



**HAL**  
open science

# Évaluation du risque immuno-hémolytique d'un anticorps anti-érythrocytaire dans un contexte d'incompatibilité foeto-maternelle

Camille Joubert

► **To cite this version:**

Camille Joubert. Évaluation du risque immuno-hémolytique d'un anticorps anti-érythrocytaire dans un contexte d'incompatibilité foeto-maternelle. Sciences pharmaceutiques. 2021. dumas-03544028

**HAL Id: dumas-03544028**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03544028>**

Submitted on 26 Jan 2022

**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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

## THÈSE D'EXERCICE / DOCTEUR JUNIOR

Phase d'Approfondissement du DES de Biologie Médicale

Soutenue le 29 octobre 2021

Par Camille JOUBERT  
Né(e) le 21/07/1995  
À Schiltigheim

Conformément aux dispositions de l'Arrêté du 12 avril 2017  
portant organisation du troisième cycle des études de Médecine et de Pharmacie

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

----oOo----

**TITRE : ÉVALUATION DU RISQUE IMMUNO-HÉMOLYTIQUE D'UN  
ANTICORPS ANTI-ÉRYTHROCYTAIRE DANS UN CONTEXTE  
D'INCOMPATIBILITÉ FOETO-MATERNELLE.**

----oOo----

**JURY :**

Président : Pr BADENS Catherine

Membres : Pr CHIARONI Jacques

Dr LAGET Laurine

## SOMMAIRE

TABLEAUX ET FIGURES .....	1
LISTE DES ABBRÉVIATIONS.....	4
INTRODUCTION .....	5
I - Incompatibilités foëto-maternelles.....	7
I. 1 - Définition et épidémiologie.....	7
I. 2 - Physiopathologie de l'allo-immunisation foëto-maternelle.....	8
I. 3 - Dépistage de l'allo-immunisation .....	15
I. 4 - Spécificité de l'anticorps.....	16
I. 5 - Quantifications des anticorps .....	23
I. 6 - Mise en évidence d'une hémorragie foëto-placentaire : Le test de Kleihauer .....	29
I. 7 - Confirmation de la situation d'IFME .....	30
I. 8 - Évaluation de l'atteinte foëtale.....	31
I. 9 - Prise en charge pendant la grossesse lors d'un risque hémolytique foetal avéré.....	33
II - Prise en charge néo-et postnatale : Ictère et anémie hémolytique du nouveau-né.....	33
II. 1 - Métabolisme de la bilirubine .....	34
II. 2 - Ictère physiologique du nouveau-né .....	34
II. 3 - Ictère pathologique du nouveau-né.....	36
II. 4 - Toxicité de l'hyperbilirubinémie .....	38
II. 5 - Diagnostic clinique et paraclinique de l'ictère.....	40
II. 6 - Prise en charge de l'ictère néonatal .....	43
III - États des lieux des ictères néonataux en lien avec une IFME au sein de l'APHM entre 2015 et 2020.....	55
III. 1 - Patients et méthode.....	55
III. 2 - Résultats.....	56
DISCUSSION.....	71
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	82
BIBLIOGRAPHIE.....	84

## TABLEAUX ET FIGURES

Tableau 1 : Réponse primaire et secondaire lors d'une immunisation foeto-maternelle.....	9
Tableau 2 : Allèles HLA et allo-immunisation associées .....	15
Tableau 3 : Recommandations de suivi des RAI chez la femme enceinte en fonction du statut RH1 ou RH-1 et des antécédents transfusionnels ou d'allo-immunisation. ....	16
Tableau 4 : Anticorps et risque foetal et néonatal d'anémie.....	23
Tableau 5 : Suivi de l'allo-immunisation en fonction de l'anticorps identifié .....	25
Tableau 6 : Étiologies des ictères à bilirubine non conjuguée.....	36
Tableau 7 : Étiologies des ictères à bilirubine non conjuguée survenant entre J0 et J7 .....	37
Tableau 8 : Étiologies des ictères à bilirubine conjuguée ou prédominante.....	38
Tableau 9 : Sélection des produits sanguins labiles en fonction du groupage ABO .....	52
Tableau 10 : Sélection des produits sanguins labiles en fonction du phénotype RHK.....	52
Tableau 11 : Durée de conservation de CGR et irradiation dans le cas de la transfusion simple .....	52
Tableau 12 : Durée de conservation de CGR et irradiation dans le cas de la transfusion massive .....	53
Tableau 13 : Qualifications et transformations associées à la transfusion sanguine chez le nouveau-né de 0 à 4 mois.....	53
Tableau 14 : Synthèse de la conduite à tenir face à un ictère. ....	54
Tableau 15 : Anticorps anti-public et établissement prescripteur .....	60
Tableau 16 : Bilan hémato-biochimique et prise en charge des cas d'anti-public.....	60
Tableau 17 : Cas de décès à la suite d'une allo-immunisation érythrocytaire.....	64
Tableau 18 : Spécificité, titre et dosage pondéral des anticorps impliqués dans les transfusions. ....	66
Tableau 19 : Transfusions dans un contexte de EDA positif parmi l'ensemble des transfusions à l'AP-HM chez les nouveau-nés de 0 à 3 mois .....	66
Tableau 20 : Transfusion chez les nouveau-nés de 0 à 3 mois avec un EDA positif .....	66
Tableau 21 : Traitements administrés en association aux gestes transfusionnels.....	67
Tableau 22 : Spécificité, titre et dosage pondéral des anticorps impliqués dans l'exsanguino-transfusion.....	67
Tableau 23 : Allo-immunisations anti-RH1 .....	69
Tableau 24 : Allo-immunisations anti-KEL1 .....	69
Tableau 25 : Allo-immunisations anti-RH4.....	70

Tableau 26 : Cas de MHNN avec un anti-Ge3 décrits dans la littérature.....	73
Tableau 27 : Répartition des spécificités d'anticorps à risque d'anémie fœtale et de MHNN	74
Tableau 28 : Répartition des spécificités d'anticorps à risque de MHNN.....	74
Figure 1 : Mécanisme d'immunisation chez la mère – Rappels physiologiques - CNRHP ....	10
Figure 2 : Mécanisme classique de l'immuno-hémolyse fœtale par destruction extracellulaire des hématies fœtales sensibilisés par l'allo-anticorps et phagocytés par le système monocytes-macrophages .....	11
Figure 3 : Mécanisme de suppression de l'érythropoïèse fœtale par phagocytose lors de l'immunisation anti-Kell.....	12
Figure 4 : Mécanisme de suppression de l'érythropoïèse fœtale par apoptose non classique lors de l'immunisation anti-GE3.....	12
Figure 5 : Mécanisme de suppression de l'érythropoïèse par agglutination des progéniteurs érythroïdes et destruction immunitaire des hématies lors de l'immunisation anti-M.....	13
Figure 6 : Mécanisme de destruction des progéniteurs érythroïdes avec ou sans échappement clonal par pression immunitaire anti-Jra.....	14
Figure 7 : Évaluation du risque de MHNN en Hollande en fonction du titre et de l'ADCC...	28
Figure 8 : Mesure du pic systolique de vitesse de l'artère cérébrale moyenne.....	32
Figure 9 : Métabolisme de la bilirubine.....	34
Figure 10 : Normogramme de référence de la bilirubinémie du nouveau-né à terme. ....	35
Figure 11 : Nomogramme pour la désignation du risque d'ictère hémolytique .....	38
Figure 12 : Test direct à l'antiglobuline.....	43
Figure 13 : Facteurs influençant l'efficacité de la photothérapie de l'hyperbilirubinémie néonatale .....	45
Figure 14 : Indications pour la photothérapie intensive.....	46
Figure 15 : Indications selon le dosage sanguin de bilirubine totale exprimée en $\mu\text{mol/L}$ pondéré par l'âge post-natal et la présence ou non de conditions de neuro-toxicité aggravée de la bilirubine. ....	47
Figure 16 : Indications de photothérapie intensive (PTI) et d'exsanguino-transfusion (EST) pour le nouveau-né de 35 SA et plus. ....	49
Figure 17 : Principe de l'administration d'albumine sérique humaine afin de limiter les effets de l'hyperbilirubinémie sévères sur le cerveau.....	50
Figure 18 : Construction de notre cohorte .....	57
Figure 19 : Répartition des cas d'allo-immunisations .....	57

Figure 20 : Répartition des allo-anticorps à risque d'anémie fœtale et de MHNN .....	58
Figure 21 : Répartition des allo-anticorps à risque de MHNN .....	59
Figure 22 : Bilirubine sanguine totale ( $\mu\text{mol/L}$ ) durant les 72 premières heures de vie - Anti-D .....	61
Figure 23 : Bilirubine sanguine totale ( $\mu\text{mol/L}$ ) durant les 72 premières heures de vie - Anti-c .....	61
Figure 24 : Bilirubine sanguine totale ( $\mu\text{mol/L}$ ) durant les 72 premières heures de vie. Anti-Kell.....	61
Figure 25 : Bilirubine sanguine totale ( $\mu\text{mol/L}$ ) durant les 72 premières heures de vie .....	62
Figure 26 : Taux d'hémoglobine (g/L) à la naissance. Anti-D .....	62
Figure 27 : Taux d'hémoglobine (g/L) à la naissance. Anti-c .....	62
Figure 28 : Taux d'hémoglobine (g/L) à la naissance. Anti-Kell .....	63
Figure 29 : Taux d'hémoglobine (g/L) à la naissance .....	63
Figure 30 : Prise en charge des nouveau-nés .....	65
Figure 31 : Les traitements par photothérapie .....	65
Figure 32 : Étiologies des transfusions in utero .....	67
Figure 33 : Transfusion in utero dans le cadre d'une allo-immunisation .....	67
Figure 34 : Spécificités des anticorps dans un contexte de transfusion in utero.....	68

## LISTE DES ABREVIATIONS

AAP : American Academy of Pediatrics

ACM : Artère cérébrale moyenne

AG : Âge de grossesse

AIFM : Allo-immunisation foeto-maternelle

APHM : Assistance Public des Hopitaux de Marseille

BFP : Barrière foeto-placentaire

BNSPR : Banque nationale de sang de phénotype rare

BTC : Bilirubinomètre transcutané

BTS : Bilirubine totale sanguine

CEC : Circulation extra corporelle

CGR : Culot globule rouge

EDA : Examen direct à l'antiglobuline

EDCL : Épreuve directe de compatibilité au laboratoire

EFS-PACC : Établissement Français du Sang Provence Alpes Côte-d'Azur et Corse

ERCF : Enregistrement du rythme cardiaque fœtal

EST : Exsanguino-transfusion

HFM : Hémorragie foeto-maternelle

IFME : Incompatibilité foeto-maternelle érythrocytaire

MHNN : Maladie hémolytique du nouveau-né

NABM : Nomenclature Analyse de Biologie Médicale

PFC : Plasma frais congelé

PSL : Produits sanguins labiles

RAI : Recherche agglutinines irrégulières

SA : Semaine d'aménorrhée

TIU : Transfusion in utero

UVI : Urgence vitale immédiate

## INTRODUCTION

L'allo-immunisation fœto-maternelle anti-érythrocytaire est une réaction immunologique aboutissant à la production d'allo-anticorps par la mère contre un antigène de groupe sanguin présent chez son fœtus et transmis par le père biologique.

L'histoire de la « maladie rhésus » (terme réservé en théorie aux IFME de spécificité anti-RhD ou anti-RH1, mais par extension appliqué à d'autres spécificités) est initialement décrite en 1912 sous le nom d'« erythroblastosis foetalis », avec une riche symptomatologie (anasarque, ictère et anémie sévères). Dans les années 1960, les méthodes de diagnostic et d'appréciation du risque d'atteinte fœtale se sont développées, ainsi que la prévention de l'allo-immunisation anti-RH1. Cette dernière basée sur l'injection d'immunoglobulines anti-D, a permis par sa généralisation, la réduction drastique des cas de maladie hémolytique anti-RH1 chez le nouveau-né. Cependant des cas persistent, ainsi que d'autres types d'allo-immunisations érythrocytaire non ABO et non RH1, pouvant aboutir à des atteintes pathogènes pour le fœtus et/ou pour le nouveau-né, et pour lesquelles il n'existe pas de prévention.

Une IFME peut se manifester dès la vie fœtale par une anémie, et lorsqu'elle celle-ci est sévère, elle peut entraîner des épanchements liquidiens (pleuraux, péricardiques ou péritonéaux) ; c'est l'anasarque fœtal. Ces épanchements peuvent régresser dans un premier temps mais, en l'absence de correction de l'anémie, ils peuvent devenir irréversibles par lésion tissulaire hypoxique.

Chez le nouveau-né, le premier signe clinique est l'ictère, du fait de l'hyperbilirubinémie secondaire à l'immuno-hémolyse. L'hyperbilirubinémie est par conséquent précoce (parfois dès la naissance et toujours dans les 72 premières heures de vie<sup>1</sup>), mais son évolution est le plus souvent favorable. Elle peut être à l'origine d'une encéphalopathie aiguë, voir chronique, dénommée ictère nucléaire. Cette complication peut entraîner des séquelles neurologiques sévères et irréversibles. Sa survenue, fait suite, dans la majorité des cas, à des défaillances de prise en charge.<sup>2</sup> L'anémie est souvent associée à l'hyperbilirubinémie ; elle peut rester évolutive pendant toute la durée de présence des anticorps maternels circulants, et tant que l'érythropoïèse de l'enfant n'est pas autonome et compensatrice.

Le diagnostic d'incompatibilité fœto-maternelle érythrocytaire (IFME) est purement biologique. Le suivi biologique des patientes allo-immunisées pendant la grossesse doit être bien conduit en respectant le calendrier de surveillance des agglutinines irrégulières et en



effectuant, en cas de positivité, des titrages et dosages pondéraux réguliers de ces anticorps anti-érythrocytaires. Par ailleurs, de nombreux progrès ont révolutionné ce domaine : en anténatal dans le diagnostic non invasif des incompatibilités (génotypage des groupes sanguins du fœtus sur sang maternel) et celui de leurs complications anémiques fœtales (vélocimétrie Doppler de l'artère cérébrale), mais aussi dans la prise en charge postnatale avec les innovations de la photothérapie, le développement de traitements adjuvants, enfin l'évolution des thérapeutiques transfusionnelles anténatales et postnatales.

Après un rappel sur les mécanismes physiopathologiques impliqués dans l'allo-immunisation anti-érythrocytaire fœto-maternelle, nous développerons les techniques de dépistage et les moyens d'évaluation clinique et biologique du risque immuno-hémolytique de l'anticorps concerné. Nous aborderons les différentes modalités de prise en charge du fœtus et du nouveau-né, en faisant notamment le point sur les recommandations actuelles de transfusions de nouveau-né de 0 à 4 mois.

Afin de compléter notre travail, nous avons étudié rétrospectivement les cas d'ictères néonataux en lien avec une IFME non ABO à Marseille entre 2015 et 2020, de l'analyse immuno-hématologique à l'Établissement Français du Sang des anticorps impliqués (spécificité, titre, dosage pondéral) jusqu'aux bilans biologiques et moyens de prises en charge des nouveau-nés au sein de l'APHM.

## **I - Incompatibilités fœto-maternelles**

### **I. 1 - Définition et épidémiologie**

L'allo-immunisation fœto-maternelle est 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 a lieu 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.<sup>3,4</sup>

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.<sup>5</sup>

#### **I. 1. 1 - IFME ABO**

C'est la plus fréquente des IFME. Environ 5% des nouveau-nés ont un examen direct à l'antiglobuline (EDA) positif<sup>5</sup> 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  $\mu$ moles/L) est faible, évalué à 0,5 à 2 pour 1000 naissances.<sup>5</sup> L'IFME ABO est donc très rarement responsable d'anémie fœtale sévère, c'est pourquoi nous ne l'aborderons pas dans ce travail.

#### **I. 1. 2 - IFME non ABO**

Nous pouvons distinguer les 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).<sup>4</sup> La mise en place dans les années 1970 de l'immunoprophylaxie rhésus post-partum et ciblée sur les situations à risque d'HFM a réduit l'incidence des IFME RH1 de 80%.<sup>5</sup> Les causes des immunisations anti-RH1 résiduelles se répartissent entre les oublis ou les mauvaises applications de la prévention pour deux tiers d'entre elles et les immunisations de première grossesse ou encore « les échecs » de prévention pour le tiers restant (données du Centre national de référence en hémobiologie périnatale CNRHP).

Les IFME non ABO et non anti-RH1 représentent 0,5 pour 1000 naissances, avec la moitié liée à une IFM RH4 ou RH3. Les IFM anti-KEL1 sont plus rares car l'antigène KEL1 est présent sur les globules rouges de seulement 9% de la population caucasienne et 2% de la population africaine. En ce qui concerne les anémies fœtales sévères nécessitant une transfusion fœtale ou à l'origine d'un anasarque, les données rétrospectives du CNRHP (2003-2006) montrent que 85% des cas sont liés à une IFME de spécificité anti-RH1, 13% des cas anti-KEL1 et 2% des cas anti-RH4.

## **I. 2 - Physiopathologie de l'allo-immunisation fœto-maternelle.**

### **I. 2. 1 - Hémorragie fœto-maternelle et allo-immunisation**

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) en sont la cause. Les circonstances de survenue de ces hémorragies sont diverses ; elles sont particulièrement importantes au moment de l'accouchement mais peuvent également survenir pendant la grossesse lors de traumatismes directs ou indirects au niveau de l'utérus, lors de métrorragies ou encore d'amniocentèse. Elles sont d'autant plus fréquentes que l'âge gestationnel est élevé. En effet, la fréquence de ces hémorragies est estimée à 4% des femmes au cours du premier trimestre, 12% des femmes au cours du second trimestre, 45% des femmes au cours du troisième trimestre et 60% des femmes lors de l'accouchement.<sup>6</sup> Le volume de sang fœtal nécessaire pour induire une immunisation semble très variable d'une femme à l'autre. Pour certaines, un apport de 0,05 mL serait suffisant alors que pour d'autres ce même volume n'induirait pas d'immunisation. Le volume de sang moyen responsable d'une immunisation est en moyenne de l'ordre de 0,1 mL.<sup>7</sup>

### **I. 2. 2 - La réponse immunitaire primaire maternelle**

Elle est la conséquence du passage des hématies fœtales dans la circulation sanguine maternelle lors d'une première grossesse incompatible. C'est une réaction faible et tardive.<sup>6</sup> Le mécanisme de l'allo-immunisation implique plusieurs étapes et acteurs du système immunitaire. Dans un premier temps, une cellule présentatrice d'antigène (cellules dendritiques, lymphocytes B, macrophages) présente par l'intermédiaire du Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe II, l'antigène fœtal aux lymphocytes TCD4 Helper (interaction

CMH II et TCR). Il s'en induit une réponse immunitaire de type TH2 et une interaction LTCD4-lymphocytes B, entraînant 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. La synthèse d'anticorps s'observe habituellement entre la 8<sup>ème</sup> et la 9<sup>ème</sup> semaine après la stimulation. Lors d'une réponse primaire, les anticorps produits sont de type IgM et les cellules gardent en mémoire le phénomène d'immunisation par l'intermédiaire des lymphocytes B mémoires. La cinétique de cette réponse est rapportée dans le tableau qui suit qui rappelle les caractéristiques de la réponse primaire.

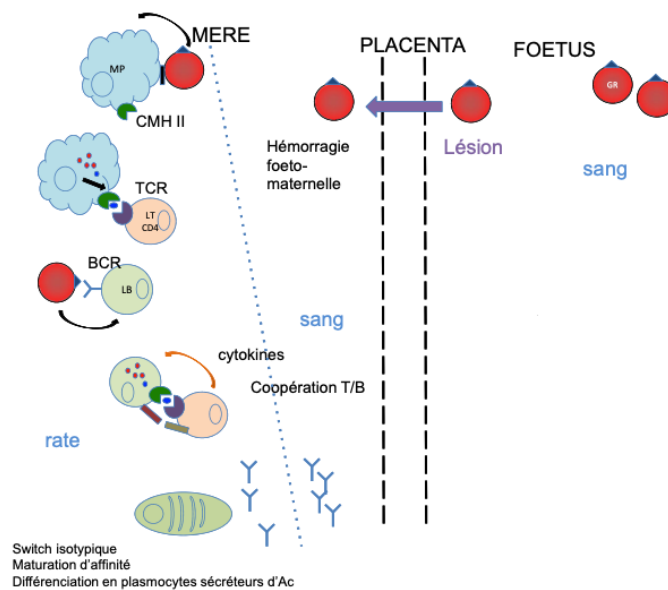
### I. 2. 3 - La réponse immunitaire secondaire

Elle est la conséquence du passage des hématies fœtales dans la circulation sanguine maternelle après une première grossesse incompatible, c'est à dire une deuxième exposition antigénique. C'est une réaction cette fois-ci importante et rapide, notamment grâce aux lymphocytes B mémoires. Les anticorps produits sont de type IgG et peuvent traverser la barrière foeto-placentaire grâce à la structure de leur fragment Fc de chaîne lourde. C'est donc cette réponse secondaire qui est à l'origine d'une incompatibilité foeto-maternelle.<sup>6</sup> 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.

*Tableau 1 : Réponse primaire et secondaire lors d'une immunisation foeto-maternelle*

Propriétés	Réponse primaire	Réponse secondaire
<b>Cellules B</b>	Cellule B naïve	Cellule B mémoire
<b>Période de latence</b>	4-7 jours	1-3 jours
<b>Pic de la réponse</b>	> 10 jours	3-5 jours
<b>Amplitude du pic de la réponse</b>	Variable	100 à 1000 fois plus élevée que primaire
<b>Isotype produit</b>	IgM	IgG
<b>Affinité de l'anticorps</b>	Faible	Élevée

Figure 1 : Mécanisme d'immunisation chez la mère – Rappels physiologiques - CNRHP



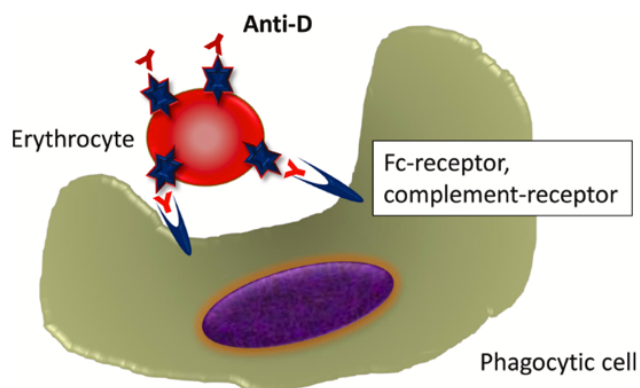
## I. 2. 4 - Mécanismes d'immuno-hémolyse et d'anémie fœtale

### I. 2. 4. 1 - La voie classique de destruction des hématies fœtales

Le transfert des allo-anticorps maternels peut se produire dès le début de la grossesse mais reste peu important avant le 4<sup>ème</sup> 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. 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.

Les globules rouges fœtaux sensibilisés sont ensuite reconnus, piégés, et détruits par le système réticulo-endothélial (notamment la rate), en faisant intervenir le récepteur Fc $\gamma$  de l'allo-anticorps et la voie d'activation C3b dépendante du complément. Les nouveau-nés atteints présentent une hémolyse, une anémie et un ictère avec bilirubine indirecte élevée. L'anémie provoquée peut induire un système de compensation de l'érythropoïèse fœtale et entraîner une augmentation des réticulocytes et des érythroblastes dans le sang périphérique du fœtus/nouveau-né.

Figure 2 : Mécanisme classique de l'immuno-hémolyse fœtale par destruction extracellulaire des hématies fœtales sensibilisés par l'allo-anticorps et phagocytés par le système monocytes-macrophages<sup>8</sup>



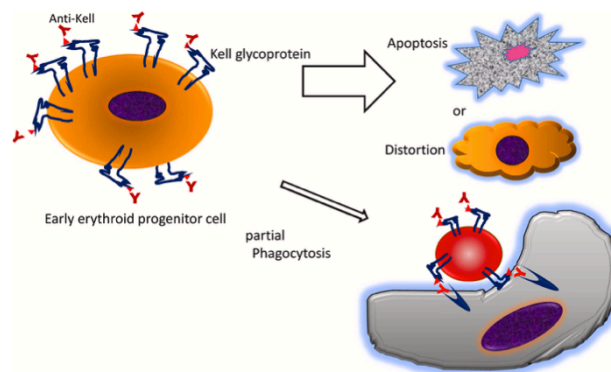
#### I. 2. 4. 2 - Autres mécanismes de développement de l'anémie fœtale

Différents de la voie classique décrite précédemment, qui concerne principalement l'allo-immunisation anti-RH1, il est intéressant de discuter de mécanismes de développement de l'anémie fœtale/néonatale qui ne sont pas liés à une destruction extravasculaire des globules rouges. L'anti-GE3, l'anti-Kell et l'anti-M sont associés à des mécanismes directs impliquant l'apoptose ou une suppression de l'érythropoïèse. Il est préférable dans ces cas-là, afin d'être le plus juste possible, de parler de maladie anémique du nouveau-né plutôt que de maladie hémolytique du nouveau-né.<sup>8</sup>

- Le cas de la maladie anémique du nouveau-né par allo-immunisation anti-Kell

La glycoprotéine Kell est exprimée de manière précoce sur les progéniteurs érythroïdes de l'hématopoïèse. Les nouveau-nés affectés par une allo-immunisation anti-Kell auront des taux de réticulocytes plus bas, et donc une anémie arégénérative. Elle pourra entraîner des séquelles importantes notamment un anasarque fœtal ou une anémie sévère du nouveau-né. L'hyperbilirubinémie sévère comme décrite dans le cas de l'allo-immunisation anti-D sera beaucoup moins fréquente. La destruction se ferait par un mécanisme de destruction des progéniteurs érythroïdes par apoptose ou en inhibant la formation normale du cytosquelette érythrocytaire.

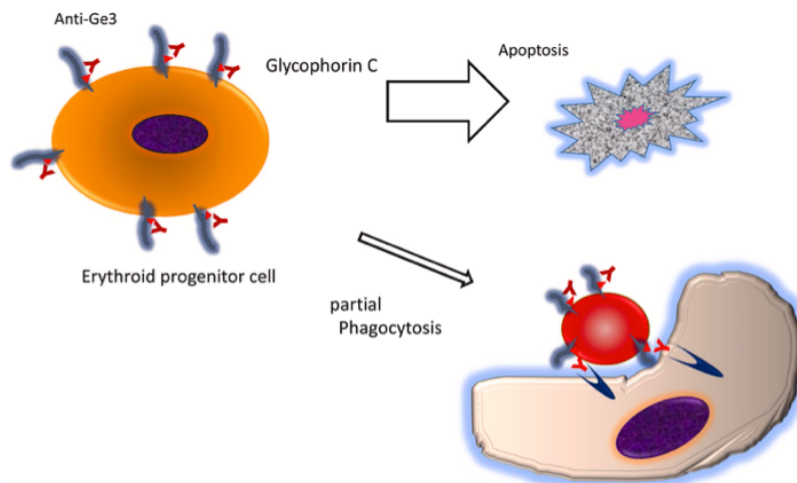
Figure 3 : Mécanisme de suppression de l'érythropoïèse fœtale par phagocytose lors de l'immunisation anti-Kell



- Le cas de la maladie anémique du nouveau-né par allo-immunisation anti-GE3

Les antigènes du groupe sanguin Gerbich sont exprimés sur la glycophorine C et sur la glycophorine D ; le premier s'exprimant très tôt par les progéniteurs érythroïdes de l'hématopoïèse. Plusieurs études indiquent que la destruction de ces progéniteurs passerait par un mécanisme non classique de l'apoptose, et entraînerait cliniquement des maladies anémiques du nouveau-né tardives.<sup>9</sup>

Figure 4 : Mécanisme de suppression de l'érythropoïèse fœtale par apoptose non classique lors de l'immunisation anti-GE3.<sup>8</sup>

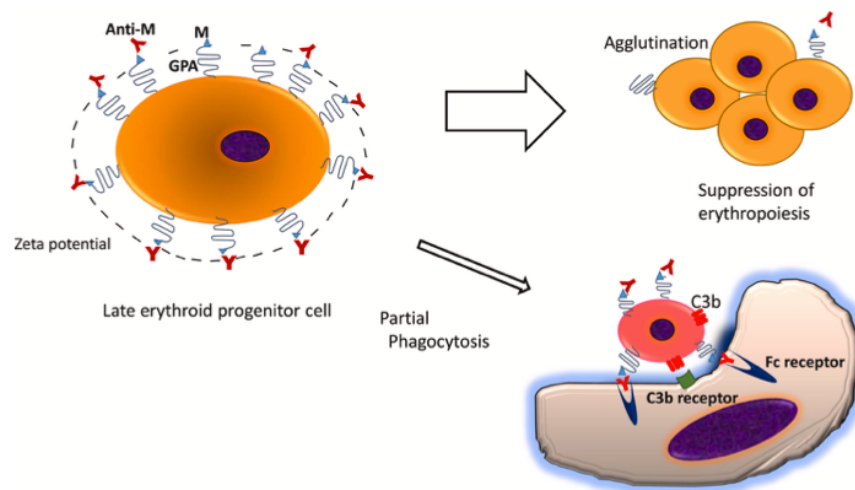


- Le cas de la maladie anémique du nouveau-né par allo-immunisation anti-M.

Le système de groupe sanguin MNS est exprimé sur la glycophorine A et sur la glycophorine B. Ces glycophorines sont exprimées plus tardivement sur les cellules

progénitrices de l'érythropoïèse que la glycophorine C et la glycoprotéine Kell. Les allo-immunisations anti-M sont généralement asymptomatiques, ils sont de classe IgM et ne passent pas de la BFP. Dans des situations plus rares, ils peuvent être des IgG et entraîner des cas graves. Des cas de morts fœtales in utero et anémie du nouveau-né ont été décrits<sup>10</sup>. Cependant, contrairement à l'anti-Kell, l'hyperbilirubinémie est plus fréquemment observée.<sup>11</sup> Les études sur ce sujet défendent l'hypothèse d'un double mécanisme de destruction des hématies fœtales ; une suppression de l'érythropoïèse par agglutination de progéniteurs érythroïdes en diminuant la sialoglycoprotéine sur la GPA, et une destruction immunitaire classique comme les anti-RH1. Le mécanisme de destruction des progéniteurs érythroïdes par apoptose n'a pas été exclu.<sup>8</sup>

Figure 5 : Mécanisme de suppression de l'érythropoïèse par agglutination des progéniteurs érythroïdes et destruction immunitaire des hématies lors de l'immunisation anti-M.<sup>8</sup>

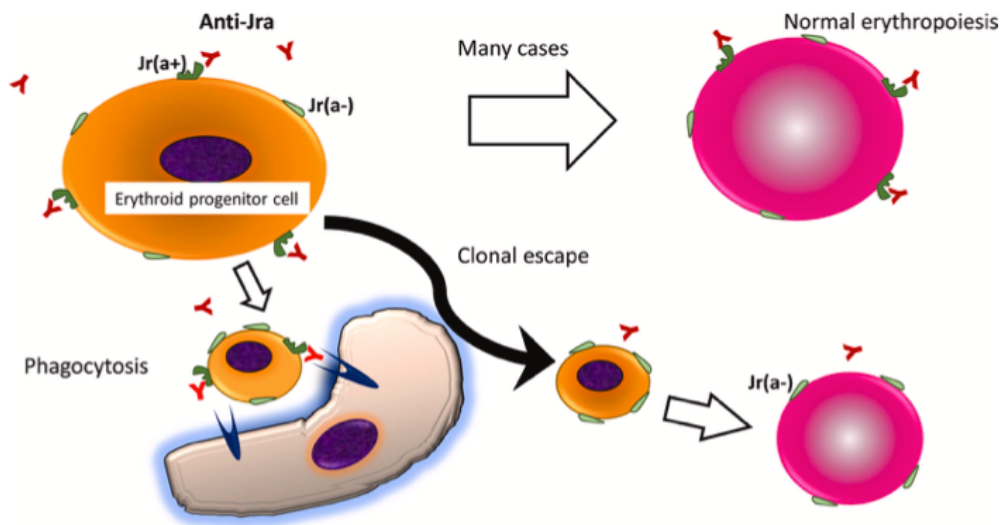


- Le cas de la maladie anémique du nouveau-né par allo-immunisation anti-Jra.

Le système de groupe Sanguin JR a un antigène Jra, avec une prévalence élevée . Les individus Jr(a-) sont rares mais trouvés en grande partie dans les populations asiatiques.<sup>12</sup> La gravité de la maladie va de l'absence de symptôme à une anémie sévère nécessitant des transfusions intra-utérines.<sup>8</sup> Les études s'accordent à dire dans les cas graves d'anémie, les réticulocytes restent bas et donc l'hypothèse d'un processus arégénératif et de destruction des progéniteurs érythroïdes est à privilégier. Cependant, une discordance a été noté ; l'examen direct à l'antiglobuline est largement positif chez les nouveau-nés asymptomatiques, contrairement aux nouveau-nés très anémiés, pour lesquels l'examen direct à l'antiglobuline se révèle négatif. L'hypothèse d'un échappement clonal de la cellule érythroïde est émise.



Figure 6 : Mécanisme de destruction des progéniteurs érythroïdes avec ou sans échappement clonal par pression immunitaire anti-Jra.



## I. 2. 5 - Facteurs génétiques : Le rôle du système HLA

La molécule HLA-DR intervient précocement dans la réponse immunitaire primaire, vis à vis de son rôle dans la présentation de l'antigène au récepteur TCR. Des études ont montré une association entre certains allèles du locus HLA-DR et la fréquence de l'immunisation érythrocytaire, de même que des taux élevés en anticorps.<sup>13,14</sup>

L'allo-immunisation Kell après une transfusion ne se produit pas dans tous les cas, cette variabilité peut être attribuée à une variation génétique. Une étude des différents allèles HLA DRB1 chez des patients immunisés anti-Kell a mis en évidence une fréquence de HLA DRB1\*11 et HLA DRB1\*13 significativement plus élevée chez les patients immunisés par Kell que les témoins.<sup>14</sup> La prise en charge des grossesses de patiente HLA-DRB1\*11 ou HLA-DRB1\*13 pourrait impliquer une surveillance plus rapprochée, du fait d'un plus grand risque de développer une immunisation anti-Kell.

En ce sens, de nombreuses études ont déjà été menées afin d'établir un lien entre variants alléliques du système HLADR/HLADQ et réponse immunitaire accrue. C'est le cas avec l'immunisation Jka et les allèles HLA DRB1 01 et HLA DQB1 05,<sup>15</sup> l'immunisation Fya et les allèles HLADRB1\*04 et HLADRB1\*15,<sup>16</sup> l'immunisation D et les allèles DRB1\*15 et DQB1\*02,<sup>17-19</sup> l'immunisation E avec l'allèle DRB1\*09 et l'immunisation S avec l'allèle DRB1\*07.<sup>13</sup>

Tableau 2 : Allèles HLA et allo-immunisation associées

Allo-anticorps	Allèle HLA
<b>Kell</b>	HLA DRB1*11 et HLADRB1*13
<b>Jka</b>	HLA DRB1 01 et HLA DQB1 05
<b>Fya</b>	HLADRB1*04 et HLADRB1*15
<b>D</b>	HLADRB1*15 etDQB1*02
<b>E</b>	DRB1*09
<b>S</b>	DRB1*07

### **I. 3 - Dépistage de l'allo-immunisation**

#### **I. 3. 1 - Examens immuno-hématologiques obligatoires**

Application de la législation en vigueur (Arrêté du 15 mai 2018 fixant les conditions de réalisation des examens de biologie médicale d'immuno-hématologie érythrocytaire).<sup>20</sup>

##### **I. 3. 1. 1 - La double détermination du groupe sanguin ABO et du phénotype érythrocytaire RH-Kell.**

Ces examens doivent être réalisés :

- à deux moments différents : aux 3<sup>ème</sup> et 6<sup>ème</sup> mois de grossesse (si groupage et/ou phénotypage sanguins non encore effectués)
- par deux techniciens différents
- avec deux séries de réactifs différents
- sur deux prélèvements différents.

Les échantillons de sang veineux doivent être prélevés sur anticoagulant (EDTA) et étudiés dans un délai maximum de sept jours.

##### **I. 3. 1. 2 - La recherche des anticorps irréguliers anti-érythrocytaires**

Elle est la base de la détection des allo-immunisations fœto-maternelle et de la sécurité immuno-hématologique des transfusions.<sup>21</sup> La recherche d'agglutinines irrégulières (RAI) doit être réalisée sur des échantillons de sang veineux prélevés depuis moins de 72 heures, dont un

au minimum sur tube sec sans anticoagulant et un sur tube avec anticoagulant (EDTA). Pour mettre en évidence l'ensemble des anticorps anti-érythrocytaires, la technique utilisée est le test indirect à l'antiglobuline à 37°C. En cas de RAI positive, on procède à l'épreuve d'identification des anticorps irréguliers, sans attendre l'examen prénatal ultérieur.

### I. 3. 1. 3 - L'identification des anticorps irréguliers anti-érythrocytaires.

Elle est obligatoire lors de RAI positive, car elle détermine la spécificité du ou des anticorps présents et permet ainsi de définir un premier niveau de sévérité. Les examens immuno-hématologiques pendant la grossesse suivent donc un calendrier officiel qui dépend du statut RH1 de la patiente (RH :1 ou RH :-1) et de ses antécédents transfusionnels.<sup>22</sup>

Tableau 3 : Recommandations de suivi des RAI chez la femme enceinte en fonction du statut RH1 ou RH-1 et des antécédents transfusionnels ou d'allo-immunisation.

Femme enceinte	Date des RAI
<b>Femme RH1 primigeste sans antécédent transfusionnel</b>	- 3 <sup>ème</sup> mois / 9 <sup>ème</sup> mois
<b>Femme RH1 primigeste avec antécédent transfusionnel</b>	- 3 <sup>ème</sup> mois / 6 <sup>ème</sup> mois / 8 <sup>ème</sup> mois / 9 <sup>ème</sup> mois
<b>Femme RH :-1</b>	- 3 <sup>ème</sup> mois / 6 <sup>ème</sup> mois / 8 <sup>ème</sup> mois / 9 <sup>ème</sup> mois - Avant injection d'immunoglobuline anti-D - Dans les 8 semaines suivant l'accouchement
<b>Chez toutes les femmes</b>	En cas de besoin transfusionnel
<b>Femmes allo-immunisées</b>	Suivi régulier en fonction de la spécificité de l'anticorps avec titrage et dosage pondéral

## I. 4 - Spécificité de l'anticorps

### I. 4. 1 - Structure des anticorps des groupes sanguins

Les anticorps sont des protéines du système immunitaire. Ce sont des glycoprotéines de la superfamille des immunoglobulines, formées de 4 chaînes polypeptidiques, dont 2 chaînes lourdes (CH) et 2 chaînes légères (CL), qui sont reliées entre-elles par un nombre variable de

ponts disulfures. Il existe une portion dite « constante » (fragment Fc) et une partie « variable », responsable de la spécificité antigénique (très grand polymorphisme). Il existe 5 classes d'Ig : IgG, IgM, IgA, IgD et IgE. La classe qui nous intéresse le plus dans le cadre de l'AIFM est celle des IgG.

Les anti-RH provoquant la maladie hémolytique périnatale sont uniquement des IgG1 et des IgG3.<sup>23</sup> Chacune de ces sous-classes d'IgG ayant des caractéristiques particulières. En effet, les IgG1 peuvent traverser le placenta en grand nombre dès la 20<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée (SA), alors que les IgG3 passent dans la circulation fœtale entre la 28 et la 32<sup>ème</sup> SA. Les IgG1 peuvent donc provoquer une anémie plus sévère que les IgG3, mais les IgG3 entraînent une augmentation du taux de bilirubine sérique plus élevée que les IgG1.<sup>23</sup>

#### **I. 4. 2 - Anticorps immuns et anticorps naturels**

Les anticorps immuns résultent d'une allo-immunisation lors d'une situation d'incompatibilité antigénique par voie transfusionnelle ou transplacentaire et sont de nature IgG. Les anticorps naturels pré-existent en dehors de toute stimulation fœto-maternelle ou transfusionnelle. Ils sont de nature IgM, ne peuvent franchir la barrière foeto-placentaire et n'ont donc pas d'incidence fœtale. De plus, certains antigènes correspondant à ces anticorps ont un développement ontogénique retardé (les antigènes P1, LE1 et LE2 ne sont guère discernables chez le fœtus) et ils sont exprimés sur d'autres cellules que les hématies.<sup>24</sup>

#### **I. 4. 3 - Le système RH**

##### **I. 4. 3. 1 - Présentation du système RH :**

Groupe strictement érythrocytaire, le plus important en transfusion sanguine après le groupe ABO, car comportant des antigènes très immunogènes. Les antigènes sont ici de nature protéique, à la différence de ceux du groupe ABO qui sont des sucres. Les bases génétiques du système RH ont été déterminées par la biologie moléculaire dans les années 1990. Ces études décrivent l'existence du locus RH constitué de deux gènes : le gène *RHD* qui produit l'antigène D et le gène *RHCE* qui produit les antigènes C/c, E/e. Ces deux gènes sont localisés sur le bras court du chromosome 1 et dérivent vraisemblablement de la duplication d'un gène ancestral commun : le gène *RHD* est le produit d'une translocation génique horizontale du gène *RHCE*. Ils sont composés chacun de dix exons et présentant 96% de similarité.<sup>25</sup> Les gènes *RHD* et

*RHCE* sont orientés en tandem inversé : les extrémités 3' se font face. Cette inversion explique la facilité de survenue des conversions géniques. Ils forment ensemble un haplotype, transmis en un seul bloc lors de la méiose ; il faut de ce fait considérer la fréquence des haplotypes dans une population plutôt que la fréquence des allèles de chaque gène.<sup>26</sup>

#### I. 4. 3. 2 - Les antigènes du système RH :

Le gène *RHD* code pour l'antigène RH1 (D). Les deux allèles principaux de ce gène sont *RHD\*01*, l'allèle sauvage, produisant l'antigène RH1 (D) normal, et *RHD\*01N.01*, une délétion de l'ensemble de la séquence codante du gène, responsable d'un phénotype RH :-1 (D négatif).<sup>27</sup>

Dans les populations d'origine Caucasienne, 85% des sujets sont D positif. Le phénotype D négatif, observé chez 15% des individus, est principalement associé à une délétion du gène *RHD*.

Concernant les populations d'Afrique Subsaharienne, le phénotype D négatif est observé chez environ 8% des individus. Il peut en résulter, en dehors de la délétion, de deux autres gènes *RHD* inactivés. Le plus fréquent est le pseudogène *RHD* (*RHD-ψ* (*psi*) – *RHD\*08N.01*), dont l'allèle est caractérisé par une duplication de 37 pb dans les régions intro 3 – exon 4, ainsi que plusieurs polymorphismes dans les exons 5 et 6. La duplication génère un décalage du cadre de lecture et la protéine traduite présente un codon stop prématuré en position 210, ce qui assure qu'aucune protéine RhD n'est présente au niveau de la membrane des globules rouges.

Le second allèle inactif est codé par le gène hybride *RHDIIIa-CE(4-7)-D* (*RHD\*03N.01*), résultant d'une conversion génique. Dans cet haplotype hybride, une partie de l'exon 3 et les exons 4 à 7 du gène *RHD* sont remplacés par les exons correspondant du gène *RHCE*, associés à cinq substitutions nucléotidiques, trois sur le gène *RHD* et deux sur le gène *RHCE*.

De plus, il existe des variants du phénotype RH1, qui sont dit « partiels » ou « faibles ». Le phénotype D partiel correspond à la perte antigénique d'un ou plusieurs épitopes. Ces sujets, s'ils sont exposés à l'antigène complet par transfusion ou dans le cadre d'une grossesse, peuvent produire des anticorps contre des épitopes qu'ils n'expriment pas. Le phénotype D faible correspond à un déficit quantitatif en site antigénique. Ces sujets, ne produiront classiquement pas d'allo anticorps anti-D s'ils sont exposés à l'antigène D normal.

Les principaux antigènes (48 connus à ce jour) rencontrés dans ce groupe et leurs fréquences en Europe sont : <sup>26</sup>

- RH1 (D) : 85%
- RH2 (C) : 70%
- RH3 (E) : 30%
- RH4 (c) : 80%
- RH5 (e) : 98%

Les antigènes RH2 et RH4 sont dits antithétiques tout comme RH3 et RH5, c'est à dire que si l'un est absent, l'autre est forcément présent (hors délétion génique). On peut cependant posséder les deux antigènes simultanément. Il est à noter que l'antigène RH1 (le plus immunogène) est, soit présent (patient RH positif, RH1), soit absent (patient RH négatif, RH-1) et qu'il n'existe pas d'antigène complémentaire (d).

#### **I. 4. 3. 3 - Les anticorps du système RH**

Les anticorps du groupe rhésus sont dits « irréguliers » car ils n'apparaissent qu'après contact avec un antigène « étranger », notamment lors d'une transfusion ou d'une grossesse incompatible. Les antigènes du système RH sont fortement immunogènes et le passage d'hématies fœtales RH1 chez une mère RH-1, conduit dans 80% des cas à la synthèse d'un anticorps anti-RH1. Ces anticorps sont en général (après une réponse primaire de type IgM), des anticorps de classe IgG (IgG1 et IgG3 essentiellement), capables de franchir la barrière foeto-placentaire (BFP). Ils peuvent aussi être responsables d'anémie sévère chez le fœtus, dès la 10<sup>ème</sup> semaine de gestation.

Par ordre décroissant, les anticorps impliqués sont les :

- Anti-RH1
- Anti-RH3
- Anti-RH4
- Anti-RH2
- Anti-RH5
- Anti-RH8

L'antigène RH1 est 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.<sup>28</sup> 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. Les allo-immunisations les plus souvent graves et responsables d'atteintes sévères sont les allo-immunisations anti-RH1 ou anti RH4.

#### **I. 4. 4 - Le système Kell**

C'est un système codé par un seul gène situé sur le chromosome 7. On relève quatre antigènes principaux (sur 27) : KEL1 (K), KEL2 (k), KEL3 (Kp<sup>a</sup>) et KEL4 (Kp<sup>b</sup>). KEL1 et KEL2 sont antithétiques.

Les principaux phénotypes se répartissent en Europe comme suit :<sup>29</sup>

- KEL : -1,2 : 91%
- KEL : 1,2 : 8,8%
- KEL : 1,-2 : 0,2%
- KEL : -3,4 : 97,7%
- KEL : 3,4 : 2,3%
- KEL : 3,-4 : <1%

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 est présent sur les progéniteurs érythroïdes, des anémies sévères fœtales avec altération profonde de l'érythropoïèse peuvent donc être observées.

Dans ce système, les anticorps sont de classe IgG et peuvent induire une anémie fœtale après passage de la BFP.

#### **I. 4. 5 - Systèmes Duffy, Kidd et MNS.**

##### **I. 4. 5. 1 - Système Duffy**

Il est codé par un seul gène situé sur le chromosome 3. On retrouve deux antigènes : Fy<sup>a</sup> et Fy<sup>b</sup>, matures à la naissance. En cas d'immunisation les anticorps anti-Duffy sont de nature IgG, et donc potentiellement dangereux. Rare en Europe mais fréquent chez les africains, le phénotype : FY :-1,-2 peut entraîner l'apparition d'un anticorps anti-public, l'anti-FY3. L'antigène Fy<sup>a</sup> est l'antigène le plus immunogène du système Duffy. Les IFME liées sont peu fréquentes mais peuvent être à l'origine d'immunisations sévères.

Les phénotypes de ce groupe sont répartis chez les caucasiens comme suit : <sup>26</sup>

- FY : 1,-2 : 28%
- FY : 1,2 : 44%
- FY : -1,2 : 28%
- FY : -1,-2 : <1%

#### **I. 4. 5. 2 - Système Kidd**

C'est un système codé par un seul gène situé sur le chromosome 18. On retrouve là aussi deux antigènes : Jk<sup>a</sup> et Jk<sup>b</sup>, également matures à la naissance. En cas d'immunisation les anticorps anti-Kidd sont de nature IgG, et donc à surveiller. Le phénotype très rare JK :-1,-2 peut entraîner le développement d'un anticorps très dangereux appelé anti-JK3. L'antigène Jk<sup>a</sup>, comme l'antigène Fy<sup>a</sup>, est l'antigène le plus immunogène du système Kidd, et bien que les IFME dues à cet antigène sont rares elles peuvent également être très sévères.

Les phénotypes sont répartis chez le Caucasiens comme suit : <sup>26</sup>

- JK : 1,-2 : 27%
- JK : 1,2 : 23%
- JK : -1,2 : 50%
- JK :-1,-2 <1%

#### **I. 4. 5. 3 - Système MNS**

Ce système est codé par deux gènes situés sur le chromosome 4. On dénombre quatre antigènes principaux : MNS1 (M), MNS2 (N), MNS3 (S), MNS4 (s) mais 43 sont connus à ce jour. MNS1 et MNS2 sont co-dominants. Ces antigènes sont matures à la naissance. Les anticorps anti-MNS1 et anti-MNS2 sont le plus souvent des anticorps naturels, de nature IgM et ne peuvent donc pas traverser le placenta, alors que les anticorps anti-MNS3 et anti MNS4 sont des anticorps immuns de nature IgG qui peuvent ainsi être responsables de MHNN. 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.

Chez les caucasiens, l'antigène MNS3 est présent chez 70% des sujets et MNS4 chez 88%.



#### **I. 4. 6 - Anticorps anti-privés, anti publics et auto-anticorps.**

Les anticorps anti-privés sont dirigés contre des antigènes de très faible fréquence, présents chez quelques familles (<1%).<sup>30</sup> 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 le plus souvent objectivée par un EDA positif à la naissance et un bilan d'éluat négatif. 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. L'utilisation du sérum maternel est possible si la compatibilité ABO avec le père le permet.<sup>31</sup>

Les anticorps anti-public sont dirigés contre des antigènes de très grande fréquence (absent chez moins de 4 sujets pour 1000) et sont retrouvés chez les individus « public négatif », dépourvus de cet antigène.<sup>5</sup> Ces individus peuvent posséder de façon naturelle l'anticorps anti-public ou le développer suite à une transfusion ou grossesse incompatible. Les antigènes publics sont généralement très immunogènes, et les anticorps correspondants ne sont pas tous à risque de MHNN, cela dépendra de leur spécificité. Cependant, la présence d'un anti-public est à prendre en compte pour l'avenir du fœtus et du nouveau-né, 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 n'ont quant à eux aucune incidence fœtale mais entraînent des difficultés lors examens d'immuno-hématologie, notamment pour le dépistage et l'identification des 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.

#### **I. 4. 7 - Classifications habituelles des anticorps impliqués dans les IFME**

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. 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. L'impact est limité à l'éventualité d'un ictère hémolytique post-natal : anti-RH3, anti-FY1, anti-MSN3, anti-RH8, *etc...*

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

Tableau 4 : Anticorps et risque fœtal et néonatal d'anémie<sup>5</sup>

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 <sup>e</sup> 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	
Alloanticorps publics	Anti-S	Anti-MNS3	Oui	Non	< 0,1
	Anti-s	Anti-MNS4	Oui	Non	< 0,1
	Anti-U	Anti-MNS5	Oui	Exceptionnel	< 0,1
Autoanticorps	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
	Autopapaine		Non	-	0

## I. 5 - Quantifications des anticorps

### I. 5. 1 - Titrage des anticorps irréguliers anti-érythrocytaires en Coombs indirect (test indirect à l'antiglobuline).

Cette analyse est obligatoire durant la grossesse : le titrage par la méthode en tube salin (technique de référence) est actuellement la méthode la plus utilisée en France pour quantifier les anticorps anti-érythrocytaires dans un contexte de grossesse.<sup>32</sup> Il dépend de nombreux paramètres : concentration en anticorps (non mesurable par le titrage), concentration en antigène, constante d'affinité de l'anticorps, réactifs utilisés (antiglobuline), qualité de la centrifugation, méthode de lecture. Cette méthode est donc assujettie à des variabilités intra- et interlaboratoires. C'est pourquoi, l'évolution du titre doit être estimé dans un même laboratoire au décours de la grossesse, dans des conditions techniques très rigoureuses, par rapport à un standard d'anticorps de titre et concentration connus, chaque sérum étant testé en parallèle avec l'échantillon de sérum précédent. Le pouvoir hémolytique de l'anticorps est dépendant de sa concentration et de son affinité, et il est donc nécessaire, pour les anticorps du système RH, d'y associer le dosage pondéral.

### **I. 5. 2 - Dosage pondéral**

Le dosage pondéral, applicable pour les allo-anticorps du système RH uniquement, est la mesure par méthode semi-quantitative et automatisée de la concentration en anticorps. La technique de référence est une technique d'hémagglutination automatisée en flux continu (Autoanalyser<sup>®</sup>). Des hématies-tests de phénotype RH : 1, 2, 3, 4, 5 sont traitées par broméline et 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 en 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 en 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 s'exprime en  $\mu\text{g/mL}$ , unités internationales (UI/mL) ou unités locales (UHP/mL).

Pour les allo-anticorps les plus immunogènes (anti-RH1, anti-KEL1, anti-RH4 et anti-RH3) des seuils critiques sont établis en fonction du titrage et du dosage pondéral afin de permettre d'orienter la prise en charge et le suivi de la grossesse.<sup>33</sup>

Tableau 5 : Suivi de l'allo-immunisation en fonction de l'anticorps identifié

Anticorps		Fréquences des titrages* +/- DP	Seuil d'alerte**	Génotypage fœtal non invasif	Remarques
Anticorps à risque d'anémie fœtale	RH1	Tous les 15 jours à partir de 18SA	Titre : 1/16 DP > 1µg/mL	OUI Dès 11-12 SA	Présent au 1 <sup>er</sup> 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 18-20 SA	¼ (titre souvent faible et non prédictif d'une atteinte fœtale, peut augmenter tardivement en cas de réactivation) DP : + prédictif ***	OUI Dès 13 SA (génotypage RHCE)	Toujours présent au 1 <sup>er</sup> trimestre si dangereux Parfois en limite de détection, peut être renforcée par hématies-test traités par enzyme
	KEL1	Toutes les 2 à 4 semaines à partir de 18-20 SA	1/32 ou 1/16 après 32 SA	OUI Dès 13 SA	Titre souvent d'emblée élevé Risque de réactivation faible
RH3		Toutes les 2 à 4 semaines à partir de 18-20 SA		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	Tous les mois		OUI RH2 (génotypage RHCE)	
Anticorps rares	Privé Pubic	Suivi au cas par cas		NON	
Anticorps sans incidence obstétricales	Le HI MNS2 Auto-anticorps	Aucun examen complémentaire n'est réalisé et la suivi de RAI est inchangé		NON	

\* 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 fœtales. De manière générale, un augmentation du taux d'anticorps signe une situation d'incompatibilité.

\*\* Lorsque le titrage atteint ce seuil, un dosage pondéral doit être réalisé (anticorps RH). 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'EFS-PACC 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 >1000 UCHP 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 ». <sup>34</sup>

### **I. 5. 3 - Test fonctionnels cellulaires**

#### **I. 5. 3. 1 - ADCC (Antibody Dependant Cellular Cytotoxicity)**

##### *Principe du test*

La technique ADCC permet d'évaluer la capacité des anticorps à induire la lyse des hématies exprimant l'antigène correspondant, en présence de cellules effectrices (cellules mononuclées ou lymphocytes).

Les hématies d'un concentré globulaire (Rh positif), sont traitées à la papaïne (1mg/mL, 10min à 37°C), puis lavées en NaCl 0,9%. Les cellules effectrices sont isolées à partir d'un pool d'au moins 3 buffy-coat (couche leuco-plaquettaire) par centrifugation sur Ficoll, suivi d'une étape d'adhérence, de façon à obtenir un ratio lymphocytes/monocytes de l'ordre de 9. Dans des plaques de microtitration on dépose par puit l'anticorps (sérum du patient), les hématies papainées, les cellules effectrices et des IgG polyvalentes. Après 1 nuit d'incubation à 37°C, les plaques sont centrifugées, puis l'hémoglobine libérée dans le surnageant est mesurée en présence d'une substrat spécifique de l'activité peroxydasique. Les résultats sont exprimés en pourcentage de lyse, 100% correspondant à la lyse totale des hématies en NH<sub>4</sub>Cl (témoin 100%) et 0% au mélange réactionnel sans anticorps (témoins 0%).

$$(DO \text{ échantillon} - DO \text{ témoin } 0\%) / (DO \text{ témoin } 100\% - DO \text{ témoin } 0\%) \times 100 = \% \text{ ADCC}$$

Le test ADCC a été reconnu comme étant plus apte à prédire la sévérité de la MHPN que le titrage des anticorps.<sup>35</sup>

### *Le cas particulier de la Hollande*

En Hollande, dans le cas d'une allo-immunisation confirmée par un génotypage fœtal positif pour l'antigène concerné, non seulement le titrage de l'anticorps est recommandée mais également la réalisation d'un test d'ADCC, afin de déterminer le risque de MHNN. Pour chaque grossesse, un groupage ABOD RhKell et une RAI de dépistage sont réalisés. En cas de RAI positive, les prélèvements sont envoyés dans deux laboratoires de référence afin de déterminer la spécificité de l'anticorps ; (Sanquin Diagnostics et Special Institute for Blood Group investigations).

Surveillance de l'allo-immunisation en fonction de la spécificité de l'anticorps :

Dans le cas d'une détection d'un allo anti-D, allo anti-Kell ou allo anti-c :

- Une surveillance est imposée toutes les 4 semaines, puis toutes les 3 semaines à partir de 24 semaines puis toutes les 2 semaines à partir de 36 semaines.

Dans le cas d'une détection d'un allo anti-C, allo anti-E ou allo anti-e :

- Une surveillance est réalisée toutes les 3 semaines au cours du dernier trimestre.

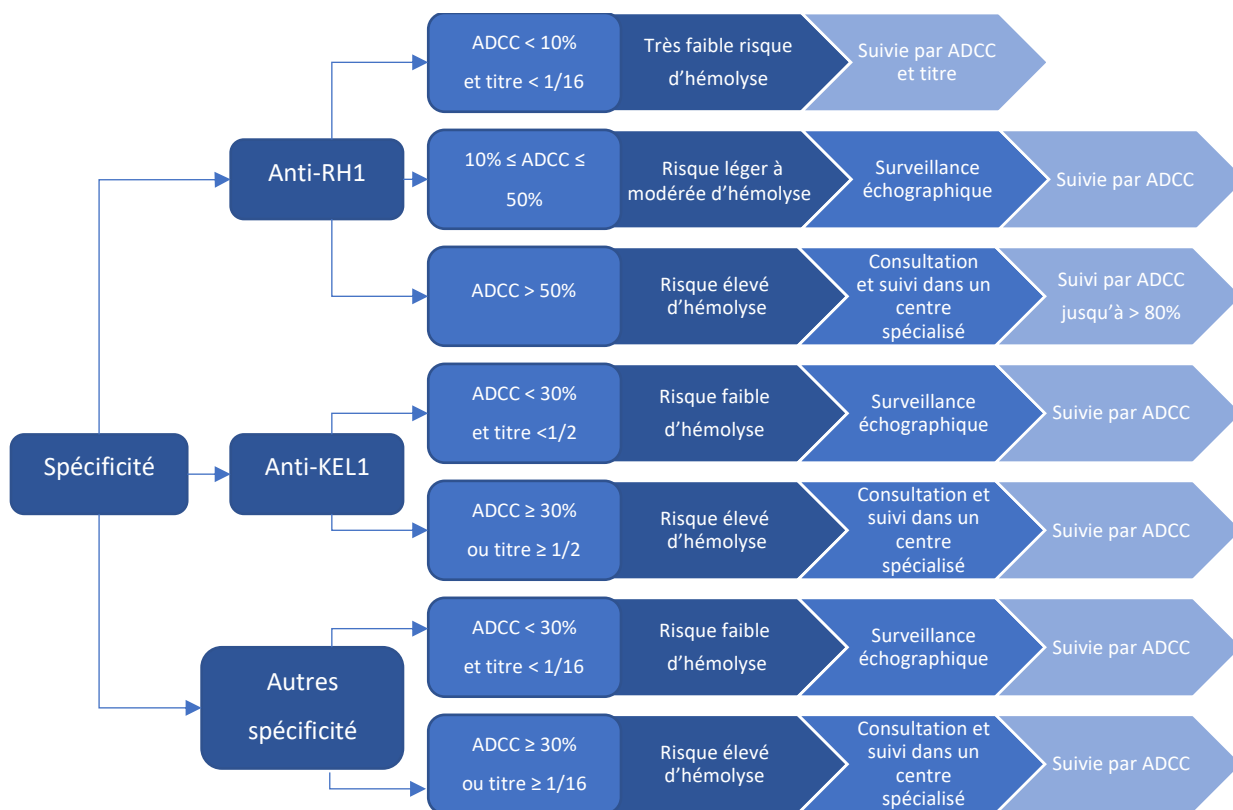
Dans le cas d'une détection d'un allo anti-Fya, allo anti-Fyb, allo anti-Jka, allo anti-Jkb, allo anti-S ou allo anti-s :

- Une surveillance est réalisée à la semaine 30.

a) Estimation du seuil de dangerosité et prise en charge adaptée

Des seuils critiques ont été déterminés en fonction de la spécificité de l'anticorps, du titre et de l'ADCC pour apprécier le risque immuno-hémolytique de l'anticorps.<sup>36</sup> Un risque élevé implique un transfert au LUMC (Leiden University Medical Center), centre national de référence néerlandais pour thérapie fœtale.

Figure 7 : Évaluation du risque de MHNN en Hollande en fonction du titre et de l'ADCC.



b) Résultats de l'étude de Yolentha M. Slootweg *et al.*<sup>37</sup>

Cette étude rétrospective portant sur toutes les allo immunisations anti-Kell observées aux Pays Bas entre Janvier 1999 et Avril 2015 au sein de LUMC (Leiden University Medical Center) a cherché à vérifier l'efficacité des titrages répétés et de l'ADCC dans la prise en charge fœtale. Leurs auteurs proposent comme « cut-off » pour mettre en place une surveillance échographique intensive, un premier titrage > 4 (sensibilité 100%, spécificité 27%, VPP 60%). Ils en ont conclu également que la cinétique du titrage n'apportait pas d'éléments supplémentaires et que la mesure de l'ADCC ne s'est pas révélée être un paramètre utile dans la sélection des grossesses à risque.

Une autre étude prospective nationale récente (Koelewijn, J. M. *et al*) a conclu que la détermination d'un seuil de dangerosité > 16 au titrage permettait d'appréhender tous les cas de MHNN grave, et que l'ADCC avait un intérêt pour une estimation plus précise du risque.<sup>38</sup>

En France, les techniques étant lourdes et difficiles à valider (sensibilité très variable), ces tests ne sont plus réalisés de manière courante.<sup>39</sup>

### **I. 5. 3. 2 - MMA (Monocytes Monolayer Assay)**

Les macrophages tissulaires et les monocytes du sang sont des médiateurs de l'hémolyse extravasculaire des globules rouges recouverts d'anticorps, par l'intermédiaire de leurs récepteurs au Fc des IgG1, IgG3 et la composante C3b du complément. permettant ainsi leur phagocytose. Le test MMA est le modèle in vitro de cette activité in vivo. Elle permet, en utilisant les monocytes et le sérum du patient, d'appréhender la signification clinique des anticorps. Cette méthode reste encore très utilisée dans certains pays comme la Nouvelle Zélande ou la Suisse, dans un contexte d'allo-immunisation transfusionnelle.<sup>40</sup> Ce test n'est plus utilisé en pratique aujourd'hui dans un contexte d'incompatibilité foeto-maternelle. En effet, de nombreuses études ont montré que le test ADCC avait une meilleure valeur prédictive de MHNN que le test MMA.<sup>41,42</sup>

Il a été démontré que le test ADCC a une meilleure valeur prédictive positive de MHNN avec des sérum composés majoritairement d'IgG1, alors que le test MMA a une valeur prédictive positive augmentée avec mélange IgG1 et IgG3. Les allo-immunisations anti-D pouvant provoquer des MHNN sont souvent associés à une plus grande proportion d'IgG1, ce qui pourrait expliquer la différence de résultats entre ces deux tests.<sup>43</sup>

### **I. 6 - Mise en évidence d'une hémorragie foeto-placentaire : Le test de Kleihauer**

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.

Ce test cytochimique est fondé sur la résistance différentielle de l'hémoglobine foetale et de l'hémoglobine adulte (HbA1 et HbA2) à l'acidité. L'examen microscopique permet après élution acide et coloration par éosine d'observer et de compter les hématies foetales intactes (rose-rouge) 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.

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 foetale (HbF).



## **I. 7 - Confirmation de la situation d'IFME**

### **I. 7. 1 - Le groupage sanguin ABO-RhD (RH1) et le phénotypage érythrocytaire du procréateur.**

En cas de présence d'anticorps irrégulier(s) susceptible(s) d'entraîner des accidents d'incompatibilité fœto-maternelles, il convient de phénotyper les hématies du géniteur.

Si l'antigène cible est absent, l'enfant est du même groupe phénotype que son géniteur et donc indemne, quel que soit le titre des anticorps maternels ; le risque d'IFME est exclu.

Si l'antigène cible est présent, la recherche des antigènes de la série allélique autorise le diagnostic d'hétéro ou d'homozygotie pour le marqueur :

- si le géniteur est homozygote probable : l'enfant porte l'antigène cible et donc en danger de MHNN.
- si le géniteur est hétérozygote : c'est le génotypage fœtal qui permettra de conclure a un risque de MHNN, ou non.

### **I. 7. 2 - Le groupage sanguin fœtal**

Quand l'anticorps maternel est puissant, il est utile, lorsque le père est hétérozygote pour l'antigène correspondant de génotyper les cellules fœtales.

#### **I. 7. 2. 1 - Méthodes invasives**

Elle correspond à un génotypage par PCR sur biopsie de trophoblaste ou liquide amniotique - à réserver en raison des risques traumatiques de la biopsie chorale et de l'amniocentèse, qui peuvent de plus aggraver l'immunisation maternelle en favorisant des hémorragies fœto-maternelles, aux femmes RH :-1 avec immunisation anti-RH1 ou aux femmes RH :-1 non immunisées lors de la réalisation du caryotype fœtal.

#### **I. 7. 2. 2 - Méthodes non invasives**

Le génotypage fœtal à partir de l'ADN fœtal du sang maternel est la technique de référence. Cette méthode tire son origine de la découverte par Lo et al en 1997<sup>44</sup>, de la présence

de fragments d'ADN fœtal dans la circulation maternelle en quantité progressivement croissante avec l'âge gestationnel.

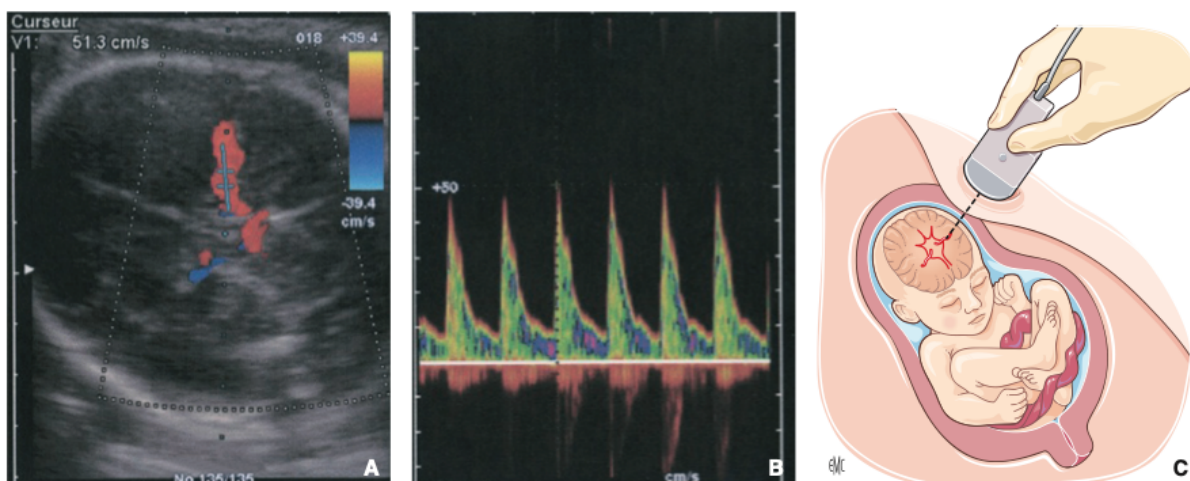
Le premier gène mis en évidence avec le génotypage fœtal fut le gène RHD, suivi du génotypage KEL1 fœtal sur plasma maternel en 2010 et enfin, plus récemment le génotypage RHCE, en 2014. Cette technique repose sur une extraction d'ADN fœtal circulant à partir de sang total suivi d'une amplification spécifique 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 des 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).<sup>45</sup> Sa sensibilité est de près de 100% à partir du 2<sup>ème</sup> trimestre de grossesse.<sup>30</sup>

## **I. 8 - Évaluation de l'atteinte fœtale**

### **I. 8. 1 - Vélodimétries doppler de l'artère cérébrale moyenne**

C'est aujourd'hui l'examen de 1<sup>ère</sup> intention pour la recherche d'une anémie fœtale. La mesure du pic systolique de vélocité de l'artère cérébrale moyenne (PSV-ACM) permet le diagnostic non invasif, précis et précoce d'une anémie fœtale avant l'apparition des signes échographiques entre 16 et 35 SA<sup>46</sup>. Elle découle de l'observation par Mari et al en 1990<sup>47</sup>, de variations de pulsatilité dans différentes artères fœtales dont l'artère cérébrale moyenne après transfusion intravasculaire. En effet, la diminution du taux d'hémoglobine fœtale est corrélée à une accélération des vitesses dans l'ACM, car elle s'accompagne d'une baisse de la viscosité sanguine et d'une augmentation du débit cardiaque. Sous réserve de conditions de techniques optimales, cet examen permet de limiter le recours aux gestes invasifs (ponction de sang fœtal en particulier), et de retarder l'indication de la 1<sup>ère</sup> TIU. Dans les IFME, une à deux mesures hebdomadaires sont programmées lorsque les patientes atteignent des taux « critiques » d'anticorps. Physiologiquement, le taux d'Hb fœtale est en moyenne de 9g/dL à 20 SA, et atteint 16g/dL à terme. Une anémie fœtale < ou égal 8g/dL est suspectée pour des valeurs de PSV-ACM > ou égal 1.55 MoM (multiple de la médiane).

Figure 8 Mesure du pic systolique de vélocité de l'artère cérébrale moyenne (A à C). (A, B : clichés du Dr Evelyne Cynober)



### I. 8. 2 - Échographie morphologique.

Les signes échographiques d'anémie fœtale sont généralement tardifs : hépatosplénomégalie, hydramnios, épanchement des séreuses, œdème sous-cutané, épaissement du placenta. Au stade d'anasarque, l'anémie fœtale est profonde et le pronostic vital déjà engagé. Les techniques actuelles permettent de détecter de manière fiable l'anémie avant la constitution d'une anasarque.

### I. 8. 3 - Enregistrement du rythme cardiaque fœtal (ERCF)

Les anomalies du rythme cardiaque fœtal à type rythme sinusoïdal sont très tardives, pathognomoniques d'une anémie évoluée dont la sévérité impose une correction sans délai, c'est à dire le plus souvent une extraction de l'enfant en urgence.<sup>5</sup> L'enregistrement du rythme cardiaque fœtal ne fait pas parti des examens de dépistage de l'anémie fœtale dans les IFME, pas plus que la diminution franche, voire la disparition, des mouvements actifs fœtaux. Ils sont en revanche des éléments objectivant la gravité d'une IFME et imposant une prise en charge urgente.<sup>48</sup>

## **I. 9 - Prise en charge pendant la grossesse lors d'un risque hémolytique fœtal avéré**

### **I. 9. 1 - Transfusions ou exsanguino-transfusions fœtales in utero**

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. C'est le traitement de référence de l'anémie fœtale jusque vers 34 SA : seuil de décision lors du 2<sup>ème</sup> trimestre de grossesse entre 5 et 7 g/dL d'hémoglobine, lors du 3<sup>ème</sup> trimestre entre 7 et 9 g/dL d'hémoglobine 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 (14-16 g/dL), l'hématocrite du sang contenu dans la poche du culot globulaire. Les CGR sélectionnés doivent être frais (<5jours), de groupe O et respecter le phénotype RHKell et étendu (FY, JK, MNS) de la mère. Ces restrictions imposent à l'EFS d'anticiper une TIU. Les CGR doivent également être irradiés, déplasmatisés, avec une hématocrite > 70% (pour minimiser le volume à transfuser et la surcharge volémique) et compatibilisés avec le sérum maternel.

### **I. 9. 2 - Accouchement prématuré provoqué**

- Avant 34 SA, lors de souffrance fœtale et échec de la transfusion in utero ;
- Après 34 SA, pour les grossesses avec transfusions in utero sous réserve d'une maturation pulmonaire fœtale suffisante, les grossesses avec survenue d'une anémie fœtale tardive, et les grossesses incompatibles avec taux élevé d'anticorps où un déclenchement de principe sera envisagé à partir de 38 SA.

## **II - Prise en charge néo-et postnatale : Ictère et anémie hémolytique du nouveau-né**

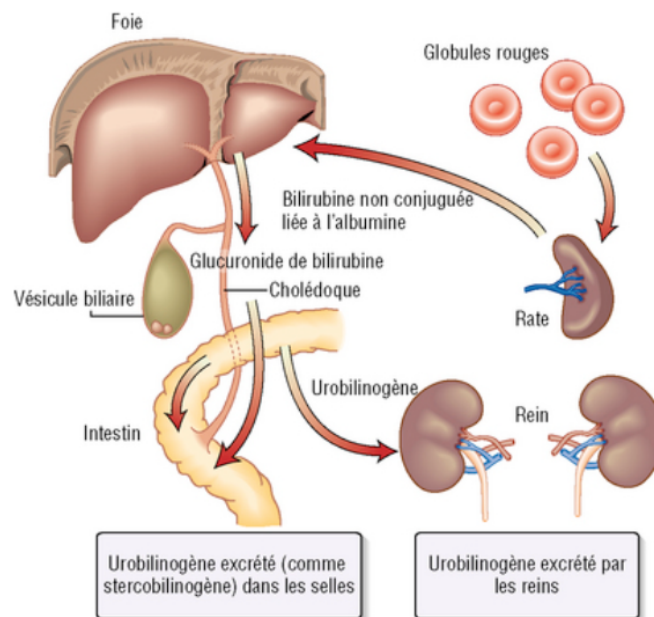
Les deux principales présentations cliniques qui découlent d'une IFME sont l'anasarque et l'ictère hémolytique du nouveau-né. L'anasarque est devenue très rare. Elle correspond à une

infiltration des séreuses, des téguments et des tissus ainsi qu'une défaillance polyviscérale ; le pronostic vital en est sombre, même avec un traitement bien conduit.

## II. 1 - Métabolisme de la bilirubine

Le métabolisme de la bilirubine comporte trois étapes : production, conjugaison et excrétion.

Figure 9 : Métabolisme de la bilirubine



La bilirubine est dérivée principalement de la dégradation de l'hémoglobine dans la rate, et est transportée dans le sang par l'albumine. Le bilirubine est conjuguée dans le foie par la glucuronyl transférase en glucuronide de bilirubine, qui est excrété dans la bile et transféré dans l'intestin grêle par les voies biliaires. Dans l'iléon terminal, la bilirubine conjuguée est transformée en urobilinogène et excrétée dans les selles (comme stercobilinogène, responsable de la pigmentation des matières fécales) ou réabsorbée et excrétée par les reins.

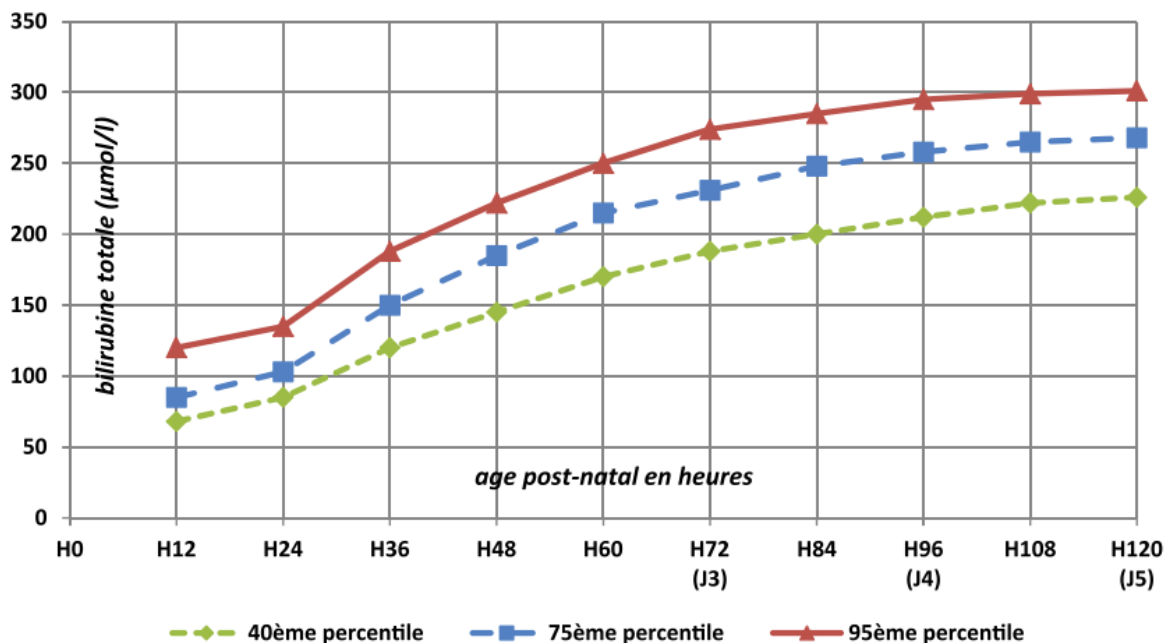
## II. 2 - Ictère physiologique du nouveau-né

L'ictère, coloration jaune des téguments, est de très loin le plus fréquent des symptômes observés chez le nouveau-né. Son incidence est élevée car toutes les étapes du métabolisme de la bilirubine sont affectées par l'adaptation postnatales.<sup>49</sup> On estime qu'environ 60% des nourrisson nés à terme développent une jaunisse au cours de la première semaine de vie.<sup>50</sup> Les principales explications sont :

- Chez le nouveau-né, la production de bilirubine est accrue car la masse totale d'hémoglobine est importante et la durée de vie des hématies plus courtes.<sup>51</sup>
- A la naissance, l'activité de la bilirubine glucuronosyltransférase est basse, et ne va s'accroître que progressivement au cours des premières semaines de vie. Pendant la période fœtale, la faible capacité de conjugaison hépatique est compensée par une excrétion de la bilirubine par le placenta.
- Enfin, l'absence de flore bactérienne (ou son immaturité les premiers jours et semaines de vie) ne permet pas la transformation de la bilirubine conjuguée en urobilinogène, celle-ci est alors réabsorbée et déconjuguée.

Toute valeur de bilirubine s'interprète en fonction de l'âge post-natal en heures et en référence à des valeurs normales pour l'âge (figure 10).<sup>1</sup> L'unité internationale d'expression de la bilirubinémie est la  $\mu\text{mol/L}$ . Une hyperbilirubinémie est considérée comme pathologique si la valeur du dosage sanguin dépasse le 95<sup>ème</sup> percentile pour l'âge post-natal en heure et ce quel qu'en soit l'étiologie.

Figure 10 : Normogramme de référence de la bilirubinémie du nouveau-né à terme.



Représentation du classement en percentile et selon l'âge postnatal exprimé en heure des bilirubinémies recueillies dans une population de nouveau-nés à terme (35 semaines d'aménorrhée et plus) sans pathologie infectieuse ni hémolytique. Valeurs de références pour interpréter le taux de bilirubinémie mesuré par méthode transcutanée ou dosage sanguin. H : heure : J : jour. <sup>1</sup>

## II. 3 - Ictère pathologique du nouveau-né

Les étiologies des ictères pathologiques du nouveau-né sont nombreuses et peuvent être décomposées en deux parties : les ictères à bilirubine libre et les ictères à bilirubine mixte ou conjuguée prédominante.

### II. 3. 1 - Étiologies des ictères à bilirubine libre ou non conjuguée

Les ictères à bilirubine libre sont les plus fréquents et représentent 99% des ictères néonataux. On peut les distinguer en fonction du mécanisme physiopathologique ; ceux dus à une augmentation de la production et ceux dus à une diminution de l'élimination de la bilirubine (tableau 6).

Tableau 6 : Étiologies des ictères à bilirubine non conjuguée.

<b>Ictère à bilirubine non conjuguée par augmentation de la production</b>	<b>Taux de réticulocytes normal</b>	Hépatite infectieuse Céphalhématomes et hématomes profonds
	<b>Taux de réticulocytes élevé (+/- Coombs direct positif)</b>	Corpusculaire : Enzymes Membrane Hémoglobinopathie Immunologiques IFME Infection grave
<b>Ictère à bilirubine non conjuguée par diminution de l'élimination</b>	Jeûne Anomalies tubes digestif (atrésie duodénale) Ictère au lait de mère Hypothyroïdie Mucovisidose Déficit de conjugaison : maladie de CriglerNajar, maladie de Gilbert	

Les étiologies des ictères à bilirubine non conjuguée ou libre peuvent être également approchées en fonction de l'âge d'apparition du symptôme ictère.

Tableau 7 : Étiologies des ictères à bilirubine non conjuguée survenant entre J0 et J7

Ictère avant 72h de vie	EDA positif	IFME Accidents transfusionnels
	EDA négatif	Déficit en G6PD et en pyruvate kinase Anomalie de membrane des globules rouges Hémoglobinopathie (thalassémie) Infections graves
Ictère entre H72 et J7		Hépatites infectieuses Majoration du cycle entéro-hépatique (jeûne, apport alimentaire inadaptée) Anomalie du tube digestif (sténose du pylore, obstruction digestive) Anomalies du métabolisme de la bilirubine par déficit en UGAT (Maladie de CriglerNajar, de Gilbert...) Certaines maladies du métabolisme (galactosémie, tyrosinémie...) Céphalhématomes, hématomes Déficit en G6PD Mucovisidose Hypothyroïdie Ictère au lait de mère

La bilirubine circule dans le sang sous forme libre et sous forme liée à l'albumine. Cette liaison peut être perturbée par la prise de certains médicaments. Les molécules les plus souvent incriminés sont les xénobiotiques (sulfamides), oxacilline, céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération, acide fusidique, furosémide et salicylés.<sup>52</sup> La prématurité implique une plus grande immaturité hépatique, majorant l'ictère en réduisant l'épuration de la bilirubine. L'hypoalbuminémie n'est pas exceptionnelle en période néonatale<sup>51</sup>, entraînant une plus grande quantité de fraction libre circulante. De plus, le nouveau-né prématuré est plus sensible à la toxicité de la bilirubine de par une plus grande perméabilité de sa barrière hémato-méningée.

### II. 3. 2 - Étiologies des ictères à bilirubine conjuguée

Les ictères à bilirubine conjuguée sont plus rares puisqu'ils représentent moins de 1% des ictères du nouveau-né. Néanmoins, ils sont toujours pathologiques et doivent faire l'objet d'une exploration spécialisée en hépatologie pédiatrique.



Tableau 8 : Étiologies des ictères à bilirubine conjuguée ou prédominante

Ictère à bilirubine conjuguée ou prédominante	Scanner abdominal normal	Hépatites infectieuses, Galactosémie
	Scanner abdominalal : dilatation des voies biliaires	Atrésie ou sténose des voies biliaires

## II. 4 - Toxicité de l'hyperbilirubinémie

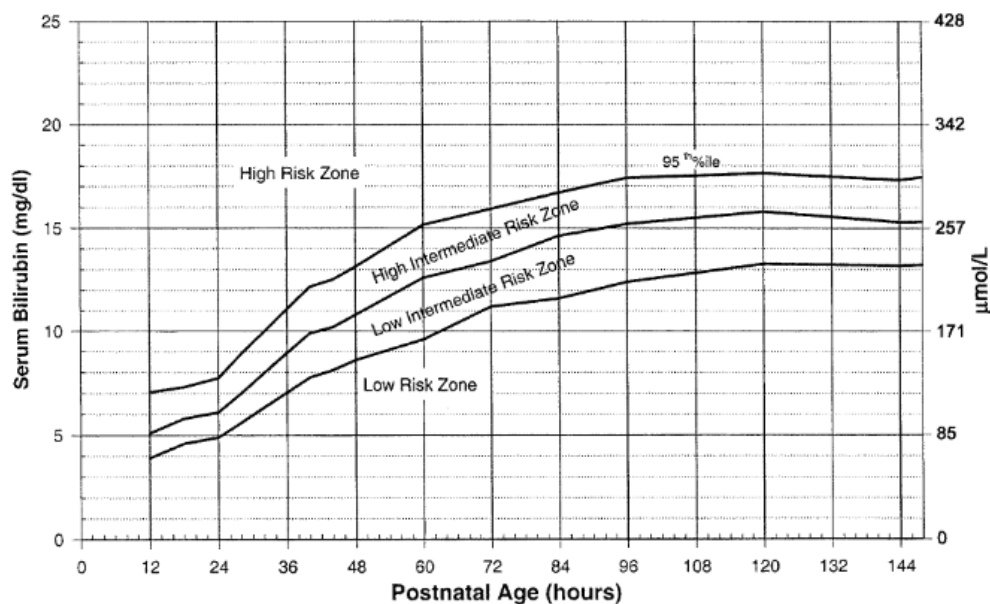
### II. 4. 1 - Définitions de l'hyperbilirubinémie pathologique

Une hyperbilirubinémie pathologique (et par extension ictère qualifié de pathologique) correspond à une bilirubinémie totale supérieure ou égale au 95<sup>ème</sup> percentile du normogramme (figure 10).

Une hyperbilirubinémie physiologique peut devenir pathologique en présence de certaines perturbations (prématurité, infection, incompatibilité de groupe sanguin, maladie hémolytique...).<sup>1</sup>

L'hyperbilirubinémie sévère correspond à une bilirubine totale qui dépasse 250 µmol/L dans les 96 premières heures de vie (nouveau-né à terme) ou 342 µmol/L après 96 heures. Cette hyperbilirubinémie est dite « à risque neurologique ».

Figure 11 : Nomogramme pour la désignation du risque d'ictère hémolytique



\*chez 2840 nouveau-nés en bonne santé à 36 semaines d'âge gestationnel ou plus avec un poids de naissance de 2000 g ou plus ou un âge gestationnel de 35 semaines ou plus et un poids de naissance de 2500 g ou plus sur la base des valeurs de bilirubine sérique spécifiques à l'heure. American Academy of Pediatrics<sup>53</sup>

## **II. 4. 2 - Toxicité aigüe et chronique**

L'ictère nucléaire ou encéphalopathie hyperbilirubinique est le risque majeur des hyperbilirubinémies néonatales.<sup>53</sup> En moyenne, 40% de la bilirubine dans le sang est liée à l'albumine. La fraction de bilirubine non liée à l'albumine est toxique pour le cerveau. En effet, liposoluble, cette dernière traverse librement la barrière hémato-encéphalique et se dépose sur les noyaux gris centraux du cerveau, induisant une nécrose cellulaire.

L'encéphalopathie bilirubinémique aiguë peut être difficile à diagnostiquer et donc ignorée par les praticiens. Elle est associée à un syndrome clinique de léthargie, d'hypotonie et de mauvaise succion, qui peut se détériorer en hypertonie (avec opisthotonos et rétrocolis) accompagnée d'un pleur aigüe, de fièvre, et jusqu'à provoquer des convulsions et un coma.<sup>54</sup>

L'encéphalopathie bilirubinémique chronique sont les séquelles cliniques de l'encéphalopathie aiguë. Elle se traduit par une infirmité motrice cérébrale athétosique avec ou sans convulsion, un retard de développement, une perte auditive, des atteintes oculomotrices, une dysplasie de l'émail dentaire et un retard intellectuel. Ces atteintes correspondent à des pertes neuronales et a une gliose principalement au niveau des noyaux gris centraux, sous-thalamiques, oculomoteurs et cochléaires. Le cervelet et l'hippocampe peuvent également être touchés.<sup>55</sup>

## **II. 4. 3 - Facteurs de majoration du risque d'hyperbilirubinémie sévère**

Ils ont été déduit d'analyses rétrospectives des registres d'hyperbilirubinémies sévères et de l'adaptation métabolique néonatale.<sup>53,56</sup> Ils doivent être recherchés systématiquement afin d'ajuster au mieux la prise en charge, du dépistage au suivi :

- Âge gestationnel < 38 SA
- Ictère précoce
- IFME (ABO ou autres), ou présence d'agglutinines irrégulières maternelles dans le dernier trimestre de grossesse (RAI positives)
- Antécédent familial de maladie hémolytique (sphérocytose..)
- Antécédent d'ictère traité par photothérapie dans la fratrie
- Bosse séro-sanguine, ecchymoses ou hématomes (céphalhématome inclus)
- Origine familiale (grands-parents) des Antilles, d'Afrique ou d'Asie
- Allaitement maternel exclusif et inefficace ou perte pondérale > 8%.

## **II. 5 - Diagnostic clinique et paraclinique de l'ictère**

### **II. 5. 1 - Dépistage visuel**

L'ictère débute le plus souvent au niveau de la face de l'enfant et suit une progression cranio-caudale. Une évaluation purement visuelle peut conduire à une sous-estimation de l'intensité de l'ictère, et ce, d'autant plus que l'enfant est de peau foncée.<sup>57</sup> Un examen clinique rigoureux avec palpation du foie à la recherche d'une hépatomégalie, examen de la couleur des selles et des urines est essentiel en cas d'ictère, essentiellement pour éliminer le diagnostic de cholestase. Des signes d'infection (purpura), d'hémolyse (pâleur), ou d'atteinte neurologique doivent être recherchés afin d'orienter le diagnostic et d'évaluer la gravité. Il est donc recommandé de renforcer le dépistage visuel par un dépistage instrumental à l'aide d'un bilirubinomètre, qui, de plus, permet de quantifier l'intensité de l'ictère.<sup>53,58</sup>

### **II. 5. 2 - Évaluation non invasive de la bilirubinémie : bilirubinomètre transcutané**

Apparu dans les années 1980, le bilirubinomètre transcutané ou BTC est un outil de dépistage non invasif de l'ictère néonatal. Il ne constitue pas un substitut au prélèvement sanguin mais permet de les réduire.<sup>59</sup>

Le mesure se fait par spectrophotométrie de réflexion : le BTC émet de la lumière blanche en direction de la peau, une partie de celle-ci n'est pas absorbée et est recaptée sous forme de longueur d'onde par l'appareil. Plus la peau est jaune et plus elle absorbe la composante bleue de la lumière blanche. La différence entre le signal émis initialement et celui reçu par l'appareil permet de mesurer l'intensité de l'ictère néonatal. Seuls deux BTC (JM-103® de Draegger et Billicheck® de Respirationics) ont fait l'objet de larges études de corrélation dans des populations variées sans que les études comparatives les départagent.<sup>60</sup> Cette technique nécessite un étalonnage journalier. De plus, la corrélation BTC/BTS est validée exclusivement pour les mesures réalisées en zone frontale et sternale (meilleure corrélation en zone sternale). Le dosage par BTC est altéré et non fiable jusqu'à 24h après la fin d'une photothérapie, et moins sensible pour les populations à peau foncée du fait de l'interférence avec la mélanine. Même si pour une population homogène et des valeurs inférieures à 250 µmol/L, la corrélation BTC/BTS est annoncée étroite, pour un individu elle doit être prise en compte à plus ou moins 50 µmol/L,

en l'absence de dosage simultané de la BTS, afin de ne pas sous-estimer un risque. Au-delà de ces limites, la BTS est le seul moyen d'évaluer le sévérité de l'ictère.

### **II. 5. 3 - Dosage sanguin de bilirubine BTS : paramètre de référence**

Différentes fractions de la bilirubine peuvent être dosées :

- La bilirubine libre ou non conjuguée (BNC)
- La bilirubine conjuguée (BC)
- La bilirubine totale (BT)

$$\rightarrow BT = BNC + BC$$

Le prélèvement, capillaire ou veineux, pour dosage de la BTS doit être rapidement acheminé au laboratoire à l'abri de la lumière et le résultat doit être obtenu au maximum dans les 6 heures.<sup>53,56</sup> Certaines circonstances imposent l'obtention d'un résultat en urgence (2h) : absence de résultat affiché du BTC, ictère précoce, valeur du BTC dépassent le 95<sup>ème</sup> percentile du nomogramme. Le dosage sanguin de la bilirubine s'interprète toujours en fonction de l'âge de l'enfant en heure en ce référent au nomogramme (figure 10).

### **II. 5. 4 - Bilan biologique complémentaire à visée étiologique**

Un tel bilan est recommandé pour toute hyperbilirubinémie atteignant le seuil de traitement et toute hyperbilirubinémie traitée ou se prolongeant au-delà d'une semaine. L'étiologie conditionne la prise en charge de l'ictère.

#### **II. 5. 4. 1 - Numération Formule Sanguine**

Le dosage de l'hémoglobine (g/dL) permet d'évaluer la présence et la sévérité d'une anémie, en se référant aux valeurs normales du taux d'hémoglobine en fonction de l'âge et du sexe du nouveau-né.<sup>61</sup> (Annexe 3) Parfois, c'est le seul signe de MHNN, dans les immunisations Kell ou dans les formes avec transfusions fœtales. L'anémie existe dès la naissance ou apparaît entre une et trois semaines après la naissance. L'anti-E (RH3) a été décrit comme pouvant donner des anémies retardés dans le cas de MHNN peu symptomatiques initialement.<sup>2</sup> En cas d'anémie, le contrôle de la NFS doit être effectuée de manière hebdomadaire pendant 1 mois et demi et tous les 10-15 jours jusqu'au 3<sup>ème</sup> mois ou à la reprise d'une hématopoïèse autonome.

En cas de transfusion fœtale, il y a un risque de sidération médullaire avec une anémie arégénérative avec neutropénie prolongée.

Le dosage des réticulocytes et des érythroblastes est réalisé afin de confirmer un processus hémolytique régénératif. En cas d'incompatibilité Kell, l'anémie est parfois peu régénérative et une hypoplasie érythroblastique peut être observée, du fait de la présence de l'antigène Kell sur les progéniteurs érythroïdes.

Une thrombopénie sévère pourra être associée, pouvant être liée à la sévérité de la MHNN, cependant dans ce cas-là, il conviendra également de rechercher une incompatibilité plaquettaire associée.<sup>2</sup>

Un frottis sanguin pourra être réalisé à la recherche de caractéristiques morphologiques érythrocytaire associées : anisocytose et sphérocytose.

#### **II. 5. 4. 2 - Bilan immuno-hématologique :**

Il comprendra un groupage ABOD Rh Kell et un examen direct à l'antiglobuline chez le nouveau-né, interprétés en fonction du groupe sanguin et des RAI maternelles.

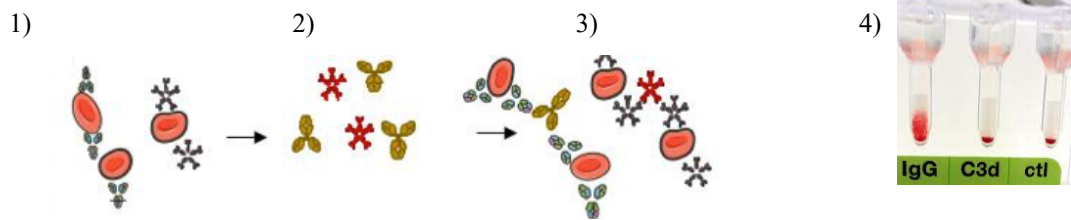
L'examen direct à l'antiglobuline va mettre en évidence la sensibilisation in vivo des hématies du nouveau-né par un anticorps. Une antiglobuline sera rajoutée afin de rendre l'agglutination visible en cas de test positif, en se fixant aux anticorps par leur fragment Fc. Ce test pourra différencier une IgG d'une IgM (C3d). Une technique d'élution sera réalisée afin de déterminer la spécificité de l'anticorps par un test indirect à l'antiglobuline (vu précédemment). Une technique d'élution sera réalisée si :

- L'examen direct à l'anti-globuline est positif en IgG
- La mère a développé un allo-anticorps pendant la grossesse ayant une incidence obstétricale
- Le nouveau-né présente un ictère dans ces premiers jours de vie ou une hémolyse avec anticorps maternels anti-ABO.<sup>62</sup>

Une réaction à l'examen direct à l'antiglobuline positive met en évidence la fixation d'anticorps maternels sur le globule rouge de l'enfant et confirme une maladie hémolytique du nouveau-né.

Remarques : La prise d'immunoglobuline anti-D préventive par la mère pendant la grossesse peut donner un examen direct à l'antiglobuline positif, sans MHNN associée.

Figure 12 : Test direct à l'antiglobuline



- 1) Globules rouges sensibilisés *in vivo* par une immunoglobuline G ou M.
- 2) Ajout d'une antiglobuline humaine anti-IgG ou anti-C3d.
- 3) Agglutination
- 4) Résultat d'un examen direct à l'antiglobuline positif en IgG en technique filtration.

### II. 5. 4. 3 - Bilan élargi de diagnostic différentiel

Il pourra être réalisé au laboratoire le dosage de certains marqueurs d'infection (Procalcitonine, Protéine-C réactive, Interleukine-6), à confronter aux données cliniques (hyperthermie, détresse respiratoire, troubles hémodynamiques).<sup>63</sup>

Le dosage de l'activité G6PD (Glucose-6-Phosphate Deshydrogénase) fait parti des examens pouvant être demandé. Il est à ce jour le déficit enzymatique héréditaire lié à l'X le plus répandu dans le monde, et pouvant être responsable d'ictère hémolytique grave du nouveau-né.<sup>64</sup>

## II. 6 - Prise en charge de l'ictère néonatal

L'objectif du traitement de l'ictère est de réduire la concentration de bilirubine circulante ou de l'empêcher de croître, afin de prévenir le risque de toxicité neurologique. De ce fait, toute indication thérapeutique rationnelle ne peut être posée (ni évaluée quant à son efficacité) sans dosage de la BTS.<sup>65</sup> En raison des progrès techniques, la photothérapie constitue le traitement de première intention tandis que l'exsanguino-transfusion représente celui de dernier recours.

### II. 6. 1 - Photothérapie

La photothérapie comme traitement des ictères néonataux a été décrite pour la première fois en 1958 par Cremer *et al.*<sup>66</sup>

### **II. 6. 1. 1 - Principe**

Le principe de la photothérapie consiste à exposer la peau de l'enfant à une lumière de spectre bleu (420-490nm). La bilirubine non conjuguée présente en sous-cutanée absorbe alors l'énergie lumineuse dans cette partie du spectre, induisant sa conversion en photo-dérivés, qui pourront être excrétés directement sans conjugaison hépatique dans les selles et les urines. La source lumineuse de l'appareil de photothérapie peut être une lampe fluorescente, une lampe halogène ou une diode électroluminescente (LED). Les tubes fluorescents et les lampes halogènes ont été utilisés pendant de nombreuses années comme source de lumière pour la photothérapie tandis que la LED est plus récente, de haute énergie, économe, avec une plus longue durée de vie, sans dégagement de chaleur, et moins encombrant.

### **II. 6. 1. 2 - Efficacité**

La rapidité d'élimination de la bilirubine non conjuguée au cours de la photothérapie dépend de trois grands processus :

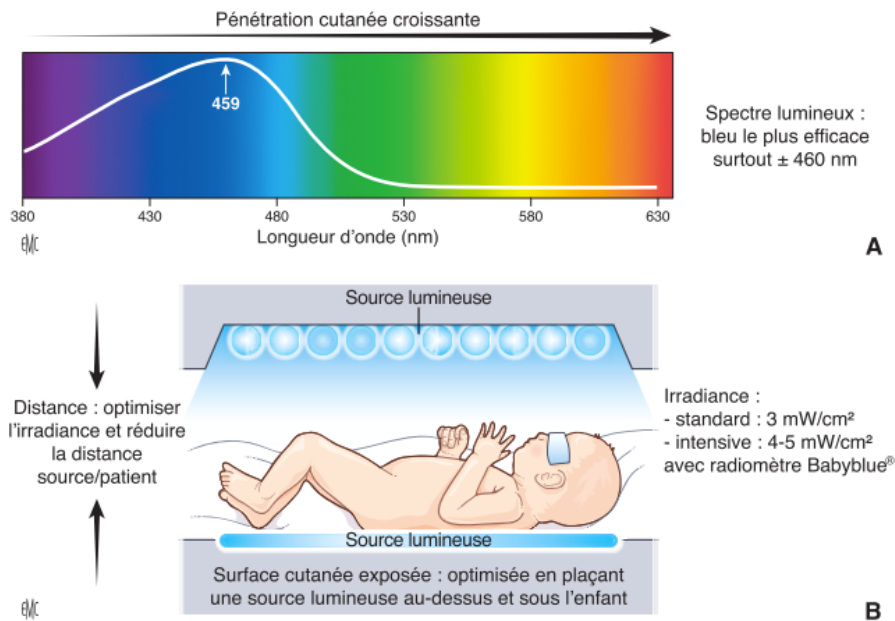
- La rapidité d'altération de la bilirubine par la photothérapie
- Le transport des photocomposés hydrosolubles de la peau vers la circulation sanguine
- L'excrétion de ces composés par le foie et le rein.<sup>67</sup>

Une photothérapie est jugée efficace quand la quantité de bilirubine non conjuguée circulante diminue de 2 mg/dL soit 34  $\mu\text{mol/L}$  en 4 à 6h d'exposition.<sup>68</sup>

L'efficacité des dispositifs dépend de plusieurs facteurs :<sup>69</sup>

- L'irradiance, intensité lumineuse dispensée à la peau qui est variable avec la qualité et le design de la source lumineuse mais aussi avec la distance source/plan de traitement
- La surface cutanée exposée
- La pigmentation de la peau
- La bilirubinémie à l'initiation de la thérapeutique
- La durée de traitement

Figure 13 : Facteurs influençant l'efficacité de la photothérapie de l'hyperbilirubinémie néonatale.<sup>69</sup>



La photothérapie discontinue implique une durée d'exposition d'au moins 6 heures, en séances de 3 heures, permettant de respecter le rythme des tétées et des soins. La photothérapie en continue s'étend sur 24 heures, avec interruption toutes les 3 heures pendant 30 minutes pour les tétées et les soins. Cette dernière est réservée aux hyperbilirubinémies sévères (proches du seuil d'EST), précoce ou par hémolyse.

### II. 6. 1. 3 - Photothérapie classique et photothérapie intensive

On distingue deux grands types de photothérapie : la photothérapie dite conventionnelle ou classique, et la photothérapie intensive.

La photothérapie « classique » ou « conventionnelle » est attribuée aux dispositifs de photothérapie uniface dispensant de l'énergie lumineuse d'intensité modérée à forte ; l'intensité lumineuse dispensée à la peau et dans une utilisation à 35cm (toit incubateur) est au mieux de 2mWatt/cm<sup>2</sup>.<sup>1</sup>

La photothérapie intensive dispense une exposition complète, pluridirectionnelle du nouveau-né avec un éclairage énergétique intense ; l'intensité lumineuse fournie à la peau dépasse 30  $\mu$ Watt/cm<sup>2</sup>/nm (>2,5-3mWatt/cm<sup>2</sup>).

La photothérapie intensive permet une décroissance du taux de bilirubine plus rapide que la photothérapie conventionnelle.



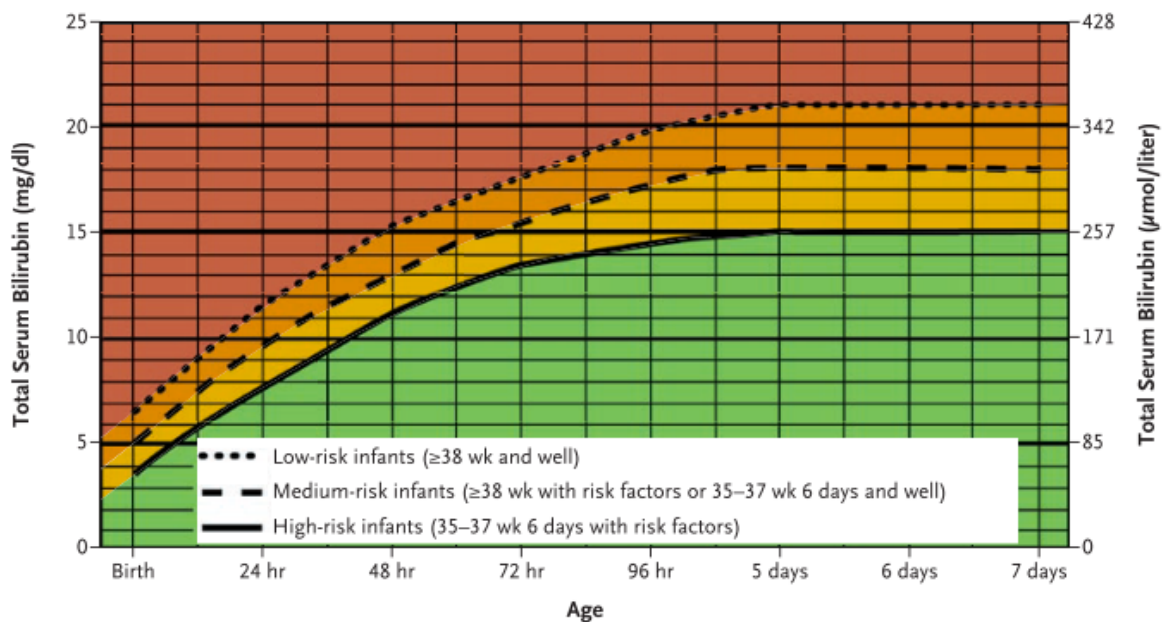
## II. 6. 1. 4 - Courbe d'indication

Le traitement par photothérapie s'impose suite à un dosage de bilirubine totale supérieure à la norme pour l'âge de l'enfant selon les courbes d'indications choisies par l'équipe pédiatrique. Il en existe de nombreuses mais les plus utilisées sont celles de l'APP 2004.<sup>53</sup> Les indications de photothérapie se font sur un dosage sanguin de bilirubine interprété en heure de vie post-natale et en fonction des facteurs de risques de toxicité neurologique aggravé (âge gestationnel, hypoalbuminémie, infection, maladie hémolytique...).

On définit ainsi trois catégories d'indications : nouveau-né d'AG > 38 SA et sans facteurs de risque, nouveau-né d'AG > 38 SA avec facteurs de risques ou si AG = 35-37 SA sans facteur de risque, enfin nouveau-né d'AG = 35-38 SA avec facteurs de risques.

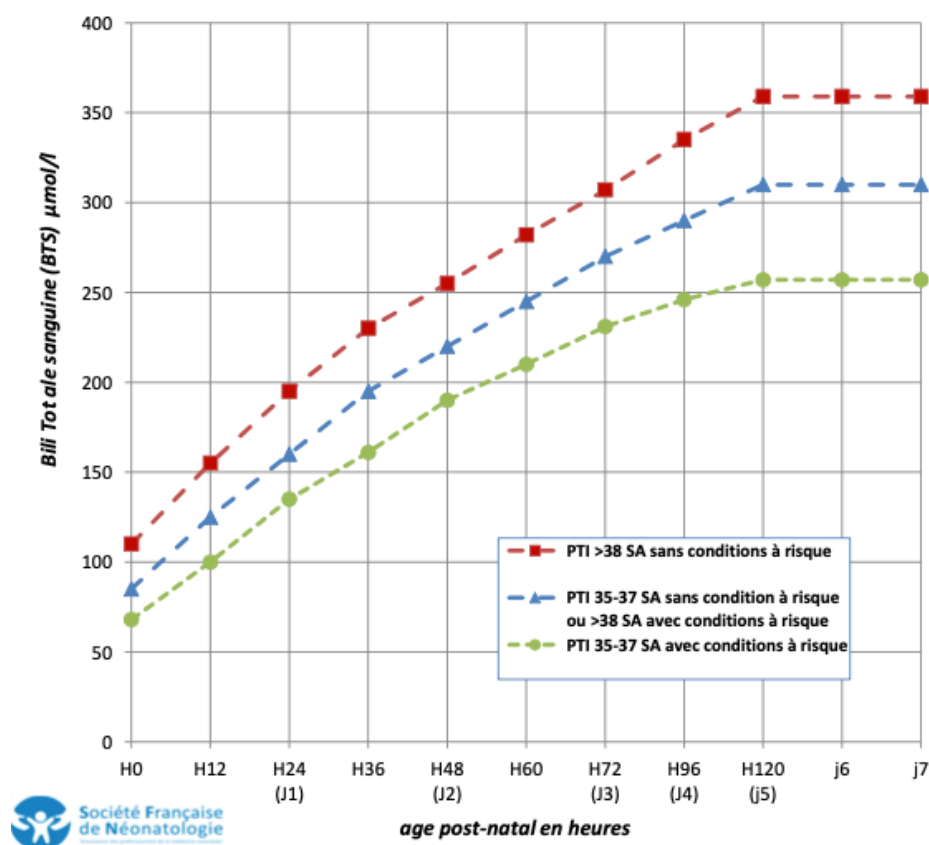
Les courbes d'indication de traitement de l'AAP 2004 permettent de décider chez le nouveau-né de plus de 35 SA de l'indication de la photothérapie intensive. En cas de photothérapie conventionnelle, les valeurs d'indications se situent 50µmol/L en dessous de celles indiquées sur les courbes.

Figure 14 : Indications pour la photothérapie intensive



\*chez les nourissons hospitalisés nés à un âge gestationnel de 35 semaines ou plus. Pour la photothérapie conventionnelle à l'hôpital, les taux de bilirubine sérique totale inférieurs à 50mg/L à ceux indiqués doivent être utilisés. Adapté à l'AAP 2004<sup>53</sup>

Figure 15 : Indications selon le dosage sanguin de bilirubine totale exprimée en  $\mu\text{mol/L}$  pondéré par l'âge post-natal et la présence ou non de conditions de neuro-toxicité aggravée de la bilirubine.



## II. 6. 1. 5 - Surveillance du traitement

La surveillance du traitement par photothérapie consiste en un monitoring continu des fonctions vitales (rythme respiratoire, cardiaque, oxymétrie) et de la température, ainsi qu'une protection oculaire pendant les séances. En effet, la photothérapie comporte comme effets secondaires des troubles de la régulation thermique, une déshydratation et des atteintes oculaires. La surveillance de l'efficacité par le dosage de la bilirubine totale sanguine à 4h ou 6h est recommandée, sans qu'il soit nécessaire de respecter un intervalle de temps entre la fin de la photothérapie et le prélèvement. L'évaluation transcutanée du taux de bilirubine est perturbée pendant 12 à 24h par les interactions entre la lumière et la bilirubine présente dans la peau et ne peut donc être utilisée. Le contrôle de la bilirubine totale à 24h et 48h après la fin de la photothérapie permet de s'assurer de l'absence de rebond de l'hyperbilirubinémie.<sup>53,56</sup>

## **II. 6. 2 - Exsanguino-transfusion**

### **II. 6. 2. 1 - Objectifs et mécanisme d'action**

Le traitement de référence en cas d'échec de la photothérapie est actuellement l'exsanguino-transfusion. Ce traitement a plusieurs objectifs :

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

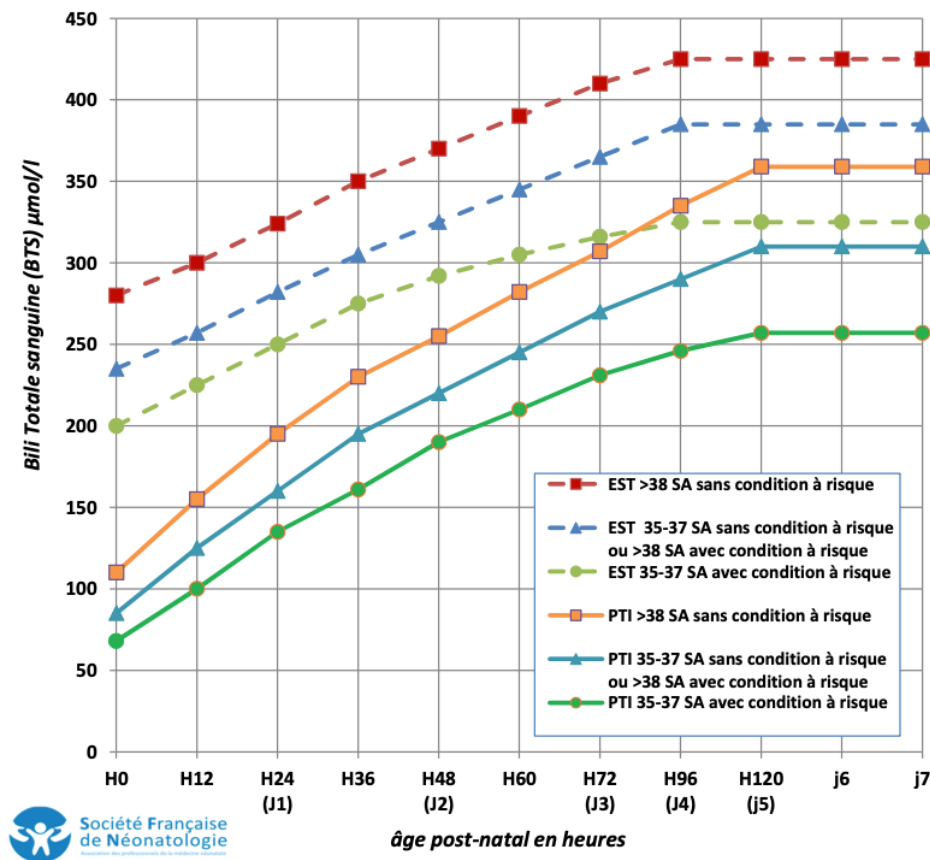
Elle correspond à un échange de deux masses sanguines par du sang total reconstitué. L'hématocrite final recommandé pour l'EST en fin de reconstitution est de 45% et l'échange représente 2 masses sanguines, soit environ 150mL/kg (échanges successifs n'excédant pas 5mL/kg par échange). Les CGR doivent être de groupe O, le plus frais possibles (< 5 jours), et 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-érythrocytaire irrégulier avant 4 mois d'âge civil). Le plasma frais congelé (PFC) sera de groupe AB.

### **II. 6. 2. 2 - Indications**

Il est recommandé d'envisager l'exsanguino-transfusion lorsqu'on observe :<sup>70</sup>

- 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.

Figure 16 : Indications de photothérapie intensive (PTI) et d'exchange-transfusion (EST) pour le nouveau-né de 35 SA et plus.



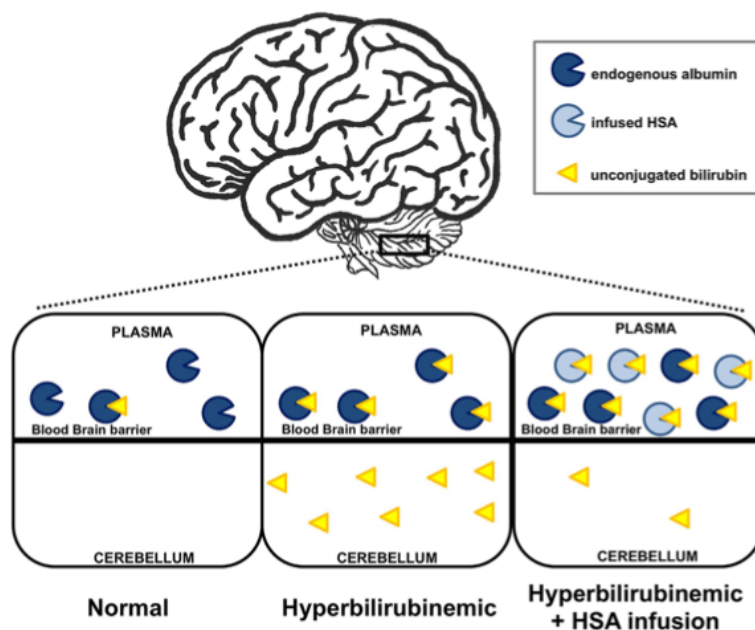
## II. 6. 3 - Traitements adjuvants :

### II. 6. 3. 1 - L'albumine

Ce traitement consiste à perfuser de l'albumine humaine afin d'augmenter la quantité d'albumine circulante et donc les possibilités de sa fixation à la bilirubine libre, potentiellement toxique sur le système nerveux central.

En condition normale, la capacité de liaison à la bilirubine fournie par l'albumine dépasse la quantité de bilirubine libre. Dans des conditions d'hyperbilirubinémies sévères, la bilirubine libre dépasse en nombre la capacité de liaison à l'albumine et l'excès de bilirubine libre se solubilise dans les tissus riches en lipides, tels que le cerveau et le cervelet (au centre), entraînant des dommages neurologiques. Lorsque la capacité de la liaison à la bilirubine plasmatique est artificiellement augmentée par l'administration d'albumine sérique humaine (HSA), la bilirubine est mobilisée des tissus vers le compartiment plasmatique, ce qui entraîne une diminution de bilirubine libre tissulaire.

Figure 17 : Principe de l'administration d'albumine sérique humaine afin de limiter les effets de l'hyperbilirubinémie sévères sur le cerveau.



Les perfusions d'albumine à la dose de 1,5 g/kg (perfusion sur 4h d'une solution d'albumine à 20% diluée de moitié avec une solution de NaCl à 0,9%) sont recommandées dans les hyperbilirubinémies justifiant une EST (ou 50  $\mu\text{mol/L}$  en dessous du seuil) en attente de sa réalisation (préparation des PSL ou transfert) ou survenant chez des enfants « vulnérables » (hypotrophie, prématurité, acidose, déshydratation, poly-médications pouvant interférer avec la liaison bilirubine-albumine).<sup>71</sup>

Les travaux de recherche afin d'optimiser l'utilisation de ce traitement ont mis en évidence que :

- L'utilisation de l'albumine est préférable à distance de la photothérapie, car une perfusion d'albumine peut entraîner une augmentation de la pression oncotique, augmentant le volume plasmatique et pouvant retarder l'excrétion de la bilirubine attendue pendant la photothérapie.<sup>72</sup>
- La fréquence d'administration est essentielle pour assurer une bonne protection contre des potentielles conséquences neurologiques. En effet, l'administration quotidienne d'albumine maintiendrait un taux thérapeutique dans le plasma, alors qu'une administration toutes les 48h diminuerait la protection contre des atteintes du systèmes nerveux central.<sup>73</sup>

### **II. 6. 3. 2 - L'injection d'immunoglobulines intraveineuses**

Le mécanisme d'action des immunoglobulines dans la maladie hémolytique néonatale est analogue à celui avancé dans le traitement des thrombopénies immunes.<sup>74</sup> Il repose sur le blocage non spécifique de l'hémolyse limitant la production de bilirubine et la progression de l'hyperbilirubinémie non conjuguée et de ses risques. La destruction des hématies fœtales est médiée par le fragment Fc de l'anticorps et les cellules du système réticulo-endothélial ; l'hypothèse de la destruction des récepteurs au fragment Fc des cellules du système réticulo-endothélial par les immunoglobulines a été de nombreuses fois citée.<sup>75</sup> L'injection d'immunoglobuline G en intraveineuse est préconisée dans les hémolyses d'origine immunologique et permet d'éviter le recours à une EST : 0,5 à 1g/kg en perfusion à débit progressivement croissant sur 4 à 6 heures et renouvelable 12 à 24h plus tard en fonction de l'évolution sont recommandés. L'injection est possible pendant la photothérapie mais elle est réservée aux hyperbilirubinémies sévères dans un contexte d'incompatibilités érythrocytaires et d'évolution rapide malgré un traitement bien conduit.<sup>67</sup>

### **II. 6. 4 - Traitement de l'anémie associée : point sur les recommandations des transfusions du nouveau-né de 0 à 4 mois.<sup>76</sup>**

Une anémie parfois sévère peut être associée à l'ictère ou être le seul témoin de l'hémolyse. Les seuils transfusionnels tiennent compte de différents facteurs : valeur de référence pour l'âge gestationnel, signes de mauvaise tolérance clinique avec besoin de ventilation assistée, capacité de régénération et taux de réticulocytes. Les indications transfusionnelles ne reposent pas que sur la seule notion de seuil.

#### **II. 6. 4. 1 - Examens pré-transfusionnels**

Groupage ABO-D : 1 détermination effectuée sur sang veineux.

RAI :

- Sur prélèvement maternel
- Ou prélèvement du nouveau-né + EDA + élution si EDA positif

EDA : obligatoire avant la première transfusion. Si EDA+ ou RAI+, nécessité d'un prélèvement tous les 15 jours pour EDCL.

## II. 6. 4. 2 - Sélection des produits sanguins labiles

Tableau 9 : Sélection des produits sanguins labiles en fonction du groupage ABO<sup>70</sup>

	0 détermination	1 détermination	2 déterminations
<b>CGR</b>	Groupe O	Groupe O	Groupe O
<b>PFC</b>	Groupe AB	Groupe AB	ABO identique (ou compatible)
<b>CP</b>	Groupe O (A en 2 <sup>nd</sup> e intention) « non réservé à la transfusion isogroupe »	ABO identique « non réservé à la transfusion isogroupe » ou compatible	ABO identique ou compatible

Tableau 10 : Sélection des produits sanguins labiles en fonction du phénotype RHK<sup>70</sup>

<b>0 détermination</b>	Phénotype maternel connu	Identique ou compatible avec le phénotype maternel
	Phénotype maternel inconnu	Sélection des PSL en UVI : O, D-, C-, E-, K-
<b>1 ou 2 détermination(s)</b>	RAI - et EDA -	Compatible avec le phénotype RHK de l'enfant
	RAI + et/ou EDA +	Compatible avec le(s) anticorps maternel(s) et si possible le phénotype RHK de l'enfant

En fonction du phénotype étendu : En présence de RAI et/ou EDA positif avec un anticorps dirigé contre un ou plusieurs des antigènes définissant le phénotype étendu → Compatible avec les anticorps maternels.

## II. 6. 4. 3 - Durée de conservations des CGR et irradiation en fonction du patient

Une durée de conservation plus courte permet de prévenir les risques d'hyperkaliémie. L'irradiation est un traitement des PSL entre 25 et 45 grays afin de limiter la multiplication lymphocytaire.

Tableau 11 : Durée de conservation de CGR et irradiation dans le cas de la transfusion simple<sup>70</sup>

Statut hémodynamique	Durée de conservation des CGR	Irradiation
<b>STABLE</b>	≤ 28 jours	
>32 SA et > 1,5 kg		NON
< 32 SA ou < 1,5 kg		OUI sauf UVI
<b>INSTABLE</b>	≤ 14 jours	
>32 SA et > 1,5 kg		NON
<32 SA ou < 1,5 kg		OUI sauf UVI

Dans le cadre d'une transfusion massive ; c'est à dire si le volume transfusé est supérieur à 1 masse sanguine en sachant que chez le nouveau-né, le volume sanguin total est compris entre 75 et 85 mL/kg.

Tableau 12 : Durée de conservation de CGR et irradiation dans le cas de la transfusion massive<sup>70</sup>

Quel que soit le statut hémodynamique	Durée de conservation CGR	Irradiation
<b>Exsanguinotransfusion</b>	Toujours < à 10 jours	Oui, elle doit avoir lieu dans les 48h avant la transfusion
<b>CEC</b>	et si possible < 5 jours	Non *

\*Pas d'irradiation pour les CEC pédiatriques (patients de plus de 2kg) sauf si déficit immunitaire (syndrome de DiGeorge) avec accord prescripteur.

#### II. 6. 4. 4 - Qualifications et transformations associées

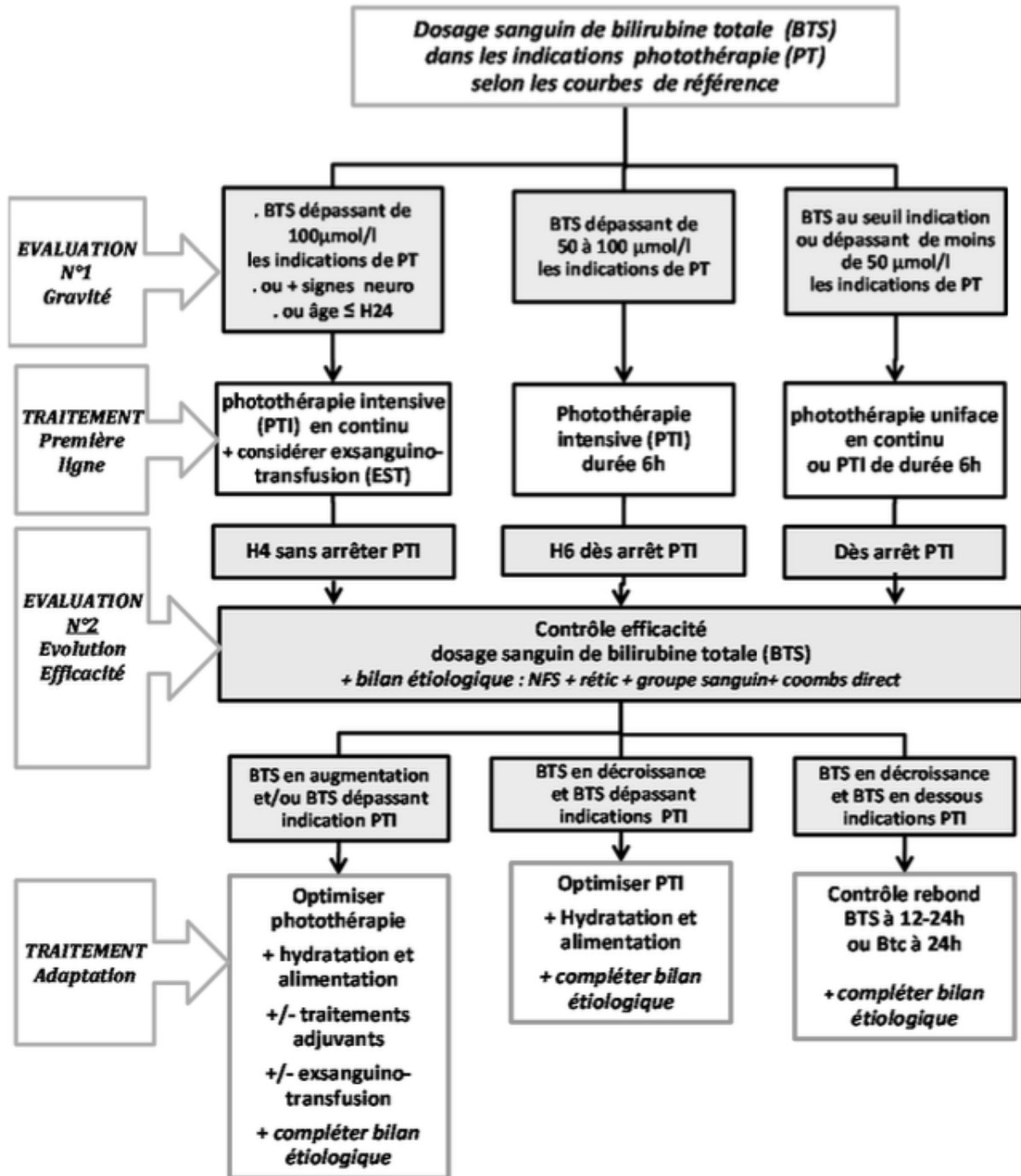
Tableau 13 : Qualifications et transformations associées à la transfusion sanguine chez le nouveau-né de 0 à 4 mois<sup>70</sup>

<b>Compatibilisés</b>	RAI+ ou EDA+ ou si la mère est allo-immunisée
<b>Unités pédiatriques</b>	Si possible et si validées par le service (prendre en compte une marge de sécurité lors d'une prescription faite en volume à transfuser)
<b>Irradiation</b>	Exsanguino-transfusion Transfusion massive (sauf CEC) Transfusion intrafamiliale Transfusion simple du prématuré (-32SA ou -1500g) Antécédents de transfusion in utero (protocole à supprimer après les 6 mois de l'enfant)



## II. 6. 5 - Synthèse de la conduite thérapeutique face à un ictère.<sup>1</sup>

Tableau 14 : Synthèse de la conduite à tenir face à un ictère



\*Btc : bilirubinométrie transcutanée ; PTI : photothérapie intensive ; EST : exsanguino-transfusion ; NFS : Numération formule sanguine ; rétic : taux de réticulocytes.

### **III - États des lieux des ictères néonataux en lien avec une IFME au sein de l'APHM entre 2015 et 2020.**

#### **III. 1 - Patients et méthode**

##### **III. 1. 1 - Les patients**

Notre travail est un état des lieux des cas d'anémies fœtales et de maladies hémolytiques du nouveau-né, secondaires à une incompatibilité fœto-maternelle à l'AP-HM, du diagnostic biologique à la prise en charge médicale.

Cette étude rétrospective s'étend du 1<sup>ère</sup> Janvier 2015 au 30 Novembre 2020. La sélection des nouveau-nés se limite à la région Provence-Alpes-Côte d'Azur puisque les données sont issues du logiciel régional LaboServeur Inlog l'EFS-PACC.

##### **III. 1. 2 - La méthode**

###### **III. 1. 2. 1 - Les différentes étapes**

Nous avons d'abord réalisé une extraction informatique de tous les nouveau-nés entre le 1<sup>er</sup> Janvier 2015 et le 30 Novembre 2020, pour lequel un examen direct à l'antiglobuline positif a été retrouvé (IgG et/ou C3d positif). Les données sont collectées sur tableau Excel avec le numéro d'individus, la spécificité des anticorps, le titrage, le dosage pondéral, et les PSL distribués.

En parallèle, nous avons réalisé une extraction informatique de tous les PSL distribués par l'EFS-PACC au sein de l'APHM pour tous les nouveau-nés nés entre le 1<sup>er</sup> Janvier 2015 et le 30 Novembre 2020 et pour toutes les femmes enceintes à ces mêmes dates, afin d'étudier les transfusions in utero.

Pour finir, les données relatives aux bilans biologiques des nouveau-nés, ainsi que les différentes modalités de prise en charge ont été récolté à l'aide du logiciel Axigate, interface de l'AP-HM recensant l'ensemble des dossiers médicaux des patients hospitalisés.

Une dernière particularité a été l'analyse des dossiers d'allo-immunisation anti-public, qui, du fait de leur rareté, nous ont encouragé à effectuer notre analyse du 1<sup>er</sup> Janvier 2010 au 30 Novembre 2020.

### **III. 1. 2. 2 - Données disponibles issues de cette cohorte**

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

- Le nombre de nouveau-nés présentant un examen direct à l'antiglobuline positif (IgG et/ou C3d) à la naissance
- Les gestes transfusionnels impliqués, pour la mère et pour le nouveau-né  
En allant consulter les dossiers sur Inlog :
- La spécificité, le titrage et le dosage pondéral de l'allo-anticorps réalisés au sein de l'EFS  
En allant consulter les dossiers sur Axigate :
- Les bilans biochimiques et hématologiques réalisés
- Les traitements administrés

### **III. 1. 2. 3 - Les techniques utilisées pour la réalisation des examens**

Pour la partie immuno-hématologique, le groupage ABO-RH1 et phénotypage RHKEL1, l'EDA, la RAI (dépistage et identification) et le titrage sont réalisés sur les sites EFS-PACC. Le dosage pondéral est réalisé par le CNRHP.

Pour la partie hémato-biochimique, les analyses sont réalisées au sein des laboratoires spécialisés d'Hématologie et de Biochimie sur l'ensemble des sites de l'AP-HM (Timone, Nord et Conception).

## **III. 2 - Résultats**

### **III. 2. 1 - Sélection des nouveau-nés avec examen direct à l'antiglobuline positif**

Dans ce travail, nous avons recensé 1632 nouveau-nés entre 1<sup>er</sup> Janvier 2015 et 30 Novembre 2020 avec un examen direct à l'antiglobuline positif IgG et/ou IgM. Afin d'obtenir les résultats les plus pertinents possibles, nous avons soustrait de notre cohorte les cas d'incompatibilités fœto-maternelles ABO, que nous n'aborderons pas dans ce travail comme précisé précédemment, les prises d'immunoglobulines anti-RH1, les bilans incomplets, les auto-anticorps et les doublons. Les résultats seront exploités sur 93 nouveau-nés entre le 2015 et 2020.

Parmi eux :

- 88 nouveau-nés ont un Coombs IgG positif
- 4 nouveau-nés ont un Coombs mixte IgG positif et C3d positif
  - o Spécificités : *Anti-Jka*, *Anti RH1*, *Anti-RH1 + RH2*, *Anti-CO3*
- 1 nouveau-né a un Coombs C3d positif
  - o Spécificités : *Anti-Jka*

Les bilans incomplets associés à un examen direct à l'antiglobuline positif sont ceux pour lesquels aucun anticorps n'a été identifié dans l'éluat.

Figure 18 : Construction de notre cohorte

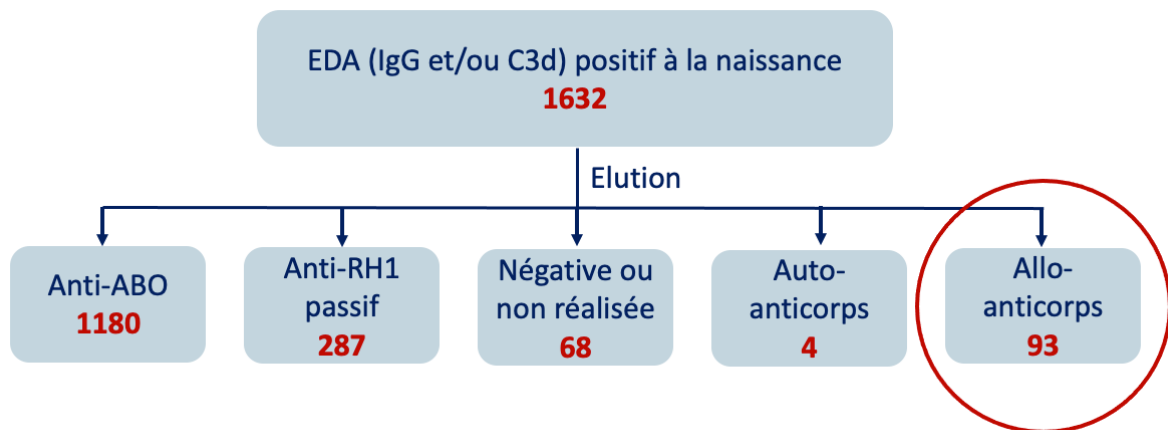
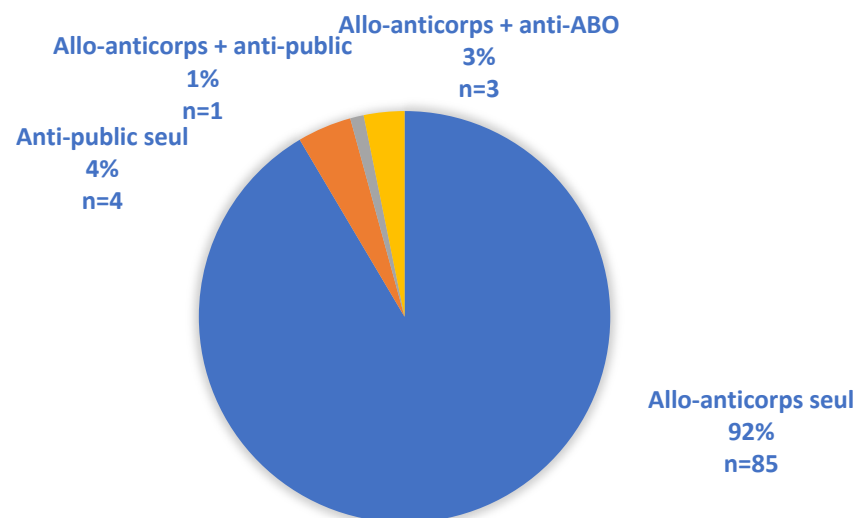


Figure 19 : Répartition des cas d'allo-immunisations n=93

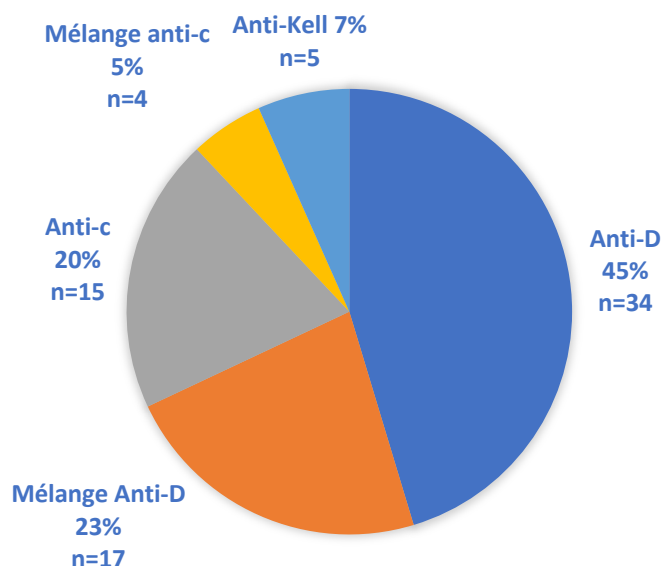


### III. 2. 2 - Spécificité de l'allo-anticorps

Nous avons regroupés les différentes spécificités d'anticorps en 3 catégories :

- Les anticorps à risque d'anémie fœtale et de maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN). Groupe 1 (n=75).
- Les anticorps à risque de maladie hémolytique du nouveau-né. Groupe 2 (n=14)
- Les anti-public. Groupe 3 (n=5 dont 1 associé à un anticorps à risque de maladie hémolytique du nouveau-né (1<sup>er</sup> Janvier 2015 au 30 Novembre 2020) et n=23 (1<sup>er</sup> Janvier 2010 au 30 Novembre 2020)).

Figure 20 : Répartition des allo-anticorps à risque d'anémie fœtale et de MHNN - Groupe 1 n=75



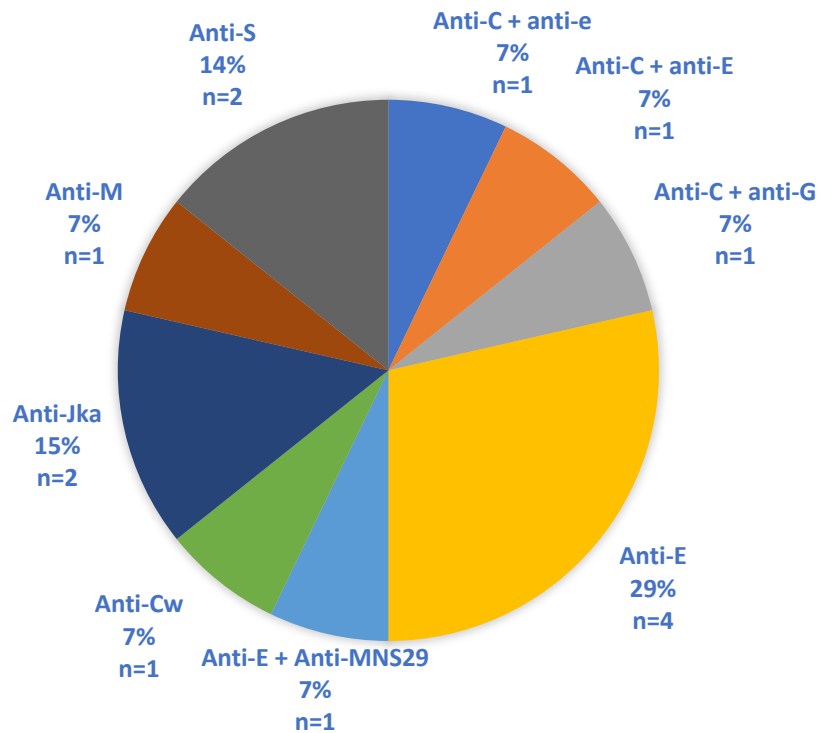
\* Mélange Anti-D n=17

Anti-D + Anti-A n=1, Anti-D + anti-C + anti-B n=14, Anti-D + Anti-E n=1, Anti-D + anti-Fya n=1

\* Mélange anti-c n=4

Anti-c + Anti-A n=1, Anti-c + Anti-E n=1, Anti-c + anti-Jka n=1, Anti-c + anti-Jkb n=1

Figure 21 : Répartition des allo-anticorps à risque de MHNN - Groupe 2 n=14



Du 1<sup>er</sup> Janvier 2010 au 30 Novembre 2020, le nombre de cas pour chaque anti-public inclus d'avoir retrouvé l'anti-public à la RAI dans le sérum de l'enfant ou dans l'éluat. Parmi eux, 17 nouveau-nés avec un examen direct à l'antiglobuline positif à l'anti-public (tableau 15).

Parmi les 12 nouveau-nés hospitalisé à l'APHM, 9 ont eu un bilan hémato-biochimique. 3 nouveau-nés n'ont pas eu de bilan : 1 anti-Jra, 1 anti-CO3 et 1 anti-PP1PK; les 3 avaient un examen direct à l'antiglobuline positif à la naissance. 5 nouveau-nés ont eu recours à une prise en charge particulière. L'anti-MNS5 retrouvé dans les deux cas est issu de la même mère (tableau 16).

Tableau 15 : Anticorps anti-public et établissement prescripteur - Groupe 3 n=23

Allo-anticorps	Nb cas	DA positif	Prescripteur
<b>KEL2</b>	1	Oui	CLINIQUE NICE
<b>MNS5</b>	4	Oui	APHM
		Oui	APHM
		Oui	CHU NICE
		Oui	ST ROCH CERBA
<b>LU2</b>	2	Oui	FONDATION LENVAL
		Oui	CHU NICE
<b>JRA</b>	3	Oui	CH AIX
		Oui	APHM
		Oui	APHM
<b>MNS29</b>	1	Oui	APHM
<b>GE3</b>	1	Oui	APHM
<b>RH46</b>	2	Oui	ST JOSEPH
		Oui	APHM
<b>GLOB1/P1/TJ1</b>	2	Non	APHM
		Oui	APHM
<b>YT1</b>	3	Non	LABAZUR ST Georges
		Non	LABAZUR St Georges
		Non	APHM
<b>CO3</b>	2	Oui	APHM
		Oui	APHM
<b>DO3</b>	2	Non	CHU NICE
		Non	CHU NICE
	Total = 23	Total = 17	

Tableau 16 : Bilan héματο-biochimique et prise en charge des cas d'anti-public.

	Titre	EDA IgG et/ou C3d	Hémoglobine (g/L)	BTS ( $\mu\text{mol/L}$ )	Traitement
<b>Anti-MNS5 (2020)</b>	1	+	< 120 (75)	NR	Transfusion
<b>Anti-MNS5 (2015)</b>	1	+	N	N	
<b>Anti-RH46</b>	1	+	N	> 100	
<b>Anti-PP1PK</b>	1	-	N	N	PT C+D
<b>Anti-GE3</b>	1/256	+	< 120 retardé	> 100 retardé	IgIV + EPO + PT
<b>Anti-YT1</b>	1	-	N	N	
<b>Anti-CO3</b>	1/32	+	Hb < 120 (115)	< 100	PT
<b>Anti-MNS29</b>	1/8	-	N	N	PT C+D
<b>Anti-JRA</b>	1	+	N	N	

PT : Photothérapie, C : Continue, D : Discontinue

### III. 2. 3 - Bilans biologiques

- Dosage de la bilirubine sanguine totale

Dans l'ensemble de nos cas, le dosage de la bilirubinémie a été réalisé dans les 72 premières heures de vie. Au total dans les 2 groupes, nous n'avons pas de dosage bilirubine totale sanguine pour 14 nouveau-nés. Deux explications à cela ; un dosage uniquement effectué par bilirubinomètre transcutané, ou alors un dosage non réalisé.

Figure 22 : Bilirubine sanguine totale ( $\mu\text{mol/L}$ ) durant les 72 premières heures de vie - Anti-D n= 51

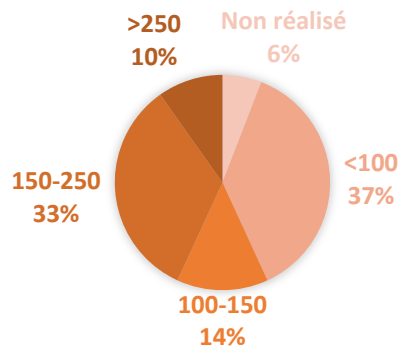


Figure 23 : Bilirubine sanguine totale ( $\mu\text{mol/L}$ ) durant les 72 premières heures de vie - Anti-c n=19

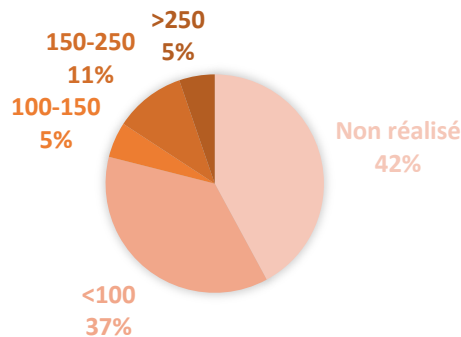


Figure 24 : Bilirubine sanguine totale ( $\mu\text{mol/L}$ ) durant les 72 premières heures de vie. Anti-Kell n=5

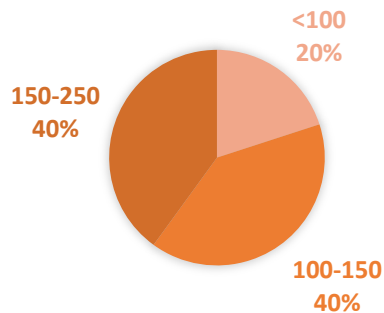
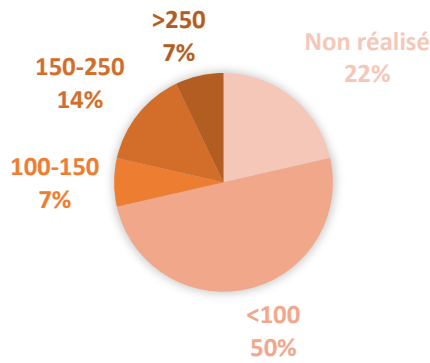




Figure 25 : Bilirubine sanguine totale ( $\mu\text{mol/L}$ ) durant les 72 premières heures de vie. Groupe 2 n=14



○ Dosage de l'hémoglobine

Nous avons relevé la valeur la plus basse de l'hémoglobine retrouvée pendant tout le séjour hospitalier du nouveau-né. Nous n'avons pas de résultat d'hémoglobine pour 12 de nos patients ; une gazométrie est faite systématiquement à la naissance sur sang de cordon et ne figure pas forcément sur les bilans biologiques informatiquement.

Figure 26 : Taux d'hémoglobine (g/L) à la naissance. Anti-D n=51

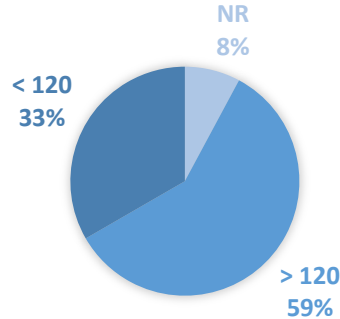


Figure 27 : Taux d'hémoglobine (g/L) à la naissance. Anti-c n=19

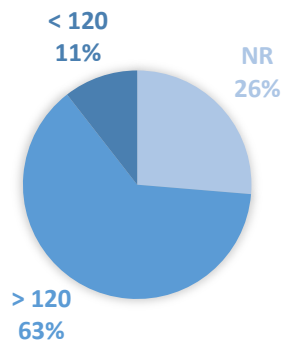


Figure 28 : Taux d'hémoglobine (g/L) à la naissance. Anti-Kel n=5

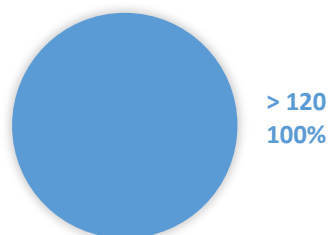
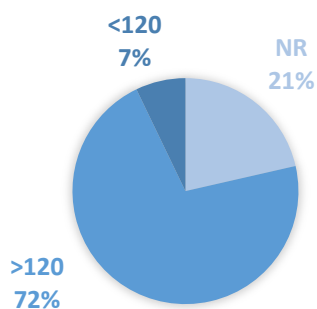


Figure 29 : Taux d'hémoglobine (g/L) à la naissance. Groupe 2 n=14



Nous avons recensés 7 décès entre le 1<sup>er</sup> janvier 2015 et le 30 Novembre 2020. 4 décès étaient inclus dans notre cohorte de départ, et lors de notre étude sur les transfusions in utero, 3 décès supplémentaires se sont rajoutés. Deux explications ; les nouveau-nés à la naissance n'ont pas eu de bilan immuno-hématologique (n=2), ou un examen direct à l'antiglobuline négatif (n=1).

Tableau 17 : Cas de décès à la suite d'une allo-immunisation érythrocytaire.

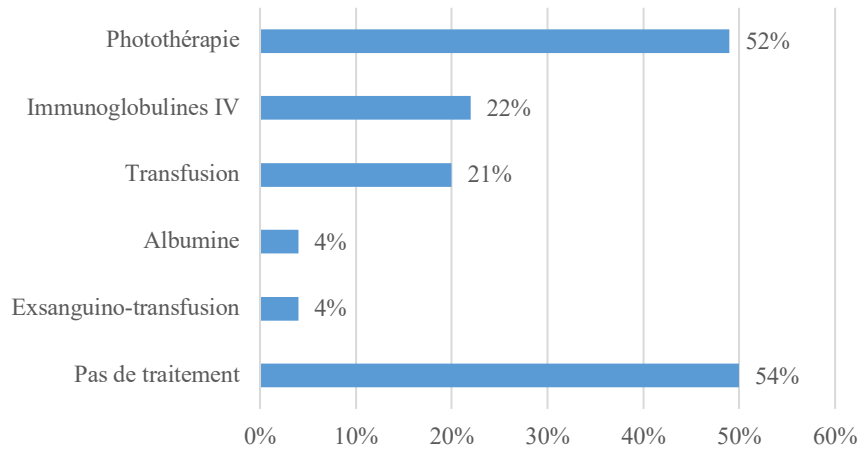
Spécificité	Titre	DP UCHP/mL	Bilan bio	Décès	
<b>EDA + à la naissance n=4</b>					
<b>Anti-RH1</b>	1/8	NR	Hb = 7,4 g/dL	Prématurité 26 SA TIU pendant grossesse Photothérapie continu + Transfusion 1 CGR (J2) + 2 CPA (J2) Maladie membrane hyalines et suspicion d'infection materno-fœtale	J3
<b>Anti-RH1</b> + <b>Anti-RH2</b>	1/128	1800	Hb = 7 g/dL	Prématurité 29 SA TIU pendant grossesse 3 EST + Transfusion 3 CGR (J1, J2, J6), 2 CPA (J2-J6) Choc septique	J10
<b>Anti-RH4</b>	1/1	NR	BTS = 190 µmol/L	Prématurité 29 SA Photothérapie continue + EPO + transfusion 2CGR (J10-J18), 2 PFC (J0-J2), 1 CPA (2) Défaillance multiviscérale	J19
<b>Anti-RH1</b>	1/8	NR	Hb= 170 g/dL BTS = 34 µmol/L	Prématurité 27 SA TIU pendant grossesse Photothérapie continue Maladie membrane hyaline + hémorragie intracérébrale parenchymateuse	J3
<b>EDA – ou non réalisé à la naissance n=3</b>					
<b>Anti-RH1</b>	1/256	2410	Hb = 6,7 g/dL BTS =35 µmol/L	Prématurité 27 SA TIU pendant grossesse Césarienne urgente anomalie rythme cardiaque Transfusion 1 CGR	J0-H4
<b>Anti-RH1</b>	1/256	660	Hb = 6 g/dL, BTS NR	Prématurité 29 SA anomalie rythme cardiaque TIU pendant grossesse Photothérapie continu + Transfusion 1 CGR Choc hypovolémique et hémorragique	J1
<b>Anti-RH1</b>	1/256	47 000	Hb =12 g/dL (J2) 9,5 g/dL (J5) BTS NR	Prématurité 28 SA TIU pendant grossesse Photothérapie continue + IgIV + Transfusion 1 CGR (H1)	J5

BTS : bilirubine totale sanguine NR : non réalisé

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 1 temps ont été pris en considération (estimation de la proportion d'anticorps autre que IgG3, représentant la proportion la plus agressive).

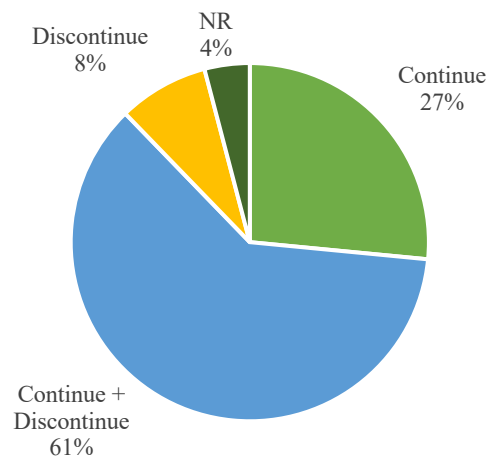
### III. 2. 4 - Prise en charge des nouveau-nés et spécificités associées

Figure 30 : Prise en charge des nouveau-nés n=93



A l'issue de nos recherches, nous avons pu mettre en évidence différents traitements utilisés au cours de la prise en charge de l'ictère du nouveau-né. Nous avons pris le soin, pour chaque cas de photothérapie, de préciser si celle-ci était continue ou discontinue.

Figure 31 : Les traitements par photothérapie n=46



○ La transfusion néonatale

Tableau 18 : Spécificité, titre et dosage pondéral des anticorps impliqués dans les transfusions.

Spécificité allo-anticorps	Nombre de cas transfusés	Titre	Dosage pondéral UCHP/mL
<b>Anti-RH1</b>	n=10 50%	1/8 n=1 1/32 n=1 1/128 n=5 1/256 n=3	<1000 n=2 1000-10000 n=7 NR = n=1
<b>Anti-RH1 + mélange</b> (Anti-RH2, Anti-FY1, Anti-RH3)	n=7 35%	1/16 n=2 1/128 n=1 1/256 n=4	<1000 n=3 100-10000 n=3 NR n=1
<b>Anti-RH4</b>	n=2 10%	1/1 n=1 1/32 n=1	790 n=1 NR n=1
<b>Anti-RH12 + Anti RH2</b>	n=1 5%	1/64	1000-10000 n=1

Tableau 19 : Transfusions dans un contexte de EDA positif parmi l'ensemble des transfusions à l'AP-HM chez les nouveau-nés de 0 à 3 mois

Années	2015	2016	2017	2018	2019	2020 (Novembre)	Total
<b>Nombres BB transfusés</b>	316	307	341	300	344	245	1853
<b>Nombres BB transfusés + EDA +</b>	9	10	13	11	13	10	66
<b>%</b>	2,8	3,2	3,8	3,6	3,7	4	3,6%

Tableau 20 : Transfusion chez les nouveau-nés de 0 à 3 mois avec un EDA positif

Années	2015	2016	2017	2018	2019	2020 (Novembre)	Total
<b>Nombre BB EDA+</b>	323	310	325	206	240	228	1632
<b>Nombre BB transfusés</b>	9	10	13	11	13	10	66
<b>%</b>	2,7	3,2	3,9	5,3	5,4	4,4	4,0

○ L'exsanguino-transfusion

Tableau 21 : Traitements administrés en association aux gestes transfusionnels.

	EST	Transfusion	Photothérapie	Ig	Albumine
EST n=4		100%	100%	75%	50%
Transfusion n=20	21%		89%	74%	10%

Tableau 22 : Spécificité, titre et dosage pondéral des anticorps impliqués dans l'exsanguino-transfusion n=4

Anticorps	Nombre de cas	Titre	Dosage pondéral UCHP/mL
<b>Anti-RH1 + Anti RH2</b>	n = 4 100%	1/128 n=1	< 1000 n=1 1000-10 000 n = 3
		1/256 n =2	
		>1/256 n=1	

○ La transfusion in utero

Figure 32 : Étiologies des transfusions in utero n=30

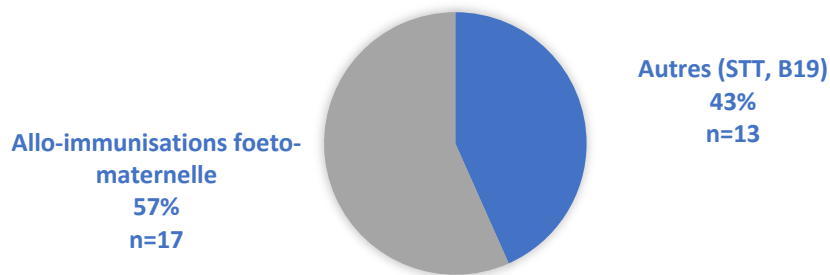
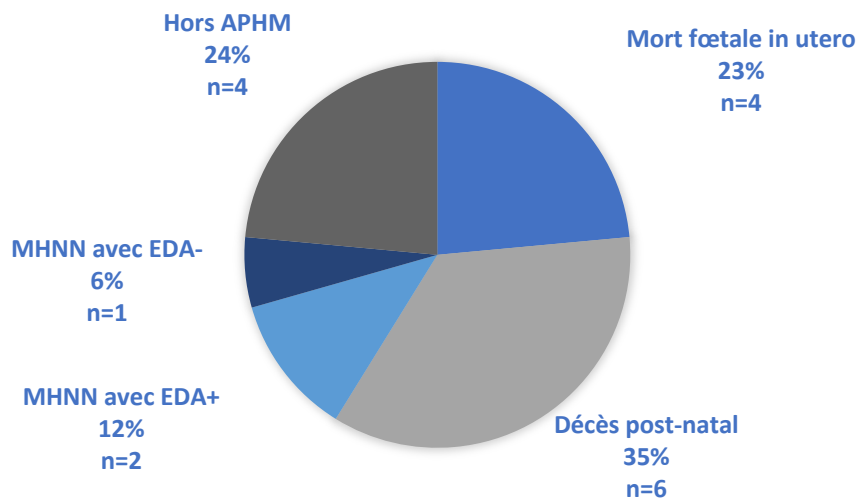


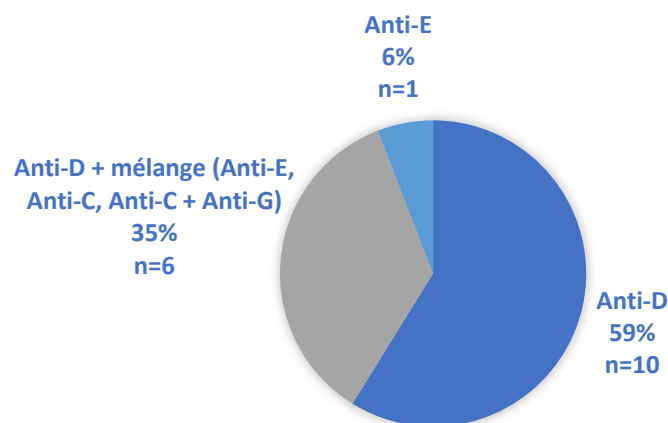
Figure 33 : Transfusion in utero dans le cadre d'une allo-immunisation n=17



Parmi les 17 cas de transfusion in utero à l'APHM :

- 4 nouveau-nés ont été hospitalisés dans un autre établissement de soins
- 1 nouveau-nés ont eu un examen direct à l'antiglobuline négatif à la naissance
- 6 nouveau-nés sont décédés
  - *Anti-RH1, titre 256, DP 2410 UCHP/mL*
  - *Anti-RH1, titre 256, DP 660 UCHP/mL*
  - *Anti-RH1 + Anti RH2, titre 128, DP 1800 UCHP/mL*
  - *Anti-RH1, titre 256, DP 47 000 UCHP/mL*
  - *Anti-RH1, titre 8*
  - *Anti-RH1, titre 8*
- 4 cas de mort fœtale in utero ont été recensés
  - *Anti-RH1, titre 256, DP 2365 UCHP/mL*
  - *Anti-RH1 + Anti-RH3, titre 128, DP 400 UCHP/mL*
  - *Anti-RH3, titre 256, DP 741 UCHP/mL*
  - *Anti RH1 + RH2 + RH12, titre 256, DP 11 756 UCHP/mL*
- 2 nouveau-nés ont eu un examen direct à l'antiglobuline positif (IgG et/ouC3d) et font partis de notre cohorte de départ

Figure 34 : Spécificités des anticorps dans un contexte de transfusion in utero n=17



### III. 2. 5 - Focus sur les allo-anticorps à risque d'anémie fœtale et de MHNN

1 cas de nouveau-né avec une allo-immunisation anti-RH1 n'a pas d'identité liée sur l'informatique de laboratoire, il n'est donc pas possible de connaître le titre et le dosage pondéral de la mère en fin de grossesse.

Tableau 23 : Allo-immunisations anti-RH1

Anti-RH1 n=51	Dosage pondéral UHP/mL		Hb (g/L)			BTS (μmol/L)			T	P	I	A	Trans	E	
	<1000	>1000	N	<120	>120	N	<100	>100	N	I	T	G	L	fusion	S
Titre			R			R			R	U		B			T
1/1 n=4	0	0	4	1	2	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0
¼ n=1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
1/8 n=5	3	0	2	1	2	2	3	0	2	0	2	0	0	1	0
1/16 n=4	3	0	1	1	3	0	2	1	1	0	2	0	0	2	0
1/32 n=4	4	0	0	1	3	0	1	3	0	0	2	1	0	1	0
1/64 n=9	7	1	1	0	8	1	4	5	0	0	6	1	0	0	0
1/128 n=10	1	8	1	6	4	0	1	9	0	0	10	7	0	6	1
≥1/256 n=13	4	9	0	6	7	0	1	12	0	5	12	9	3	7	3

Tableau 24 : Allo-immunisations anti-KEL1

Anti-KEL1 n=5	Hb (g/L)			BTS (μmol/L)			T	P	I	A	Trans	E
	<120	>120	NR	<100	>100	NR	I	T	G	L	fusion	S
Titre							U		B			T
1/8 n=1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
1/16 n=2	0	2	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0
1/32 n=1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
≥1/256 n=1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0



2 cas de nouveau-nés avec une allo-immunisation anti-RH4 n'ont pas d'identité liée, il n'est donc pas possible de connaître le titre et le dosage pondéral de la mère en fin de grossesse.

Tableau 25 : Allo-immunisations anti-RH4

Anti-RH4 n=19	Dosage pondéral UCHP/mL			Hb (g/L)		BTS ( $\mu$ mol/L)			T I U	P T	I G B	A L	Trans fusion	E S T	
	<1000	>1000	N R	<120	>120	N R	<100	>100							N R
Titre	<1000	>1000	N R	<120	>120	N R	<100	>100	N R						
1/1 n=13	0	0	13	1	10	2	5	3	5	0	3	0	0	1	0
1/2 n=2	2	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
1/4 n=1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1/32 n=1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0

## DISCUSSION

A l'AP-HM, le nombre de nouveau-nés avec un examen direct à l'antiglobuline positif (IgG et/ou C3d) entre le 1<sup>er</sup> Janvier 2015 et le 30 Novembre 2020 est de 1632. Parmi eux, seulement 93 nouveau-nés sont concernés par une AIFM autre que ABO, qui elle représente les cas les plus fréquents d'IFME.

Notre travail présente plusieurs objectifs. Premièrement, la revue de la littérature a permis l'état des lieux des recommandations en vigueur et des différentes avancées médicales, permettant un diagnostic plus précoce et une prise en charge plus ciblée de MHNN. De plus, notre étude nous a permis de faire l'état des lieux des maladies hémolytiques du nouveau-né rencontrés à l'APHM en lien avec une incompatibilité fœto-maternelle du 1<sup>er</sup> Janvier 2015 au 30 Novembre 2020, du diagnostic immuno-hématologique et biochimique jusqu'à la prise en charge médicale.

Lors de notre étude rétrospective, nous nous sommes heurtés à des difficultés pour rassembler certaines informations ; notamment pour les bilans biologiques de nouveau-nés qui n'ont pas toujours été réalisés ou tracés, dans le cas d'une gazométrie dans le service ou du dosage de la bilirubine en transcutanée par exemple. Il est également important de notifier le biais de recrutement de notre étude ; nous nous sommes focaliser sur les résultats de l'AP-HM, qui n'est pas le seul établissement de soins à Marseille incluant une maternité et service de néonatalogie.

- Sélection des nouveau-nés avec examen direct à l'antiglobuline positif (IgG et/ou C3d)

La construction de notre cohorte nous permet déjà dans un premier temps d'estimer la proportion des IFME ABO impliquées dans l'examen direct à l'antiglobuline positif ; celles-ci représentent 72% des cas de notre cohorte de départ. (figure 18) Nous ne porterons pas notre étude sur ces patients. Il est peu fréquent (4,1% des cas) qu'un examen direct à l'antiglobuline soit associé à un bilan incomplet ; c'est à dire sans anticorps retrouvé à la RAI (sérum et éluat). Plusieurs explications peuvent être évoquées notamment ; une quantité insuffisante pour l'éluat, un anti-privé, ou un autre mécanisme d'hémolyse immunologique (anti-médicaments par exemple<sup>77</sup>).

- Anticorps anti-public

Les anticorps anti-public sont, comme attendu, très peu retrouvés, ce qui explique l'élargissement de notre étude du 1<sup>er</sup> Janvier 2010 au 30 Novembre 2020. Nous avons retrouvés, pour 23 nouveau-nés, l'anti-public maternel dans le sérum ou dans l'éluat. Parmi eux, 17 ont été positif à l'examen direct à l'antiglobuline. Il est important de rappeler que des cas d'allo-immunisations, avec certains anti-public, associés à un examen direct à l'antiglobuline négatif ont déjà été décrits.<sup>8</sup> Nos résultats concernent l'ensemble de la Région PACA, cependant, seulement 12 nouveau-nés ont été hospitalisés à l'AP-HM et 9 d'entre eux ont eu un bilan hémato-biochimiques.

5 nouveau-nés ont eu recours à un traitement, soit par photothérapie (anti-PP1PK, anti-CO3, anti-MNS29), soit par transfusion (anti-MNS5) soit par photothérapie et EPO (anti-GE3). Les deux cas d'anti-MNS5 sont deux nouveau-nés de la même fratrie ; nous observons, qu'au cours de la 2<sup>ème</sup> grossesse, l'allo-immunisation a eu un impact clinique plus important notamment au niveau de l'anémie du nouveau-né (7,5g/dL) ; pas d'autres étiologies responsables de l'anémie ont été évoquées. (tableau 15 et 16).

Nous pouvons constater, au vu des résultats des bilans biologiques, que l'anti-GE3 et l'anti-MNS5 sont les deux seuls anti-public ayant entraîné une maladie hémolytique du nouveau-né à l'AP-HM sur les 10 dernières années. Le cas de l'allo-immunisation avec l'anti-GE3 est un cas auquel nous pouvons porter une attention particulière, cet anti-public étant connu pour donner des atteintes du nouveau-né retardées. Très peu de MHNN sévères ont été décrit pour cet anticorps, le premier cas a été décrit en 2002, puis 2005, deux nouveau-nés provenant de la même mère.<sup>78</sup> Le mécanisme d'action de ces symptômes retardés est encore pour le moment incompris ; comme vu précédemment, la destruction des progéniteurs par une voie non classique de l'apoptose serait une hypothèse ; d'autres équipes privilégient l'hypothèse d'un épuisement médullaire, après une phase d'hyperproduction de synthèse d'EPO et d'acide folique.<sup>79</sup>

Nous avons recensé dans la littérature 4 cas décrivant l'apparition d'une anémie sévère et tardive associée à une hyperbilirubinémie jusqu'à 40 jours après la naissance.

Tableau 26 : Cas de MHNN avec un anti-Ge3 décrits dans la littérature

	Cas APHM	Cas 1 <sup>78</sup>	Cas 2 <sup>80</sup>	Cas 3 <sup>80</sup>	Cas 4 <sup>78</sup>
<b>Anticorps identifié</b>	Anti-Ge3	Anti-Ge3	Anti-Ge3	Anti-Ge3	Anti-Ge3
<b>Sous classe</b>	NR	NR	IgG1	IgG1	IgG1
<b>Titre</b>	1/256	1/512	1/256	1/256	1/32
<b>Age gestationnel</b>	41	34	37	34	Terme
<b>1<sup>er</sup> dosage Hb (g/L)</b>	152	148	118	175	156
<b>1<sup>er</sup> dosage BTS <math>\mu\text{mol/l}</math></b>	72	309	202	176	234
<b>Apparition anémie</b>	92 (J30)	62 (J10)	18 (J19)	69 (J29)	58 (J40)
<b>Photothérapie</b>	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
<b>Transfusions</b>	Non	Oui	Oui	Oui	Oui
<b>IgIV</b>	Oui	Oui	Oui	Non	Non
<b>EPO</b>	Oui	Oui	Oui	Non	Non

Les nourrissons, nés de mère hispanique, mexicaine ou péruvienne, ont présenté une évolution similaire ; pas de prématurité et une grossesse sans incident ; les taux d'hémoglobine à la naissance sont proches de la normale et la bilirubine est élevée, nécessitant un traitement par photothérapie. Il est difficile d'évaluer la gravité de l'ictère car nous n'avons pas la date exacte du premier dosage de bilirubine. Le nouveau-né de l'AP-HM a cependant lui développer un ictère tardif à J7. Les 4 nouveau-nés ont eu recours à un geste transfusionnel. A noter que l'efficacité de l'EPO et des immunoglobulines IV dans ce contexte d'allo-immunisation anti-GE3 n'a pas été démontrée.

Les anti-public décrits dans la littérature comme pouvant être à risque fœtal élevé sont :<sup>81</sup>

- L'anti-MNS5, populations d'origine africaine/antillaise, exceptionnel chez les caucasiens
- L'anti-Jra, populations gitanes d'Europe de l'Est, origine asiatique
- L'anti-GE3, origine pourtour méditerranéen
- L'anti-KEL2

Des données de l'EFS de la région Rhône-Alpes-Auvergne montre qu'en moyenne 3 à 4 grossesses sont concernés par une allo-immunisation avec un anti-public par an dans leur région.<sup>81</sup> Entre 2013 et 2016, ils ont été confrontés notamment à 3 cas d'anti-MNS5, 3 cas d'anti-Jra et 2 cas d'anti-GE2. D'autres anti-public ont été retrouvés ; anti-DO5, anti-Jra, anti-Coa *etc...* Ces cas d'allo-immunisations anti-public représentent un défi majeur. La convocation des donneurs de phénotype rares est nécessaire afin d'obtenir des poches compatibles et d'anticiper les éventuels besoins transfusionnels. C'est une organisation complexe qui nécessite une anticipation pluridisciplinaire, du centre de don à l'établissement de soins qui délivre la poche, afin de garantir une sécurité immuno-hématologique pour la mère et pour l'enfant.

- Comparaison de résultat avec allo-immunisation foeto-placentaire

Il est intéressant de comparer la proportion de chaque spécificité d'anticorps dans le cadre de l'immunisation foeto-maternelle et de nouveau-nés présentant un examen direct à l'antiglobuline positif. Le travail de C. Paci, qui est état des lieux et le suivi de l'allo-immunisation anti-érythrocytaire des femmes enceintes par l'EFS-PACC de 2006 à 2016 est un bon support de comparaison. C'est une étude qui s'étend sur une période de onze ans et qui s'est intéressée au suivi immuno-hématologique des femmes ayant eu une ou plusieurs grossesses entre le 1<sup>er</sup> Janvier 2006 et le 31 décembre 2016.

Tableau 27 : Répartition des spécificités d'anticorps à risque d'anémie fœtale et de MHNN

	Anti-RH1	Anti-KEL1	Anti-RH4	Total
<b>AIFM<sup>82</sup></b>	13,2%	4,4%	8,5%	26,1%
<b>EDA +</b>	56%	4%	20%	81%

Les anticorps à risque d'anémie fœtale et de MHNN représentent une part beaucoup plus importante dans les cas d'ictère et d'anémie néonatales (81%) que dans les cas d'allo-immunisation foeto-maternelle (26,1%).

Tableau 28 : Répartition des spécificités d'anticorps à risque de MHNN

%	RH2	RH3	RH5	RH6	RH8	RH12	KEL3	FY1	FY2	JK1	JK2	MNS1	MNS3	MNS4	total
<b>AIFM</b>	6,2	<b>21,4</b>	1,0	0,2	4,4	0,2	1,1	2,0	0,6	6,3	0,9	<b>24,3</b>	3,5	0,3	72,4%
<b>EDA+</b>	3	<b>6</b>	1	0	1	1	0	1	0	2	1	<b>1</b>	1	0	15%

Inversement, les anticorps à risque de MHNN représentent une part importante dans les cas d'AIFM, contrairement au cas d'examen direct à l'antiglobuline positif chez le nouveau-né. La somme de nos pourcentages d'allo-anticorps du tableau ci-dessus n'est pas de 15% car dans de nombreux cas nous avons des doubles allo-immunisations d'anticorps à risque de MHNN.

La différence entre nos deux études s'explique notamment par la classe des anticorps associée à chaque spécificité. En effet, des anticorps impliqués dans des cas d'allo-immunisation foëto-maternelle peuvent n'avoir aucun impact foëtal du fait de la nature de ces anticorps, de type IgM, qui ne peuvent pas traverser la barrière foëto-placentaire. C'est le cas de l'anti-MNS1 et de l'anti-RH3 ; ils représentent respectivement 24,3% et 21,4% des allo-anticorps dans l'étude de C Paci, tandis que dans notre étude leur proportion est de 1% et 6%. Dans notre cohorte, pour le seul cas d'allo-anti-MNS1 et les 4 cas d'anti-RH3, l'examen direct à l'antiglobuline associé était positif en IgG seul. L'anti-MNS1 et un cas d'anti-RH3 ont provoqué un ictère très modéré (100-150  $\mu\text{mol/l}$ ), et pour les autres il n'y a pas eu d'ictère ni d'anémie.

De plus, C. Paci retrouve dans 26% des cas de son travail des anticorps du système Lewis, que nous ne retrouvons pas dans notre étude. En effet, physiologiquement il est décrit que lors de la grossesse il y a une modification du métabolisme du système Lewis (aux alentours des 24 SA) ; les antigènes se fixent préférentiellement sur les lipoprotéines que sur les globules rouges ; la synthèse d'anticorps maternel est donc fréquent, sans risque de MHNN. De plus, le système Lewis n'est pas suffisamment développé pendant la vie foëtale, et s'exprime à partir de J10 chez le nouveau-né.<sup>83</sup>

- Les bilans biologiques

L'ictère est la manifestation la plus retrouvée chez les nouveau-nés d'une mère allo-immunisée non ABO. Nous avons pris le soin d'analyser les taux de bilirubine tout au long de l'hospitalisation, afin de ne pas passer à côté d'un ictère retardé. Dans notre étude, 37 des nouveau-nés (49%) avec un anticorps à risque d'anémie foëtale et de MHNN (groupe 1) ont un taux de bilirubine  $> 100 \mu\text{mol/L}$ , contre 4 cas (28%) dans le groupe 2. Six nouveau-nés du groupe 1 ont présenté une hyperbilirubinémie très sévère à la naissance ( $> 250 \mu\text{mol/L}$ ), contre 1 seul dans le groupe 2. Les immunisations avec un anti-D donne un ictère dans la majorité des cas (57%), peu importe le titrage et le dosage pondéral. (tableau 22 à 25).

En ce qui concerne l'anémie, 19 cas (25%) ont été répertoriés avec une hémoglobine < 120 g/L dans le groupe 1 contre 1 seul cas (7%) dans le groupe 2. (tableau 26 à 29). D'autres études menées sur la maladie hémolytique du nouveau-né font état de la prédominance de l'ictère ; sauf dans le groupe Kell où l'anémie arégénérative est le signe le plus retrouvé.<sup>84,85,86</sup> Les cas d'immunisations anti-Kell étant plus rares, notre faible effectif (n=5) ne nous permet pas de mettre en évidence d'anémies arégénératives comme décrites dans la littérature.

La mort fœtale in utero et le décès port-partum sont les conséquences les plus redoutées dans le cas d'une AIFM. Il y a 4 cas de mort fœtale in utero et 7 décès en lien avec une allo-immunisation érythrocytaire à Marseille à l'AP-HM entre le 1<sup>er</sup> Janvier 2015 et le 30 Novembre 2020. Dans le cas du décès, il a lieu entre J0 et J19 et 86% des nouveau-nés décédés ont été transfusés in utero. Le titre va du pur au 1/256. Le nouveau-né avec un anti-RH4 titré au pur est décédé d'une défaillance-multiviscérale suite à une prématurité de 29SA. (tableau 17) L'allo-immunisation n'est donc probablement la seule responsable de ce décès. Cependant, nous verrons par la suite que le titrage dans le cas d'une allo-immunisation anti-RH4 n'est pas l'examen le plus sensible.<sup>34</sup>

Tous les nouveau-nés sont grands prématurés, ce contexte de morbi-mortalité élevé implique que les décès ne sont pas imputables uniquement à l'allo-immunisation. Nous notons un biais dans notre étude ; 3 nouveau-nés sur 7 sont décédés d'une allo-immunisation anti-RH1 avec un examen direct à l'antiglobuline négatif ou non réalisé. (tableau 17).

- Prise en charge des nouveau-nés et spécificités associées

Nous pouvons observer que pour la majorité des cas d'IFME non ABO, aucun traitement n'est prescrit chez les nouveau-nés.

La photothérapie a été utilisée pour tous les nouveau-nés présentant un ictère, en accord avec les recommandes de l'APP<sup>53</sup> et de la société Française de néonatalogie.<sup>87</sup> Parmi ces nouveau-nés, la majorité (61%) ont à la fois été exposé à une photothérapie continue et discontinue. Nous pouvons noter que pour une minorité des cas de photothérapie (4%), les détails du traitement n'ont pas été précisé. La fréquence d'utilisation de la photothérapie est plus élevée que celle des cas d'ictère et d'anémie ; la photothérapie peut parfois être utilisée en probabiliste, en ayant seulement connaissance d'une AIFM.

En ce qui concerne les transfusions, sur notre cohorte de départ (n=1632), 4% des nouveau-nés sont transfusés. Il y a donc en général peu de cas de transfusions dans ce contexte d'IFME. Cependant, dans notre cohorte d'intérêt (n=93), nous avons 21% de cas de

transfusions, le diagnostic d'IFME non ABO entraîne donc un risque plus important de transfusion. En analysant la part des IFME dans le cadre des transfusions de nouveau-nés de 0 à 3 mois, celle-ci est minoritaire ; en moyenne, 4% des transfusions de nouveau-nés à l'AP-HM de 0 à 3 mois sont liées à une IFME. La majorité des transfusions néo-natales à l'AP-HM entre le 1<sup>er</sup> Janvier 2015 et le 30 Novembre 2020 sont attribuées à d'autres causes que celle des IFME. Dans le cas des transfusions des nouveau-nés de notre cohorte, l'anti-RH1 est retrouvé chez 17 nouveau-nés soit dans 85% des cas. Il est intéressant de noter que dans 13 cas sur 17 (76%), le titre de l'anti-RH1 est égal ou supérieur à 128.

Le traitement par immunoglobuline IV est dans notre étude prescrit chez 22% des nouveau-nés avec EDA positif, il occupe une place importante dans la prise en charge des MHNN. Combiné à la photothérapie, il est une thérapie alternative pour réduire le besoin en EST depuis quelques années. La diminution du taux d'exsanguino-transfusion chez les nouveau-nés traités par IgIV a été rapportée dans de nombreuses études ; Elalfy *et al.* rapportent un taux d'EST de 22% dans le groupe sans IgIV alors que le groupe traité par IgIV le taux d'EST est de 5% ( $p < 0,03$ ).<sup>88</sup> L'équipe de Chemsî M, *et al* a également mis en évidence une diminution du nombre d'exsanguinotransfusions dans le groupe traité par IgIV avec un taux de 30% dans le groupe témoin contre 7,9% ( $p = 0,001$ ) dans le groupe IgIV.<sup>74</sup> La réduction de la durée de la photothérapie est aussi considérée comme un critère de jugement de l'efficacité des IgIV, une réduction de la durée de photothérapie dans le groupe ayant reçu des IgIV est retrouvée dans plusieurs études. Elalfy *et al.* retrouvent une diminution du temps de photothérapie :  $52,8 \pm 12,39$ h pour le groupe traité par IgIV contre  $84 \pm 12,12$ h pour le groupe témoin ( $p < 0,0001$ )<sup>88</sup>. Également, Corvaglia *et al.* retrouve une cette diminution du temps de photothérapie avec une moyenne de 4 jours pour le groupe traité par IgIV contre 7 jour pour le groupe témoin.<sup>89</sup> Dans la méta-analyse réalisée par Zwiers en 2018<sup>90</sup>, sur les six études qui y ont pu être saisies (Alpay 1999 ; Midquad 2004 ; Nasserî 2006 ; Elalfy 2011 ; Smits-Wintjens 2011 ; Santos 2013), l'analyse a montré que le traitement par les IgIV raccourcissait la durée de l'hospitalisation de 1,34 jours (M : -1,34 jours, IC 95% -1,6 à -1,09). Dans l'étude de Chemsî M, *et al.* une réduction de la durée d'hospitalisation de 24,8% a été retrouvée avec respectivement des durées de 4,87 et 6,48 jours/nouveau-né ( $p = 0,037$ ) pour les groupes IgIV et témoin.

Les données de la littérature s'accordent à dire que l'utilisation précoce des immunoglobulines IV chez les nouveau-nés atteints d'ictère par allo-immunisation érythrocytaire permet une diminution du pic sérique de la bilirubine, une diminution significative du nombre d'exsanguinotransfusion, ainsi qu'une réduction significative de la



durée de la photothérapie et de l'hospitalisation. Ainsi, l'Académie Américaine de Pédiatrie (APP) recommande depuis 2004 l'usage des immunoglobulines intraveineuses, avec une administration répétée si nécessaire, comme traitement d'appoint dans la gestion de l'incompatibilité fœto-maternelle rhésus.<sup>53</sup> Malgré l'intérêt des équipes pour ce traitement, les études ont un effectif faible en raison de la rareté de la pathologie dans les pays occidentaux. Les lignes directrices consensuelles sur le moment optimal, la posologie exacte et la fréquence du traitement par IgIV font toujours défaut.

Nous pouvons souligner que tous les cas d'exsanguino-transfusion ont également reçu de la photothérapie, 75% ont reçu des immunoglobulines et 50% ont reçu de l'albumine, ce dernier, conformément aux recommandations<sup>71</sup>, n'est pas utilisé en systématique dans les cas les plus graves, mais réservés aux nouveau-nés présentant d'autres comorbidités ou en attente de réalisation d'une EST. Les quatre cas d'exsanguino-transfusion sont liés à une double immunisation anti-RH1 + anti-RH2. Le CNRHP a réalisé une étude sur 26 cas d'exsanguino-transfusion entre 2012 et 2014 ; 20 avaient pour étiologie une incompatibilité fœto-maternelle. Parmi eux, 12 anti-RH1 (seul ou associé à l'anti-RH2), 2 anti-RH4, 1 anti-RH3 et 5 anti-ABO. Les anti-ABO étaient associés à un contexte de retard de diagnostic de l'ictère.<sup>2</sup>

En ce qui concerne les transfusions in utero, 30 femmes enceintes ont eu recours à cette pratique à l'AP-HM dans notre étude. Parmi ces 30 transfusions, 17 (57%), sont imputables à une allo-immunisation fœto-maternelle, les 13 autres (43%) ont comme étiologie principalement le syndrome transfuseur-transfusé en cas de grossesse gémellaire (16%) et l'infection par le parvovirus B19 (6%). Ces résultats sont en adéquation avec les résultats de l'étude de Jouannic *et al.*<sup>91</sup> sur l'ensemble des cas de transfusion in utero réalisées aux centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal entre 2011 et 2014 ; les résultats indiquent une allo-immunisation fœto-maternelle en cause dans 69% des cas. Nous pouvons observer que parmi les 17 cas de transfusion in utero dans un contexte d'allo-immunisation fœto-maternelle, un nouveau-né a un examen direct à l'antiglobuline négatif, et c'est un anti-RH1 qui est responsable du contexte allo-immun. En terme de spécificité, nous notons le prédominance à 59% de l'anti-RH1 seul dans ces cas d'anémies fœtales sévères ; avec quelques cas de doubles immunisations. Au total, l'anti-RH1 est présent dans 94% des cas. Aucun cas d'anti-ABO n'ont liés à une transfusion in utero.

Nous recensons 4 cas de mort fœtale in utero ; anti-RH1, anti-RH1 + anti-RH3, anti-RH3 et une triple allo-immunisation anti-RH1 + anti RH2 + anti-RH12. L'anti-RH3 était associé à un titre et un dosage pondéral élevé (respectivement 256 et 741UCHP/mL). Des cas graves lors d'une immunisation anti-RH3 ont déjà été décrits auparavant.<sup>92,93</sup>

L'activité nationale de transfusion fœtale de globules rouges en France est voisine de 200 et concerne en moyenne 110 grossesses par an. L'allo-immunisation RH1 (RHD) représente environ la moitié des TIU réalisées. Malgré les progrès dans ce domaine, la transfusion in utero demeure un geste invasif non dénué de risque. Dans les séries importantes de transfusion in utero, le taux de pertes fœtales a été estimé à environ 3% par procédure.<sup>91</sup> Une des difficultés est de distinguer les complications liées à l'acte transfusionnel lui-même, de celles liées à la gravité de la pathologie sous-jacente. Selon la littérature, la correction de l'anémie fœtale permet néanmoins d'obtenir une issue favorable de la grossesse dans plus de 90% des cas.<sup>91</sup> Au regard de nos résultats, nous observons un taux élevé de décès (MFIU ou post-natal) 10 cas sur 30 (soit 33%).

Nous confirmons ici la sévérité de l'allo-immunisation de type RH1 par rapport aux autres types d'allo-immunisation comme le décrit la littérature. Elle est responsable de 72% des cas d'anémie sévère (Hb < 120 g/L) décrites dans notre étude et représente 54% des traitements par photothérapie, 72% des cas de prises d'immunoglobulines et 50% des cas de prise d'albumine. Les 4 cas d'exsanguino-transfusion (100%) et 6 cas de décès (86%) sont attribués à une allo-immunisation anti-RH1 (dont un cas de décès et quatre cas d'exsanguino-transfusion correspondant à une double immunisation anti-RH1 et anti-RH2). Une réflexion s'impose allo-immunisation double anti-RH1 et anti-RH2. Les données de la littérature font état d'une maladie modérée avec l'anti-RH2, mais son association avec l'anti-RH1 a de nombreuses fois été décrite précédemment comme pouvant être responsable d'une maladie hémolytique sévère du nouveau-né.<sup>94,95,96</sup> Il est toujours important de dissocier cette forme avec un anti-G qui peut mimer ces deux anticorps. La sévérité de cette double immunisation pourrait s'expliquer par le statut immunitaire de la mère, étant considéré comme fortement répondeuse.

En portant une attention particulière à l'allo-immunisation anti-RH1 (tableau 23) nous pouvons faire plusieurs remarques :

- La photothérapie est souvent indiquée seule, même en l'absence d'ictère ou d'anémie.
- Il existe bien une corrélation entre le titre de l'anticorps et l'impact clinique. L'apparition d'un ictère semble apparaître au titre d'1/32, l'anémie sévère elle apparaît à partir d'un titre de 1/128.
- Nous sommes plus souvent confrontés à des cas d'ictère que d'anémie.
- Le risque de gestes transfusionnels semblent être accrus à partir du titre de 1/128.
- Un dosage pondéral élevé > 1000 apparaît à partir d'un titre de 1/64.
- Les conséquences cliniques sont majorées à partir d'un seuil de titre de 1/64.

- Le titrage et le dosage pondéral semble corrélés dans notre étude. Nous n'avons pas retrouvé de cas où un titre faible ( $\leq 64$ ) était associé à un dosage pondéral élevé ( $\geq 1000$  UCHP/mL).
- Sur l'ensemble de nos dosage pondéraux élevés ( $\geq 1000$  UCHP/mL), soit 18 cas, nous retrouvons :
  - o 10 cas d'anémie et d'ictère (dont 5 avec un titre 1/128 et 5 avec un titre à 1/256).
  - o 7 cas d'ictère seul (dont 3 avec un titre 1/128 et 4 à 1/256).
  - o 1 cas asymptomatique (1/256)

Sur l'ensemble de dosage pondéraux très élevés ( $\geq 5000$ ), soit 2 cas), nous retrouvons :

- o 2 cas d'ictère seul, avec un titre a 1/256 pour les deux.

Au vu de ces résultats, nous mettons en évidence l'intérêt du titrage et le lien entre titre élevé et conséquences cliniques grave chez le nouveau-né pour des allo-immunisations anti-RH1. Le dosage pondéral, bien qu'informatif pour des valeurs  $\geq 1000$  UCHP/mL, ne semble pas apporter une valeur ajoutée dans le diagnostic de MHNN ainsi que pour l'anticipation des conséquences fœtales et/ou néonatales dans ce type d'allo-immunisation.

L'allo-immunisation anti-RH1 est donc encore la plus fréquente et la plus redoutable, bien qu'un programme de prévention lui soit dédié (injection ciblée d'immunoglobuline anti-D et injection systématique à la 28<sup>ème</sup> SA). Les raisons évoquées pour expliquer cette allo-immunisation résiduelle sont les suivantes : non administration alors qu'il y avait une indication, recours à une posologie inadéquate, défaut d'un protocole bien appliqué (insuffisance de recours au test de Kleihauer quantitatif), hémorragie silencieuse et spontanée. On peut également signaler qu'une population faible mais non connue de femme RhD négatif, avec des histoires obstétricales situées hors de France, et n'ayant pas bénéficié de traitement préventif, peut être atteinte d'allo-immunisation lors d'une nouvelle grossesse en France.<sup>97</sup> Une récente étude sur la pratique des gynécologues obstétriciens a mis en évidence une remise en cause de l'injection à 28 SA de près d'un quart des professionnels de santé.<sup>98</sup> Cette absence de consensus reposerait sur le fait d'administrer, via l'injection systématique, un médicament dérivé du sang, qui n'est pas complètement dénué de risque,<sup>99</sup> à des femmes qui ne portent pas toute un enfant D+ (puisque 15% des fœtus sont D-) créerait un problème d'ordre éthique. L'arrivée de la nomenclature NABM en Juillet 2017 du test de génotypage de l'ADN fœtal sur plasma maternel a pour initiative de s'affranchir de ce problème. En effet, ce test permet d'injecter du Rophylac seulement aux patientes qui présentent un fœtus D+.

En ce qui concerne l'allo-immunisation anti-Kell, le faible nombre de cas rend difficile toute interprétation. Cependant, il est notable que, contrairement aux données de la littérature, l'ensemble de nos cas d'allo-immunisations ont eu pour conséquence un ictère, et non pas une anémie. 3 cas (60%) ont eu recours uniquement à de la photothérapie. Pas de cas sévères ont été notifiés dans notre étude. L'étude de Bowman nous permet d'analyser ce type d'allo-immunisation avec une cohorte plus importante, soit 396 grossesses allo-immunisées anti-Kell entre 1944 et 1992.<sup>86</sup> Parmi les nouveau-nés, 4 décès ont été répertoriés ; 3 hydrops fœtal et un nouveau-né atteint d'ictère nucléaire.

Enfin, dans le cadre de l'allo-immunisation anti-RH4, malgré notre faible nombre de cas, nous pouvons observer qu'il n'y a pas de corrélation entre le titre et l'atteinte clinique. 4 cas (21%) ont eu recours uniquement à la photothérapie. 2 nouveau-nés (10%) ont été transfusés, les titres étaient au pur et au 1/32.

Au cours de l'année 2008, le CNRHP a assuré le suivi de 374 femmes enceintes porteuses d'un anti-RH4, dont le titre variait du pur au 1/256. 19 d'entre-elles disposait de données biologiques et cliniques mère-enfant.<sup>34</sup> L'étude conclut qu'une concentration en anti-RH4 élevée en dosage pondéral > 1000 UCHP/mL en fin de grossesse est prédictive d'une atteinte postnatale parfois sévère tout en s'accompagnant d'un titre modérée (au 1/8). Le dosage pondéral de l'anti-RH4 permet d'anticiper les moyens médicotechniques pour la prise en charge immédiate du nouveau-né et pour le suivi durant les 3 premiers mois (photothérapie intensive et acte transfusionnel spécialisé).<sup>34</sup>

Le titrage et le dosage pondéral sont deux outils indispensables en immuno-hématologie afin de pouvoir anticiper un risque de MHNN. Cependant, leur intérêt et leur interprétation sont dépendants de la spécificité de l'anticorps impliqué. Notre étude montre que le titrage est la technique de référence pour prédire un potentiel risque pathogène chez le fœtus et/ou nouveau-né dans le cas d'une allo-immunisation anti-RH1, alors que dans le cas d'une allo-immunisation anti-RH4, le dosage pondéral serait un meilleur outil.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La maladie hémolytique du nouveau-né en lien avec une IFME non ABO est une situation peu fréquente et très peu d'études réalisées en France sont présentes dans la littérature. Il est nécessaire, du fait de cette faible fréquence d' IFME non-ABO, de disposer d'une grande cohorte initiale. Nous avons eu besoin d'une population de 1632 nouveau-nés avec un examen direct à l'antiglobuline positif (IgG et/ou C3d), afin de pouvoir sélectionner notre cohorte d'intérêt ; 93 cas d'allo-immunisations non ABO à l'AP-HM sur 5 ans.

La grande majorité de ces cas (80%) sont liés à des spécificités d'anticorps pouvant entraîner des cas de maladie hémolytique du nouveau-né mais également des atteintes fœtales (anti-D, anti-c, anti-Kell). La détermination de la spécificité, de l'affinité et de la concentration de l'anticorps, doivent nous permettre d'anticiper une situation à risque pour le fœtus et/ou le nouveau-né. Nous avons pu mettre en évidence, dans le cas d'une allo-immunisation anti-RH1, l'importance du titrage et son intérêt dans l'estimation du risque encouru. Il en ressort qu'un titre supérieur ou égal à 64 est associé à un risque majoré de MHNN sévère et d'anémie néonatale, et que des gestes transfusionnels doivent être impérativement anticiper pour un titre supérieur ou égal à 128. Le dosage pondéral, dans notre étude, semble avoir une place plus secondaire ; il a permis de confirmer des situations à risque mais n'a pas apporté d'informations supplémentaires. D'autres études<sup>34</sup> concluent à un plus grand intérêt du dosage pondéral vis à vis du titrage dans le cas d'allo-immunisations anti-RH4. Les recommandations nationales de 2019 préconisent un dosage pondéral systématique quel que soit le titre de l'anti-RH4.<sup>100</sup>

La prise en charge des nouveau-nés dans notre étude semble respecter les recommandations actuelles. La photothérapie est le traitement de référence dans le cas d'ictère simple à modéré, et son efficacité n'est plus à démontrer. Les prises en charges plus invasives restent rares ; 17 cas de transfusion in utero et 20 transfusions néonatales en 5 ans. On estime que 4% des nouveau-nés avec un examen direct à l'antiglobuline positif devront être transfusés. Bien que peu fréquents, ces gestes invasifs doivent être anticipés et maîtrisés, afin de garantir la sécurité de la mère et de l'enfant.

Nous avons au cours de notre étude recensés 4 MFIU et 7 décès, parmi ces 11 cas, 9 soit (81%) ont eu lieu dans un contexte d'allo-immunisation anti-RH1. Bien qu'une politique d'immunoprophylaxie systématique ciblée pour les femmes RH :-1 soit mise en place depuis

de nombreuses années, l'allo-immunisation anti-RH1 reste la plus fréquente des allo-immunisations non ABO, et la plus redoutable en terme de conséquences cliniques pour le fœtus et/ou le nouveau-né. Nous espérons assister, grâce à l'arrivée à la nomenclature NABM en Juillet 2017 du test de génotype de l'ADN fœtale sur plasma maternel, à une diminution des cas d'allo-immunisations anti-RH1 dans les prochaines années. Les travaux de recherche de développement d'un anticorps monoclonal se sont multipliés afin d'assurer la sécurité biologique des patientes. En France, le LFB (laboratoire du fractionnement et des biotechnologies) a sélectionné un anticorps monoclonal recombinant humain, le Roledumab, sur la base de son activité fonctionnelle. Ce traitement est actuellement en développement clinique de phase IIB en vue d'un enregistrement Européen.

La maladie hémolytique du nouveau-né secondaire à une allo-immunisation anti-public est une situation très rare mais complexe à gérer. Les poches de sang compatibles avec la mère et le nouveau-né sont difficiles à trouver. Il existe différents moyens de palier à ce manque ; une stimulation par érythropoïèse, des prélèvements pour autotransfusion, la recherche de donneurs dans la fratrie, la recherche de donneurs de phénotypes rares pour CGR en phase liquide, la décongélation de CGR à la BNSPR et le suivi des protocoles en cas de transfusion incompatible avec l'enfant en font partis. Une prise en charge pluridisciplinaire impliquant une coordination entre les différents intervenants obstétriciens, pédiatres, biologistes et EFS ou site de délivrance des PSL est essentielle.

Les progrès de diagnostic et de prise en charge de la MHNN permettent, dans la plupart des cas, un pronostic favorable pour le nouveau-né et la possibilité d'envisager plusieurs grossesses pour les femmes immunisées. La persistance des cas souligne la nécessité d'un dialogue interdisciplinaire, notamment entre le gynécologue suivant la grossesse et le pédiatre prenant en charge le nouveau-né. Le relai de l'information entre les différents professionnels de santé, concernant l'ensemble des données immuno-hématologiques et échographiques de la femme enceinte allo-immunisée est un élément clé afin de garantir une prise en charge optimale de la MHNN.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Cortey, A. *et al.* Ictère à bilirubine non conjuguée du nouveau-né de 35 semaines et plus : du dépistage au suivi après sortie de la maternité. Recommandations pour la pratique clinique. *Arch. Pédiatrie* **24**, 192–203 (2017).
2. Cortey, A. Incompatibilités foeto-maternelles érythrocytaires et maladie hémolytique néonatale : prise en charge du nouveau-né et suivi. (2016).
3. CNGOF. Prévention de l'allo-immunisation Rhésus D foetomaternelle. Recommandations pour la pratique clinique. **34**, 360–365 (2006).
4. Brossard, Y. La maladie hémolytique du nouveau-né par incompatibilité foeto-maternelle. *Rev. Française des Lab.* **2001**, 7–10 (2001).
5. Cortey, A. *et al.* Incompatibilités foetomaternelles érythrocytaires. *EMC - Pédiatrie - Mal. Infect.* **7**, 1–22 (2012).
6. d'Ercole, C. Allo-immunisation foetomaternelle érythrocytaire. *EMC - Obs.* **4**, 1–7 (2009).
7. Rigal D., Meyer F., Mayrand E., D. F. Les allo-immunisations foeto-maternelles anti-érythrocytaires - état de l'art en 2008. *Revue Francophone des Laboratoires.* 402-51–62 (2008).
8. Ohto, H. *et al.* Three non-classical mechanisms for anemic disease of the fetus and newborn, based on maternal anti-Kell, anti-Ge3, anti-M, and anti-Jra cases. *Transfus. Apher. Sci.* **59**, 102949 (2020).
9. Wang, D. *et al.* Antibody-mediated glycophorin C coligation on K562 cells induces phosphatidylserine exposure and cell death in an atypical apoptotic process. *Transfusion* **53**, n/a-n/a (2013).
10. Wikman, A., Edner, A., Gryfelt, G., Jonsson, B. & Henter, J.-I. Fetal hemolytic anemia and intrauterine death caused by anti-M immunization. *Transfusion* **47**, 911–917 (2007).
11. Yasuda, H. *et al.* Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn With Late-Onset Anemia due to Anti-M: A Case Report and Review of the Japanese Literature. *Transfus. Med. Rev.* **28**, 1–6 (2014).
12. Castilho, L. & Reid, M. E. A review of the JR blood group system. *Immunohematology* **29**, 63–68 (2019).
13. Schonewille, H. *et al.* HLA-DRB1 associations in individuals with single and multiple clinically relevant red blood cell antibodies. *Transfusion* **54**, 1971–1980 (2014).

14. Chiaroni, J. *et al.* HLA-DRB1 polymorphism is associated with Kell immunisation. *Br. J. Haematol.* **132**, 374–378 (2006).
15. Reviron, D. *et al.* HLA-DRB1 alleles and Jka immunization. *Transfusion* **45**, 956–959 (2005).
16. Picard, C. *et al.* Positive association of DRB1\*04 and DRB1\*15 alleles with Fy a immunization in a Southern European population. *Transfusion* **49**, 2412–2417 (2009).
17. Hildén, J.-O., Gottvall, T. & Lindblom, B. HLA phenotypes and severe Rh(D) immunization. *Tissue Antigens* **46**, 313–315 (1995).
18. Darke, C., Street, J., Sargeant, C. & Dyer, P. A. HLA-DR antigens and properdin factor B allotypes in responders and non-responders to the Rhesus-D antigen. *Tissue Antigens* **21**, 333–335 (2008).
19. Kumar, U. S., Ghosh, K., Gupte, S. S., Gupte, S. C. & Mohanty, D. Role of HLA antigens in Rh (D) alloimmunized pregnant women from Mumbai, Maharashtra, India. *J. Biosci.* **27**, 135–141 (2002).
20. Arrêté du 15 mai 2018 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale.
21. Haute Autorité de Santé. Suivi et orientation des femmes enceintes en fonction des situations à risque identifiées. *Haute Autorité de Santé* (2016).
22. Arrêté du 19/04/1985 relatif aux examens médicaux pré et postnatals.
23. Mannessier, L. La surveillance immunohématologique de la femme enceinte et la nouvelle politique de prévention de l’allo-immunisation anti-RH1. *Transfus. Clin. Biol.* **14**, 112–119 (2007).
24. POISSONNIER, M.-H. *et al.* Incompatibilité foeto-maternelle érythrocytaire. 123 (2001).
25. Mollison, P. The genetic basis of the Rh blood group system. *Transfusion* **34**, 539–541 (1994).
26. Bailly, P., Chiaroni, J. & Roubinet, F. Les groupes sanguins érythrocytaires: . 1–22 (2015).
27. Colin, Y. *et al.* Genetic basis of the RhD-positive and RhD-negative blood group polymorphism as determined by Southern analysis. *Blood* **78**, 2747–2752 (1991).
28. Bailly, P., J., C. & F., R. ‘Système Rh’, les groupes sanguins érythrocytaires. *La Presse médicale* vol. 57 (2015).
29. L’Italien, R. & Leblanc, B. Fréquences d’antigènes et de phénotypes Kell. 167 (2008).
30. Miquel, E., Cavelier, B., Bonneau, J. C. & Rouger, P. Incompatibilités fœtomaternelles érythrocytaires (IFME) : de la surveillance immunohématologique des femmes enceintes



- à la maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN). *Transfus. Clin. Biol.* **12**, 45–55 (2005).
31. Chiaroni, J., Roubinet, F., Bailly, P., Mannessier, L., et Noizat-Pirenne, F. Recherche d'anticorps antiérythrocytaires, Les analyses immunohématologiques et leurs applications cliniques, Libbey. 67–77 (2011).
  32. Adiego, A., Huguet-Jacquot, S., Delaby, H., Mailloux, A. & Toly-Ndour, C. Titration anti-D (RH1) en technique tube : paramètres influençant les résultats du titre et du score. *Transfus. Clin. Biol.* **26**, S60–S61 (2019).
  33. S. Friszer & C.Toly-Ndour. Impact du génotypage foetal dans la prise en charge des grossesses avec allo-immunisation anti-érythrocytaire - Cas cliniques - CNRHP. (2018).
  34. Mailloux, A., Larsen, M., Furic, F., Carbonne, B. & Cortey, A. Allo-immunisations anti-RH4 : intérêt du dosage pondéral dans le suivi des femmes enceintes - Bilan 2008 CNRHP. 2008 (2008).
  35. Filbey, D., Garner, S. F., Hadley, A. G. & Shepard, S. L. Quantitative and functional assessment of anti-RhD: a comparative study of non-invasive methods in antenatal prediction of Rh hemolytic disease. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* **75**, 102–107 (1996).
  36. Koelewijn, J., Slootweg, Y., Kamp, I. Van, Oepkes, D. & De, M. Vers un suivi optimal des grossesses avec allo immunisation non-D, non-k. *Sanquin Bloedvoorziening*.
  37. Slootweg, Y. M. *et al.* Predicting anti-Kell-mediated hemolytic disease of the fetus and newborn : diagnostic accuracy of laboratory management. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **219**, 393.e1-393.e8 (2018).
  38. Koelewijn, J. M. *et al.* Diagnostic value of laboratory monitoring to predict severe hemolytic disease of the fetus and newborn in non-D and non-K-alloimmunized pregnancies. *Transfusion* **60**, 391–399 (2020).
  39. Huguet-Jacquot, S., Toly-Ndour, C., Cortey, A., Carbonne, B. & Mailloux, A. Diagnostic et suivi biologiques des allo-immunisations anti-érythrocytaires chez la femme enceinte. *Rev. Francoph. des Lab.* **2015**, 73–80 (2015).
  40. Badger A. The Monocyte Monolayer Assay ( MMA ). *NZ Blood*.
  41. Zupanska, B. Assays to predict the clinical significance of blood group antibodies. (1998).
  42. Moise, K. J. *et al.* The predictive value of maternal serum testing for detection of fetal anemia in red blood cell alloimmunization. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **172**, 1003–1009 (1995).
  43. Garner, S. F. *et al.* Prediction of the Severity of Haemolytic Disease of the Newborn:

- Quantitative IgG Anti-D Subclass Determinations Explain the Correlation with Functional Assay Results. *Vox Sang.* **68**, 169–176 (1995).
44. Lo, Y. M. D. *et al.* Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* **350**, 485–487 (1997).
  45. Mailloux, A., Da Silva, N. & Yves Brossard, J. Les Techniques de génotypage foetal non-invasif RHD, KEL1 et RHc. (2015).
  46. Mari, G. Noninvasive Diagnosis by Doppler Ultrasonography of Fetal Anemia Due to Maternal Red-Cell Alloimmunization. *Obstet. Gynecol. Surv.* **55**, 341–342 (2000).
  47. Mari, G. *et al.* Flow velocity waveforms of the vascular system in the anemic fetus before and after intravascular transfusion for severe red blood cell alloimmunization. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **162**, 1060–1064 (1990).
  48. Oepkes, D. *et al.* Doppler Ultrasonography versus Amniocentesis to Predict Fetal Anemia. *Obstet. Gynecol. Surv.* **61**, 703–704 (2006).
  49. Halls, A. & McGahan, M. Neonatal jaundice. *Nebr. Med. J.* **74**, 83–84 (1989).
  50. Rennie, J., Burman-Roy, S. & Murphy, M. S. Neonatal jaundice: summary of NICE guidance. *BMJ* **340**, c2409–c2409 (2010).
  51. Labrune, P., Trioche-Eberschweiler, P. & Gajdos, V. Diagnostic de l'ictère du nouveau-né. *EMC - Pédiatrie - Mal. Infect.* **5**, 1–6 (2010).
  52. Y, O. Place du traitement substitutif en albumine des médicaments, des hormones, des électrolytes.
  53. Pediatrics, O. F., Infant, N. & Weeks, M. Management of Hyperbilirubinemia in the Newborn Infant 35 or More Weeks of Gestation. *Pediatrics* **114**, 297–316 (2004).
  54. Battisti, P. O., Cours, C. De, Médecine, F. De, Liège, U. De & Définitions, A. Diagnostic et prise en charge de l'hyperbilirubinémie (à partir de 35 semaines d'âge gestationnel). 1–26.
  55. Kaplan, M. & Hammerman, C. Understanding and preventing severe neonatal hyperbilirubinemia: is bilirubin neurotoxicity really a concern in the developed world? *Clin. Perinatol.* **31**, 555–575 (2004).
  56. Maisels, M. J. *et al.* Hyperbilirubinemia in the Newborn Infant  $\geq$ 35 Weeks' Gestation: An Update With Clarifications. *Pediatrics* **124**, 1193–1198 (2009).
  57. Riskin, A., Tamir, A., Kugelman, A., Hemo, M. & Bader, D. Is Visual Assessment of Jaundice Reliable as a Screening Tool to Detect Significant Neonatal Hyperbilirubinemia? *J. Pediatr.* **152**, 782-787.e2 (2008).
  58. Atkinson, M. & Budge, H. Review of the NICE guidance on neonatal jaundice. *Arch.*

- Dis. Child. - Educ. Pract.* **96**, 136–140 (2011).
59. Schwoebel, A. & Sakraida, S. Hyperbilirubinemia: New Approaches to an Old Problem. *J. Perinat. Neonatal Nurs.* **11**, 78–97 (1997).
  60. Maisels, M. J. Transcutaneous Bilirubin Measurement: Does It Work in the Real World? *Pediatrics* **135**, 364–366 (2015).
  61. HAS. Lecture critique de l' hémogramme : valeurs seuils à reconnaître comme probablement pathologiques et principales variations non pathologiques. *Has* (1997).
  62. C. Chabrieres V. Ferrera. Gestion pratique d'une anémie hémolytique néo-natale. *Etabl. Français du Sang* (2011).
  63. Arsac, M. Le nouveau-né infecté : quelle place pour quel marqueur biologique ? *Spectra Biol.* (2007).
  64. Al., F. et. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase-Deficiency in Transfusion Medicine : The Unknown Risks. *Vox Sang.* **23**, 1–7 (2013).
  65. Maisels, M. J. & McDonagh, A. F. Phototherapy for Neonatal Jaundice. *N. Engl. J. Med.* **358**, 920–928 (2008).
  66. Cremer, R. J., Perryman, P. W. & Richards, D. H. INFLUENCE OF LIGHT ON THE HYPERBILIRUBINÆMIA OF INFANTS. *Lancet* **271**, 1094–1097 (1958).
  67. Vreman, H. J., Wong, R. J. & Stevenson, D. K. Phototherapy: Current methods and future directions. *Semin. Perinatol.* **28**, 326–333 (2004).
  68. Bhutani, V. K. Phototherapy to Prevent Severe Neonatal Hyperbilirubinemia in the Newborn Infant 35 or More Weeks of Gestation. *Pediatrics* **128**, e1046–e1052 (2011).
  69. Tan, K. L. Phototherapy for neonatal jaundice. *Acta Paediatr. Int. J. Paediatr.* **85**, 277–279 (1996).
  70. HAS. Transfusion de globules rouges homologues : produits, indications, alternatives. (2015).
  71. CNRHP. Exsanguino-transfusion (EST) du nouveau-né pour correction d'une hyperbilirubinémie et/ou anémie. (2015).
  72. Magai, D. N. *et al.* A randomized control trial of phototherapy and 20% albumin versus phototherapy and saline in Kilifi, Kenya. *BMC Res. Notes* **12**, 617 (2019).
  73. Vodret, S. *et al.* Albumin administration prevents neurological damage and death in a mouse model of severe neonatal hyperbilirubinemia. *Sci. Rep.* **5**, 16203 (2015).
  74. Chemsî, M. *et al.* Place des immunoglobulines polyvalents intraveineuses dans la prise en charge de l'ictère néonatal par incompatibilité fœto-maternelle rhésus 1. *J. Pédiatrie Puériculture* **34**, 36–43 (2021).

75. Hammerman, C., Vreman, H., Kaplan, M & Stevenson, D. Intravenous immune globulin in neonatal immune hemolytic disease : does it reduce hemolysis ? 1996–1998 (1996).
76. Etablissement Français du Sang. Transfusion du nouveau-né de 0 à 4 mois (hors urgence vitale) V11. (2020).
77. Bordessoule, D. Anémie hémolytiques. *Univ. Limoges*.
78. Pate, L. L. *et al.* Anti-Ge3 causes late-onset hemolytic disease of the newborn: the fourth case in three Hispanic families. *Transfusion* **53**, n/a-n/a (2013).
79. Hurdle ADF & JA, D. The “late” anaemia of haemolytic disease of the newborn. 247–57 (1965).
80. Arndt, P. A. *et al.* Late onset neonatal anaemia due to maternal anti-Ge: possible association with destruction of erythroid progenitors. *Transfus. Med.* **15**, 125–132 (2005).
81. Bricca, P. Gestion des analyses immuno-hématologiques en obstétrique. *EFS Rhones-Alpes-Auvergne* (2016).
82. PACI, C. Etat des lieux et suivi de l’allo-immunisation anti-érythrocytaire des femmes enceintes, par l’EFSAM de 2006 à 2016. **33**, 1–162 (2017).
83. Chiaroni, P. J. Le système de groupe sanguin Lewis Et les antigènes ABH extra érythrocytaires.
84. Ree, I. M. C. *et al.* Neonatal management and outcome in alloimmune hemolytic disease. *Expert Rev. Hematol.* **10**, 607–616 (2017).
85. Deleers, M., Guizani, M., Jani, J., Hulot, M. & El Kenz, H. A case of severe foetal anaemia due to anti-Kell that could not be detected by the weekly assessment of middle cerebral artery peak systolic velocity. *Transfus. Apher. Sci.* **57**, 111–113 (2018).
86. Al, B. J. *et.* Maternal Kell blood group alloimmunisation. *Obs. gynecol* **33**, 35–97 (1999).
87. Indications de photothérapie intensive et d’exsanguino-transfusion pour le nouveau-né de 35 SA et plus. *Société Française de Néonatalogie* **114**, 2015 (2015).
88. Elalfy, M. S., Elbarbary, N. S. & Abaza, H. W. Early intravenous immunoglobulin (two-dose regimen) in the management of severe Rh hemolytic disease of newborn—a prospective randomized controlled trial. *Eur. J. Pediatr.* **170**, 461–467 (2011).
89. Corvaglia, L. *et al.* Intravenous immunoglobulin to treat neonatal alloimmune haemolytic disease. *J. Matern. Neonatal Med.* **25**, 2782–2785 (2012).
90. Zwiers, C., Scheffer-Rath, M. E. A., Lopriore, E., de Haas, M. & Liley, H. G. Immunoglobulin for alloimmune hemolytic disease in neonates. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2018**, (2018).

91. Girault, A. *et al.* Transfusions fœtales érythrocytaires : état des lieux sur 4 ans en France (2011–2014). *J. Gynecol. Obstet. Hum. Reprod.* **46**, 119–124 (2017).
92. Chao, A.-S., Chao, A., Ho, S. Y., Chang, Y.-L. & Lien, R. Anti-E Alloimmunization: A Rare Cause of Severe Fetal Hemolytic Disease Resulting in Pregnancy Loss. *Case Rep. Med.* **2009**, 1–2 (2009).
93. Joy, S. D., Rossi, K. Q., Krugh, D. & O’Shaughnessy, R. W. Management of Pregnancies Complicated by Anti-E Alloimmunization. *Obstet. Gynecol.* **105**, 24–28 (2005).
94. Das, S., Shastry, S., Murugesan, M., B, P. B. & Shastry, S. What is it really? Anti-G or Anti-D plus Anti-C: Clinical Significance in Antenatal Mothers. *Indian J. Hematol. Blood Transfus.* **33**, 259–263 (2017).
95. Fazal, S., Satheesh, M., Anupriya, M. & Poornima, A. Combination of Anti-G and Anti-D antibodies in alloimmunized pregnant female causing severe hemolytic disease of new born. *J. Clin. Neonatol.* **6**, 254 (2017).
96. Negi, G. & Singh, G. D. Anti Rh Hemolytic Disease due to Anti C Antibody: Is Testing for Anti D Antibodies Enough? *Indian J. Hematol. Blood Transfus.* **28**, 121–122 (2012).
97. Branger, B. & Winer, N. Epidemiology of anti-D allo-immunization during pregnancy. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. (Paris).* **35**, 87–92 (2006).
98. Valloton, T. Prévention, suivi et prise en charge de la femme enceinte allo-immunisée en Lorraine. **148**, 148–162 (2011).
99. Tsochandaridis, M., D’Ercole, C., Gabert, J. & Lévy-Mozziconacci, A. 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* **8**, 62–66 (2016).
100. Surveillance Immunohématologique de la femme enceinte allo-immunisée. *EFS LAB/IHE/DC/PR/012* (2019).

## ANNEXES

		Titre
Anti-RH1	n =25 54%	1/8 n=2 1/16 n=1 1/32 n=2 1/64 n= 4 1/128 n=8 1/256 ou + n=7 Pas d'IL n=1
Anti-RH1 +Anti-RH2	n =10 22%	
Anti-RH1 + Anti ABO1	n = 1 2%	
Anti RH12 + Anti RH2	n=1 2%	
Anti RH4	n = 3 6%	
Anti RH3 + Anti RH4	n =1 2%	
Anti RH3 + antipublic	n = 1 2%	
Anti KEL1	n = 3 6%	
Anti CO3	n = 1 2%	

*Annexe 1 Anticorps impliqués dans les photothérapies n=46*

	N = 21	Titre	Dosage pondéral
Anti-RH1	15 72%	1/32 n = 1 1/64 n=1 1/128 n= 7 1/256 n = 4 >256 n = 1 Pas d'IL n=1	< 1000 n= 4 1000 – 10 000 n= 10 Pas d'IL n=1
Anti RH1 + Anti RH2	4 19%	¼ n=1 1/256 n=3	<1000 n=1 1000 -10 000 n=2 NR n=1
Anti RH1 + Anti FY1	1 5%	1/256 n=1	< 1000 n=1
Anti RH12 + Anti RH2	1 5%	1/64	1000 – 10 000 n =1
Anti-public GE3	1 5%	1/256	Non réalisé

*Annexe 2 Anticorps impliqués dans la prise d'immunoglobulines n=22*

Anticorps	Nombre de cas	Titre	Dosage pondéral
Anti-RH1	2 50%	1/256 n = 1 Pas d'IL n=1	< 1000 n=1
Anti-RH1 + Anti -RH2	2 50%	1/256 n = 2	< 1000 n=1 1000 – 10 000 n=1

*Annexe 3 Anticorps impliqués dans la prise d'albumine n=4*

**Tableau 6.** Valeurs usuelles de l'hémogramme chez les enfants de moins de 1 an (19, 20).

	0-1 mois	1 mois	2 mois	4 mois	6 mois	9 mois	12 mois
<b>Hb (g/dL)</b>	16,6 ± 0,11	13,9 ± 0,10	11,2 ± 0,06	12,2 ± 0,14	12,6 ± 0,10	12,7 ± 0,09	12,7 ± 0,09
<b>Limite inférieure</b>	13,4	10,7	9,4	10,3	11,1	11,4	11,3
<b>Globules rouges (10<sup>6</sup>/L)</b>	4,9 ± 0,03	4,3 ± 0,3	3,7 ± 0,02	4,3 ± 0,06	4,7 ± 0,05	4,7 ± 0,04	4,7 ± 0,04
<b>Valeurs limites</b>	3,9-5,0	3,3-5,3	3,1-4,3	3,5-5,1	3,9-5,5	4,0-5,3	4,1-5,3
<b>VGm (μ<sup>3</sup>)</b>	105,3 ± 0,6	101,3 ± 0,3	94,8 ± 0,3	86,7 ± 0,8	76,3 ± 0,6	77,7 ± 0,5	77,5 ± 0,5
<b>Limite inférieure</b>	88	91	84	76	68	70	71
<b>Leucocytes (10<sup>9</sup>/L)</b>	11 400	10 800			11 900		11 400
	5 000-20 000	5 000-19 500			6 000-17 500		6 000-17 500
<b>Neutrophiles (10<sup>9</sup>/L)</b>	4 500	3 800			3 800		3 500
	1 000-9 500	1 000-9 000			1 000-8 500		1 500-8 500
<b>Éosinophiles (10<sup>9</sup>/L)</b>	400	300			300		300
<b>Monocytes (10<sup>9</sup>/L)</b>	1 000	700			600		600
<b>Lymphocytes (10<sup>9</sup>/L)</b>	5 500	6 000			7 300		7 000
	2 000-17 000	2 500-16 500			4 000-13 500		4 000-10 500

**Globules rouges :** sont indiquées les valeurs moyennes et les valeurs de référence définies par les valeurs situées à plus et à moins 2 écarts-types de la moyenne. Ces valeurs sont calculées après exclusion des enfants ayant une carence en fer, ou des enfants non supplémentés en fer de façon systématique (19).

**Leucocytes :** sont indiquées les valeurs moyennes des numérations et les valeurs de référence ici définies par les bornes d'un intervalle de confiance à 95%. Pour les éosinophiles et les monocytes, seules les valeurs moyennes des numérations sont fournies (20). Ces données ne sont qu'indicatives, et fournies avec réserve compte tenu de leur origine.