dans les tissus cutanés et sous-cutanés en photo-dérivés hydrophiles dont l'élimination se fait indépendamment de la conjugaison hépatique. Même s'il n'y a pas d'intérêt à recourir à la photothérapie prophylactique, l'extraordinaire rapidité d'évolution de l'hyperbilirubinémie dans les situations d'IFME justifie sa mise en place dans un délai le plus court possible après la naissance.

- L'exsanguino-tranfution (EST) [47] [61]

L'exsanguino-transfusion a plusieurs objectifs :

- Corriger une anémie profonde ou mal toléré
- Soustraire l'excès de bilirubine
- Soustraire une partie des anticorps circulants

Elle correspond à un échange de deux masses sanguines par du sang total reconstitué. L'hématocrite final recommandé pour l'EST en fin de reconstitution est de 45 % et l'échange représente 2 masses sanguines (échanges successifs n'excédant pas 5 ml/kg par échange).

Les CGR sont de groupe O, le plus frais possible (<5jours), irradiés. L'épreuve directe de compatibilité sera réalisée avec le sérum ou le plasma de la mère et si indisponible, avec le sérum ou le plasma de l'enfant (on considère que l'enfant ne produit pas d'anticorps anti-érythrocytaires irréguliers avant 4 mois d'âge civil). Le plasma frais congelé (PFC) sera de groupe AB.

Il est recommandé d'envisager l'exsanguino-transfusion lorsqu'on observe : [47]

- Une sévérité précoce de l'hyperbilirubinémie associée à un pronostic neurosensoriel défavorable.
- La valeur de bilirubine totale sérique est à moins de 50 $\mu\text{mol/l}$ des seuils de dangerosité établis.
- Une persistance de la bilirubine totale malgré un traitement par photothérapie intensive.
- La présence de signes cliniques évocateurs d'encéphalopathie hyperbilirubinémique aiguë.

Cet acte n'est pas sans risque et les améliorations thérapeutiques et diagnostiques des MHNN ont permis de réduire considérablement le nombre d'EST.

b) *Prise en charge de l'anémie [47]*

○ La transfusion sanguine

L'anémie néonatale peut être présente et profonde (<9.g/dl), particulièrement pour les AIFM anti-KEL1. L'indication de la transfusion est posée devant un ensemble d'argument : valeur de référence pour l'âge gestationnel, signes de mauvaise tolérance clinique avec besoins de ventilation assistée, capacité de régénération et taux de réticulocytes. Les indications transfusionnelles ne reposent pas que sur la seule notion de seuil. Les CGR sélectionnés suivront les mêmes recommandations que ceux pour l'EST.

○ Autres alternatives [47]

L'HAS propose d'autres alternatives à la transfusion sanguine néonatale telles que le clampage retardé du cordon ombilical ou la supplémentation en Fer. L'utilisation de l'Érythropoïétine recombinante humaine se doit d'être réévaluée en termes de bénéfices risques.

c) *Suivi prolongé de l'AIFM [3]*

L'hémolyse se poursuit car les anticorps maternels sont présents pendant plusieurs semaines et plusieurs mois dans la circulation du nouveau-né (3 à 4 mois). Il faut donc surveiller de manière prolongée chaque rebond d'hyperbilirubinémie et l'aggravation de l'anémie.

d) *Cas particulier des nouveau-nés ayant subi une TIU [3]*

Lorsque les TIU sont répétées, elles sont à l'origine d'inhibition de l'érythropoïèse et conduisent à une dépendance transfusionnelle. Ainsi, chez ces nouveau-nés, on observe des taux plus importants de transfusions sur les 6 premiers mois de vie. L'indication de la TIU doit être soigneusement pesée, la transfusion préventive est donc à éviter.

L'établissement Français du Sang est très impliqué dans le suivi immuno-hématologique de la femme enceinte et a mis en place une organisation visant à répondre au mieux à ses exigences.

C. Généralités sur l'Etablissement Français du Sang

1. Organisation du laboratoire de biologie médicale de l'EFS ALPES Méditerranée

Le laboratoire de l'Etablissement Français du Sang ALPES-MEDITERRANEE (EFSAM) est un laboratoire multi-sites au sein duquel les activités sont identifiées dans un processus intitulé LAB. Le sous-processus LAB IHE (Immuno-Hématologie Erythrocytaire) réalise des examens à visée transfusionnelle (contribuant au lien fort immuno-hématologie-délivrance de PSL), des explorations d'anémie hémolytique mais également des examens de suivi de femmes enceintes. [62]

Ce laboratoire est constitué de onze sites au total qui se répartissent dans toute la région PACA : Aix en Provence, Toulon, Avignon, Arles, Gap, Cannes et Saint-Laurent du var, Marseille Timone, Nord, Sud et Baille, ce dernier jouant un rôle d'expertise régionale. Ainsi, les différents sites IHE de l'EFSAM sont amenés à lui adresser des prélèvements lors de difficultés (groupe et phénotype érythrocytaire, RAI complexe) ou pour des examens spécialisés (titrage, exploration d'anémie hémolytique auto-immune).

Le laboratoire effectue des examens pour 3 typologies de clients : les Etablissements de Soins (ES), les Laboratoire de Biologie Médicale (LBM) pour difficultés de groupe/phénotype érythrocytaire ou pour identification d'anticorps anti-érythrocytaires et enfin les patients prélevés par un des sites de l'EFSAM.

L'EFSAM peut également transmettre des spécimens à d'autres laboratoires sous-traitants :

- Le Centre National de Références des Groupes Sanguins (CNRGS) :

Il permet l'identification d'anticorps anti-érythrocytaires rares ainsi que la détermination de phénotypes exceptionnels. Dans le cadre du suivi de grossesse, la collaboration avec le CNRGS peut s'avérer importante car ces anticorps peuvent représenter un risque transfusionnel comme obstétrical. Il convient donc de les identifier pour connaître leur dangerosité, mais aussi d'anticiper les besoins transfusionnels en recherchant des CGR compatibles sur une base de données nationale.

- Le Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale (CNRHP) :

Des spécimens lui sont adressés pour la réalisation de dosage pondéral dans le cadre IFM. Le CNRHP assure également d'autres missions : conseil clinique en matière d'immunoprophylaxie, de prise en charge d'immunisation et de bonnes pratiques cliniques. Il assure également, chargé par le ministère de la santé, une mission de veille sanitaire et épidémiologique pour le suivi des femmes immunisées et propose des axes de recherche clinique et biologique, notamment sur le développement du génotypage fœtal dans le sang maternel ou d'alternatives thérapeutiques aux immunoglobulines humaines. [63]

2. Rôles de l'EFS dans le suivi obstétrical

Les rôles de l'Etablissement Français du Sang dans le suivi obstétrical sont importants et nombreux :

a) *Pendant la grossesse*

- Détermination du groupe ABO-RH1 et phénotype RH-KEL1, montrant les possibilités d'allo-immunisations ainsi que le calendrier de RAI à respecter.
- RAI : dépistage et, si positif, identification de l'allo-anticorps avec titrage si besoin. Un suivi IH adapté sera conseillé pour toute allo-immunisation.
- Conseil sur une éventuelle injection de gammaglobuline anti-RH1
- Réalisation de TK en cas d'HFM lors des 2^{ème} et 3^{ème} trimestres
- TIU : les CGR seront préparés et délivrés par l'EFS avant d'être transfusés au fœtus.

b) *A l'accouchement*

- En cas d'hémorragie du Post- Partum, l'EFS délivrera des CGR adaptés au statut IH de la patiente.

c) *Pendant la période périnatale*

- Recherche d'IFM ABO
- Conseil sur une éventuelle injection de gammaglobuline anti-RH1
- Réalisation de TK
- Délivrance de CGR adaptés au nouveau-né si besoin transfusionnel

Certains laboratoires, privés ou faisant partie de centres hospitaliers, participent également au suivi IH en réalisant les groupes ABO-RH1, phénotype RH-KEL1 et RAI. La grossesse est une situation à risque d'allo-immunisation mais aussi de besoin transfusionnel, en particulier à l'accouchement. L'EFS représentant environ 80% de l'activité de délivrance de CGR, il paraît alors indispensable qu'il participe au suivi IH des femmes enceintes.

3. Organisation et collaboration avec les autres laboratoires dans le cadre du suivi obstétrical

a) *Intérêt d'établir une organisation et collaboration avec les autres laboratoires*

L'anticipation des difficultés IH des patientes (phénotypes et anticorps rares) permet d'améliorer la sécurité transfusionnelle, en particulier lors de la prise en charge des urgences vitales. En ce qui concerne le suivi de femmes enceintes, des conventions sont alors établies entre l'EFS et certains laboratoires. Il est établi que l'EFSAM réalisera le bilan de fin de grossesse (groupe, phénotype et RAI) afin de :

- Disposer avant l'accouchement des résultats nécessaires à la transfusion de la mère ou du nouveau-né (en cas d'urgence vitale, le délai ne permet pas la réalisation de la RAI)
- Donner un conseil transfusionnel adapté (avis et interprétations) et de prévoir des réserves de produits sanguins et leur acheminement en cas de phénotype rare ou RAI positive
- D'éviter les immunisations susceptibles de compromettre l'avenir obstétrical de la patiente, conséquences des procédures d'urgence vitale lorsque le phénotype de la patiente est inconnu.

b) *L'« Immuno-hématologie partagée »*

Cette collaboration est basée sur le principe de « l'IH partagée » :

- Une détermination ABO-RH1 RH-KEL1 est réalisée par un LBM lors de la première consultation.
- Une détermination ABO-RH1 RH-KEL1 du dernier trimestre de la grossesse est obligatoirement confiée à l'EFS.

- Le LBM transmet à l'EFS les RAI dépistées positives au cours de la grossesse dont il assure le suivi IH, afin de pouvoir identifier et titrer si besoin l'anticorps.
- En cas de besoin transfusionnel, le LBM s'engage à communiquer au laboratoire de l'EFSAM les résultats de typage ABO-RH1 et RH-KEL1 qu'il a réalisé pendant la surveillance de la grossesse. Cela permet à l'EFS de disposer des 2 déterminations nécessaires à la délivrance de CGR respectant le groupe ABO-RH1 et RH-KEL1. Ces résultats sont transmis sous forme électronique au format du cahier des charges de l'Echange de Résultats d'Analyses (ERA) à visée transfusionnelle (conforme à l'arrêté du 26 avril 2002 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale [16]).

L'intérêt de cette revue de la littérature réside dans la présentation de l'allo-immunisation fœto-maternelle et la description de ses conséquences et de sa prise en charge. De plus, elle répond en partie à l'objectif de notre travail en faisant l'état des lieux des recommandations du suivi immuno-hématologique lors de la grossesse, qui sera l'objet d'une discussion.

Dans la suite de ce travail, nous ferons l'état des lieux des femmes enceintes immunisées ainsi que des Transfusion *In Utero* en présentant une cohorte de patientes suivies par l'EFSAM de 2006 à 2016. Nous décrirons la méthode utilisée avant d'exposer nos résultats, qui feront également l'objet d'une discussion dans la dernière partie de ce travail.

II. PATIENTS ET METHODE

A. Les patientes

L'objet de cette étude est de réaliser un état des lieux de l'immunisation (auto et/ou allo-immunisation) rencontrée chez les femmes enceintes, en termes de fréquence et de spécificité, ainsi qu'un état des lieux des Transfusions *In Utero* réalisées par EFS-AM.

Cette étude rétrospective s'étend sur une période de onze ans et s'intéresse au suivi immuno-hématologique des femmes ayant eu une ou plusieurs grossesses entre le 1^{er} janvier 2006 et le 31 décembre 2016. La sélection des patientes se limite à la région Provence-Alpes-Côte d'Azur puisque les données sont issues du logiciel régional LaboServeur inlog l'EFS-AM. Les demandes d'analyses peuvent provenir de centres hospitaliers, cliniques ou laboratoires privés. Il est à noter que par le critère grossesse nous comprenons aussi bien les grossesses menées à terme que toute autre situation obstétricale interrompue telles que les fausses couches, grossesses extra-utérines, les interruptions volontaires ou médicales de grossesse (IVG ou IMG).

B. La méthode

1. Etat des lieux des femmes enceintes immunisées de 2006 à 2016.

a) *Construction de la cohorte*

Plusieurs étapes ont été nécessaires pour construire notre cohorte. La figure suivante est une synthèse de la méthode mise en place pour traiter les données d'une année.

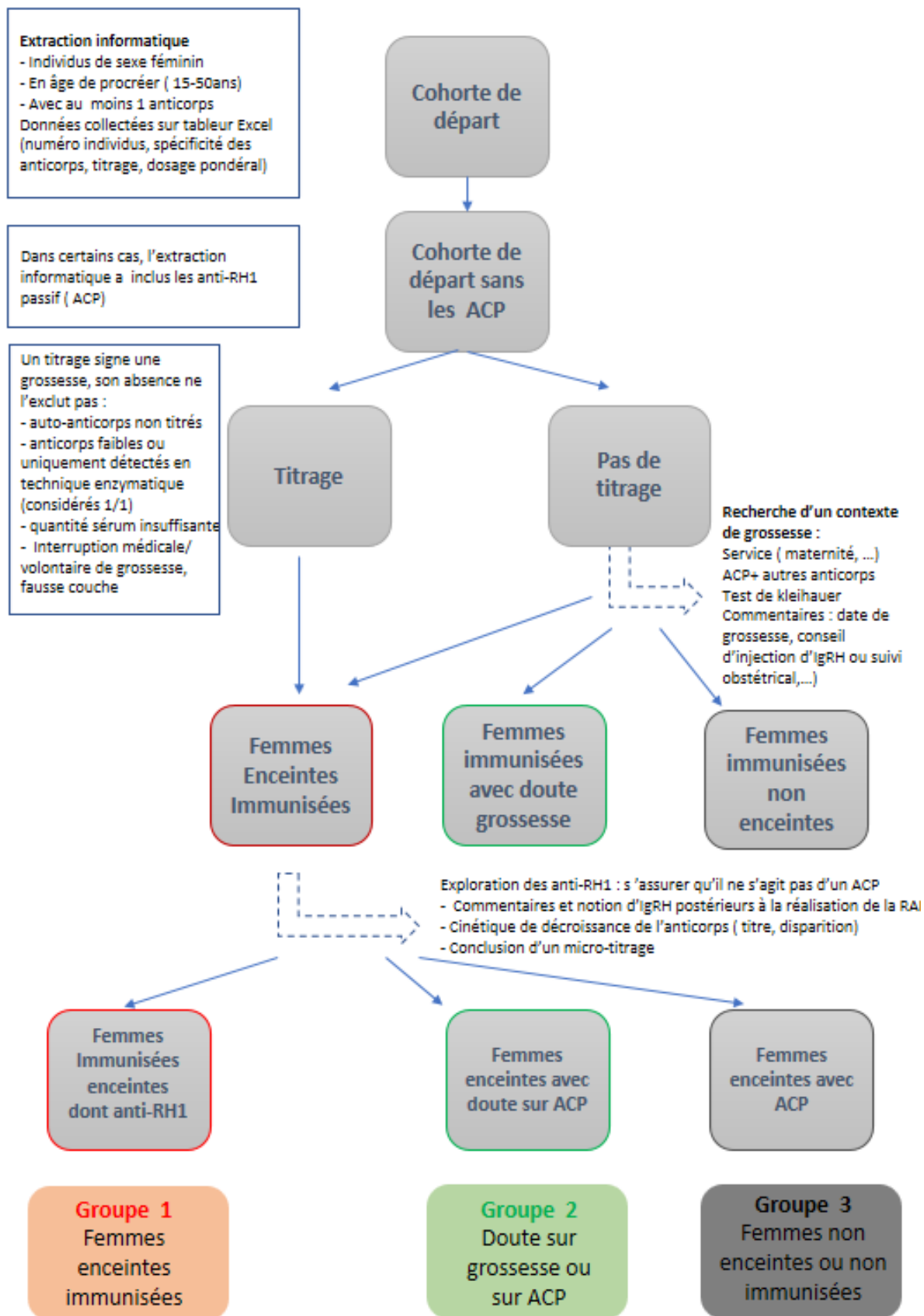


Figure 7 Construction de la cohorte : les différentes étapes

Ces étapes sont ensuite répétées pour les autres années, en prenant soin d'éliminer les « doublons », grâce au logiciel Excel. Elle consiste en la fusion des individus de deux années consécutives puis en l'élimination sur l'année la plus récente des individus présents sur ces deux années. Cela permet de ne pas prendre compte deux fois la même grossesse lorsque celle-ci entame l'année suivante. Dans la suite de ce travail, les résultats ne seront exploités qu'à partir du groupe 1 (femmes enceintes immunisées) tandis que les groupes 2 et 3 seront exclus.

b) Données disponibles issues de cette cohorte

A l'issue de cette cohorte, plusieurs données sont désormais disponibles :

- Le nombre total de femmes enceintes immunisées
- La spécificité des anticorps retrouvés
- Le nombre des dosages pondéraux des anti-RH1 et anti-RH4

En allant consulter les dossiers sur Inlog :

- Le nombre d'anti-KEL1 atteignant le seuil de dangerosité au 1/16^{ème}
- Le nombre d'anti-RH4 apparaissant après la RAI du 1^{er} trimestre

En utilisant les données de l'ARS concernant le nombre de naissance dans la région PACA :

- Estimation de la prévalence de femmes enceintes immunisées (en se basant sur le nombre de naissances)
- Estimation de la prévalence de femmes enceintes présentant une allo-immunisation anti-RH1, anti-RH4, anti-KEL1 (en se basant sur le nombre de naissances)

2. Etat des lieux des Transfusion *In utero* de 2006 à 2016

a) *Construction d'une cohorte de femmes enceintes ayant eu recours à une TIU*

Extraction informatique

La première étape consiste en une extraction informatique grâce au logiciel Inlog CTS par l'intermédiaire du code produit du CGR destiné à la TIU. L'extraction débute le 1^{er} janvier 2006 et se termine le 31 décembre 2016. Elle est ensuite recueillie dans un tableur Excel. A chaque CGR correspond une date de TIU, un établissement demandeur, un prescripteur et un numéro individu du receveur

Classement (logiciel Excel) :

- Par numéro Individu : les numéros individus identiques sont regroupés car ils correspondent à une même patiente qui a reçu plusieurs CGR pour Transfusion *In Utero*.
- Par année

b) *Données disponibles issues de cette cohorte*

Cette étape se fait par l'intermédiaire du logiciel Inlog LaboServeur. Par le numéro individu, nous rassemblons, pour chaque patient et quand cela est possible, les éléments concernant l'indication de la TIU et, en contexte d'immunisation, le titrage et dosage pondéral des anticorps.

3. Techniques utilisées pour la réalisation des analyses Immuno-Hématologique

Le groupe ABO-RH1 et phénotypage RHKEL1, la RAI (dépistage et identification), le titrage, le TDA chez le nouveau-né et le TK sont réalisés sur les sites EFSAM. Le dosage pondéral est réalisé par le CNRHP. Les techniques utilisées ont été décrite précédemment dans ce travail.

III. RESULTATS

A. Allo-immunisation et grossesse

1. Sélection des patientes enceintes immunisées

Dans ce travail, les patientes du groupe 3 seront exclues. Afin d'obtenir des résultats les plus pertinents possibles, les patientes du groupe 2 le seront également. Les résultats ne seront donc exploités qu'à partir du groupe 1 : 6688 grossesses différentes entre 2006 et 2016.

Tableau 9 Sélection des patientes enceintes immunisées

	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	Total
Cohorte de base	1944	2319	2421	2424	2839	2404	1908	1133	985	965	892	20234
Anti-RH1 passif (ACP)	544	1033	1304	1215	1540	1456	900	111	33	51	8	8195
"Doublons"	/	130	117	102	128	68	100	135	121	118	96	1115
Groupe 1	851	679	578	651	737	504	552	564	538	532	502	6688
Femmes enceintes immunisées												
Groupe 2												
Doute "grossesse"	33	31	33	44	28	12	81	86	85	76	88	287
doute " ACP"	30	30	27	28	28	20	31	28	26	18	21	597
Groupe 3												
Femmes immunisées non enceintes	486	416	362	344	378	334	246	209	182	170	179	3306

2. Proportions respectives des différentes spécificités d'anticorps

- Nous avons regroupé les différentes spécificités d'anticorps en 5 catégories :

Tableau 10 Anticorps à risque d'anémie fœtale et maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN)

Spécificités d'anticorps	Nombre de grossesses présentant cet anticorps	Grossesses impactées par cet anticorps par rapport au nombre total de grossesses immunisées, soit 6688 en %	Grossesses impactées par cet anticorps par rapport au nombre total d'anticorps d'intérêt obstétrical, soit 5003 en %
RH1	659	9,9	13,2
RH4	423	6,3	8,5
KEL1	222	3,3	4,4
Total	1304	19,5	26,1

Tableau 11 Anticorps à risque de MHNN

Spécificités d'anticorps	Nombre de grossesses présentant cet anticorps	Grossesses impactées par cet anticorps par rapport au nombre total de grossesses immunisées, soit 6688 en %	Grossesses impactées par cet anticorps par rapport au nombre total d'anticorps d'intérêt obstétrical, soit 5003 en %
RH2	309	4,6	6,2
RH3	1071	16,0	21,4
RH5	51	0,8	1,0
RH6	10	0,1	0,2
RH8	218	3,3	4,4
RH12	10	0,1	0,2
KEL3	56	0,8	1,1
FY1	102	1,5	2,0
FY2	29	0,4	0,6
JK1	315	4,7	6,3
JK2	46	0,7	0,9
MNS1	1215	18,2	24,3
MNS3	175	2,6	3,5
MNS4	13	0,2	0,3
Total	3620	54,1	72,4

Tableau 12 Anticorps anti-public

Spécificités d'anticorps	RH18	RH46	KEL2	KEL4	JK3	MNS5	LU2	LU3	GE2	CO3	DO5	GLOB1	TJA	JR1	VEL	YT1	Total
Nombre de grossesses présentant cet anticorps	1	2	1	2	1	6	6	2	2	2	1	2	2	4	1	12	47*

*représente moins de 1% des anticorps d'intérêt obstétrical

Tableau 13 Anticorps anti-privé

Spécificités d'anticorps	Nombre de grossesses présentant cet anticorps	Grossesses impactées par cet anticorps par rapport au nombre total de grossesses immunisées, soit 6688 en %	Grossesses impactées par cet anticorps par rapport au nombre total d'anticorps d'intérêt obstétrical, soit 5003 en %
privé	25*	0,37	0,50
DI3	5	0,07	0,10
RH22	1	0,01	0,02
MNS9	1	0,01	0,02
Total	32	0,48	0,64

*Faux positifs sur les panels d'identification entre 2006 et 2016

Tableau 14 Anticorps sans incidence obstétricale

Spécificités d'anticorps	Nombre de grossesses présentant cet anticorps	Grossesses impactées par cet anticorps par rapport au nombre total de grossesses immunisées, soit 6688 en %	Grossesses impactées par cet anticorps par rapport au nombre total d'anticorps soit 7617 en %
MNS2	26	0,4	0,3
LE1	1355	20,3	17,8
LE2	604	9,0	7,9
LU1	84	1,3	1,1
P1	62	0,9	0,8
YT2	3	0,0	0,0
CO2	5	0,1	0,1
DO1	5	0,1	0,1
DO2	3	0,0	0,0
H	146	2,2	1,9
HI	38	0,6	0,5
II	4	0,1	0,1
CHRG	18	0,3	0,2
HTLA	17	0,3	0,2
AUTO-AC	244	3,6	3,2
Total	2614	39,1	34,3

Dans notre cohorte, environ 11% des grossesses ont présenté plus de 2 anticorps (en considérant les anticorps avec et sans incidence obstétricale).

- Les proportions des différentes spécificités peuvent également être regroupées par système antigénique :

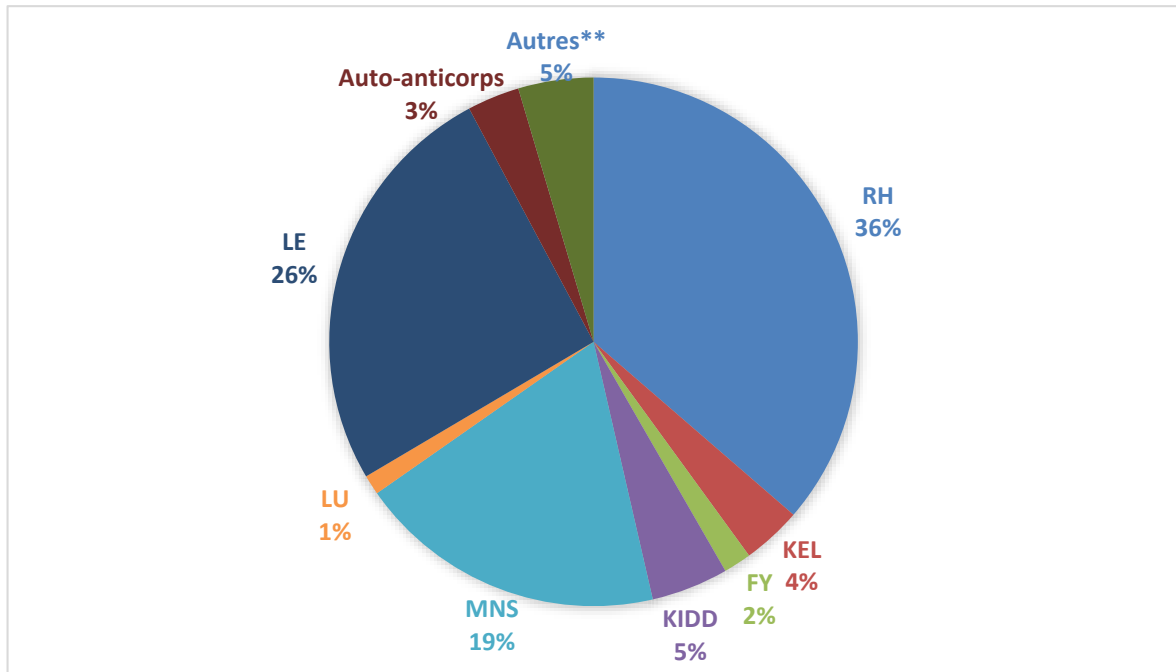


Figure 8 Répartition* des anticorps par système

*Proportion par rapport au nombre total d'anticorps (7617 dans l'étude)

**Autres : Anti-privé, anti-public, CH-RG, DO,CO, H, YT, P...

Il s'agit d'une synthèse des données de 2006 à 2016 : une même femme a pu avoir plusieurs grossesses dans cette période (**6688 grossesses différentes**). Les résultats année par année ayant permis de faire cette synthèse sont disponibles en annexe 5.

3. Estimation de la prévalence de l'allo-immunisation chez les femmes enceintes

Tableau 15 Evolution de la prévalence de l'allo-immunisation chez les femmes enceintes entre 2006 et 2015

	2006		2007		2008		2009		2010		2011		2012		2013		2014		2015	
Naissances	57 816		57408		58828		58491		59825		59039		59764		60034		59656		58775	
	VA*	%	VA	%	VA	%	VA	%	VA	%	VA	%	VA	%	VA	%	VA	%	VA	%
F.E** immunisées	851	1,47	679	1,18	578	0,98	651	1,11	737	1,23	504	0,85	552	0,92	564	0,94	538	0,90	532	0,91
F.E immunisées avec Ac d'intérêt	531	0,92	468	0,82	440	0,75	452	0,77	513	0,86	380	0,64	447	0,75	459	0,76	441	0,74	450	0,77
F.E immunisées avec anti-RH1	103	0,18	71	0,12	64	0,11	58	0,10	61	0,10	45	0,08	51	0,09	45	0,07	54	0,09	54	0,09
F.E immunisées avec anti-RH4	42	0,07	34	0,06	42	0,07	45	0,08	38	0,06	35	0,06	41	0,07	41	0,07	36	0,06	37	0,06
F.E immunisées avec anti-KEL1	17	0,03	19	0,03	20	0,03	13	0,02	21	0,04	14	0,02	31	0,05	25	0,04	23	0,04	24	0,04

*valeur absolue ; **Femmes enceintes

Le nombre de naissances représente le nombre de naissances vivantes en région PACA, données ARS (non disponible pour l'année 2016).

Le nombre de femmes immunisées ne fait pas de distinction entre nouveaux cas et immunisations déjà connues : il ne correspond pas à une incidence mais à une prévalence. Or, il serait intéressant de connaître l'incidence de l'allo-immunisation anti-RH1 dans la mesure où il existe une immunoprophylaxie visant à prévenir cet évènement.

4. Estimation de l'incidence de l'allo-immunisation anti-RH1 chez les femmes enceintes en région PACA

Les données suivantes représentent l'incidence de l'allo-immunisation anti-RH1 pour chaque année, de 2006 à 2015 : il n'est pris en considération uniquement les nouveaux cas d'allo-immunisation anti-RH1.

Tableau 16 Evolution de l'incidence de l'allo-immunisation anti-RH1 entre 2006 et 2015

	2006		2007		2008		2009		2010		2011		2012		2013		2014		2015	
Naissances	57 816		57408		58828		58491		59825		59039		59764		60034		59656		58775	
	VA*	%	VA	%	VA	%	VA	%	VA	%	VA	%	VA	%	VA	%	VA	%	VA	%
incidence anti-RH1	69	0,12	44	0,08	36	0,06	36	0,06	34	0,06	25	0,04	27	0,05	23	0,04	23	0,04	29	0,05

*valeur absolu

La différence entre l'incidence anti-RH1 de 2006 et celle de 2015 est significative ($p < 0.05$, test du χ^2).

En résumé :

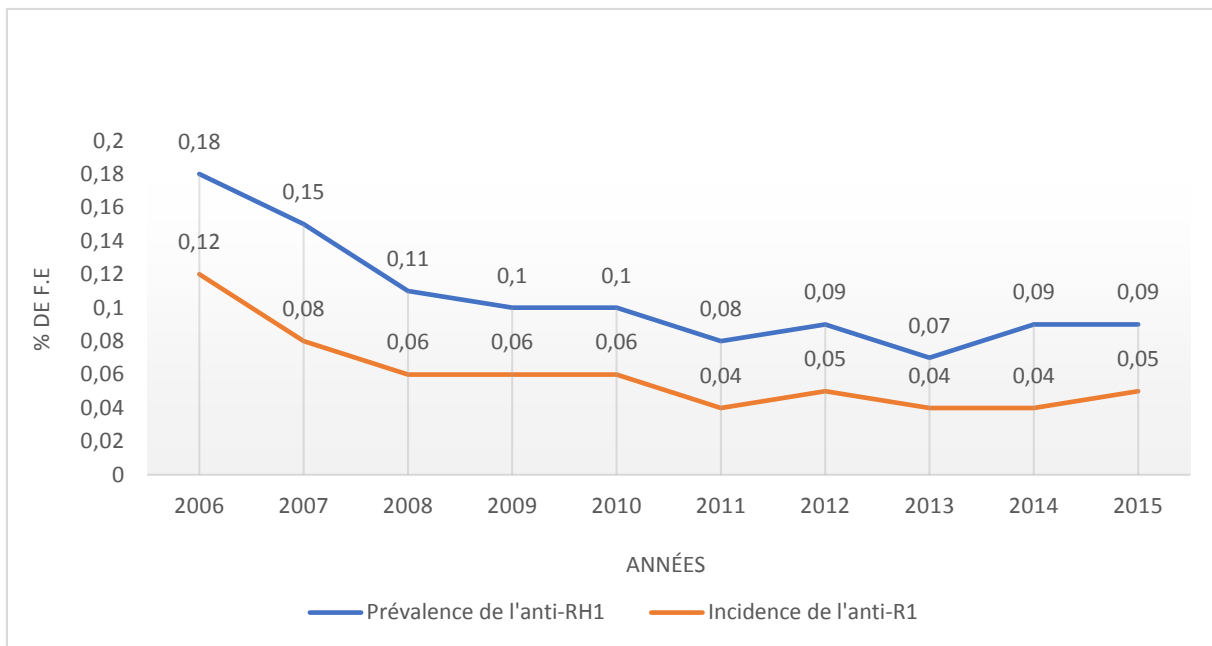


Figure 9 Estimation de l'évolution de l'allo-immunisation anti-RH1 chez les femmes enceintes de 2006 à 2015, en région PACA

5. Apparition de l'anti-RH4 et âge gestationnel

L'objectif de ce recueil de données est d'évaluer la proportion d'anti-RH4 non identifiés lors de la RAI du premier trimestre mais uniquement lors des RAI ultérieures.

Le manque d'information permettant de conclure quant à l'apparition de l'anticorps est dû :

- A l'absence de données sur la date de grossesse
- A l'identification de l'anti-RH4 au 2^{ème} ou 3^{ème} trimestre sans RAI antérieure connue de l'EFS AM : impossibilité de connaître l'apparition de l'anticorps.

Tableau 17 Estimation de la proportion d'anti-RH4 identifiés après la RAI du 1er trimestre

	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	Total
Nombre de grossesses présentant un anti-RH4 après la RAI du 1er Trimestre	0	1	3	4	7	8	6	1	4	4	1	39
Nombre total de grossesses présentant un anti-RH4	42	34	42	45	38	35	41	41	36	37	32	423
Proportion des grossesses présentant un anti-RH4 après la RAI du 1er trimestre (%)	0,0	2,9	7,1	8,9	18,4	22,9	14,6	2,4	11,1	10,8	3,1	9,2
Manque d'informations	30	23	29	28	26	21	24	28	18	19	17	263
Proportion d'anti RH4 sans informations (%)	71,4	67,6	69,0	62,2	68,4	60,0	58,5	68,3	50,0	51,4	53,1	62,2

Parmi les 39 anti-RH4 apparu après la RAI du 1^{er} trimestre, 5 présentaient un titre supérieur ou égal à 1 /4 nécessitant un dosage pondéral.

6. Anticorps à risque foetal et seuils de dangerosité

Tableau 18 Proportions des grossesses présentant un anticorps avec un seuil critique

	Nombre de grossesses présentant cet anticorps	Nombre de grossesses présentant cet anticorps avec un seuil critique	Proportion des grossesses présentant cet anticorps avec un seuil critique/nombre de grossesse présentant cet anticorps (%)
Anti-RH1	659	271	41,1
Anti-RH4	423	55	13
Anti-KEL1	222	74	33,3

Au total, **400** grossesses ont présenté un anticorps ayant atteint au moins une fois un seuil critique, sans distinction entre les 3 spécificités.

Ce graphique représente la proportion de chaque spécificité par rapport à ces 400 grossesses.

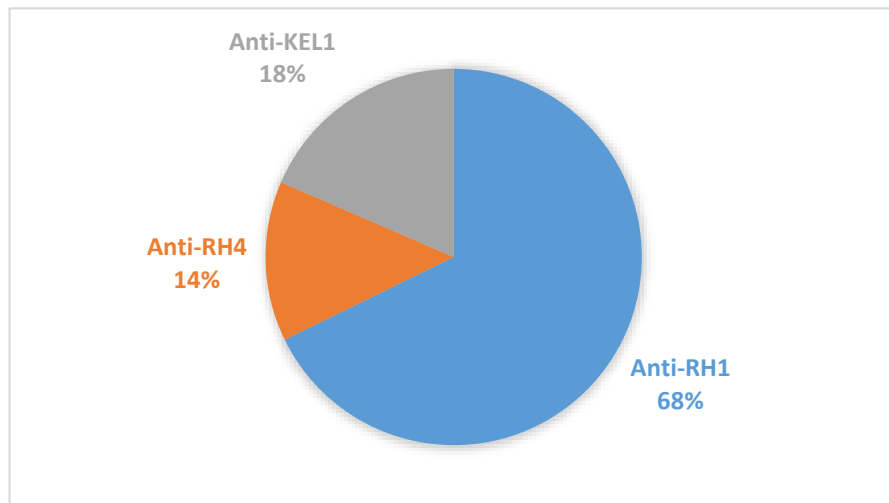


Figure 10 400 grossesses présentant un anticorps à risque fœtal à un seuil critique : répartition par spécificité

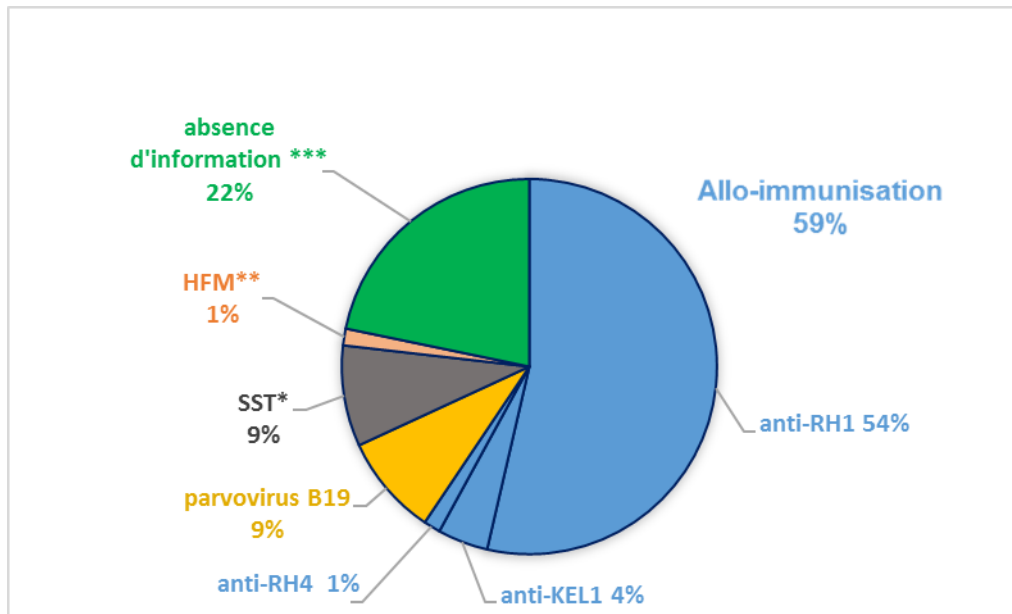
Là encore, il s'agit d'une synthèse des données de 2006 à 2016 : une même femme a pu avoir plusieurs grossesses dans cette période, et présenter lors de chaque grossesse un anticorps avec un seuil à risque.

B. Transfusion *In Utero* (TIU)

Entre 2006 et 2016,

- 69 patientes ont eu recours à une transfusion in Utero dans la région PACA (6/an en moyenne), avec un minimum de 2 patientes en 2014, et un maximum de 12 patientes en 2010.
- 129 CGR pour TIU ont été délivrés (12/an en moyenne). Le nombre de CGR par patiente s'étend de 1 à 7. Les TIU dans un contexte d'allo-immunisation ont toutes nécessité plus de 1 CGR par patiente.

1. Indications des TIU



SST *: syndrome Transfusé-Transfuseur (complication spécifique des grossesses multiples)
HFM **: Hémorragie Fœto-maternelle avec Test de Kleihauer fortement positif
Absence d'informations*** : absence d'allo-anticorps, Test de Kleihauer négatif ou non réalisé

Figure 11 Répartition des indications de TIU, en %

2. Allo-anticorps impliqués dans les TIU

a) Spécificités

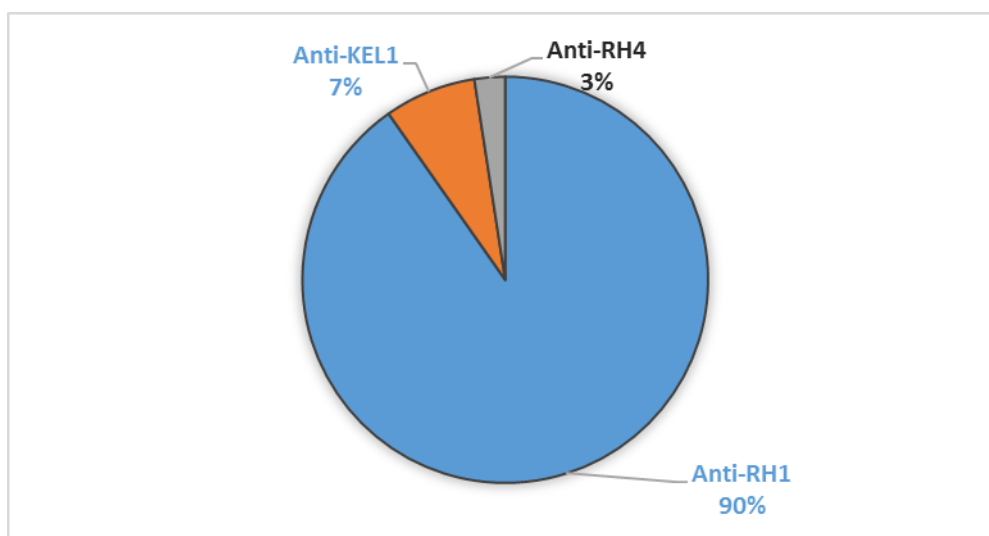


Figure 12 Répartition de la spécificité des allo-anticorps, en %

b) *Fréquence des TIU en fonction du seuil critique des anticorps*

Tableau 19 Anticorps à taux critiques et recours aux TIU

	Nombre de grossesses présentant cet anticorps	Proportion des grossesses présentant cet anticorps avec un seuil critique/nombre de grossesse présentant cet anticorps (%)	Proportion des grossesses ayant eu recours à une TIU/nombre de grossesse présentant cet anticorps (%)	Proportion des grossesses ayant eu recours à une TIU/nombre de grossesse présentant cet anticorps avec un seuil critique (%)
Anti-RH1	659	41,1	5,6 (37/659)	13,6 (37/271)
Anti-RH4	423	13	0,24 (1/423)	1,8 (1/55)
Anti-KEL1	222	33,3	1,35 (3/222)	4 (3/74)

c) *Titre et dosages pondéraux des anticorps impliqués dans les TIU*

Tableau 20 Titre et dosage pondéraux des anticorps impliqués dans les TIU

Spécificités	Titre	Dosage pondéral (UCHP/ml)
Anti-RH1	1/64 n*=2	<1000 n=8
	1/128 n=1	[1000-10 000] n=24
	1/256 n=32	>10 000 n=4
	1/512 n=1	Minimum 325 maximum 55400
Anti-RH4	1/16 n=1	1620
Anti-KEL1	1/256 n=2	/
	1/512 n=1	

*nombre de grossesses avec TIU

Les titres et dosages pondéraux qui ont été recueillis sont les plus élevés avant la TIU. Lorsque les résultats du dosage pondéral sont disponibles à partir de la méthode en 2 temps et de celle en 1 temps, seuls les résultats de la méthode en 1 temps ont été pris en considération (estimation de la proportion d'anticorps autre que IgG3, représentant la proportion la plus agressive).

d) Associations d'anticorps impliquées dans les TIU

Parmi les 41 patientes ayant eu une TIU avec un contexte allo-immunisation, on dénombre 26 associations d'allo-anticorps soit 63,4% des TIU avec allo-immunisation. Ces associations d'allo-anticorps sont regroupées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 21 Associations d'anticorps impliqués dans les TIU

Associations retrouvées	Nombre	%
RH1+RH2	18	69,2
RH1+RH2+RH3	2	7,7
RH1+RH2+RH3+MNS3	1	3,8
Rh1+RH2+RH3+LE1	2	7,7
RH1+RH2+RH3+RH12+KEL1+auto-anticorps	1	3,8
RH1+YT2	1	3,8
RH4+JK1	1	3,8
<i>Total</i>	26	100

Les anticorps associés à l'anti-RH1 présentent un titre faible et ne sont pas considérés comme responsable du besoin transfusionnel.

IV. DISCUSSION

En région PACA, le nombre de naissances par an se situe entre 57000 et 60000 depuis 2006. Dans notre étude, seulement 6688 grossesses suivies en EFSAM présentent une immunisation, tout anticorps confondu, sur la période de 2006 à 2016. L'allo-immunisation fœto-maternelle est une situation obstétricale rare mais potentiellement grave et responsable d'atteintes fœtales et néonatales sévères. C'est pourquoi le suivi des recommandations immuno-hématologiques actuelles pendant la grossesse ainsi que la connaissance des outils diagnostiques et thérapeutiques disponibles restent indispensables. Ce travail présente plusieurs objectifs. Dans un premier temps, la revue de la littérature a permis l'état des lieux des recommandations en vigueur et des différentes avancées médicales offrant un meilleur suivi (génotypage fœtal, mesure du PV ACM). Aussi, ce travail fait part de l'immunisation chez les femmes enceintes suivies par l'EFSAM entre 2006 et 2016. Dans cette étude rétrospective, nous nous sommes heurtés à des difficultés pour rassembler les informations nécessaires à la sélection des patientes. Le contexte obstétrical est loin d'être systématiquement renseigné et participe à un certain biais de sélection. Il en est de même pour la notion d'injection d'IgRH1 conduisant parfois à une confusion entre allo-anticorps immun et anticorps passif anti-RH1. Il paraissait alors important d'évoquer un biais de sélection dont on ne peut s'affranchir, comme en témoigne le groupe 2. Les données que nous allons comparer avec celles issues de la littérature sont celles du groupe 1, patientes pour lesquelles un contexte d'immunisation en situation obstétricale est certain. (Tableau 9)

A. Etat des lieux de l'allo-immunisation fœto-maternelle

1. Proportions respectives des différentes spécificités d'anticorps

Dans notre cohorte, les différentes proportions d'anticorps retrouvées chez les femmes enceintes sont les suivantes :

- Anticorps responsables d'anémies fœtales et de MHNN

En moyenne 19.5% des grossesses suivies en EFSAM présentent un anticorps à risque d'impact fœtal entre 2006 et 2016, et ces anticorps représentent 26.1% des anticorps d'intérêt obstétrical. Parmi ces anticorps, l'anti-RH1 est le plus retrouvé (13.2%) suivi de l'anti-RH4 (8.5%) et enfin l'anti-KEL1 (4.4%). (Tableau 10)

- Anticorps responsables de MHNN

Les anticorps dont le risque est limité à la période néonatale sont retrouvés chez 54.1% des grossesses, et représentent 72.4 % des anticorps d'intérêt obstétrical. La grande majorité de ces anticorps correspond à des anti-MNS1 et anti-RH3. En effet, l'anti-MSN1 représente 24.3% des cas, suivi de l'anti-RH-3 (21.4%) (Tableau 11)

- Anticorps anti-privés et anti-publics

Les anticorps anti-privés et anti-publics sont, comme attendu, très peu retrouvés. (Tableaux 12-13). En 2014 de nombreux faux positifs ont été identifiés sur les panels d'hématies-tests utilisés conduisant à une surestimation d'anticorps anti-privé. Cependant, par définition, les anticorps anti-privés sont absents de la grande majorité des panels d'hématies-test. La découverte d'un anti-privé se fait alors la plupart du temps à la naissance, devant un TDA positif chez le nouveau-né et une RAI négative chez la mère. [64] Ces anticorps, peu connus, peuvent être sans danger, ou responsables de maladie hémolytique modérées à sévères. [65] Ainsi, devant tout signe évocateur d'une IFM accompagné d'une RAI négative, il convient de tester le sérum maternel ou l'éluat obtenu à partir des hématies de l'enfant avec les hématies paternelles, en absence d'incompatibilité ABO. [14] [15] Le bilan immuno-hématologique du nouveau-né n'a pas été exploité dans ce travail car le lien entre la mère et l'enfant n'est pas systématiquement renseigné. Il est donc très difficile d'évaluer avec précision la fréquence des anticorps anti-privés chez les femmes enceintes.

- Anticorps sans incidence obstétricale

Concernant les anticorps sans incidence obstétricale, ce sont les anti-LE1 et anti-LE2 qui représentent de loin, la plus grande proportion au sein de ce groupe. Les auto-anticorps et les anti-CHRG ne représentent pas un danger obstétrical ni transfusionnel

mais peuvent être à l'origine de difficultés à la RAI, en masquant d'autres anticorps d'intérêt. [66] (Tableau 14)

Le nombre de naissances vivantes en PACA issues de l'ARS entre 2006 et 2015 (données de 2016 non disponibles) permet d'aborder l'immunisation chez les femmes enceintes sous un autre point de vue : l'estimation de la prévalence de femmes enceintes allo-immunisées.

2. Prévalence de l'allo-immunisation chez les femmes enceintes

Dans notre cohorte, nous estimons que 0.85% (2011) à 1.47% (2006) de femmes enceintes sont allo-immunisées et 0.64% à 0.92% si l'on ne prend en compte que les anticorps d'intérêt obstétrical. L'anti-RH1 reste l'anticorps le plus important et environ 0.06 % des femmes enceintes présentent un allo-anticorps anti-RH4, 0.03% un allo-anticorps anti-KEL1. Là encore, nous retrouvons RH1>RH4>KEL1. (Tableau 15)

Il est important de souligner que les allo-immunisations dans les systèmes RH et KEL sur le territoire Français sont liées à une IFM dans la mesure où le phénotype RHK est obligatoirement respecté lors de transfusions sanguines chez les femmes en âge de procréer, depuis plus de 15 ans. En revanche, l'origine des autres allo-immunisations peut être gravidique comme transfusionnelle. Nous n'apporterons pas cette information car, par manque d'outils, le lien entre l'allo-immunisation de la mère et le phénotype de l'enfant n'a pas été recherché dans ce travail. Ainsi, contrairement aux allo-immunisations RH et KEL pour lesquelles nous pouvons affirmer un lien avec une IFM, la prévalence des autres allo-immunisations n'est que purement informative, sans lien avéré avec une IFM.

Nos données ainsi que celles issues de la littérature sont rassemblées dans les tableaux suivants :

Tableau 22 Comparaison des proportions respectives des différentes spécificités d'anticorps retrouvées chez les femmes enceintes dans la littérature et dans notre étude

	Notre étude (2017)	Pal <i>et al</i> (2015) [67]	Zwingerman <i>et al</i> (2015)[68]	Koelewijn <i>et al</i> (2008) [69]	Geifmanholteman <i>et al</i> (1997) [70]	Brossard <i>et al</i> (1995) [71]	Filbey <i>et al</i> (1995)[72]	Brossard <i>et al</i> (1981)[73]	Pepperell <i>et al</i> (1977) [74]
Pays	France (Région PACA)	Australie (Queensland)	Canada	Pays-bas	Etats-Unis (New York)	France (région Parisienne)	Suède	France (région Parisienne)	Australie
Période d'étude	2006-2016	2011-2013	2006-2010	2003-2005	1993-1995	1993	1990-1991	1978-1979	1965-1975
Anticorps	% (par rapport au nombre de femmes enceintes immunisées)	% (par rapport au nombre de femmes enceintes immunisées)	% (par rapport au nombre d' anticorps)	% (par rapport au nombre d' anticorps)	% (par rapport au nombre d' anticorps)	/	% (par rapport au nombre d' anticorps)	% (par rapport au nombre de femmes enceintes immunisées)	/
RH1	9,9	10,4	6,8	6,74	18,4	48	19,4	76,3	48,3
RH2	4,6	1,7	6,08	0,42	4,7	2	4,2	0,26	5,3
RH3	16	27,6	48,48	5,43	14	26	4,5	4,47	5,3
RH4	6,3	8,7	15,74	3,1	5,8	5	2,9	5,26	1,9
RH5	0,8	1,2	2,68	0,18	/	<1	0,1	0,13	0,4
RH8	3,3	0,6	/	1,65	0,2	6	1,2	0,39	/
RH12	0,1	/	/	/	/	/	/	/	/
KEL	3,3	9,1	/	4,35	22	3,5	5,3	7,1	4,7
FY1	1,5	2,7	4,47			1	3,2	0,92	
FY2	0,4	0,4	0,36	1,39 (FY)	5,6 (FY)	/	/	/	1,9 (FY)
JK1	4,7	4,4	10,38			2,5	1,2	0,79	
JK2	0,7	0,6	1,43	0,87	1,5 (JK)	<1	/	0,13	1,1 (JK)
MNS1	18,2	6	/			5	3,2	0,79	
MNS2	0,4	0	/			/	0,5	0,16	
MNS3	2,6	1,5	/	1,07 (MNS)	4,7 (MNS)	<1	0,6	/	3,1 (MNS)
MNS4	0,2	0,4	/			/	/	/	
LE1	20,3	5,8	/			/	20,5	/	
LE2	9	0,2	/	/	20,5 (LE)	/	7,8	/	8,1 (LE)
LU1	1,3	0,8	/	/	/	/	1,5	/	/
P	0,9	/	/	/	0,2	/	5,8	/	2,3
>2 Anticorps	11	16	21	/	18,8	/	8,2	/	/

Tableau 23 Comparaison de la prévalence de l'allo-immunisation chez les femmes enceintes dans la littérature et dans notre étude

	Notre étude (2017)	Chantziantoniou <i>et al</i> (2017) [75]	Manika Pal <i>et al</i> (2015) [67]	Goldman <i>et al</i> (2015)[76]	Koelewijn <i>et al</i> (2008)[69]	Geifmanholteman <i>et al</i> (1997) [70]	Filbey <i>et al</i> (1995)[72]	Brossard <i>et al</i> (1981) [73]	Pepperell <i>et al</i> (1977) [74]
Pays	France (Région PACA)	Royaume-Uni	Australie (Queensland)	Canada	Pays-bas	Etats-Unis (New York)	Suède	France (région Parisienne)	Australie
Période d'étude	2015	2006-2013	2011-2013	2011-2013	2003-2005	1993-1995	1990-1991	1978-1979	1965-1975
Allo-immunisation globale	0,91	/	0,73	0,54 à 0,81	1,23	1,47	0,57	0,38	2,03
Anti-RH1	0,09	0,1	0,08	0,08	0,08	0,26	0,14	0,29	1,33
Anti-RH4	0,06	0,07	0,06	0,07	0,05	0,07	0,03	0,02	0,08
Anti-KEL1	0,04	0,04	0,07	0,1	0,07	0,32	0,04	0,03	0,05

Plusieurs éléments se dégagent de cette revue de la littérature. Tout d'abord, nous constatons dans les études récentes des proportions d'anti-RH1 nettement moins importantes que celles rapportées dans les études plus anciennes. (Tableau 22) Cela témoigne de l'efficacité de l'immunoprophylaxie mise en place dans de nombreux pays occidentaux au cours du temps. En

Australie, l'anti-RH1 représente 48% des anticorps entre 1965 et 1975 contre seulement 10.4% dans une étude menée entre 2011 et 2013. Une telle diminution est également observée en France : 76.3% de 1978 à 1979, puis 48% en 1993 et enfin 9.9% dans notre étude (2006-2016). Cette diminution va de pair avec l'évolution des recommandations de l'immunoprophylaxie anti-RH1 marquée par une injection en post-partum dès les années 1970 puis très rapidement en période anténatale dans les situations à risques et enfin de façon systématique dès 2005. Malgré cela, l'anti-RH1 reste un anticorps très fréquemment retrouvé. Dans notre étude, il s'agit du 3^{ème} anticorps après l'anti-MNS1 et l'anti-RH3, sans prendre en compte les anti-LE. Soulignons que les proportions des anti-LE ne sont que rarement représentées dans littérature car ces anticorps n'ont aucun impact fœtal, néonatal ou même transfusionnel. Quand elles sont rapportées, ces proportions sont, comme attendus, assez importantes (entre 5 et 20% selon les auteurs). Dans l'étude Australienne menée par Pal *et al* en 2015 l'anti-RH1 est le 2^{ème} anticorps le plus important (10.4%) après l'anti-RH3 (27.6%), alors que l'anti-MNS1 ne représente que 6%. Au Canada, Zwingerman *et al* montre la encore que l'anti-RH3 est l'anticorps le plus important (48.48%) suivi de l'anti-JK1 (10.38%) et l'anti-RH1 (6.8%).

D'autre part, les données issues des différentes études s'accordent à témoigner de la faible fréquence de l'immunisation globale chez la femme enceinte (<2% de façon générale). Les études les plus récentes rapportent même un taux d'immunisation inférieur à 1%, liée à la diminution de l'allo-immunisation anti-RH1. Là encore, l'anti-RH1 reste un anticorps important puisqu'il est dans la majorité des cas plus fréquent que l'anti-RH4 ou l'anti-KEL1. Sa prévalence peut s'élever jusqu'à 1.33% dans les études anciennes contre seulement 0.08% dans les études plus récentes, témoignant là encore de l'efficacité de l'immunoprophylaxie anténatale systématique. (Tableau 23) En effet, les femmes enceintes RH-1 ne bénéficient pas d'immunoprophylaxie anténatales systématique lors des études menées par Filbey (1995) Brossard (1981) et Pepperell (1977). Les allo-immunisations anti-RH4 et anti-KEL1 sont rares, relativement stables au cours du temps dans notre étude (Tableau 23) et semblent comparables d'un pays à l'autre. Cependant, il faut souligner que contrairement à notre étude, l'anti-KEL1 semble être plus fréquent que l'anti-RH4 pour l'ensemble des auteurs. Au Canada, entre 2011 et 2013, l'allo-immunisation anti-KEL est même plus importante que l'allo-immunisation anti-RH1. L'étude des proportions respectives des différentes spécificités met également en avant l'importance de l'allo-immunisation anti-KEL1 par rapport à ce que nous rapportons dans notre étude (seulement 3.3% dans notre étude contre 22% aux Etats-Unis).

De nombreux éléments peuvent expliquer les différences observées sur les proportions respectives des spécificités et la prévalence de l'allo-immunisation chez la femme enceinte.

Tout d'abord, les polymorphismes antigéniques globulaires variables d'un pays à l'autre exposent les individus à des risques d'allo-immunisations différents, auxquels viennent s'ajouter des pratiques transfusionnelles différentes. [68] Contrairement aux recommandations Françaises, la phéno-compatibilité RHK n'est pas toujours respectée chez les femmes jeunes dans les pays occidentaux tels que les Etats-Unis et le Canada, où une origine transfusionnelle est retrouvée dans 50 à 80% des allo-immunisations anti-KEL1.[76] En revanche, la transfusion de CGR phéno-compatibles RHKEL1 est préconisée au Royaume-Uni depuis 2006. L'étude menée par Chatziantoniou *et al* entre 2006 et 2013 rapporte d'ailleurs des incidences RH4 et KEL1 très similaires aux nôtres. La comparaison de ces données peut aussi se montrer difficile dans la mesure où la compliance au calendrier des RAI n'est pas toujours comparable entre les différents pays, pouvant sous-estimer l'allo-immunisation dans certains cas. Aux Etats-Unis, l'absence de prise en charge financière du suivi des femmes enceintes pourrait être à l'origine d'une moins bonne compliance aux recommandations que celle observée dans les pays où la prise en charge est totale telle que la Suède, les Pays-Bas ou la France. [69] [72] C'est d'ailleurs ce qui expliquerait la prévalence de l'anti-RH1 estimée à 0.26% dans l'étude menée par Geifman-Holtzamn en 1997 malgré une prophylaxie anténatale. De plus, les recommandations quant au calendrier des RAI pendant la grossesse peuvent varier selon les pays et au cours du temps, impactant sur la sensibilité de détection des anticorps irréguliers. [68]

La détection des anticorps dépend de la technique utilisée et de sa sensibilité, variable d'une étude à l'autre, et mettant parfois en évidence des anticorps sans incidence obstétricale tel que peuvent l'être les anti-RH3 et anti-MNS1 de type IgM. En effet, ces anticorps sont bien souvent naturels, c'est-à-dire qu'ils pré-existent en dehors de toute stimulation transfusionnelle ou foeto-maternelle. Ils sont alors de nature IgM, actif à froid, incapable de franchir la barrière foeto-placentaire et sans danger pour le fœtus. D'après Miquel et al, les anticorps naturels représenteraient environ 35% des anticorps dépistés. Le traitement du sérum par DTT (dithiothréitol) permettrait de faire la distinction entre les anticorps immuns IgG (potentiellement dangereux) et les anticorps naturels de nature IgM mais cette technique complémentaire n'est pas systématiquement réalisée. [11] [14] [77]

Les spécificités d'anticorps prises en considération varient d'une étude à l'autre. Certaines prennent en compte toute immunisation confondue, c'est qui est notamment le cas de notre étude ou celle de Filbey qui inclue également les anti-Bg, anticorps classiquement non détecté en routine en IH. D'autres études s'intéressent seulement aux anticorps d'intérêt obstétrical, telles que les études Australienne et Canadienne publiées en 2015. De plus, certains auteurs rapportent des proportions d'anticorps par rapport à nombre de femmes immunisées,

d'autres par rapport au nombre d'anticorps totaux identifiés. Cet élément est important car une même femme peut présenter plusieurs anticorps lors de sa grossesse. Ces critères ne sont pas toujours bien définis et peuvent être en partie responsables de différents résultats observés.

Les critères de sélection des individus sont également variables d'une étude à l'autre. En 1997, Geifman *et al* ne se limite pas aux femmes enceintes mais considère toutes les femmes en âge de procréer (15 à 44 ans). Dans notre cohorte, nous avons sélectionné les grossesses menées ou à terme ou non (grossesse extra-utérines, interruptions volontaires ou médicales de grossesses, fausses couches...) alors que les données de l'ARS, permettant d'estimer la prévalence de l'immunisation, représentent le nombre de naissances vivantes. Dans l'étude menée par Brossard entre 1978 et 1979, la prévalence est estimée à partir des naissances vivantes et non vivantes. Cette étude attire d'ailleurs notre attention sur la prévalence particulièrement peu importante des allo-immunisations anti-RH4 et anti-KEL1 (0.03% et 0.02% respectivement). Cette donnée peut être largement sous-estimée compte tenu du fait que le suivi immun-hématologique n'est pas obligatoire pour les femmes RH1 à cette époque. [73]

3. Incidence de l'allo-immunisation

Contrairement à la prévalence, l'incidence de l'allo-immunisation chez les femmes enceintes ne tient pas compte des cas déjà connus lors de grossesses précédentes. Un manque de précision quant à cette distinction entre la prévalence et l'incidence a très souvent été retrouvé lors de cette revue de la littérature. D'après les auteurs du CNRHP, l'incidence de l'allo-immunisation chez les femmes enceintes serait de 0.1 à 0.2 %. Il semblerait que ce taux soit issu du registre du Centre d'Hémodiologie Périnatale, recensant les cas d'IFM non ABO entre 1993 et 1995 dans la région Parisienne. Dans cette même étude, l'incidence de l'anti-RH1 s'élève à 0.9 pour mille naissances. Les autres IFM ont une incidence cumulée d'environ 0.5 pour 1000 naissances et la moitié relève d'une IFM RH4 ou RH3. Quant à l'anti-KEL1, il présente une incidence inférieure à 0.14 pour 1000 naissances.[5] Là encore, un manque d'informations est à déplorer. En effet, nous ne connaissons pas les critères d'inclusion de cette étude tels que les anticorps pris en compte pour estimer l'incidence de l'allo-immunisation globale. De plus, il semblerait que cette étude ne recense que les Incompatibilités Foeto-Maternelles, c'est-à-dire les cas où le fœtus ou nouveau-né possède l'antigène érythrocytaire correspondant à l'anticorps maternel. Dans notre travail, nous rapportons une prévalence car

les outils disponibles ne permettaient pas d'établir l'incidence respective de chaque allo-immunisation. Cependant, pour estimer au mieux l'impact de l'immunoprophylaxie anténatale systématique mise en place depuis 2006, il paraissait indispensable de distinguer les nouvelles allo-immunisations de celles déjà connues et pour qui l'injection d'IgRH1 ne peut avoir aucune efficacité. Nous rapportons donc dans ce travail une incidence de l'allo-immunisation uniquement pour l'anti-RH1.

4. Incidence de l'allo-immunisation anti-RH1

Dans la littérature, nous n'avons pas retrouvé d'étude révélant l'incidence de l'allo-immunisation anti-RH1 depuis la mise en place des dernières recommandations du CNGOF mais seulement des études statistiques prédictives d'un impact significatif sur l'allo-immunisation [41]. Selon Branger et au regard de la littérature, la prophylaxie anténatale systématique permettrait une réduction de 700 femmes à 200 femmes enceintes immunisées anti-RH1 par an. [78] Au Canada [43], où la prophylaxie anténatale systématique est mise en place depuis plusieurs décennies, une incidence de 0.04% est rapportée, similaire à ce que nous retrouvons dans notre cohorte : 0.04% en 2014, 0.05% en 2015. (Tableau 16) La diminution de l'incidence de l'allo-immunisation anti-RH1 est significative depuis 2006, laissant témoigner de l'efficacité des recommandations du CNGOF. Néanmoins, bien que peu fréquents, des cas d'allo-immunisation anti-RH1 résiduelles persistent. Comme déjà évoquées, ces allo-immunisations résiduelles peuvent être la conséquence d'une prophylaxie inadaptée (posologie, délai). Bien qu'en 2005 le CNGOF mettent l'accent sur les différentes situations à risque d'hémorragies foeto-maternelles et sur une adaptation de posologie selon le test de Kleihauer, ces recommandations pourraient ne pas être suivies systématiquement. Les données transmises par CSL Behring évoquent une prophylaxie parfois inexistante. Elles estiment, par les ventes de Rhophylac[®], le taux de couverture chez les femmes enceintes RH-1 à 65.7% en janvier 2015 (contre 51.5% en 2007).[44] Une étude Irlandaise rend compte de l'incidence de l'allo-immunisation anti-RH1 entre 2010 et 2014 et des causes possibles d'échappement à l'immunoprophylaxie mise en place depuis 2002 et renforcée en 2008 (injection systématique d'IgRH1 au 3^{ème} trimestre et à l'accouchement, injection ciblée en cas de situation à risque). Elle rapporte une incidence de 0.31% chez les femmes enceintes RH1 négatif, soit environ 0.05% chez toutes les femmes enceintes (63 immunisations pour 124528 naissances). Ces données sont comparables à celles que nous retrouvons. D'après cette même étude, 96% des

immunisations sont observées malgré le respect des recommandations, 51% sont détectées après l'accouchement et 21% sont dues à une HFM durant la grossesse, le plus souvent silencieuse. Les auteurs proposent alors une augmentation des doses d'IgRH1 à l'accouchement (100µg en Irlande contre 200µg en France) et une immunoprophylaxie systématique au second trimestre. Cette dernière suggestion s'accompagne d'un génotypage fœtal systématique permettant de cibler les patientes à risques. [79] Enfin, des cas d'allo-immunisations et parfois de maladie hémolytique du nouveau-né ont été décrits chez des patientes présentant un antigène RH1 variant, correspondant à un phénotype RH1 faible (moins de 5000 sites antigéniques) et/ou partiel (absence d'un ou plusieurs épitopes). Ces patientes, initialement étiquetées RH1 positif, ne bénéficient pas d'immunoprophylaxie et sont donc à risque d'allo-immunisation pendant leur grossesse dans le cas où l'enfant est RH1. La présence du variant RH1 est dans la plupart des cas détectées trop tardivement suite à l'allo-immunisation.[39] Le variant DVI (faible et partiel) est le plus fréquent chez les populations caucasiennes et présente un haut risque d'immunisation et parfois de MHNN. C'est pourquoi les recommandations préconisent l'utilisation de réactifs ne reconnaissant pas ce variant afin d'étiqueter ces patientes RH1 négatif. [12] De plus, pour palier à ce risque avec les autres variants, une procédure de l'EFS préconise d'étiqueter les patientes en âge de procréer avec une technique de biologie moléculaire dans le cas où l'intensité d'agglutination est affaiblie avec l'anti-RH1.

5. Anticorps responsables d'anémie fœtale et seuils critiques

L'intérêt particulier porté à l'anti-RH1 se justifie par la fréquence de cette allo-immunisation chez les femmes enceintes mais surtout par sa dangerosité en période fœtale et néonatale. Dans notre cohorte, nous nous sommes intéressés à la fréquence à laquelle cette allo-immunisation était retrouvé avec un seuil à risque. Sur 659 grossesses présentant un anti-RH1, 271 ont été retrouvés avec un titre au moins une fois supérieure à 1/16. Autrement dit 41.1% des anti-RH1 ont été retrouvés avec un seuil à risque d'anémie fœtale imposant un dosage pondéral ainsi qu'un suivi lourd et rapproché. Par ailleurs, 33% des anti-KEL1 ont présenté un seuil à risque (titre 1/16) ; contre seulement 13% des anti-RH4 (titre 1 /4). (Tableau 18) Au total, 400 grossesses de notre cohorte ont présenté une allo-immunisation avec un titre nécessitant une attention particulière. Par ordre décroissant nous retrouvons l'anti-RH1 (68%), l'anti-KEL1 (18%), l'anti-RH4 (14%). (Figure 10) L'anti-RH1 reste l'anticorps à risque fœtal le plus fréquent mais aussi le plus souvent à un titre sévère. En revanche, bien que moins fréquent que l'anti-RH4, l'anti-KEL1 se révèle être plus souvent à un titre dangereux.

B. Transfusions *In Utero*

Les données issues de notre cohorte de femmes ayant bénéficié de transfusions *in utero* appuient ces observations. Au total, l'allo-immunisation, tout anticorps confondu, est la première cause de TIU avec 59% des indications. (Figure 11) L'anti-RH1 est impliqué dans 90% de ces TIU, l'anti-KEL1 est le 2^{ème} anticorps le plus impliqué (7%), suivi de l'anti-RH4 (3%). (Figure 12) Bien que pouvant être décrit comme responsable d'anémie fœtale sévère, aucun anti-RH3 n'a été retrouvé impliqué dans les TIU de notre cohorte. Lorsqu'il est présent, il est toujours associé à un anti-RH1 responsable de la sévérité de l'anémie. Les autres causes responsables de TIU sont les infections à Parvovirus (19%), les Syndromes Transfuseurs-Transfusés STT (9%) et exceptionnellement les hémorragies fœto-maternelles (1%). Un manque d'informations chez 22% des TIU est à déplorer, mais nous pouvons néanmoins en exclure les allo-immunisations. Le CNGOF rapporte des données similaires en 2009, auxquelles se rajoutent l'infection au Cytomégalo virus (CMV) et dans une moindre mesure les anémies fœtales par hémoglobinopathie (alpha-thalassémie homozygote) et les exceptionnelles pathologies de la membrane érythrocytaire. [80] Plus récemment, l'équipe du CNRHP a réalisé un état des lieux national des TIU en France au sein des centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal (CPDPN) afin de mieux connaître les pratiques Françaises entre 2011 et 2014. [81] Des résultats similaires à ceux de notre étude sont rapportés. En effet, la 1^{ère} cause d'anémie sévère motivant une TIU sont les incompatibilités foeto-maternelle (69%). L'anti-RH1 est impliqué dans 78% de ces TIU, l'anti-KEL1 est le 2^{ème} anticorps le plus impliqué (11%), suivi de l'anti-RH4 (4%). Dans une moindre mesure, l'anti-RH3 est retrouvé comme responsable de TIU (3%) mais aussi plus rarement l'anti-MNS1, JRA, RH2, JK1, RH18 (4 % tout confondu). Là encore, la deuxième indication des TIU correspond aux infections materno-fœtales à Parvovirus B19 (17% de l'ensemble des TIU). Les autres causes d'anémie représentent 8% des indications transfusionnelles : hémorragies foeto-maternelles, STT, chorioangiome, autres causes virales et pathologies congénitales de la lignée sanguine rouge à type de dysérythroïèse. A noter que 6% des anémies sont restées de cause indéterminée.

Dans notre étude, 129 CGR ont été délivrés pour réaliser des TIU (12/an en moyenne) lors de 69 grossesses (6/an en moyenne) entre 2006 et 2016. Nous rapportons donc une moyenne de 2 TIU par grossesse. Les TIU dans un contexte d'allo-immunisations ont toutes nécessité plus de 1 CGR, tandis qu'un CGR a bien souvent été suffisant dans les autres cas. Si l'on assimile le nombre de naissance en PACA disponibles par l'ARS au nombre de grossesses, les TIU concerneraient alors 0.01% des grossesses en moyenne. En région PACA, les TIU sont

réalisées par les centres hospitaliers universitaires de Marseille (hôpital Nord) et Nice. Dans l'étude nationale menée par le CNRHP, une moyenne relativement stable de 204 TIU sont réalisées et concernent 113 grossesses soit 0.015% des grossesses par an, ce qui est comparable à ce que nous rapportons. La TIU reste donc un évènement rare. D'après notre étude, 5.6% des grossesses présentant une allo-immunisation anti-RH1 ont eu recours à une TIU, et 13.6% de celles présentant cet anticorps avec un seuil à risque ($>1/16$). Lorsqu'il s'agit d'une immunisation autre que RH1, le recours à une TIU est encore plus rare : seulement 0.24% des grossesses avec une allo-immunisation anti-RH4 (1.8% parmi les grossesses avec un seuil à risque) et 1.35% des grossesses avec une allo-immunisation anti-KEL1 (4% parmi les grossesses avec un seuil à risque). Ainsi, en plus d'être moins fréquentes et susceptibles d'atteindre un seuil à risque, les allo-immunisations anti-RH4 et anti-KEL1, quand elles sont retrouvées, sont peu responsables de TIU, même lorsque leur titre est critique. (Tableau 19) Malgré la mise en place de l'immunoprophylaxie, nous constatons donc que l'allo-immunisation anti-RH1 demeure à l'origine de la majorité des cas sévère d'anémie fœtale. L'étude Canadienne menée par Zwingerman en 2015 appuie cette observation.[68] D'après Koelewijn en 2008 [69], une anémie fœtale sévère (objectivée par le besoin de TIU ou d'exsanguino-transfusion la première semaine de vie de l'enfant) due à un anticorps autre que RH1 concernerait seulement 9 grossesses pour 100 000.

Dans notre étude, nous constatons une association d'anticorps dans 63.4% des cas de TIU dues à une allo-immunisation (26 allo-immunisation multiples/41 TIU). (Tableau 21) L'association la plus fréquente est de loin l'anti-RH1+RH2 (environ 70% des cas). L'anti-RH1 est toujours impliqué à l'exception d'un cas où un anti-RH4 était associé à un anti-JK1. Dans la cohorte de patientes enceintes immunisées de 2006 à 2016, la fréquence des associations d'anticorps est bien plus faible et s'élève à 11%, tout anticorps confondu. Nous sommes donc en mesure de nous demander si un contexte de poly-immunisation n'est pas un facteur de risque de gravité dans le cadre de la MHNN. Dans la littérature, nous avons retrouvé 2 études s'y intéressant. Toutes deux tendraient à conclure que les femmes poly-immunisées présenteraient un risque plus important de développer une maladie hémolytique fœtale ou néonatale. La première étude, menée aux Etats-Unis en 2001, rapporte une association d'anti-RH1+RH2 dans environ 75% des cas d'association d'anticorps et conclue que la présence de l'anti-RH1 associé à un anti-RH2 augmenterait significativement le besoin d'un recours à une TIU et donc la gravité de la maladie hémolytique. [82] La seconde étude, menée là encore aux Etats-Unis et publiée en 2015, rend compte des allo-immunisations chez des femmes enceintes entre 2000 et 2013. [83] Environ 13% des patientes présentent des anticorps multiples (>2) ce qui est

comparable à nos résultats. Le risque de développer une maladie hémolytique fœtale et du nouveau-né serait 3.65 fois plus important chez les femmes présentant un anti-RH1 associé à un autre anticorps que chez les femmes présentant un anti-RH1 isolé. L'auteur évoque 2 hypothèses pour expliquer cette observation : la fixation d'anticorps sur un plus grand nombre d'antigène et ainsi un effet cumulatif de ces anticorps à l'origine d'une hémolyse accrue ; une réponse immune plus agressive chez les femmes susceptibles de développer plusieurs anticorps. Le fait que la MHNN soit plus sévère alors que le fœtus ne présente parfois qu'un seul des antigènes correspondant aux différents anticorps serait en faveur de la deuxième hypothèse.

Une étude Néerlandaise s'est intéressée aux TIU réalisées entre 1988 et 2001 dans un contexte d'allo-immunisations foeto-maternelle et aux complications associées. [84] Au total 740 TIU ont été réalisés sur 254 foetus. Des résultats comparables à ceux déjà cités sont observés : l'anti-RH1 est impliqué dans 85% des cas, suivi de l'anti-KEL1 (10%) et l'anti-RH4 (3.5%). L'anti-RH3, l'anti-RH5, l'anti-FY1 représentent environ 1% des cas. L'étude rapporte un taux de 3.1% de complication par TIU (césarienne en urgence, rupture prématurée des membranes, infections...) et 1.6% de pertes fœtales (thrombose, dissection, hématomes des vaisseaux du cordon, HFM...) Les séries Françaises présentent des résultats similaires, notamment ceux issus de la Maternité de l'hôpital Trousseau (241 TIU chez 85 fœtus, 2.8% de complications).[85] La TIU semble donc être une thérapeutique ayant révolutionné le pronostic de l'anémie fœtale, associée à des risques relativement faibles par rapport aux bénéfices apportés. En France, l'absence de recommandations de bonnes pratiques pour la réalisation de cet acte est néanmoins à souligner. En effet, les décisions telles que le terme acceptable pour un accouchement prématuré ou une TIU, le choix du médecin (gynécologue-obstétricien, sage-femme, pédiatre néonatalogiste) réalisant la ponction de sang fœtal précédant la TIU et l'acte transfusionnel, dépendent de l'expertise et de l'expérience de l'équipe médicale de chaque CPDNP. [81]

C. Recommandations du suivi IH chez la femme enceinte

1. Calendrier des RAI

Les recommandations semblent bien mieux établies en ce qui concerne le calendrier IH pendant la grossesse. Les recommandations pour la réalisation du groupage ABO-RHK ne présentent pas d'ambiguïté et tous les textes issus de la loi ou de la littérature préconisent une 1^{ère} détermination lors du 1^{er} examen prénatal (avant la fin du 3^{ème} mois) et une 2^{ème} détermination lors du 8^{ème} ou 9^{ème} mois.

Au vu de la synthèse présentée dans les Tableaux 2-3, l'ensemble des textes recommandent une RAI lors du 1^{er} examen pré-natal et ce quel que soit le statut RHD et l'histoire transfusionnelle de la patiente. En revanche, il semblerait que le reste du calendrier diffère légèrement selon les auteurs. Un des points à souligner est le suivi des femmes RH1 : les textes réglementaires ne recommandent pas de RAI en dehors de celle du 1^{er} trimestre, alors que les groupes d'expert ont tendance à recommander une RAI en fin de grossesse (8^{ème} ou 9^{ème} mois). Un autre élément à souligner est la confusion entre la RAI du 9^{ème} mois et celle de l'accouchement. Pour comprendre au mieux le calendrier des RAI chez la femme enceinte, il faudrait en réalité distinguer :

Les RAI à visée fœtale :

- Femmes RH-1 : 1^{er} trimestre (10SA), 6^{ème} mois et 8^{ème} mois (si absence d'immunoprofylaxie systématique à 28SA)
- Femmes RH1 : 1^{er} trimestre

Les RAI à visée transfusionnelle en fin de grossesse :

- Les recommandations HAS 2016 ne les recommandent pas
- Les articles de loi les préconisent pour les femmes RH-1
- Les auteurs du CNRHP et le rapport de la table ronde, réunissant de nombreux experts en 2000, les préconisent pour toutes les femmes quel que soit le statut RH.
- Le CNGOF recommande de réaliser une RAI au moment de l'admission pour accouchement (recommandations 2005) mais ne s'intéresse qu'aux femmes RH-1 ;
- la SFAR (société Française d'anesthésie et de réanimation) recommande de vérifier la disponibilité des résultats de la RAI dès l'entrée en salle de travail. Si la grossesse est « normale », un contrôle de moins d'un mois suffit. En revanche, en cas de risque hémorragique du post partum avéré, une RAI datant de moins de 3 jours est recommandée (accord professionnel). [86] [87]

Les RAI dans le cadre de l'immunoprophylaxie systématique à 28 SA : (CNGOF 2005)

- Avant injection : s'assurer de l'absence d'allo-immunisation anti-RH1
- Après injection : contrôle de la présence d'anti-RH1 passif

Les dernières recommandations en vigueur s'appuient largement sur les recommandations du CNGOF en 2005 et sont celles de l'HAS en 2016. Ce sont donc de ces recommandations dont nous allons particulièrement discuter.

Chez les femmes RH-1, la suppression de la RAI du 8^{ème} mois en cas d'injection d'IgRH à 28 SA pourrait entraîner une méconnaissance d'apparition d'anti-RH1. En effet, nous savons qu'il existe des causes d'échappement à l'immunoprophylaxie anti-RH1 expliquant en partie les allo-immunisations résiduelles. Nous sommes donc en mesure de nous demander si la suppression de cette RAI est sécuritaire.

Absente dans ses recommandations HAS 2016, la RAI de fin de grossesse permettrait pourtant de sécuriser un acte transfusionnel maternel urgent au moment de l'accouchement. Plusieurs arguments le justifient, tels que le risque de transfusion lors d'un accouchement (0.44% pour un accouchement par voie basse et 0.82% pour une césarienne), le risque d'immunisation en cours de grossesse et particulièrement au 3^{ème} trimestre, l'absence de prédictibilité de la survenue d'une hémorragie du post-partum (5% des accouchements), le délai nécessaire pour obtenir un résultat immuno-hématologique parfois non compatible avec une situation d'urgence. [86] [87] La sécurité transfusionnelle apportée par cette RAI concerne les femmes RH-1 mais aussi celles RH1. En effet, les recommandations portent principalement sur les femmes RH-1 dans la mesure où l'allo-immunisation anti-RH1 est la plus redoutable et qu'elle peut être prévenue. Pourtant, cette RAI de fin de grossesse permettrait de mettre en évidence des allo-anticorps à risque transfusionnels mais aussi ceux à risque obstétrical qui n'auraient pas été mis en évidence lors de la RAI du 1^{er} trimestre. Nos données ainsi que celles de littérature montrent que l'anti-RH1 n'est pas seul responsable d'anémies fœtales graves : l'anti-RH4 et l'anti-KEL1 sont également impliqués (10% des TIU avec allo-immunisations). (Figure 12) Concernant l'anti-KEL1, son titre d'emblée élevé et le risque faible de réactivation au cours de la grossesse laisse à penser qu'il est toujours présent au 1^{er} trimestre. En revanche, le CNRHP met en garde contre des immunisations anti-RH4 faible parfois non détectées au 1^{er} trimestre avec des réactivations fréquentes dès le 2^{ème} trimestre de la grossesse. [54] Le calendrier moins « drastique » des femmes RH1, les seules capables d'allo-immunisation anti-RH4, pourrait alors être à l'origine de cas sévère d'immunisations avec retentissement fœtal dépistés trop tardivement. Au Pays-Bas, Koelewijn [69] met en évidence dans son étude 8 cas

de MHNN dues à des anticorps autres que RH1 non détectés lors de la RAI du premier trimestre. Parmi ceux-là, sept sont des anticorps anti-RH4 dont deux associés à des anti-RH3. Deux nouveau-nés présentent des séquelles cérébrales à l'âge d'un an. Ainsi, il estime que la sensibilité de détection des MHNN sévères causée par des anticorps autre que RH1 est de 75% avec une RAI au premier trimestre. L'auteur suggère alors de rajouter une RAI à 30 SA chez les femmes RH-4. Dans cette même étude, un anticorps supplémentaire non identifié au 1^{er} trimestre a été détecté, en moyenne à 29SA et 4jours, chez 7% des grossesses présentant une allo-immunisation autre que RH1. Parmi ces allo-immunisation, 30% sont des anti-RH4 dont 1 cas responsable de MHNN sévère. Cela témoigne de la capacité d'allo-immunisation supplémentaire chez les femmes déjà immunisées et de l'intérêt de répéter les RAI chez ces patientes. Notre travail permet de mettre en évidence qu'une part variable non négligeable d'anti-RH4 est détectée après la RAI du 1^{er} trimestre : 9% des anti-RH4 en moyenne de 2006 à 2016 (minimum 0%, maximum 22.9%). (Tableau 17) Parmi ceux-là, cinq avaient atteint un seuil à risque nécessitant un dosage pondéral. La sévérité des conséquences de l'allo-immunisation anti-RH4 nous amène à s'interroger sur le calendrier des RAI pour les patientes RH1. [88] Initialement, une technique enzymatique (hématies papainées) était utilisée afin de renforcer la détection des anticorps du système RH tel que l'anti-RH4. Cependant, des arguments en défaveur de son utilisation expliquent qu'elle ne soit pas recommandée actuellement. D'une part, cette technique révèle des auto-anticorps à l'origine de difficultés d'identification à la RAI et ainsi à une surcharge de travail et à un retard d'identification à la RAI. D'autre part, des études ont montré que les anticorps détectés uniquement en technique enzymatique n'ont que très rarement une incidence clinique. La détection précoce ne modifierait donc pas la prise en charge et la surveillance fœtale lors de la grossesse. L'abandon de la technique enzymatique est alors possible **si une RAI est réalisée une deuxième fois entre la 24 et 28SA.** [39] [89]

Si les allo-immunisations anti-RH1 -RH4 -KEL1 sont les plus redoutables, il ne faut pas néanmoins sous-estimer l'impact des autres allo-immunisations en période néonatales, pouvant nécessiter une attention et prise en charge particulière, allant de la photothérapie à l'exsanguino-transfusion. [72] Dans notre étude, les allo-immunisations à risque de MHNN représentent près de la moitié des immunisations totales (47%). Cette proportion peut être surestimée par un nombre important d'anti-MNS1, non retrouvé dans les autres études et potentiellement de nature IgM. Cependant, nous pouvons souligner que des cas sévères de MHNN ont décrits dans la littérature pour cet anticorps. Moise rapporte six cas de MHNN sévères liées à une allo-immunisation anti-MNS1 dans la littérature anglaise, avec pour point commun des antécédents de fausses couches répétées chez la mère. [77] La RAI de fin de grossesse permet alors de

mieux appréhender ce risque de MHNN. Une atteinte hémolytique sévère peut être observée dès la naissance ou de façon plus modérée quelques jours plus tard, sous forme d'un ictère prolongé ou d'une anémie secondaire. En effet, le processus hémolytique se poursuit jusqu'à disparition des anticorps (21 jours) entraînant une augmentation de la bilirubine et une anémie, majorée par la baisse physiologique du taux d'hémoglobine les premiers jours de vie. A la naissance, un TDA positif chez témoigne de la fixation d'anticorps maternels sur les globules rouges l'enfant et donc d'un conflit immunologique. L'imputabilité des anticorps maternels peut être démontrée par une épreuve d'élution qui permet de décrocher les anticorps fixés et d'en étudier la spécificité. Ainsi, devant tout TDA positif à la naissance, une surveillance biologique prolongée et régulière est recommandée chez l'enfant. [19]

2. Le génotypage fœtal non invasif

a) RH1

Un des points les plus importants dans les avancées du suivi immun-hématologique de la femme enceinte est certainement l'inscription du génotypage fœtal non invasif RH1 à la nomenclature des actes de biologie médicale. L'intérêt et la fiabilité de ce test ont largement été démontrés depuis plusieurs années par les groupes d'experts et ont été évalué positivement par la Haute Autorité de santé (HAS) en 2011. [60] Disponible dans de nombreux laboratoires spécialisés, l'absence de prise en charge par l'assurance maladie a jusqu'à maintenant limité le recours à ce test. Son inscription à la NABM favorisera la réalisation de ce test chez femmes RH-1 de manière plus systématique. Cette démarche offre plusieurs bénéfices dans le suivi immuno-hématologique, son indication étant élargie à toutes les femmes RH-1, qu'elles présentent une allo-immunisation anti-RH1 ou non. D'une part, la connaissance du génotypage fœtal permet d'éviter d'administrer une prophylaxie anténatale systématique aux femmes porteuses d'un fœtus RH-1. Cette prévention superflue coûte cher, et l'injection de ces produits dérivés sanguins n'est pas complètement dénuée de risque. [30] [78] Cette situation est loin d'être exceptionnelle : la probabilité pour une femme RH1 négatif de s'unir avec un père RhD positif de génotype D/D est de 35 % (Fœtus RH1 dans 100% des cas) ; celle de s'unir avec un père de génotype D/d est de 50% (fœtus RH1 dans 50 % des cas). Au total, seulement 60% (35 % + 25 %) des femmes RH-1 porteront un fœtus RH1. [78] D'autre part, l'exclusion d'une situation d'incompatibilité en cas d'allo-immunisation permet d'éviter un suivi lourd (échographies, PVCAM), rapproché et anxiogène pour la patiente. Enfin, la focalisation sur un nombre plus restreint de femmes à risque d'allo-immunisation (150000 à 165000 femmes RH-1 enceintes chaque année, 90 000 RH-1 poteuses d'un fœtus RH1) laisse espérer un meilleur suivi pour ces patientes et ainsi une diminution de l'allo-immunisation résiduelle.

b) *RHCE et KEL1*

L'HAS n'a fait part, à ce jour, d'une évaluation positive des autres génotypages non invasifs disponibles. Les allo-immunisation anti-RH4 et KEL1 étant moins redoutées et moins fréquentes que celles anti-RH1, et en l'absence d'immunoprophylaxie, les génotypages RHCE et KEL1 ne sont pas évoqués dans les recommandations. Contrairement au génotypage RH1, ils ont pour seul intérêt la connaissance d'une situation d'incompatibilité fœto-maternelle, permettant de cibler une surveillance anténatale obstétricale et biologique lourde seulement aux femmes concernées. La stratégie d'utilisation du génotypage doit alors être ici totalement dépourvue de faux-négatifs. Plusieurs études ont déjà mis en évidence la fiabilité et l'intérêt des génotypages RH4 et KEL1. En 2015, l'équipe du CNRHP rapporte une sensibilité et une spécificité de 100% pour le génotypage RH4, étude menée sur 34 femmes enceintes RH-4 allo-immunisées. [90] Une étude menée là encore par le CNRHP sur 47 femmes enceintes allo-immunisées fait part de la fiabilité du génotypage KEL1. Elle rapporte une valeur prédictive positive et négative de 100% ainsi qu'un taux de résultats indéterminés de 13 % devant être considérés par défaut comme un fœtus KEL:1. [26] En 2016, l'Unité Fonctionnelle de Biologie Materno-Fœtale du Service de Biochimie et Biologie Moléculaire de l'Hôpital Nord à Marseille rapporte l'expérience de l'analyse du génotypage non invasif RHCE et KEL1 fœtal sur sang maternel, effectuée en routine hospitalière dans durant la période 2010–2014. L'étude est menée sur 8 patientes présentant une allo-immunisation anti-RH4, 10 présentant une allo-immunisation anti-RH2, 15 patientes présentant une allo-immunisation anti-RH3 et 23 patientes présentant une allo-immunisation anti-KEL1. Au total, 53,6 % des femmes allo-immunisées ont évité un suivi spécifique au cours de leur grossesse et 46,4 % ont été informées que leur fœtus était à risque de maladie hémolytique conduisant à une prise en charge spécifique. Aucun faux négatif n'a été reporté, seul un cas de faux-positif KEL1 a été retrouvé. [30] Actuellement, les génotypages RH4 et KEL1 fœtaux non invasifs peuvent être considérés comme fiables, sous réserve de conditions de réalisation extrêmement rigoureuses garantissant une bonne spécificité et sensibilité notamment pour le génotypage KEL1 (délai d'acheminement et de congélation, âge gestationnel de 13SA, absence d'hémolyse). Par ailleurs, comme nous l'avons souligné dans notre travail, les allo-immunisation anti-RH4 et KEL1 ne sont pas exceptionnelles et peuvent être responsables de morbidités et mortalités fœtales et néo-natales. Ces éléments laissent à penser que l'apport du génotypage fœtal autre que RH1 sera, dans un avenir proche, mieux valorisé par les autorités de santé.

D. Place de l'EFS dans le suivi de la femme enceinte

Comme nous l'avons évoqué dans la discussion sur le calendrier obstétrical, l'intérêt d'une RAI au 3^{ème} trimestre réside dans la détection d'une immunisation tardive ayant un intérêt obstétrical, notamment anti-RH4 chez les femmes RH1. Cette RAI présente également un intérêt pré-transfusionnel lié au risque hémorragique lors de l'accouchement.

Déjà les conclusions de la table ronde en 2000, réunissant la SFAR, le collège des obstétriciens et l'EFS proposent de mettre en place une organisation permettant d'assurer la sécurité des transfusions en contexte obstétrical et d'éviter des dysfonctionnements responsables d'accidents graves parfois mortels. [34] Cette prise en charge transfusionnelle passe par une anticipation des difficultés et notamment par la mise à disposition des résultats des analyses I-H du suivi de grossesse (groupe ABO-phénotype RHK-RAI) dans la base de données du site transfusionnel, et cela au plus tard dès l'entrée de la patiente en salle de travail. Cette anticipation est particulièrement sécuritaire en contexte d'urgence vitale, lorsque le délai n'est pas compatible avec la réalisation d'analyses I-H, tant pour la mère que pour le nouveau-né. En effet, jusqu'à l'âge de 4 mois, la transfusion du nouveau-né doit être compatible avec les anticorps de la mère, dans la mesure où le nouveau-né ne peut produire d'anticorps anti-érythrocytaires irréguliers. Les seuls anticorps pouvant être présents chez lui sont d'origine maternelle, par passage transplacentaire in utero. Ainsi, il convient de disposer d'une RAI la plus récente possible de la mère. Lorsque le statut IH de la mère n'est pas connu du site de délivrance, les CGR de groupe O délivrés seront RH-1 si le nouveau-né est de sexe féminin, et par conséquent très probablement RH4 positif. [47] La transfusion sanguine de ces CGR chez le nouveau-né associée à la méconnaissance d'une allo-immunisation anti-RH4 chez la mère peut aboutir à une situation d'incompatibilité érythrocytaire et ainsi à une aggravation de l'anémie et de l'état clinique de l'enfant.

La connaissance du statut I-H de la mère permet également d'anticiper les difficultés de type RAI positive ou phénotype rare avec mise en réserve de produits sanguins labiles. En effet, la présence d'un phénotype ou d'anticorps rares relève d'une prise en charge spécialisée et le laboratoire d'immuno-hématologie de l'EFS a pour rôle de maîtriser ces cas particuliers. La prudence doit s'imposer en matière de prédiction d'un risque néonatal ou fœtal car ces anticorps peuvent présenter un risque de MHNN. De par leur faible fréquence, l'impact de ces anticorps est peu décrit dans la littérature et il convient alors de les titrer afin de suivre leur évolution. [3] Des cas d'allo-immunisations anti-MNS5 et anti-VEL associés à des MHNN sévères requérant des TIU ont cependant été décrits. [65] L'anti-Tja, ou anti-PP1PK, peut également être

responsable de MHNN mais aussi d'avortement spontané en début de grossesse. [91] Dans notre cohorte, un anti-Tja associé à un anti-GLOB1 est retrouvé lors de grossesses de 2 patientes différentes. Contrairement aux anti-privés, les anticorps anti-public compliquent également l'avenir transfusionnel de la mère en imposant la sélection de CGR compatibles issus de donneurs possédant le même phénotype exceptionnel. Enfin, outre la difficulté transfusionnelle et le risque hémolytique néonatal, la difficulté réside dans la phase d'identification de l'anticorps. En effet, dirigés contre des antigènes de grande fréquence, ils sont caractérisés par une pan-agglutination du panel d'hématies-test. Ainsi, ils peuvent masquer d'autres allo-anticorps d'intérêt obstétrical comme transfusionnel. Dans notre cohorte, un anticorps anti-public a été identifié lors de 47 grossesses soit 39 patientes différentes de 2006 à 2016. Bien que très peu fréquents, ils ont imposé, pour le laboratoire, une attention particulière et une charge de travail plus importante que les autres allo-immunisations. Une patiente présentant un anti-MNS5 a eu recours à une transfusion sanguine lors de son accouchement. Cette transfusion sanguine sécuritaire a été possible grâce à l'anticipation de l'EFS d'une situation à risque hémorragique (l'accouchement), à sa collaboration avec le CNRGS, et par la sélection de CGR cryoconservés issus d'un donneur de sang rare U-.

La connaissance du statut IH de la mère par un laboratoire offrant une certaine expertise, tel que l'EFS, peut également s'avérer importante pendant la grossesse et pas uniquement au moment de l'accouchement. En effet, de par son niveau de connaissance quant à la dangerosité des anticorps, l'EFS peut être amené à donner un conseil de suivi obstétrical. Le recours à la TIU est également une situation nécessitant une certaine anticipation. Comme nous l'avons évoqué dans ce travail, la TIU est un acte qui nécessite une équipe pluridisciplinaire disponible, complète et entraînée. La préparation du culot globulaire demande du temps : sélection de CGR frais compatibles, concentration, irradiation...[81] L'anticipation de cet acte semble primordiale et doit passer par la connaissance du statut IH de la mère (RAI, phénotype RHK et étendu).

Ainsi, de par son niveau d'expertise, l'EFS semble assurer un rôle important dans le suivi de la femme enceinte. L'état des lieux montre que même si le suivi I-H est réalisé chez la femme enceinte, les résultats d'analyses ne sont pas toujours disponibles (ou alors uniquement) au moment de l'accouchement. En fonction de l'état d'immunisation ou du niveau d'urgence, la sécurité transfusionnelle n'est alors pas assurée (données EFS personnelles). En région PACA, une collaboration entre les LBM et les sites de délivrance s'est imposée avec plusieurs orientations :

- Un envoi systématique à l'EFS de toute RAI positive chez une femme enceinte

- Transmission au LBM de la structure qui assurera la délivrance des produits sanguins labiles d'un prélèvement pour réalisation d'une détermination de groupe ABO et phénotype RHK (2^{ème} détermination) et RAI. Il s'agit du bilan du 8^{ème} ou 9^{ème} mois, considéré comme un véritable bilan pré-transfusionnel. Ce prélèvement est réalisé par le LBM, par la maternité ou lors de la consultation d'anesthésie en fonction de l'organisation de la maternité. A l'occasion de ce prélèvement, les résultats du bilan du 3^{ème} mois effectué par le LBM sont envoyés par voie électronique au site transfusionnel. Cela permet d'assurer la mise à jour complète du statut I-H de la patiente bien avant son entrée au bloc accouchement d'une part, mais également un conseil transfusionnel ou obstétrical adapté.

Malgré quelques difficultés liées au caractère rétrospectif de ce travail, plusieurs éléments et points forts ont motivé cette étude. Tout d'abord, il s'agit d'une grande cohorte incluant 6688 grossesses différentes sur une longue période (onze ans). Le choix de la période d'inclusion semble intéressant et pertinent car 2006 est une année charnière marquant la mise en place des dernières recommandations du CNGOF et de l'immunoprophylaxie anténatale systématique du 3^{ème} trimestre. Quelques études se sont attachées à prédire l'efficacité très probable de ces dernières recommandations. Cependant, aucune étude rétrospective récente en France n'a objectivé de son efficacité et nous soulignons l'absence d'étude comparative de l'incidence de l'allo-immunisation fœto-maternelle avant et après 2006. De plus, ce travail ne s'intéresse pas uniquement à l'allo-immunisation anti-RH1 mais répond à plusieurs objectifs. En effet, il rend compte de l'immunisation globale chez la femme enceinte, des proportions des différentes spécificités identifiées et la sévérité de celles-ci (seuils critiques et Transfusion *In Utero*). Grâce aux données de l'ARS, notre travail fait également part d'une estimation de la prévalence des femmes enceintes immunisées reflétant la charge de surveillance prénatale de ces immunisations pour le laboratoire EFSAM. L'état des lieux des recommandations actuelles sur le suivi I-H de la femme enceinte a permis de discuter de celles-ci et d'en montrer les avancées (inscription du génotypage fœtal à la NABM) mais aussi quelques limites (focalisation sur les femmes RH-1, absence d'un consensus clair sur les RAI à visée transfusionnelles de fin de grossesse). Enfin, la place de l'EFS, aussi bien pendant la grossesse pour la prise en charge obstétricale que lors de l'accouchement, pour la sécurité transfusionnelle maternelle et néonatale, a pu être définie dans ce travail.

V. PERSPECTIVES ET CONCLUSION

Si la prévention et la prise en charge de l'allo-immunisation fœto-maternelle ont connu des avancées majeures ces dernières décennies, quelques points peuvent encore être améliorés.

○ Veille épidémiologique

En France, un registre national recensant les allo-immunisations fœto-maternelle anti-RH1 permettrait d'évaluer avec précision l'impact des dernières recommandations et l'efficacité de l'immunoprophylaxie anti-RH1. Une enquête systématique sur l'historique de l'immunisation mettrait en avant les causes de celles-ci (défaut de prévention, HFM massive, transfusion...). Cette veille épidémiologique permettrait également de recenser les cas sévères d'allo-immunisation, encore retrouvés de nos jours, et leurs conséquences fœtales et néonatales.

○ Anti-RH1 monoclonaux :

Initialement, les immunoglobulines spécifiques anti-RH1 provenaient de la collecte de nombreuses femmes fortement immunisées au cours de leur grossesse ou de personnes immunisées à la suite de transfusions non compatibles. Avec la généralisation de la prévention anti-RH1 et la transfusion non compatible de plus en plus rare, le nombre de personnes immunisées a fortement diminué et n'a pu suffire à la production d'anti-RH1 à l'échelle d'un pays. Dès lors, la collecte a reposé sur l'immunisation délibérée de volontaires sains RH-1 par injection répétées d'hématies RH1, avant d'être interdite en France dans les années 1980 pour des raisons éthiques et de sécurité. Les produits actuellement disponibles sur le marché Français reposent sur le recueil de plasmas de donneurs rémunérés des Etats-Unis, où la pratique persiste. [92]

Cette stratégie pose cependant de nombreux problèmes :

- Sécurité biologique : il s'agit d'une transfusion préalable du donneur par injections d'hématies RH1, ce qui revient à prélever un donneur ayant été transfusé, pratique interdite au nom de la sécurité sanitaire.
- Importation de produits : plus coûteuse que de les produire sur place.
- Dépendance d'une source unique d'approvisionnement.
- Ethique : approvisionnement grâce à des pratiques non acceptées en France

Ces éléments ont conduit à des tentatives de substitutions des immunoglobulines polyclonales spécifiques par des anticorps monoclonaux anti-RH1 recombinants. Ces derniers ont fait l'objet d'un développement et d'une évaluation clinique bien documentée dans de nombreux pays (Royaume-Uni Suisse, Danemark, Russie). [93] La principale difficulté rencontrée pour ces anticorps en développement est d'obtenir une clairance des hématies RH1 comparable à celle obtenues avec les IgRH polyclonales, utilisées comme référence.

En France, le LFB (laboratoire Français du fractionnement et des biotechnologies) a sélectionné un anticorps monoclonal recombinant humain, le Roledumab sur la base de son activité fonctionnelle. Cette immunoglobuline faiblement glycosylée sur son fragment possède une forte affinité aux récepteurs FcγRIII (CD16) à l'origine d'une réponse ADCC et d'une activation des cellules effectrices (NK, monocytes). [94] Le Roledumab, dont les études de phase I et II ont montré de très bons résultats, est en cours d'essai de phase IIb/III et figure parmi la liste des anticorps très attendu en 2017.

En conclusion, ce travail a permis de réaliser un état des lieux de l'immunisation des femmes enceintes suivies par l'EFSAM entre 2006 et 2016. Les résultats que nous rapportons sont comparables à ceux publiés dans la littérature étrangère, et nous observons une diminution significative depuis 2006 de l'incidence de l'allo-immunisation anti-RH1. Cette diminution témoigne de l'efficacité des dernières recommandations du CNGOF en 2005 : prophylaxie anténatale anti-RH1 systématique à 28SA chez les femmes RH-1 en plus de la prophylaxie ciblée et celle du post partum. Les recommandations mettent également l'accent sur la quantification de l'hémorragie fœto-maternelle, grâce au test de Kleihauer, permettant d'adapter la dose d'immunoglobuline polyclonales anti-RH1. De plus, dès 2005, le CNGOF suggère vivement le recours au génotypage fœtal RH1 non invasif afin de cibler les patientes allo-immunisées nécessitant un suivi obstétrical lourd et celles non allo-immunisées pour qui l'immunoprophylaxie est recommandée. Celui-ci a d'ailleurs fait l'objet d'une inscription à la nomenclature des analyses de biologie médicale en 2017.

Malgré ces recommandations et les avancées technologiques en biologie moléculaires, des allo-immunisations anti-RH1 résiduelles persistent, pouvant être sévères et allant jusqu'à la Transfusion In Utero. D'après notre étude, les TIU restent des événements rares et l'allo-immunisation anti-RH1 représente la première indication. Des résultats similaires sont rapportés dans une étude nationale menée entre 2011 et 2014 par le CNRHP.[81] Dans une

moindre mesure, les allo-immunisations anti-RH4 et anti-KEL1 peuvent elles aussi être responsables d'anémies fœtales sévères.

L'état des lieux des recommandations du suivi I-H de la femme enceinte révèle l'attention particulière portée sur les femmes RH-1. Cela se justifie aisément par la fréquence et la dangerosité de l'allo-immunisation anti-RH1. Cependant, l'intérêt principal de la RAI de fin de grossesse est d'assurer la sécurité transfusionnelle maternelle comme néonatale, pouvant être compromise par l'absence de détection d'allo-immunisation, quelque que soit la spécificité de l'anticorps. L'amélioration des recommandations I-H de la femme enceinte passe par une valorisation de la RAI de fin de grossesse tant pour les femmes RH-1 que RH1. De plus, cette RAI pourrait mettre en évidence un anticorps non détecté lors de RAI précédentes et représentant un danger pour le fœtus, notamment l'anti-RH4.

Enfin, nous nous sommes intéressés à la place de l'EFS dans le suivi obstétrical. Un des rôles de l'EFS est, de par sa connaissance sur la dangerosité des anticorps, de garantir une bonne prise en charge obstétricale. L'EFS assurant la grande majorité des transfusions, il se doit également d'anticiper les difficultés afin de garantir la sécurité transfusionnelle, aussi bien maternelle lors de l'accouchement que néonatale. L'élaboration de procédures adaptées et une communisation entre les différents acteurs permettent la mise en place d'une organisation assurant ce lien « IH-délivrance », indispensable pour offrir une bonne prise en charge transfusionnelle.

Liste des abréviations

ACP :	Anticorps Passif
AIFM :	Allo-Immunsation Fœto-Maternelle
CGR :	Concentrés de Globules Rouges
CMH :	Complexe Majeur d'Histocompatibilité CMH
CNGOF:	Collège National des Gynécologue et Obstétriciens Français
CNRHP:	Centre National de Référence en hémobiole Péninatale
CNRGS:	Centre National de Référence pour les Groupes Sanguins
CPA :	Cellule Présentatrice d'Antigène
DP :	Dosage Pondéral
DPI :	Diagnostic Pré-Implantatoire
EFS(AM) :	Etablissement Français du Sang (Alpes Méditerranée)
EST(IU) :	Exsanguino-Transfusion (In Utero)
HAS :	Haute Autorité de Santé
HbF :	Hémoglobine Fœtale
IFM€ :	Incompatibilité Fœto-Maternelle (Erythrocytaire)
IgM :	Immunoglobuline de type M
IgG :	Immunoglobuline de type G
IgRH :	Immunoglobuline polyclonale anti-RH1
IH :	Immuno-Hématologie
ISBT :	International Society of Blood Transfusion
HFM :	Hémorragie Fœto-Maternelle
LBM :	Laboratoire de Biologie Médicale
MDS :	Médicament Dérivé du Sang
MHNN :	Maladie HémoLytique du Nouveau-Né
PFC :	Plasma Frais Congelé
RCF :	Rythme Cardiaque Fœtal
RAI :	Recherche d'Agglutinines Irrégulières
RH1 :	Phénotype érythrocytaire D positif
RH-1 :	Phénotype érythrocytaire D négatif
SA :	Semaine d'Aménorrhée
SFAR :	Société Française d'Anesthésie et de Réanimation
TK :	Test de Kleihauer
TDA :	Test Direct à l'Antiglobuline
TIU :	Transfusions <i>In Utero</i>

BIBLIOGRAPHIE

- [1] CNGOF, « Prévention de l'allo-immunisation Rhésus D foetomaternelle. Recommandations pour la pratique clinique. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* ». 2005.
- [2] S. Huguet-Jacquot, C. Toly-Ndour, et A. Cortey, « Diagnostic et suivi biologiques des allo-immunisations anti-érythrocytaires chez la femme enceinte », *Rev. Francoph. Lab.*, vol. 2015, n° 470, p. 73- 80, mars 2015.
- [3] A. Cortey *et al.*, « Incompatibilités foetomaternelles érythrocytaires », *EMC - Pédiatrie - Mal. Infect.*, vol. 7, n° 3, p. 1- 22, juill. 2012.
- [4] C. d'Ercole, « Allo-immunisation foetomaternelle érythrocytaire », *EMC - Obstétrique*, vol. 4, n° 3, p. 1- 7, janv. 2009.
- [5] Y. Brossard, « Incompatibilités foeto-maternelles érythrocytaires », in *Transfusion sanguine : une approche sécuritaire*, Libbey, 2000, p. 290- 318.
- [6] J. M. Bowman, « The Prevention of Rh Immunization », *Transfus. Med. Rev.*, vol. 2, n° 3, p. 129- 150, sept. 1988.
- [7] K. Yazdanbakhsh, R. E. Ware, et F. Noizat-Pirenne, « Red blood cell alloimmunization in sickle cell disease: pathophysiology, risk factors, and transfusion management », *Blood*, vol. 120, n° 3, p. 528- 537, juill. 2012.
- [8] J. Kjeldsen-Kragh et B. Skogen, « Mechanisms and Prevention of Alloimmunization in Pregnancy », *Obstet. Gynecol. Surv.*, vol. 68, n° 7, p. 526- 532, juill. 2013.
- [9] L. Mannessier, « La surveillance immunohématologique de la femme enceinte et la nouvelle politique de prévention de l'allo-immunisation anti-RH1 », *Transfus. Clin. Biol.*, vol. 14, n° 1, p. 112- 119, mai 2007.
- [10] D.Oepkes, « Clinical value of an antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity assay in the management of Rh D alloimmunization », 2000.
- [11] L.Mannessier et M-H. Poissonnier, « Surveillance immuno-hématologique de la femme enceinte, nouvelle politique de prévention de l'allo-immunisation anti-RH1 et sécurité des transfusions en contexte obstétrical », in *Les analyses immunohématologiques et leurs applications cliniques*, Libbey., 2011, p. 187- 200.
- [12] P. Bailly, J. Chiaroni, et F. Roubinet, « Système Rh », in *Les groupes sanguins érythrocytaires*, Libbey., 2015, p. 87- 108.
- [13] J. I. Vaughan, « Erythropoietic suppression in fetal anemia because of Kell alloimmunization », *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 171, n° 1, p. 247- 252, juill. 1994.
- [14] E. Miquel et P. Rouger, « Incompatibilités foetomaternelles érythrocytaires (IFME) : de la surveillance immunohématologique des femmes enceintes à la maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN) », 2005.
- [15] Chiaroni, J., Roubinet, F, Bailly, P., Mannessier, L., et Noizat-Pirenne, F., « Recherche d'anticorps antiérythrocytaires », in *Les analyses immunohématologiques et leurs applications cliniques*, Libbey., 2011, p. 67- 77.
- [16] *Arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale.* .
- [17] K. Betke et E. Kleihauer, « Determination of the effectiveness of exchange blood transfusion in the newborn », *Arztliche Wochenschr.*, vol. 11, n° 36, p. 798- 800, sept. 1956.

- [18] C. Bassan et A. Charpentier, « Test de Kleihauer par technique cytochimique », 2014.
- [19] P. Bricca, E. Guinchard, et C. Guitton Bliem, « Prise en charge des allo-immunisations fœto-maternelles antiérythrocytaires », *Transfus. Clin. Biol.*, vol. 18, n° 2, p. 269- 276, avr. 2011.
- [20] C. Huissoud, V. Divry, et R.-C. Rudigoz, « Hémorragie fœtomaternelle : le point de vue du clinicien », *J. Gynécologie Obstétrique Biol. Reprod.*, vol. 38, n° 4, p. 286- 297, 2009.
- [21] Y. M. Lo *et al.*, « Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum: implications for noninvasive prenatal diagnosis », *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 62, n° 4, p. 768- 775, avr. 1998.
- [22] Y. M. Lo et J. Zhang, « Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma. », *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 64, n° 1, p. 218- 224, janv. 1999.
- [23] A. Mailloux et N. Da Silva, « Les Techniques de génotypage fœtal non-invasif RHD, KEL1 et RHc selon les indications, Journées Yves Brossard "10 ans du CNRHP et de progrès en hémobiologie périnatale" », 16-janv-2015.
- [24] Mailloux, A, « Modalités de réalisation des génotypages non-invasifs des groupes sanguins foetaux, Soirées CNRHP », 08-sept-2016.
- [25] P. Bailly, J. Chiaroni, et F. Roubinet, « Système Kell », in *Les groupes sanguins érythrocytaires*, Libbey., 2015, p. 115- 128.
- [26] A. Mailloux, N. D. Silva, C. Toly-Ndour, S. Huguet-Jacquot, Y. Brossard, et B. Carbonne, « Apport du génotypage fœtal non invasif sur sang maternel pour la prise en charge des allo-immunisations antiérythrocytaires et la prévention Rhésus », *Rev. Médecine Périnatale*, vol. 5, n° 4, p. 203- 207, déc. 2013.
- [27] Chiaroni, J., Roubinet, F, Bailly, P., Mannessier, L., et Noizat-Pirenne, F., « Principales applications de la biologie moléculaire en immunohématologie », in *Les analyses immunohématologiques et leurs applications cliniques*, Libbey., 2011, p. 148- 156.
- [28] *Décision du 24 mai 2017 de l'Union nationale des caisses d'assurance maladie relative à la liste des actes et prestations pris en charge par l'assurance maladie. .*
- [29] P. Scheffer, « Noninvasive fetal blood group genotyping of rhesus D, c, E and of K in alloimmunised pregnant women: evaluation of a 7-year clinical experience », *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.*, vol. 118, n° 11, p. 1340- 1348, oct. 2011.
- [30] M. Tsochandaridis, C. D'Ercole, J. Gabert, et A. Lévy-Mozziconacci, « Tests non invasifs en dehors des maladies génétiques : génotypage non invasif du groupe sanguin fœtal RHD, RHCE et KEL1 sur plasma maternel », *Rev. Médecine Périnatale*, vol. 8, n° 2, p. 62- 66, juin 2016.
- [31] *Arrêté du 19 avril 1985 modifiant l'arrêté du 27 août 1971 relatif aux examens médicaux pré et postnatals. .*
- [32] *Circulaire DGS/3B/552 du 17 mai 1985 Relative à la prévention des accidents transfusionnels et des accidents d'allo-immunisation. .*
- [33] *Décret n°92-143 du 14 février 1992 relatif aux examens obligatoires prénuptial, pré et postnatal.*
- [34] « Conclusions de la table ronde organisée par l'EFS sur le traitement des urgences transfusionnelles obstétricales (SFAR CNGOF EFS SFTS) ». 26-sept-2000.
- [35] CNRHP, « Suivi de la femme enceinte », 25-juin-2010.
- [36] Haute Autorité de Santé, « Suivi et orientation des femmes enceintes en fonction des situations à risque identifiées ». 2016.
- [37] CNGOF, « Extrait des Mises à jour en Gynécologie et Obstétrique TOME XXV ». 2001.

- [38] A. Cortey et Y. Brossard, « Prévention de l'allo-immunisation Rhésus-D fœto-maternelle - Effets indésirables et information des patientes », mars 2008.
- [39] P. D. Issitt, « Hemolytic disease of the newborn », in *Applied blood group serology*, 4th éd., 1999, p. 1045- 1095.
- [40] J. E. Hendrickson et M. Delaney, « Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn: Modern Practice and Future Investigations », *Transfus. Med. Rev.*, vol. 30, n° 4, p. 159- 164, oct. 2016.
- [41] O. Parant, « Prévention de l'allo-immunisation Rhésus-D fœto-maternelle - Comparaison de l'efficacité des différentes formes de prévention de l'allo-immunisation anti-D au cours de la grossesse : prévention ciblée limitée aux situations à risque ou associée à une prévention systématique au 3ème trimestre », mars 2008.
- [42] Brossard, Y, Cortey, A, et Carbonne, B, « Extrait des Mises à jour en Gynécologie et Obstétrique – Tome XXXIII : La prévention anténatale de routine anti-D (PARAD). Situation en 2009. » 2009.
- [43] K. Fung Kee Fung et al., « Prevention of Rh alloimmunization », *J. Obstet. Gynaecol. Can. JOGC J. Obstet. Gynecol. Can. JOGC*, vol. 25, n° 9, p. 765- 773, sept. 2003.
- [44] C. D'ercole, O. Parant, et C. Rambeaud, « Intérêts et limites de la prévention de l'allo-immunisation anti-D : où en est-on depuis les recommandations du CNGOF de 2005 ? Journées Yves Brossard "10 ans du CNRHP et de progrès en hémodiologie périnatale" ». 2015.
- [45] J. Huchet, R. Cregut, et F. Pinon, « Immuno-globulines anti-D Efficacité comparée des voies intramusculaire et intra-veineuse », *Rev. Fr. Transfus.*, vol. 13, n° 3, p. 231- 242, janv. 1970.
- [46] M. Dupont, J. Gouvitsos, I. Dettori, J. Chiaroni, et V. Ferrera, « Intérêt de la technique de microtitrage des anticorps anti-RH1 dans le suivi immunohématologique des femmes enceintes », *Transfus. Clin. Biol.*, vol. 14, n° 4, p. 381- 385, oct. 2007.
- [47] « HAS. Transfusions de globules rouges homologues : produits, indications, alternatives ». nov-2014.
- [48] Basille, C., « Le diagnostic préimplantatoire actuellement en France. La Lettre du Gynécologue - n° 335 », 2008.
- [49] S. K. M. Seeho, G. Burton, D. Leigh, J. T. Marshall, J. W. Persson, et J. M. Morris, « The role of preimplantation genetic diagnosis in the management of severe rhesus alloimmunization: first unaffected pregnancy: case report », *Hum. Reprod. Oxf. Engl.*, vol. 20, n° 3, p. 697- 701, mars 2005.
- [50] Y. Verlinsky et A. Kuliev, « Preimplantation genetic diagnosis for the Kell genotype », *Fertil. Steril.*, vol. 80, n° 4, p. 1047- 1051, oct. 2003.
- [51] *Arrêté du 1er juin 2015 déterminant les recommandations de bonnes pratiques relatives aux modalités d'accès, de prise en charge des femmes enceintes et des couples, d'organisation et de fonctionnement des centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal en matière de diagnostic prénatal et de diagnostic préimplantatoire.* .
- [52] L. mannessier, « JOURNÉES ÉDUCATIONNELLES SFTS : Suivi de l'allo-immunisation fœto-maternelle », 2003.
- [53] Y. Brossard, F. Parnet-Mathieu, et M. Larsen, « Diagnostic et suivi prénatals des allo-immunisations érythrocytaires », *Feuill. Biol.*, vol. 43, n° 245, p. 11- 17, 2002.
- [54] Toly N'Dour, C, « Part croissante et particularités des allo-immunisations autres qu'anti-D (RH1) : anti-Kell (KEL1) et anti-c (RH4)"10 ans du CNRHP et de progrès en hémodiologie périnatale" », 16-janv-2015.

- [55] Mailloux, A, « Allo-immunisations anti-RH4 : intérêt du dosage pondéral dans le suivi des femmes enceintes - CNRHP ». 2008.
- [56] B. Carbonne *et al.*, « Intérêt pratique du pic systolique de vélocité à l'artère cérébrale moyenne dans la prise en charge des anémies fœtales par allo-immunisation érythrocytaire », *J. Gynécologie Obstétrique Biol. Reprod.*, vol. 37, n° 2, p. 163- 169, 2008.
- [57] D. Rigal, F. Meyer, E. Mayrand, et F. Dupraz, « Les allo-immunisations fœto-maternelles anti-érythrocytaires : état de l'art en 2008 », *Rev. Francoph. Lab.*, vol. 2008, n° 402, p. 51- 62, mai 2008.
- [58] B. Carbonne *et al.*, « Le point sur le suivi des allo-immunisations érythrocytaires », *Gynécologie Obstétrique Fertil.*, vol. 38, n° 3, p. 205- 213, mars 2010.
- [59] Mailloux, A, « Génotypage Rhésus D fœtal sur sang maternel. Bénéfice de la technique chez la femme RhD négatif immunisée ou non. » 2015.
- [60] HAS, « Détermination prénatale du génotype RHD fœtal à partir du sang maternel ». janv-2011.
- [61] F. Arnaud et U. Simeoni, « La transfusion de produits sanguins labiles en période néonatale », *Transfus. Clin. Biol.*, vol. 12, n° 4, p. 336- 341, oct. 2005.
- [62] « Manuel de qualité de biologie médicale EFS Alpes-Méditerranée ». .
- [63] *Circulaire DHOS/SDO/DGS n° 2004-156 du 29 mars 2004 relative au Centre national de référence en hémobiochimie périnatale. .*
- [64] L. Mannessier, « Suivi immunohématologique des femmes enceintes : nouvelles recommandations », *Transfus. Clin. Biol.*, vol. 16, n° 2, p. 195- 200, mai 2009.
- [65] Reid, M, *The Blood Group Antigen FactsBook - 3rd Edition*. 2012.
- [66] B.-N. Pham, P.-Y. Le Pennec, et P. Rouger, « Allo-immunisation anti-érythrocytaire », *Transfus. Clin. Biol.*, vol. 19, n° 6, p. 321- 332, déc. 2012.
- [67] M. Pal et B. Williams, « Prevalence of maternal red cell alloimmunisation: a population study from Queensland, Australia », *Pathology (Phila.)*, vol. 47, n° 2, p. 151- 155, févr. 2015.
- [68] R. Zwingerman, V. Jain, J. Hannon, N. Zwingerman, et G. Clarke, « Alloimmune Red Blood Cell Antibodies: Prevalence and Pathogenicity in a Canadian Prenatal Population », *J. Obstet. Gynaecol. Can.*, vol. 37, n° 9, p. 784- 790, sept. 2015.
- [69] J. M. Koelewijn, T. G. M. Vrijkotte, C. E. van der Schoot, G. J. Bonsel, et M. de Haas, « Effect of screening for red cell antibodies, other than anti-D, to detect hemolytic disease of the fetus and newborn: a population study in the Netherlands », *Transfusion (Paris)*, vol. 48, n° 5, p. 941- 952, mai 2008.
- [70] O. Geifmanholtzman, M. Wojtowycz, E. Kosmas, et R. Artal, « Female alloimmunization with antibodies known to cause hemolytic disease », *Obstet. Gynecol.*, vol. 89, n° 2, p. 272- 275, févr. 1997.
- [71] Brossard, Y, « Journée des Techniques Avancées en Gynécologie : les incompatibilités sanguines foeto-maternelles 25 ans après », 1995.
- [72] D. Filbey, U. Hanson, et G. Wesström, « The prevalence of red cell antibodies in pregnancy correlated to the outcome of the newborn: a 12 year study in central Sweden », *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, vol. 74, n° 9, p. 687- 692, oct. 1995.
- [73] F. Pinon, R. Cregut, et Y. Brossard, « Immunisations érythrocytaires chez la femme enceinte, à propos de l'analyse de 761 observations de femmes allo-immunisées qui ont accouché clans la région parisienne en 1978 et en 1979 », *Rev. Fr. Transfus. Immunohématologie*, vol. Tome XXIV, n° N ° 5, p. 483- 497, 1981.

- [74] R. J. Pepperell, J. U. Barrie, et J. R. Fliegner, « Significance of red-cell irregular antibodies in the obstetric patient », *Med. J. Aust.*, vol. 2, n° 14, p. 453- 456, oct. 1977.
- [75] V. Chatziantoniou *et al.*, « A descriptive single-centre experience of the management and outcome of maternal alloantibodies in pregnancy: Maternal alloantibodies in pregnancy », *Transfus. Med.*, vol. 27, n° 4, p. 275 - 285, août 2017.
- [76] M. Goldman, D. Lane, K. Webert, et R. Fallis, « The prevalence of anti-K in Canadian prenatal patients », *Transfusion (Paris)*, vol. 55, n° 6pt2, p. 1486- 1491, juin 2015.
- [77] K. J. Moise, « Fetal anemia due to non-Rhesus-D red-cell alloimmunization », *Semin. Fetal. Neonatal Med.*, vol. 13, n° 4, p. 207 - 214, août 2008.
- [78] B. Branger et N. Winer, « Épidémiologie de l'allo-immunisation anti-D pendant la grossesse », *J. Gynécologie Obstétrique Biol. Reprod.*, vol. 35, p. 87- 92, février 2006.
- [79] C. J. McCauley, K. Morris, et K. Maguire, « A review of maternal alloimmunisation to Rh D in Northern Ireland: A review of maternal Rh D alloimmunisation », *Transfus. Med.*, vol. 27, n° 2, p. 132- 135, avr. 2017.
- [80] Brossard, Y, Cortey, A, et Carbonne, B, « Extrait des Mises à jour en Gynécologie et Obstétrique – Tome XXXIII : Le point sur les thérapies fœtales. Transfusion in utero : indications et résultats ». 2009.
- [81] A. Girault, S. Friszer, E. Maisonneuve, L. Guilbaud, A. Cortey, et J.-M. Jouannic, « Transfusions fœtales érythrocytaires : état des lieux sur 4 ans en France (2011–2014) », *J. Gynecol. Obstet. Hum. Reprod.*, vol. 46, n° 2, p. 119- 124, févr. 2017.
- [82] C. Y. Spong, A. E. Porter, et J. T. Queenan, « Management of isoimmunization in the presence of multiple maternal antibodies », *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 185, n° 2, p. 481 - 484, août 2001.
- [83] K. B. Markham, K. Q. Rossi, H. N. Nagaraja, et R. W. O'Shaughnessy, « Hemolytic disease of the fetus and newborn due to multiple maternal antibodies », *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 213, n° 1, p. 68.e1-68.e5, juill. 2015.
- [84] I. L. Van Kamp *et al.*, « Complications of intrauterine intravascular transfusion for fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization », *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 192, n° 1, p. 171- 177, janv. 2005.
- [85] S. Friszer et C. Garabedian, « Transfusion in utero : modalités et timing des TIU itératives Journées Yves Brossard "10 ans du CNRHP et de progrès en hémodiologie périnatale" », 16-janv-2015.
- [86] Mollieux, S, « Examens pré-interventionnels systématiques - SFAR ». 2012.
- [87] CNGOF, « Recommandations pour la pratique clinique : les hémorragies du post-partum ». 2014.
- [88] A. Le Floch *et al.*, « État des lieux sur l'alloimmunisation anti-c (RH4) maternelle et ses conséquences fœtales et néonatales : expérience du centre national de référence en hémodiologie périnatale (CNRHP) », *Transfus. Clin. Biol.*, vol. 22, n° 4, p. 254, sept. 2015.
- [89] D. Clark, M. A. Greiss, et S. J. Urbaniak, « A prospective study of routine antenatal enzyme antibody screening demonstrates lack of clinical value in predicting haemolytic disease of the newborn », *Br. J. Haematol.*, vol. 106, n° 3, p. 824- 826, sept. 1999.
- [90] N. Da-Silva, S. Huguot-Jacquot, C. Toly-Ndour, A. Cortey, B. Carbonne, et A. Mailloux, « Mise en place du génotypage RHc fœtal non invasif au Centre national de référence en hémodiologie périnatale (CNRHP) », *Transfus. Clin. Biol.*, vol. 22, n° 4, p. 254- 255, sept. 2015.
- [91] D. B. Weiss, C. Levene, Y. Aboulafia, et M. Isacsohn, « Anti-PP1Pk (Anti-Tja) and Habitual Abortion », *Fertil. Steril.*, vol. 26, n° 9, p. 901- 904, sept. 1975.

- [92] B. Carbonne et Y. Brossard, « Prévention de l'allo-immunisation anti-D: des années 1970 à l'avènement des immunoglobulines monoclonales ? », *Rev. Médecine Périnatale*, vol. 5, n° 4, p. 208- 212, déc. 2013.
- [93] A. Cortey, Y. Brossard, R. Beliard, et D. Bourel, « Prévention de l'allo-immunisation Rhésus-D fœto-maternelle - Perspectives », mars 2008.
- [94] J. M. Reichert, « Antibodies to watch in 2017 », *mAbs*, vol. 9, n° 2, p. 167- 181, févr. 2017.

ANNEXES

Annexe 1 : l'arrêté du 26 avril 2002 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale [16]

SANTÉ

Arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale

NOR : SANP0221588A

Le ministre délégué à la santé.

Vu le code de la santé publique, et notamment les articles L. 6211-8 (4°), L. 6213-1, L. 6213-2, L. 6213-3, L. 1131-1, L. 1131-2, L. 1131-3 ;

Vu le décret n° 76-1004 du 4 novembre 1976, modifié notamment par le décret n° 93-354 du 15 mars 1993, fixant les conditions d'autorisation des laboratoires d'analyses de biologie médicale ;

Vu le décret n° 83-104 du 15 février 1983, modifié notamment par le décret n° 93-354 du 15 mars 1993, relatif au contrôle de bonne exécution des analyses de biologie médicale prévu par l'article L. 6213-2 du code de la santé publique ;

Vu l'arrêté du 12 janvier 1999 relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques en assistance médicale à la procréation ;

Vu l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale ;

Vu la proposition du directeur général de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé du 26 octobre 2001, modifiée le 12 décembre 2001 et le 5 avril 2002 ;

Vu l'avis de la Commission nationale permanente de biologie médicale du 16 janvier 2002,

Arrête :

Art. 1^{er}. – Le guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale annexé à l'arrêté du 26 novembre 1999 est modifié ainsi qu'il suit :

Au III du guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale, le premier paragraphe du 2.2.2 est supprimé ;

Le IV du guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale est complété par un C ainsi intitulé : « C. – Cas parti-

culier des bonnes pratiques de laboratoire en immuno-hématologie érythrocytaire », dont les dispositions et les annexes figurent en annexe du présent arrêté.

Art. 2. – Le directeur général de la santé, le directeur de l'hospitalisation et de l'organisation des soins et le directeur général de l'Agence française de sécurité sanitaire et des produits de santé sont chargés, chacun en ce qui le concerne, de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié ainsi que ses annexes au *Journal officiel* de la République française.

Fait à Paris, le 26 avril 2002.

BERNARD KOUCHNER

ANNEXE GÉNÉRALE

C. – CAS PARTICULIER DES BONNES PRATIQUES DE LABORATOIRE EN IMMUNO-HÉMATOLOGIE ÉRYTHROCYTAIRE

En vue de mettre en œuvre une sécurisation des analyses et des résultats en immuno-hématologie érythrocytaire quelle que soit la finalité des analyses prescrites, ainsi qu'une sécurisation de la transmission des résultats, il est fixé pour ces analyses :

- les champs d'application ;
- les règles de réalisation ;
- le contrôle de qualité interne ;
- les conditions d'automatisation et d'informatisation ;
- la carte de groupes sanguins.

1. – Champ d'application

Les champs d'application concernant les analyses d'immuno-hématologie érythrocytaire suivantes :

- le groupage ABO-RH1 (RhD) ;
- le phénotypage RH-KEL 1 (Rh-K) ;
- le phénotypage étendu ;

- la recherche d'anticorps anti-érythrocytaires (RAI) ;
 - le titrage des anticorps anti-érythrocytaires autres que anti-A, anti-B et le dosage pondéral des anti-RH ;
 - l'épreuve directe de compatibilité au laboratoire ;
 - le test direct à l'antiglobuline,
- sont définis dans l'annexe D I.

II. - Règles de réalisation des analyses

Tous les réactifs nécessaires aux examens d'immuno-hématologie érythrocytaire doivent être conformes à la législation et à la réglementation relative aux conditions particulières de mise sur le marché en vigueur à la date de lancement.

1. Le groupage ABO-RH1 (RhD)

1.1. Définition de l'analyse

Cette analyse consiste à déterminer de manière indissociable les phénotypes ABO et RH1 (RhD) du système RH.

1.2. Modalités de mise en œuvre

1.2.1. Le principe

Une réalisation du groupage sanguin ABO-RH1 :

Une réalisation du groupage sanguin ABO repose sur deux épreuves complémentaires :

- une épreuve globulaire qui consiste à rechercher les antigènes A (ABO1) et B (ABO2) avec les réactifs monoclonaux suivants : anti-A (anti-ABO1), anti-B (anti-ABO2) et anti-AB (anti-ABO3) ;
- une épreuve plasmatique qui consiste à rechercher les anticorps anti-A et anti-B avec les hématies-tests A1 et B. Au moins une de ces hématies doit être de phénotype RH :-1.

Une réalisation du groupage sanguin RH1 comporte obligatoirement l'utilisation d'un réactif anti-RH1 d'origine monoclonale et du réactif témoin dépourvu de toute activité anticorps mais dont la capacité d'agglutination d'hématies sensibilisées est strictement identique au réactif anti-RH1.

Une détermination du groupage sanguin ABO-RH1 :

Sa définition est fonction des conditions techniques :

- si les opérations du groupage sanguin, incluant les modalités de vérification et d'enregistrement des échantillons et des prescriptions, sont strictement réalisées dans les conditions d'automatisation et d'informatisation décrites à l'article IV Automatisation et informatisation, une détermination repose sur une seule réalisation exécutée à l'aide d'un lot de réactifs, d'un lot d'hématies-tests et par un technicien ;
- dans tous les autres cas, une détermination repose sur deux réalisations exécutées par deux techniciens différents. La saisie manuelle des résultats doit aussi passer par une double saisie effectuée par deux personnes différentes.

Un groupage sanguin ABO-RH1 valide :

Un groupage sanguin ABO-RH1 valide est réalisé sur deux prélèvements différents à raison d'une détermination par prélèvement.

1.2.2. Les contrôles qualité internes

En ce qui concerne la détermination ABO, le système analytique doit être contrôlé en utilisant une série d'échantillons de contrôle de phénotypes garantis (typage obtenu par un processus technique différent de celui qui doit être contrôlé par ces échantillons) comprenant au minimum :

- un échantillon de groupe A ;
- un échantillon de groupe B ;
- un échantillon de groupe O.

En ce qui concerne la détermination du groupe RH1, le système analytique doit être contrôlé en utilisant une série d'échantillons de contrôle de phénotypes garantis (typage obtenu par un processus technique différent de celui qui doit être contrôlé par ces échantillons) comprenant au minimum :

- un échantillon de groupe RH : 1 ;
- un échantillon de groupe RH : -1.

1.2.3. Interprétation et validation des résultats, gestion des anomalies (Annexe D II)

2. Le phénotypage RH-KEL 1 (Rh-K)

2.1. Définition de l'analyse

Cette analyse comprend l'étude des antigènes RH2 (C), RH3 (E), RH4 (c), RH5 (e) et KEL 1 (K).

2.2. Modalités de mise en œuvre

2.2.1. Le principe

Une réalisation du phénotypage RH-KEL 1 :

Une réalisation du phénotypage RH-KEL 1 comporte obligatoirement l'utilisation des réactifs anti-RH2, anti-RH3, anti-RH4, anti-RH5, anti-KEL 1 et du (des) réactif(s) témoin(s) adéquat(s). Il est recommandé d'utiliser des réactifs d'origine monoclonale.

Une détermination du phénotypage RH-KEL 1 :

Sa définition est fonction des conditions techniques :

- si les opérations du phénotypage RH-KEL 1, incluant les modalités de vérification et d'enregistrement des échantillons et des prescriptions, sont strictement réalisées dans les conditions d'automatisation et d'informatisation décrites à l'article IV Automatisation et informatisation, une détermination repose sur une seule réalisation exécutée à l'aide d'un lot de réactifs et par un technicien ;
- dans tous les autres cas, une détermination repose sur deux réalisations exécutées par deux techniciens différents. La saisie manuelle des résultats doit aussi passer par une double saisie effectuée par deux personnes différentes.

Un phénotypage RH-KEL 1 valide :

Un phénotypage RH-KEL 1 valide est réalisé sur deux prélèvements différents à raison d'une détermination par prélèvement.

2.2.2. Les contrôles qualité internes

Le système analytique doit être contrôlé en utilisant une série d'échantillons de contrôle de phénotypes garantis (typage obtenu par un processus analytique différent de celui qui doit être contrôlé par ces échantillons) comprenant pour chaque spécificité les hématies suivantes :

- anti-RH2 : un échantillon RH :2,4 et un échantillon RH :-2,4 ;
- anti-RH3 : un échantillon RH :3,5 et un échantillon RH :-3,5 ;
- anti-RH4 : un échantillon RH :2,4 et un échantillon RH :2,-4 ;
- anti-RH5 : un échantillon RH :3,5 et un échantillon RH :3,-5 ;
- anti-KEL 1 : un échantillon KEL :1 et un échantillon KEL :-1.

2.2.3. Interprétation et validation des résultats, gestion des anomalies (Annexe D III)

3. Le phénotypage étendu

3.1. Définition de l'analyse

Cette analyse consiste à rechercher un ou plusieurs antigènes érythrocytaires autres que ceux qui sont définis par le groupage ABO-RH1 et par le phénotypage RH-KEL 1.

3.2. Modalités de mise en œuvre

3.2.1. Le principe

Une réalisation du phénotypage étendu :

pour un système donné la recherche de chaque antigène est basée sur l'utilisation du réactif spécifique et du témoin adéquat.

Une détermination du phénotypage étendu :

Sa définition est fonction des conditions techniques :

- si les opérations du phénotypage étendu, incluant les modalités de vérification et d'enregistrement des échantillons et des prescriptions, sont strictement réalisées dans les conditions d'automatisation et d'informatisation décrites à l'article IV Automatisation et informatisation, une détermination repose sur une seule réalisation exécutée à l'aide d'un lot de réactifs et par un technicien ;
- dans tous les autres cas, une détermination repose sur deux réalisations exécutées par deux techniciens différents. La saisie manuelle des résultats doit aussi passer par une double saisie effectuée par deux personnes différentes.

Un phénotypage étendu valide :

Un phénotypage étendu valide est réalisé sur deux prélèvements différents à raison d'une détermination par prélèvement.

3.2.2. Les contrôles qualité internes

Le système analytique doit être contrôlé en utilisant, pour chaque spécificité, deux échantillons de contrôle de phénotypes garantis (typage obtenu par un processus analytique différent de celui qui doit être contrôlé par ces échantillons). L'un de ces échantillons doit être négatif et l'autre d'expression « hétérozygote ».

3.2.3. Interprétation et validation des résultats, gestion des anomalies (Annexe D IV)

4. La recherche d'anticorps anti-érythrocytaires (RAI)

4.1. Définition de l'analyse

A l'aide de gammes d'hématies-tests d'origine humaine, telles qu'elles sont définies en 4.2.1, on dépiste puis identifie, sur du sérum ou du plasma, les anticorps dirigés contre les antigènes érythrocytaires autres que A et B.

4.2. Modalités de mise en œuvre

4.2.1. Le principe

La recherche d'anticorps anti-érythrocytaires comporte deux étapes dont l'enchaînement est sous la responsabilité du biologiste :
- une étape de dépistage au terme de laquelle le laboratoire pourra répondre « dépistage positif » ou « dépistage négatif » d'anticorps anti-érythrocytaires. En cas de dépistage positif, l'identification de l'anticorps est obligatoire.

Cette étape repose sur l'utilisation d'une gamme d'au moins trois hématies-tests de groupe O qui doit permettre la détection des anticorps correspondants aux antigènes RHI (D), RH2 (C), RH3 (E), RH4 (c), RH5 (e), KEL 1 (K), KEL 2 (Cellano), KEL 4 (Kpb), FY1 (Fya), FY2 (Fyb), JK1 (Jka), JK2 (Jkb), MNS1 (M), MNS2 (N), MNS3 (S), MNS4 (s), LE1(Lea), LE2 (Leb), P1, LU2 (Lub).

Les phénotypes RH suivants doivent être obligatoirement représentés sur la gamme de dépistage :

- RH : 1,2,3,-4,5 ;
- RH : 1,-2,3,4,-5 ;
- RH : 1,-2,-3,4,5.

De plus, une expression phénotypique « homozygote » doit être respectée pour les antigènes FY1, JK1, JK2, MNS3 et recommandée pour les antigènes FY2 et MNS4.

En aucun cas ces hématies ne feront l'objet de mélange.

Une étape d'identification qui consiste à déterminer la spécificité du ou des anticorps présents, en confrontant la distribution des réactions positives et négatives obtenues avec la distribution des antigènes sur les gammes d'hématies-tests utilisées.

Cette étape est réalisée sur un échantillon non décanté et non ouvert si possible, si elle est mise en œuvre par un laboratoire différent de celui qui a réalisé le dépistage.

Cette étape repose sur l'utilisation, outre la gamme de dépistage, d'au moins 10 hématies-tests. L'ensemble de ces hématies de groupe O doit comporter les antigènes suivants : RHI, RH2, RH3, RH4, RH5, RH6, RH8 (Cw), KEL 1, KEL 2, KEL 3 (Kpa), KEL 4, FY1, FY2, JK1, JK2, MNS1, MNS2, MNS3, MNS4, LE1, LE2, P1, LU1 (Lua), LU2.

Les phénotypes suivants doivent être représentés au moins sur deux hématies : KEL 1, FY :1,-2, FY :1,2, JK :1,-2, JK :1,2, MNS :3,-4, MNS :3,4, P :1.

Cette phase doit permettre l'identification d'un anticorps courant isolé ainsi qu'une orientation dans l'identification des mélanges d'anticorps.

Les techniques :

Pour les deux étapes, la méthodologie technique repose sur la mise en œuvre d'un test indirect à l'antiglobuline polyspécifique ou anti-IgG permettant de détecter, sur colonne de filtration ou en immuno-adhérence, un anti-RHI humain de concentration égale à 20 ng/ml ou d'autres techniques de sensibilité au moins égale.

Lors de la phase d'identification, il peut être utile voire indispensable d'utiliser en complément les techniques dites enzymatiques notamment dans le cadre de difficulté d'identification (association d'alloanticorps) et lors des étapes de diagnostic biologique des accidents immunohémolytiques transfusionnels.

4.2.2. Les contrôles qualité internes

Le système analytique sera contrôlé en utilisant des échantillons de contrôle comportant des anticorps (natifs ou réactifs) de spécificité et de titre connus avec au minimum un anticorps de titre ≤ 4 dans la technique d'utilisation et sur une hématie comportant l'antigène correspondant d'expression « hétérozygote ».

4.2.3. Interprétation et validation des résultats (Annexe D V)

5. Le titrage des anticorps anti-érythrocytaires immuns autres que les anti-A et anti-B et le dosage pondéral des anti-RH

5.1. Définition de l'analyse

Le titrage consiste à tester le plasma ou le sérum des patientes et ses dilutions vis-à-vis d'hématies - tests possédant les antigènes spécifiques. La surveillance de l'évolution du taux des anticorps est basée obligatoirement sur le titrage par le test indirect à l'antiglobuline.

Le dosage pondéral consiste à mesurer par méthode semi-quantitative et automatisée, la concentration en anticorps. Applicable aux seuls anti-RH, elle consiste en un dosage comparatif par rapport à l'étalon international anti-RHI dont la concentration est connue. Le plasma ou le sérum des femmes enceintes immunisées et ses dilutions sont testés vis-à-vis d'hématies - tests possédant l'antigène spécifique correspondant.

5.2. Modalités de mise en œuvre

5.2.1. Le principe

Le titrage des anticorps consiste à tester le plasma ou le sérum ainsi que ses dilutions de raison géométrique 2 vis à vis d'hématies possédant l'antigène correspondant à l'anticorps identifié de façon extemporanée.

La technique de référence est le test indirect à l'antiglobuline technique tube, en utilisant des hématies natives en solution saline 0,15M.

La technique doit être standardisée, c'est à dire pratiquée :

- avec des réactifs identiques : antiglobuline et mélange d'hématies - tests de même phénotype érythrocytaire ;
- par rapport à un standard anti-RHI de titre connu ;
- avec reprise en parallèle de l'échantillon précédent conservé congelé à une température inférieure ou égale à -30°C ;
- en automatisant si possible la réalisation des dilutions à l'aide d'un diluteur. Par ailleurs, la dilution sera extemporanée et si possible portera sur un volume minimum de 100 μl .

Un mélange de trois variétés d'hématies natives doit être utilisé. Elles seront prélevées depuis moins de quatorze jours en solution de conservation et de phénotype suivant RH :1, 2, 3, 4, 5 pour les anti-RHI purs ou associés à un anti-RH2 ou un anti-RH3, d'expression hétérozygote pour les antigènes correspondant aux autres anticorps à tester.

5.2.2. Les contrôles qualité internes

Ils comportent l'étude du standard anti-RHI de concentration connue à différentes dilutions.

5.2.3. Validation analytique (Annexe D VI)

6. L'épreuve directe de compatibilité au laboratoire

6.1. Définition de l'analyse

C'est une analyse qui consiste à tester l'échantillon de sérum ou de plasma du receveur vis-à-vis des hématies de la tubulure du produit sanguin à transfuser.

6.2. Modalités de mise en œuvre

6.2.1. Le principe

L'épreuve directe de compatibilité au laboratoire se déroule en trois étapes :

1^o Sélection des unités à compatibiliser conformément aux bonnes pratiques de distribution. Cette sélection prend en compte :

Le statut immuno-hématologique du receveur dont la définition minimale préalable repose obligatoirement, en absence d'antériorité valide, sur :

- le groupage ABO.RH1 ;
- le phénotypage RH-KEL 1 ;
- le phénotypage autre que RH-KEL 1 d'un ou plusieurs antigènes immunogènes si une antigène ou séro compatibilité les concernant doit être respectée ;
- le dépistage d'anticorps anti-érythrocytaires dont le délai par rapport à la date effective de la transfusion est conforme aux dispositions réglementaires ;
- l'identification d'anticorps anti-érythrocytaires en cas de dépistage positif.

La mention d'un protocole transfusionnel éventuel spécifique à la situation clinique considérée.

2^o Préparation des hématies de la tubulure.

Cette étape a pour but de conditionner les hématies de la tubulure afin qu'elles puissent être testées dans les mêmes conditions techniques que la RAI.

Au cours de cette étape, il convient d'être particulièrement attentif aux modalités d'identification de la tubulure et des échantillons secondaires à partir du numéro codé en barres de l'unité de produit sanguin.

3^e Exécution technique.

Les conditions techniques sont identiques à celles utilisées par la RAI.

6.2.2. Les contrôles qualité internes

Le système analytique doit être contrôlé en utilisant des échantillons de contrôle identiques à ceux utilisés pour la RAI.

6.2.3. Interprétation et validation des résultats (Annexe D VII)

7. Le test direct à l'antiglobuline

7.1. Définition de l'analyse

Le test direct à l'antiglobuline permet la mise en évidence de la sensibilisation *in vivo* des hématies humaines par des anticorps de nature IgG et/ou des fractions du complément. Ce test doit être réalisé sur un échantillon de préférence anticoagulé.

7.2. Modalités de mise en œuvre

7.2.1. Le principe

La mise en évidence de la sensibilisation *in vivo* des hématies repose sur l'utilisation d'antiglobuline(s) humaine(s) dont la portion Fab reconnaît les marqueurs isotypiques d'immunoglobulines ou des fractions du complément spécifiquement fixées sur l'hématie.

La réalisation de cette analyse impose d'utiliser de façon simultanée et indépendante une antiglobuline anti-IgG et un anti-C3d ainsi que des réactifs témoins appropriés.

7.2.2. Les contrôles qualité internes

Le système analytique sera contrôlé en utilisant des hématies préalablement sensibilisées *in vitro* par des IgG et éventuellement du complément.

7.2.3. Interprétation et validation des résultats (Annexe D VIII)

III. - Contrôle de qualité interne (CQI)

Le biologiste devra organiser un contrôle de qualité interne conformément au guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA) et qui repose notamment sur l'analyse d'échantillons de contrôle effectuée dans les mêmes conditions que celles appliquées aux échantillons biologiques. Les résultats relatifs à ces échantillons de contrôle doivent être connus et garantis. La mise en œuvre de ces contrôles est, au minimum, quotidienne.

IV. - Automatisation. - Informatisation

1. Automatisation et exécution analytique

Les caractéristiques, les modalités de mise en place et le fonctionnement des matériels automatiques et informatiques seront conformes aux règles générales d'exécution des analyses de biologie médicale prévues par le GBEA en vigueur.

1.1. Objectifs de l'automatisation et de l'informatisation au laboratoire d'immuno-hématologie (Annexe D IX)

1.2. Définition des caractéristiques minimales d'un système permettant de dire que le processus d'analyse immuno-hématologique est automatique

Quel que soit le degré d'automatisation du processus analytique, sa qualité est directement liée à la phase préanalytique qui comporte des opérations manuelles critiques dont l'erreur peut remettre en cause la fiabilité du résultat :

- acceptation des échantillons et des documents accompagnateurs (prescription - fiche de suivi médical),
- saisie de l'état civil,
- établissement du lien entre patient - support d'identification positive - échantillon.

Ces opérations doivent faire l'objet de procédures écrites et détaillées permettant d'éviter toute erreur de saisie ou d'identification. Il

est nécessaire de mettre en œuvre des opérations spécifiques permettant une vérification de la saisie et du lien entre le patient et son échantillon.

A ce titre, la saisie informatique de l'état civil à partir de la prescription doit être suivie d'un contrôle basé sur une deuxième saisie réalisée à partir des informations inscrites sur l'échantillon et après une identification positive de celui-ci.

La qualification « d'automatique » pour un système donné impose que celui-ci puisse prendre en charge certaines phases de l'exécution analytique apparaissant comme critiques pour la fiabilité des résultats et puisse associer de façon automatique et univoque le patient aux résultats correspondants via le support d'identification positive de l'échantillon. Cette conception peut donc s'appliquer aussi bien aux automates qu'aux semi-automates tels qu'ils sont définis en biologie médicale et qui fonctionnent dans un système informatique donné.

L'attribution de cette qualification repose donc sur la prise en charge, par le système (ensemble de l'automate et de l'environnement informatisé du laboratoire) concerné, des opérations mentionnées en annexe D X.

2. Sécurisation du transfert des résultats du laboratoire sur le centre de distribution (Annexe D XI)

V. - Carte de groupes sanguins

La carte de groupes sanguins est un document de synthèse de données biologiques permettant d'assurer la sécurité transfusionnelle immunologique du patient.

La carte de groupes sanguins est éditée par un système informatique validé. Toute retranscription manuelle ou utilisation d'étiquettes de groupe autocollantes est interdite. Les deux déterminations portées sur la carte seront effectuées par le même laboratoire.

L'ensemble des mentions nécessaires à la sécurité transfusionnelle immunologique doit apparaître sur une seule face de la carte.

I. Mentions apparaissant sur la carte de groupes sanguins

1.1. Identification du laboratoire qui a édité la carte de groupes sanguins

Nom du laboratoire.
Adresse.
Téléphone.
Signature du biologiste.

1.2. Identification du patient

Nom de naissance complété s'il y a lieu du nom marital.
Prénom(s) et en cas de prénom composé, transcription du prénom complet en toutes lettres.
Sexe.
Date de naissance.
En cas de changement de nom marital, la carte reste valide si les autres identifiants sont corrects.

1.3. Groupes sanguins et phénotypes érythrocytaires

Le résultat de chaque détermination est suivi de la date de sa réalisation.

Une mention rappelle que les groupes sanguins et les phénotypes ne sont valides qu'après deux déterminations. Cette mention peut être portée au dos de la carte.

Il est recommandé d'utiliser la nomenclature alphanumérique internationale.

1.4. Recherche d'anticorps anti-érythrocytaires

La présence d'un ou plusieurs anticorps anti-érythrocytaires est mentionnée sur la carte suivie de la date de découverte de l'anticorps. Il n'est pas fait mention des caractéristiques (liste des antigènes) des gammes d'hématies-tests qui ont été utilisées, ainsi que leur provenance.

Une recherche d'anticorps anti-érythrocytaire négative ne fait l'objet d'aucune mention sur la carte de groupes sanguins.

Il est recommandé d'utiliser la nomenclature alphanumérique internationale.

2. Cas particulier du nouveau-né

La détermination des groupes sanguins chez un nouveau-né ou un nourrisson nécessite un prélèvement de sang veineux. Elle ne peut pas être réalisée à partir d'un prélèvement de sang effectué au cordon.

Le document de groupes sanguins n'est valide que jusqu'à l'âge de six mois. Il doit mentionner : « groupe sanguin de nouveau-né - valide jusqu'au - date de naissance + 6 mois - ».

ANNEXE D

BONNES PRATIQUES DE LABORATOIRE EN IMMUNO-HÉMATOLOGIE ÉRYTHROCYTAIRE

ANNEXE D1

CHAMPS D'APPLICATION

1. Groupe ABO-RH1

En absence de résultats valides, cette analyse est réalisée :

- dans un contexte prétransfusionnel avéré ou potentiel ;
- dans un contexte pré-nuptial, pré ou périnatal conformément aux dispositions réglementaires relatives au suivi de la grossesse. Dans ce contexte les réactifs anti-RH1 utilisés doivent détecter la plupart des variants RH1 ;
- pour la validation de l'identification d'anticorps anti-érythrocytaires ;
- en l'absence de résultats valides du phénotype RH-KEL 1 cette analyse est obligatoirement complétée par un phénotypage RH-KEL 1.

2. Phénotypage RH-KEL 1

En absence de résultats valides, cette analyse est réalisée :

- dans un contexte prétransfusionnel avéré ou potentiel. La prise en compte du résultat s'inscrit dans le cadre des bonnes pratiques de distribution ;
- dans le contexte pré-nuptial, pré ou périnatal conformément aux dispositions réglementaires relatives au suivi de la grossesse ;
- pour la validation de l'identification d'anticorps anti-érythrocytaires ;

En absence de résultats valides de groupage ABO-RH1 :

- cette analyse est obligatoirement complétée par un groupage ABO-RH1.

3. Phénotypage étendu

En absence de résultats valides, cette analyse est réalisée :

- systématiquement dans les cas d'allo-immunisation anti-érythrocytaire complexe et proposée, à titre préventif, chez certains patients transfusés de manière itérative. Dans ce dernier cas l'analyse concerne les antigènes courants suivants : FY1, FY2, JK1, JK2, MNS3 et si possible MNS4.
- pour la validation de l'identification d'anticorps anti-érythrocytaires dirigés contre un ou plusieurs antigènes érythrocytaires autres que ceux qui sont définis par le groupage ABO-RH1 et par le phénotypage RH-KEL 1 et pour lesquels les réactifs sont disponibles sur le marché.

En absence de résultats valides de groupage ABO-RH1 et/ou de phénotypage RH-KEL 1, cette analyse est obligatoirement complétée par un groupage ABO-RH1 et un phénotypage RH-KEL 1.

4. Recherche d'anticorps anti-érythrocytaires

Cette analyse doit être réalisée dans le cadre de la prévention des accidents immuno-hémolytiques transfusionnels :

- chez tout patient susceptible à court terme d'être transfusé ;
- chez le transfusé itératif, en bonne place au cours des séries de transfusions ;
- chez le patient transfusé dans le cadre du suivi post-transfusionnel préconisé par la réglementation.

Elle doit être réalisée en contexte de greffe ou transplantation.

Elle doit être réalisée en contexte pré ou périnatal conformément aux dispositions réglementaires relatives au suivi de la grossesse.

En l'absence de prescription, ces analyses doivent être réalisées à l'initiative du biologiste.

5. Titrage des anticorps anti-érythrocytaires autres que anti-A, anti-B et dosage pondéral des anti-RH

Le titrage, indissociable de la recherche des anticorps anti-érythrocytaires, est obligatoire chez toute femme enceinte possédant un anticorps immun. Il permet d'estimer l'évolution de l'allo-immunisation en rapport avec un passage d'hématies fœtales qui peut éventuellement se produire dès le premier trimestre de la grossesse. L'activité fonctionnelle (pouvoir hémolytique) de l'anticorps

dépendant de sa concentration et de son affinité, pour les anticorps du système RH, l'association au dosage pondéral est nécessaire afin de mieux appréhender le risque hémolytique anté-natal.

En cas d'allo-immunisation une nouvelle programmation des RAI (avec titrage et éventuellement dosage pondéral) est nécessaire. Il est classiquement reconnu qu'un contrôle mensuel est suffisant, dans la majorité des cas, jusqu'à la 20^e semaine d'aménorrhée. Au-delà, un contrôle tous les quinze jours est à envisager. Dans certains cas d'immunisation sévère, un contrôle fréquent est nécessaire, même avant la 20^e semaine d'aménorrhée, et d'autant plus en fin de grossesse où le rythme peut être hebdomadaire.

En l'absence de prescription, ces analyses doivent être réalisées à l'initiative du biologiste.

6. Epreuve directe de compatibilité au laboratoire

Cette analyse est réalisée dans les circonstances suivantes :

- s'il s'agit d'un receveur présentant ou ayant présenté un (ou plusieurs) allo-anticorps anti-érythrocytaires ;
- s'il s'agit d'un nouveau-né présentant un test direct à l'antiglobuline positif ou né de mère allo-immunisée.

7. Test direct à l'antiglobuline

Cette analyse doit s'inscrire dans l'un des contextes suivants :

- dans le cadre d'un syndrome hémolytique clinique ou biologique pour démontrer l'origine immunologique de cette hémolyse ;
- dans le cadre de la mise en évidence d'auto-anticorps lors de la RAI afin de détecter leur capacité à se fixer in vivo ;
- dans le cadre d'une maladie hémolytique du nouveau-né pour démontrer la sensibilisation des hématies du nouveau-né par les allo-anticorps de nature IgG d'origine maternelle ;
- dans le cadre d'une réaction transfusionnelle pour démontrer l'origine immuno-hémolytique de l'incident ;
- dans le cadre d'une anémie hémolytique auto-immune pour démontrer la sensibilisation des hématies du patient par les auto-anticorps et/ou par du complément ;
- dans le cadre d'une anémie hémolytique d'origine médicamenteuse pour démontrer la sensibilisation des hématies par des anticorps reconnaissant certains médicaments ;
- dans le cadre de l'exploration biologique d'autres maladies auto-immunes.

ANNEXE D II

GROUPAGE ABO-RH1

Dans l'épreuve globale de réalisation du groupage sanguin ABO, le réactif anti-B utilisé ne doit pas donner de réaction croisée vis-à-vis de l'antigène B acquis. L'un des deux réactifs, anti-A ou anti-AB, doit pouvoir reconnaître les hématies Ax.

1. Interprétation et validation des résultats

La validation analytique repose sur :

- résultats conformes des CQI ;
- absence d'ambiguïté réactionnelle avec chaque réactif ;
- absence de double population. A ce titre, il est indispensable que tout antécédent transfusionnel récent (moins de quatre mois) soit signalé au laboratoire lors de la prescription de l'analyse ;
- profil réactionnel cohérent par rapport à la table d'interprétation des groupes ABO-RH1 ;
- absence de discordance entre deux réalisations ;
- absence de discordance avec antériorité.

2. Gestion des anomalies

La constatation d'une anomalie lors de la phase de validation analytique du groupe sanguin ABO-RH1 impose l'intervention du biologiste. La gestion de l'anomalie repose alors sur :

Une attitude sécurisée en termes d'exploitation :

- ne pas rendre le résultat ;
- rendre un conseil transfusionnel provisoire en cas d'urgence ;

Une nouvelle détermination du groupe sanguin :

- si l'anomalie n'est pas retrouvée, le résultat est validé ;
- si l'anomalie est retrouvée, une poursuite de l'exploration.

Une attitude cohérente en termes d'exploration de l'anomalie qui tiendra compte :

- du contexte clinique ;

- du profil réactionnel obtenu ;
- du résultat des témoins du groupage ABO :
 - le témoin « auto » qui consiste à tester, dans les mêmes conditions techniques, le plasma du sujet vis-à-vis de ses propres hématies ;
 - les témoins « allo » et éventuellement « A2 » qui consistent à tester, dans les mêmes conditions techniques, le plasma du sujet vis-à-vis d'une gamme d'hématies-tests O et A2 dont la constitution antigénique permettra de détecter les anticorps anti-érythrocytaires, autres que anti-A et anti-B, susceptibles d'interférer avec l'épreuve plasmatisque ;
 - le témoin « réactif » qui consiste à tester, dans les mêmes conditions techniques, les hématies du sujet vis-à-vis d'un réactif témoin n'ayant pas d'activité anticorps.

ANNEXE D III

PHÉNOTYPAGE RH-KEL 1

1. Interprétation et validation des résultats

La validation analytique repose sur :

- résultats conformes des CQI ;
- absence d'ambiguïté réactionnelle avec chaque réactif ;
- absence de double population. A ce titre, il est indispensable que tout antécédent transfusionnel récent (moins de quatre mois) soit signalé au laboratoire lors de la prescription de l'analyse ;
- profil réactionnel cohérent par rapport à la table d'interprétation des phénotypes RH-KEL 1 ;
- absence de discordance entre deux réalisations ;
- absence de discordance avec antériorité.

2. Gestion des anomalies

La constatation d'une anomalie lors de la phase de validation analytique du phénotype RH-KEL 1 impose l'intervention du biologiste. La gestion de l'anomalie repose alors sur :

- Une attitude sécurisée en termes d'exploitation :
 - ne pas rendre le résultat ;
 - rendre un conseil transfusionnel provisoire en cas d'urgence ;
- Une nouvelle détermination du phénotype :
 - si l'anomalie n'est pas retrouvée, le résultat est validé ;
 - si l'anomalie est retrouvée une poursuite de l'exploration ;
- Une attitude cohérente en termes d'exploration de l'anomalie qui tiendra compte :
 - du contexte clinique ;
 - du profil réactionnel obtenu (témoins adéquats inclus).

ANNEXE D IV

PHÉNOTYPAGE ÉTENDU

1. Interprétation et validation des résultats

La validation analytique repose sur :

- résultats conformes des CQI ;
- absence d'ambiguïté réactionnelle avec chaque réactif ;
- absence de double population. A ce titre, il est indispensable que tout antécédent transfusionnel récent (moins de quatre mois) soit signalé au laboratoire lors de la prescription de l'analyse ;
- profil réactionnel cohérent par rapport à la table d'interprétation des phénotypes étendus ;
- absence de divergence entre deux réalisations ;
- absence de discordance avec antériorité.

2. Gestion des anomalies

La constatation d'une anomalie lors de la phase de validation analytique du typage érythrocytaire étendu impose l'intervention du biologiste. La gestion de l'anomalie repose alors sur :

- Une attitude sécurisée en termes d'exploitation :
 - ne pas rendre le résultat ;
 - rendre un conseil transfusionnel provisoire en cas d'urgence ;
- Une nouvelle détermination du phénotype :
 - si l'anomalie n'est pas retrouvée, le résultat est validé ;
 - si l'anomalie est retrouvée, une poursuite de l'exploration ;
- Une attitude cohérente en termes d'exploration de l'anomalie qui tiendra compte :

- du contexte clinique ;
- du profil réactionnel obtenu.

ANNEXE D V

RECHERCHE D'ANTICORPS ANTI-ÉRYTHROCYTAIRES

Interprétation et validation des résultats

L'identification d'un ou plusieurs anticorps anti-érythrocytaires impose :

De valider la spécificité de chaque anticorps par l'obtention d'une réaction positive avec toutes les hématies porteuses de l'antigène correspondant (au moins 3 hématies) et d'une réaction négative avec toutes les hématies non porteuses de cet antigène (au moins 3 hématies). Le seuil minimal de 3 hématies en terme de réactivités positives ou négatives ne s'applique pas en cas d'association d'anticorps de spécificité anti-RH.

Lorsque cette correspondance exacte n'est pas obtenue, l'interprétation doit prendre en compte le caractère « homozygote » ou « hétérozygote » des hématies utilisées. Dans ces conditions, une étape supplémentaire avec un plus grand nombre d'hématies informatives doit être mise en œuvre ;

D'éliminer des anticorps supplémentaires éventuels :

- par la mise en œuvre de techniques complémentaires ;
- par la présence, sur les hématies négatives, des antigènes présents sur la gamme de dépistage ne correspondant pas à la (aux) spécificité(s) préalablement identifiée(s) ;

De contrôler l'absence de l'antigène correspondant à chaque allo-anticorps identifié lorsque les réactifs sont disponibles sur le marché.

En absence de résultats valides, l'identification d'un anticorps anti-érythrocytaire doit être complétée par un groupage ABO-RH1 et un phénotype RH-KEL 1.

ANNEXE D VI

TITRAGE DES ANTICORPS ANTI-ÉRYTHROCYTAIRES IMMUNS AUTRES QUE LES ANTI-A ET ANTI-B ET LE DOSAGE PONDÉRAL DES ANTI-RH

La validation analytique repose sur les résultats obtenus avec un standard anti-RH1, les résultats comparatifs entre les 2 échantillons n et $n-1$ de la patiente et les résultats de l'antériorité.

ANNEXE D VII

ÉPREUVE DIRECTE DE COMPATIBILITÉ AU LABORATOIRE

Interprétation et validation des résultats

Une procédure doit définir les modalités de libération des produits sanguins labiles compatibilisés en fonction des résultats de cette épreuve :

- résultats conformes des CQI ;
- en absence de réactivité dans la technique considérée :
 - l'unité est déclarée compatible. Sa libération est autorisée avec identification spécifique de l'unité conformément aux dispositions réglementaires en vigueur ;
- en cas de réactivité dans la technique considérée :
 - l'unité est déclarée incompatible. En fonction du contexte, sa libération peut être autorisée conformément aux dispositions réglementaires prévues par les bonnes pratiques de distribution et le conseil transfusionnel. Par ailleurs, une exploration complémentaire peut être entreprise afin d'expliquer ces résultats et sélectionner de nouvelles unités en tenant compte de ces explorations.

ANNEXE D VIII

TEST DIRECT À L'ANTIGLOBULINE

Interprétation et validation des résultats

- résultats conformes des CQI ;
- absence d'ambiguïté réactionnelle avec chaque réactif ;
- profil réactionnel cohérent par rapport à la logique d'interprétation préalable.

ANNEXE D IX

OBJECTIFS DE L'AUTOMATISATION ET INFORMATISATION AU LABORATOIRE D'IMMUNO-HÉMATOLOGIE

1. Diminuer le risque d'erreur humaine

En immuno-hématologie érythrocytaire, l'automatisation et l'informatisation des analyses et du transfert des résultats apporte une

sécurité supplémentaire par rapport à la réalisation manuelle en réduisant plusieurs risques possibles d'erreurs, et en particulier les erreurs relatives à :

- l'enregistrement de la demande ;
- la sélection de l'échantillon ;
- la sélection du réactif ;
- l'exécution de l'analyse elle-même ;
- la transcription ;
- l'interprétation ;
- la saisie des résultats.

2. Garantir la traçabilité

La compréhension et la correction d'éventuels dysfonctionnements reposent sur une analyse précise des défaillances qui peuvent survenir au niveau d'un processus. L'efficacité de cette exploration *a posteriori* est intimement liée à une traçabilité fiable de tous les éléments ayant contribué aux opérations analytiques. Aussi les opérations suivantes, relatives à chaque analyse, doivent être archivées, accessibles et exploitables :

- date de l'analyse ;
- couple distributeur-lecteur ;
- réactifs : types - spécificités - numéro de lot ;
- liaison avec les CQI (types - spécificités- numéro de lot - résultats) ayant permis la validation ;
- opérateur ;
- résultats réactionnels obtenus avec chaque réactif ;
- notion de correction manuelle éventuelle survenue avec l'un d'entre eux ;
- résultats analytiques interprétés.

3. Gérer les alarmes de fonctionnement du système

Remarques :

- en l'absence de connexion informatique, le risque d'erreur de transcription existe toujours, même en cas de double saisie ;
- l'optimisation des systèmes automatiques impose de mettre l'accent sur une formation adaptée des opérateurs.

ANNEXE DX

a) Traitement et identification des échantillons

	OBLIGATOIRE	RECOMMANDÉ
Identification positive du numéro de code-barres échantillon	X	
Lecteur de code-barres échantillon intégré.....		X
Identification positive du positionnement aléatoire de l'échantillon sur automate.....	X	
Alarme si problème de lecture de code-barres (procédure dégradée) ...	X	
Contrôle du prélèvement par détecteur de présence, de niveau ou de caillot	X	
Protection contre les contaminations interspécimens (1)	X	
(1) La réalité de cette opération peut être démontrée lors de la phase de validation préalable du système.		

b) Gestion des réactifs

	OBLIGATOIRE	RECOMMANDÉ
Identification positive du numéro de code-barres des réactifs (2).....		X
Identification positive du positionnement aléatoire sur automate (2).....		X
Alarme si problème de lecture de code-barres (procédure dégradée) ...		X
Gestion des conditions de conservation des réactifs.....		X
Mise en suspension des hématies tests.....	X	
Détection de niveaux.....		X

	OBLIGATOIRE	RECOMMANDÉ
Alarme sur détection de niveaux.....		X
Alarme de péremption.....		X
Protection contre les contaminations inter-réactifs (1)	X	
Gestion des stocks.....		X
(1) La réalité de cette opération peut être démontrée lors de la phase de validation préalable du système et régulièrement vérifiée par l'analyse des contrôles qualité internes adéquats. (2) Si ces opérations ne sont pas prises en charge par le système, toute réalimentation du distributeur en réactif doit être validée par l'analyse des contrôles qualité internes adéquats.		

c) Gestion du support réactionnel (microplaque ou support filtration)

	OBLIGATOIRE	RECOMMANDÉ
Identification positive du numéro de code-barres du support	Si nécessaire	
Identification positive du positionnement aléatoire du support sur automate.....	X	
Alarme si problème de lecture de code-barres (procédure dégradée) ...	X	
Alarme de péremption.....		X

d) Gestion de la phase de préparation distribution

	OBLIGATOIRE	RECOMMANDÉ
Mise en suspension de l'échantillon...	X	
Distribution et identification de la position de l'échantillon sur le support réactionnel.....	X	
Identification de la position de chaque réactif sur le support réactionnel.....	X	
Etablissement du lien Echantillon-Réactif-Support.....	X	
Maintien du lien Echantillon-Réactif-Support (durant les phases d'incubation et de centrifugation).....	X	

e) Traitement de la lecture des réactions

	OBLIGATOIRE	RECOMMANDÉ
Lecture automatisée des réactions.....	X	
Alarme sur défaut de mesure.....	X	
Relance après avis de l'opérateur.....	X	
Traçabilité d'intervention manuelle.....	X	
Association automatique et univoque Réactions-Réactifs-Identifiant.....	X	
Détection des doubles populations, hémolyse et faible agglutination.....		X

f) Traitement des informations

	OBLIGATOIRE	RECOMMANDÉ
Confrontation informatique des résultats des CQI avec ceux attendus.....		X
Alarme d'écart d'interprétation		X
Blocage des transferts analytiques des résultats concernés en cas de non-conformité.....		X
Levée du blocage en manuelle avec traçabilité d'intervention.....		X
Interprétation informatique des cohérences réactionnelles.....	X	

	OBLIGATOIRE	RECOMMANDÉ
Détection d'incohérence y compris en cas d'intervention manuelle (correction de rejet).....	X	
Incohérence entre épreuve globulaire et plasmatique.....	X	
Réaction positive avec le réactif témoin.....	X	
Absence de deux antigènes antithétiques.....	X	
Coexistence antigène et anticorps correspondant lors des phases d'identification d'anticorps.....	X	

g) Exploitation des informations

La décision finale de la validation analytique revient à l'opérateur :

- par contrôle visuel de chaque support avec analyse de cohérence avec les résultats rendus par le système ;
- par appréciation de la qualité des contrôles qualité internes automatisant la validation analytique.

	OBLIGATOIRE	RECOMMANDÉ
Transfert automatique des résultats concernés au dossier du patient correspondant.....	X	
Confrontation automatique avec l'historique des résultats du patient et détection de discordance.....	X	

h) Validation biologique

Conforme à la réglementation en vigueur (GBEA).

ANNEXE D X I

SÉCURISATION DU TRANSFERT DES DONNÉES IMMUNO HÉMATOLOGIE VERS LE SERVICE DE DISTRIBUTION

Elle repose en partie sur la fiabilité des données immunohématologiques du receveur introduites dans le système.

Afin d'éviter leur prise en compte manuelle à partir de résultats écrits, ces données doivent être transférées en totalité et informatiquement, après validation, vers le site de distribution de l'Établissement français du sang ou le dépôt de distribution de l'établissement de santé autorisé à attribuer les produits sanguins labiles.

Le transfert des données doit respecter le guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA) et les recommandations suivantes :

La transmission de données nominatives

Les procédures utilisées doivent garantir la confidentialité :

Les données doivent être cryptées lorsque celles-ci doivent transiter sur un réseau ouvert. Elles doivent également être cryptées lorsqu'elles doivent transiter sur un réseau interne sur lequel peut se connecter du personnel non médical et non paramédical ;

L'identification de l'émetteur, du destinataire et la vérification des droits de celui-ci à recevoir ces données sont obligatoires. Le destinataire pouvant être une personne physique ou un ordinateur.

L'intégrité des données transmises

Le protocole de transfert des données doit comporter des procédures efficaces de contrôle des échanges vérifiant que le ou les messages reçus sont identiques au(x) message(s) envoyé(s) et que ces procédures soient effectivement actives.

Au cas où de telles procédures ne seraient pas utilisées (en raison de problèmes momentanés, par exemple), le message émis doit en comporter la mention en clair afin d'avertir le receveur de la possibilité d'erreurs dans la transmission des données.

En cas d'échec de transmission ou de rupture de communication en cours, il faut retransmettre automatiquement et intégralement le ou les messages.

L'archivage des transmissions

Il est nécessaire d'archiver ces transmissions pendant toute la durée légale d'archivage des dossiers des patients. Ces archives

doivent pouvoir être éditables et consultables à tout moment en comportant la date et l'heure d'émission du message acquitté par le receveur.

En cas de transmissions multiples d'un même dossier pour complément ou mise à jour, chacune des transmissions doit être archivée sous la même forme.

Les messages de transfert utilisés doivent répondre aux dispositions normatives en vigueur qui concernent la transfusion sanguine.

Arrêté du 30 avril 2002 portant création du Comité national technique de l'échographie de dépistage anténatal

NOR : SANP0221613A

Le ministre délégué à la santé,

Vu le code de la santé publique et notamment le livre I de la deuxième partie ;

Vu le décret n° 2000-685 du 21 juillet 2000 relatif à l'organisation de l'administration centrale du ministère de l'emploi et de la solidarité et aux attributions de certains de ses services, notamment son article 2 ;

Sur proposition du directeur général de la santé,

Arrête :

Art. 1^{er}. - Il est institué auprès du ministre chargé de la santé un « Comité national technique de l'échographie de dépistage anténatal ». Ce Comité a pour mission d'émettre des avis ou recommandations sur les questions relevant de l'échographie de dépistage anténatal, en particulier sur la mise en place d'une politique d'assurance de qualité de l'échographie de dépistage et le développement d'une stratégie d'information du public sur l'intérêt et les limites actuelles des techniques de l'échographie de dépistage anténatal. Le comité peut être consulté par le ministre chargé de la santé sur toute question concernant l'échographie de dépistage anténatal.

Art. 2. - Le Comité national technique de l'échographie de dépistage anténatal est composé de :

1. Six membres de droit :

- le directeur général de la santé ou son représentant ;
- le directeur de l'hospitalisation et de l'organisation des soins ou son représentant ;
- le directeur de la sécurité sociale ou son représentant ;
- le directeur de l'Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé ou son représentant ;
- le directeur de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé ou son représentant ;
- le directeur de la Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés ou son représentant.

2. Dix-neuf membres désignés par le ministre chargé de la santé :

- quatre personnes qualifiées ;
- deux représentants des usagers ;
- un représentant de l'Union nationale des associations de parents et amis de personnes handicapées mentales ;
- un représentant du Conseil national de l'ordre des médecins ;
- un représentant du Conseil national de l'ordre des sages-femmes ;
- deux représentants de la Société française de radiologie ;
- un médecin exerçant dans un centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal ;
- un représentant du collège d'échographie fœtale ;
- un représentant du Collège national des gynécologues et obstétriciens ;
- un représentant du Syndicat national de l'union des échographistes ;
- deux représentants de la Fédération nationale des médecins radiologues ;
- deux représentants du syndicat des gynécologues obstétriciens de France.

Art. 3. - Les membres du comité mentionnés au 2 de l'article 2 sont nommés pour une durée de trois ans renouvelable. Le ministre chargé de la santé désigne parmi eux le président du comité.

En cas de cessation de fonction d'un membre du comité en cours de mandat pour quelque cause que se soit, un autre membre est nommé dans les mêmes conditions pour la durée du mandat restant à courir.

Art. 4. - La direction générale de la santé assure le secrétariat du Comité national technique de l'échographie de dépistage anténatal.

Art. 5. - Pour l'exercice de sa mission, le Comité national technique de l'échographie de dépistage anténatal constitue, en tant que de besoin, des commissions ou groupes de travail spécialisés. Il peut pour ses travaux faire appel à des experts.

Annexe 2 : circonstances pouvant induire des HFM au cours de la grossesse [1]

<p>Au premier trimestre (<i>Risque modéré de passage d'hématies fœtales</i>)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Toute fausse couche spontanée ou menace de FCS du 1^{er} 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 <p>Aux deuxième et troisième trimestres</p> <p><i>Risque important de passage d'hématies fœtales :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - 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 - Accouchement, quelle que soit la voie <p><i>Risque modéré de passage d'hématies fœtales :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Métrorragies - Cerclage du col utérin - Menace d'accouchement prématuré (MAP) nécessitant un traitement

Annexe 3 : Adaptation de la dose d'IgRH en fonction du volume d'HFM estimé par le TK

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	
65-84	5	500	3	600	2	600	PERFUSION sur 4 heures Dilué dans 250 ml de NaCl à 9 pour mille
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

Annexe 4 : évolution de l'intensité des ACP par rapport à la date d'injection

(DPC suivi immuno-hématologique des femmes enceintes, données EFS AM)

Patiente	Date d'injection	Date de prélèvement	Délai (jours)	Résultats											Intensités attendues
				O1	O2	O3	O4	O5	O6	O7	O8	O9	O10	O11	
7	20/08/2016	22/08/2016	2	++++	++++	++++	++++	0	0	0	0	0	0	0	4+ ou 3+
10	08/08/2016	11/08/2016	3	++	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	
3	19/10/2016	24/10/2016	5	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	
4	05/07/2016	11/07/2016	6	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	
6	11/07/2016	25/07/2016	14	++++	++++	++++	++++	0	0	0	0	0	0	0	
9	11/08/2016	26/08/2016	15	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	
3	20/08/2016	14/09/2016	25	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	
7	20/08/2016	20/09/2016	31	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	≤ 3+
10	08/08/2016	12/09/2016	35	++	++	++	++	0	0	0	0	0	0	0	
1	18/05/2016	24/06/2016	37	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	
5	08/07/2016	17/08/2016	40	++	++	++	++	0	0	0	0	0	0	0	
3	20/08/2016	01/10/2016	42	++	++	++	++	0	0	0	0	0	0	0	
2	28/07/2016	15/09/2016	49	+	+	+	(+)	0	0	0	0	0	0	0	
4	05/07/2016	24/08/2016	50	+	+	++	+	0	0	0	0	0	0	0	
9	11/08/2016	30/09/2016	50	+	+	++	+	0	0	0	0	0	0	0	
6	11/07/2016	01/09/2016	52	(+)	+	+	(+)	0	0	0	0	0	0	0	≤ 2+
10	08/08/2016	03/10/2016	56	+	+	++	(+)	0	0	0	0	0	0	0	
1	18/05/2016	19/07/2016	62	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	
2	28/07/2016	28/09/2016	62	(+)	(+)	(+)	(+)	0	0	0	0	0	0	0	
4	05/07/2016	09/09/2016	66	+	+	+	(+)	0	0	0	0	0	0	0	
4	05/07/2016	10/09/2016	67	+	+	+	(+)	0	0	0	0	0	0	0	
5	08/07/2016	13/09/2016	67	(+)	(+)	(+)	(+)	0	0	0	0	0	0	0	
6	11/07/2016	17/09/2016	68	(+)	(+)	(+)	(+)	0	0	0	0	0	0	0	
8	12/07/2016	27/09/2016	77	(+)	(+)	(+)	(+)	0	0	0	0	0	0	0	≤ 1+
1	18/05/2016	07/08/2016	81	(+)	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	

L'intensité d'un ACP diminue de telle manière dans le temps :

≤ 3+ un mois après ; ≤ 2+ plus de 50 jours après et ≤ 1+ plus de 70 jours après.

Annexe 5 : évolution des proportions des spécificités d'anticorps entre 2006 et 2016

○ Anticorps à risque d'anémie fœtale et maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN)

Spécificités d'anticorps	2006		2007		2008		2009		2010		2011		2012		2013		2014		2015		2016	
	Nombre*	%**	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
RH1	103	12,1	71	10,5	64	11,1	58	8,9	61	8,3	45	8,9	51	9,2	45	8,0	54	10,0	54	10,2	53	10,6
RH4	42	4,9	34	5	42	7,3	45	6,9	38	5,2	35	6,9	41	7,4	41	7,3	36	6,7	37	7,0	32	6,4
KEL1	17	2	19	2,8	20	3,5	13	2,0	21	2,8	14	2,8	31	5,6	25	4,4	23	4,3	24	4,5	15	3,0
<i>Total</i>	162	19	124	18,3	126	21,8	116	17,8	120	16,3	94	18,7	123	22,3	111	19,7	113	21,0	115	21,6	100	19,9

○ Anticorps à risque de MHNN

Spécificités d'anticorps	2006		2007		2008		2009		2010		2011		2012		2013		2014		2015		2016	
	Nombre*	%**	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
RH2	44	5,2	33	4,9	26	4,5	34	5,2	29	3,9	27	5,4	26	4,7	19	3,4	23	4,3	22	4,1	26	5,2
RH3	121	14,2	106	15,6	125	21,6	91	14,0	125	17,0	90	17,9	85	15,4	97	17,2	73	13,6	83	15,6	75	14,9
RH5	2	0,2	7	1,0	4	0,7	4	0,6	4	0,5	5	1,0	7	1,3	4	0,7	4	0,7	3	0,6	7	1,4
RH6	1	0,1	1	0,1	0	0,0	2	0,3	1	0,1	1	0,2	1	0,2	1	0,2	0	0,0	1	0,2	1	0,2
RH8	18	2,1	17	2,5	20	3,5	17	2,6	14	1,9	22	4,4	15	2,7	27	4,8	19	3,5	19	3,6	30	6,0
RH12	2	0,2	1	0,1	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	0,4	1	0,2	0	0,0	1	0,2	3	0,6	0	0,0
KEL3	4	0,5	7	1,0	7	1,2	6	0,9	9	1,2	3	0,6	5	0,9	9	1,6	4	0,7	1	0,2	1	0,2
FY1	8	0,9	10	1,5	8	1,4	8	1,2	12	1,6	6	1,2	7	1,3	9	1,6	10	1,9	13	2,4	11	2,2
FY2	4	0,5	2	0,3	1	0,2	2	0,3	5	0,7	1	0,2	3	0,5	5	0,9	3	0,6	0	0,0	3	0,6
JK1	30	3,5	25	3,7	28	4,8	27	4,1	30	4,1	25	5,0	29	5,3	35	6,2	33	6,1	28	5,3	25	5,0
JK2	6	0,7	4	0,6	1	0,2	2	0,3	3	0,4	5	1,0	7	1,3	5	0,9	6	1,1	3	0,6	4	0,8
MNS1	103	12,1	107	15,8	73	12,6	116	17,8	135	18,3	86	17,1	116	21,0	115	21,4	115	21,4	124	23,3	125	24,9
MNS3	18	2,1	18	2,7	19	3,3	20	3,1	18	2,4	10	2,0	19	3,4	14	2,5	11	2,0	16	3,0	12	2,4
MNS4	3	0,4	2	0,3	1	0,2	0	0,0	3	0,4	1	0,2	0	0,0	1	0,2	2	0,4	0	0,0	0	0,0
<i>Total</i>	364	42,8	340	50,1	313	54,2	329	50,5	388	52,6	284	56,3	321	58,2	341	60,5	304	56,5	316	59,4	320	63,7

○ Anticorps anti-public

Spécificités d'anticorps	2006 Nombre*	2007 Nombre	2008 Nombre	2009 Nombre	2010 Nombre	2011 Nombre	2012 Nombre	2013 Nombre	2014 Nombre	2015 Nombre	2016 Nombre
RH18	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RH46	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
KEL2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
KRL4	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
JK3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
MNS5	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1
LU2	2	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0
LU3	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
GE2	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
CO3	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
DO5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
GLOB1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
TJA	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
JR1	0	1	0	0	0	0	1	0	2	0	0
VEL	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
YT1	1	0	1	2	1	0	1	0	5	0	1
<i>Total</i>	5	4	1	6	5	2	3	5	10	4	2

○ Anticorps anti-privé

Spécificités d'anticorps	2006		2007		2008		2009		2010		2011		2012		2013		2014		2015		2016	
	Nombre*	%**	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
privé	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,2	8	1,5	15	2,8	0	0,0
DI3	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	5	0,9	0	0,0	0	0,0
RH22	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,2	0	0,0	0	0,0
MNS9	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Total	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	0,4	14	2,6	15	2,8	0	0,0

○ Anticorps sans incidence obstétricale

Spécificités d'anticorps	2006		2007		2008		2009		2010		2011		2012		2013		2014		2015		2016	
	Nombre*	%**	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
MNS2	2	0,2	1	0,1	2	0,3	2	0,3	5	0,7	3	0,6	5	0,9	2	0,4	1	0,2	2	0,4	1	0,2
LE1	215	25,3	169	24,9	128	22,1	152	23,3	188	25,5	102	20,2	86	15,6	91	16,1	84	15,6	70	13,2	70	13,9
LE2	110	12,9	69	10,2	63	10,9	68	10,4	68	9,2	44	8,7	42	7,6	32	5,7	39	7,2	37	7,0	32	6,4
LU1	12	1,4	5	0,7	4	0,7	4	0,6	5	0,7	13	2,6	8	1,4	7	1,2	7	1,3	10	1,9	9	1,8
P1	10	1,2	9	1,3	5	0,9	5	0,8	3	0,4	4	0,8	4	0,7	6	1,1	5	0,9	8	1,5	3	0,6
YT2	0	0,0	1	0,1	0	0,0	1	0,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,2	0	0,0	0	0,0
CO2	0	0,0	3	0,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,2	0	0,0	0	0,0	1	0,2	0	0,0
DO1	0	0,0	0	0,0	1	0,2	1	0,2	1	0,1	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,2	0	0,0	1	0,2
DO2	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	0,4	0	0,0	1	0,2
H	36	4,2	16	2,4	10	1,7	21	3,2	21	2,8	0	0,0	14	2,5	11	2,0	7	1,3	7	1,3	3	0,6
HI	36	4,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,2	1	0,2
II	1	0,1	1	0,1	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,2	1	0,2
CHRG	0	0,0	1	0,1	0	0,0	2	0,3	4	0,5	1	0,2	1	0,2	5	0,9	2	0,4	1	0,2	1	0,2
HTLA	0	0,0	2	0,3	4	0,7	1	0,2	0	0,0	7	1,4	0	0,0	1	0,2	1	0,2	0	0,0	1	0,2
auto	83	9,8	40	5,9	14	2,4	20	3,1	25	3,4	14	2,8	6	1,1	15	2,7	11	2,0	8	1,5	8	1,6
Total	505	59,3	317	46,7	231	40,0	277	42,5	320	43,4	188	37,3	167	30,3	170	30,1	161	29,9	146	27,4	132	26,3

* Nombre de grossesses présentant cet anticorps ** Grossesses impactées par cet anticorps par rapport au nombre total de grossesses immunisées, soit 6688

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.