



**HAL**  
open science

# Traitement du plasma par dithiothréitol (DTT) et son application au suivi des femmes enceintes présentant une allo-immunisation anti-MNS1

Sylvain Portets

► **To cite this version:**

Sylvain Portets. Traitement du plasma par dithiothréitol (DTT) et son application au suivi des femmes enceintes présentant une allo-immunisation anti-MNS1. Médecine humaine et pathologie. 2024. dumas-04769288

**HAL Id: dumas-04769288**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04769288v1>**

Submitted on 6 Nov 2024

**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

**Traitement du plasma par dithiothréitol (DTT) et son application au suivi des femmes enceintes présentant une allo-immunisation anti-MNS1**

**THÈSE**

présentée et soutenue publiquement

le 15 octobre 2024

pour obtenir le Diplôme d'Etat de

**DOCTEUR EN MEDECINE**

PAR

Sylvain PORTETS

Né le 26 mai 1994 à Audincourt (25)

**Président** : Madame le Professeur GARNACHE-OTTOU Francine

**Directeur de la thèse** : Monsieur le Docteur JOUBAUD Patrick

**Juges** : Monsieur le Professeur MOTTET Nicolas

Madame le Docteur MAILLOUX Agnès

Madame le Docteur BRANGER Marine









**Traitement du plasma par dithiothréitol (DTT) et son application au suivi des femmes enceintes présentant une allo-immunisation anti-MNS1**

**THÈSE**

présentée et soutenue publiquement

le 15 octobre 2024

pour obtenir le Diplôme d'Etat de

**DOCTEUR EN MEDECINE**

PAR

Sylvain PORTETS

Né le 26 mai 1994 à Audincourt (25)

**Président** : Madame le Professeur GARNACHE-OTTOU Francine

**Directeur de la thèse** : Monsieur le Docteur JOUBAUD Patrick

**Juges** : Monsieur le Professeur MOTTET Nicolas

Madame le Docteur MAILLOUX Agnès

Madame le Docteur BRANGER Marine





UNIVERSITÉ DE FRANCHE-COMTÉ  
U.F.R. SCIENCES DE LA SANTE  
BESANÇON

---

DIRECTEUR	<b>P PROFESSEUR THIERRY MOULIN</b>	
DIRECTEURS ADJOINTS	<b>PROFESSEUR XAVIER BERTRAND</b>	DOYEN PHARMACIE
	<b>PROFESSEUR MALIKA BOUHADDI</b>	DIRECTEUR DES ETUDES
RESPONSABLE ADMINISTRATIVE	<b>MME CAROLE COINTEAU</b>	
<b>DEPARTEMENT MEDECINE</b>		
	PROFESSEUR Emmanuel HAFEN	DIRECTEUR DES ÉTUDES
	PROFESSEUR JEAN-PAUL FEUGEAS	ASSESEUR 1ER CYCLE
	PROFESSEUR MARIE-FRANCE SERONDE	ASSESEURS 2EME CYCLE
	PROFESSEUR CATHERINE CHIROUZE	ASSESEURS 3EME CYCLE
	PROFESSEUR THIBAUT DESMETTRE	COORDINATEUR MEDECINE
	PROFESSEUR BENOIT DE BILLY	COORDINATEUR CHIRURGIE
	PROFESSEUR BENOIT DINET	COORDINATEUR MEDECINE GENERALE
<b>DEPARTEMENT PHARMACIE</b>		
	PROFESSEUR XAVIER BERTRAND	DOYEN PHARMACIE
	PROFESSEUR LHASSANE ISMAILI	DIRECTEUR DES ETUDES
	PROFESSEUR SAMUEL LIMAT	COORDINATEURS 3E CYCLE
	PROFESSEUR VIRGINIE NERICH	
<b>DEPARTEMENT MAÏEUTIQUE</b>		
	BEATRICE LIEGEON VAN EIS (SAGE-FEMME)	COORDINATEURS PEDAGOGIQUES
<b>DEPARTEMENT ODONTOLOGIE</b>		
	DOCTEUR EDOUARD EUVRARD (PAST)	COORDINATEURS PEDAGOGIQUES
	DOCTEUR SOPHIE PECHOUX (PAST)	
	PROFESSEUR CHRISTOPHE MEYER	
<b>DEPARTEMENT SCIENCES DES METIERS DE LA REEDUCATION : ORTHOPHONIE</b>		
	ALAIN DEVEVEY (MCF)	COORDINATEURS PEDAGOGIQUES
	PROFESSEUR ELOI MAGNIN	
<b>DEPARTEMENT SCIENCES DES METIERS DE LA REEDUCATION : KINESITHERAPIE</b>		
	CHRISTOPHE DINET (KINESITHERAPIE - BESANÇON)	COORDINATEURS PEDAGOGIQUES
	ALEXANDRE KUBICKI (KINESITHERAPIE - MONTBELAIRD) (MCF)	
	YOSHIMASA SAGAWA (MCF)	
<b>DEPARTEMENT SCIENCES DES METIERS DE LA REEDUCATION : ERGOTHERAPIE/PSYCHOMOTRICITE</b>		
	GAELE BLERVAQUE (MAST)	COORDINATRICES PEDAGOGIQUES
	JULIE LAPREVOTTE (MAST)	



## DEPARTEMENT SCIENCES INFIRMIERES

ALINE CHASSAGNE (MCF)	COORDINATEURS PEDAGOGIQUES
CHRISTINE MEYER (SOINS INFIRMIERS IFSI)	
DOCTEUR ANTOINE THIERY-VUILLEMIN (MCU-PH)	
PROFESSEUR FABRICE VUILLIER	COORDINATEUR PEDAGOGIQUE IPA

## DEPARTEMENT DE PEDAGOGIE

PROFESSEUR CLEMENT PRATI	RESPONSABLE
PROFESSEUR SEBASTIEN PILI-FLOURY	CENTRE DE SIMULATION
PROFESSEUR BENOIT DINET	
DOCTEUR FRANK VERHOEVEN	
STEPHANIE PARIS (MAÏEUTIQUE)	
MARC PUDLO (PHARMACIE)	
ALAIN DEVEVEY (REEDUCATION)	
VERONIQUE GRATTARD (REEDUCATION)	
LAURENCE GANDON (INFIRMIER)	

## RELATIONS HUMAINES DE L'UFR

PROFESSEUR SYLVIE NEZELOF	ASSESEUR
---------------------------	----------

## COMMISSION SCIENTIFIQUE DE L'UFR

PROFESSEUR VIRGINIE WESTEEL	ASSESEUR RECHERCHE - PRESIDENTE
PROFESSEUR FREDERIC AUBER	VICE-PRESIDENT

## CHARGES DE MISSIONS

### *FORMATION CONTINUE*

MME SYLVIE BOBILLIER-CHAUMONT DEVAUX (MCF)	COORDINATEURS
--	---------------

### *HISTOIRE DE LA MEDECINE*

PROFESSEUR LAURENT TATU	COORDINATEURS
DOCTEUR PHILIPPE MERCET	

### *RELATIONS INTERNATIONALES*

PROFESSEUR KATY JEANNOT	COORDINATEURS
DOCTEUR SOPHIE BOROT (MCU-PH)	
DOCTEUR OLEG BLAGOSKLONOV (MCU-PH)	

### *ALUMNI-USB*

PROFESSEUR GILLES CAPELLIER	COORDINATEUR
PROFESSEUR GABRIEL CAMELOT (EMERITE)	PRESIDENT HONORAIRE

---

# MÉDECINE

---

## PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS – PRATICIENS HOSPITALIERS

M.	Olivier	<b>ADOTEVI</b>	IMMUNOLOGIE
M.	Frédéric	<b>AUBER</b>	CHIRURGIE INFANTILE
M.	François	<b>AUBIN</b>	DERMATO-VÉNÉRÉOLOGIE
M.	Jamal	<b>BAMOULID</b>	IMMUNOLOGIE
Mme	Cindy	<b>BARNIG</b>	PNEUMOLOGIE
Mme	Djamila	<b>BENNABI</b>	PSYCHIATRIE ADULTES
M.	Guillaume	<b>BESCH</b>	ANESTHESIE REANIMATION
M.	Frédéric	<b>BIBEAU</b>	ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES
Mme	Alessandra	<b>BIONDI</b>	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MÉDICALE
M.	Christophe	<b>BORG</b>	CANCÉROLOGIE
M.	Hatem	<b>BOULAHDOUR</b>	BIOPHYSIQUE ET MÉDECINE NUCLÉAIRE
Mme	Catherine	<b>CHIROUZE</b>	MALADIES INFECTIEUSES
M.	Romain	<b>CHOPARD</b>	CARDIOLOGIE
M	Sidney	<b>CHOCRON</b>	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE
Mme	Cécile	<b>COURIVAUD</b>	NÉPHROLOGIE
M.	Siamak	<b>DAVANI</b>	PHARMACOLOGIE CLINIQUE
M.	Benoît	<b>DE BILLY</b>	CHIRURGIE INFANTILE
M.	Eric	<b>DECONINCK</b>	HÉMATOLOGIE
M	Eric	<b>DELABROUSSE</b>	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MÉDICALE
M.	Thibaut	<b>DESMETTRE</b>	MÉDECINE D'URGENCE (DISPONIBILITE)
M.	Vincent	<b>DI MARTINO</b>	HÉPATOLOGIE
M.	Didier	<b>DUCLoux</b>	NÉPHROLOGIE
M.	Jean-Paul	<b>FEUGEAS</b>	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
M	Patrick	<b>GARBUIO</b>	CHIRURGIE ORTHOPÉDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
Mme	Anne-Sophie	<b>GAUTHIER</b>	OPHTALMOLOGIE
M.	Emmanuel	<b>HAFFEN</b>	PSYCHIATRIE d'ADULTES
M.	Georges	<b>HERBEIN</b>	VIROLOGIE
M.	Bruno	<b>HEYD</b>	CHIRURGIE GÉNÉRALE
M.	Didier	<b>HOCQUET</b>	HYGIÈNE HOSPITALIÈRE
Mme	Katy	<b>JEANNOT</b>	BACTÉRIOLOGIE - VIROLOGIE
M	François	<b>KLEINCLAUSS</b>	UROLOGIE
M.	Paul	<b>KUENTZ</b>	HISTOLOGIE EMBRYOLOGIE ET CYTOGENETIQUE
M.	Zaher	<b>LAKKIS</b>	CHIRURGIE VISCÉRALE ET DIGESTIVE
M.	Daniel	<b>LEPAGE</b>	ANATOMIE
M.	Quentin	<b>LEPILLER</b>	BACTERIOLOGIE VIROLOGIE, HYGIENE HOSPITALIERE
M.	Eloi	<b>MAGNIN</b>	NEUROLOGIE
Mme	Nadine	<b>MAGY-BERTRAND</b>	MEDECINE INTERNE
M.	Frédéric	<b>MAUNY</b>	BIostatISTIQUES, INFORMATIQUE MÉDICALE
M.	Nicolas	<b>MENEVEAU</b>	CARDIOLOGIE
M.	Christophe	<b>MEYER</b>	CHIRURGIE MAXILLO FACIALE ET STOMATOLOGIE
M.	Fabrice	<b>MICHEL</b>	MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION (DISPONIBILITE)
Mme	Laurence	<b>MILLON</b>	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE
M.	Nicolas	<b>MOTTET</b>	GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE
M.	Thierry	<b>MOULIN</b>	NEUROLOGIE

M	Sylvie	<b>NEZELOF</b>	PÉDOPSYCHIATRIE
M	Laurent	<b>OBERT</b>	CHIRURGIE ORTHOPÉDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
M.	Andréas	<b>PERROTTI</b>	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE
M.	Sébastien	<b>PILI-FLOURY</b>	ANESTHÉSIOLOGIE RÉANIMATION
M.	Gaël	<b>PITON</b>	MEDECINE INTENSIVE REANIMATION
M.	Clément	<b>PRATI</b>	RHUMATOLOGIE
M	Jean-Luc	<b>PRETET</b>	BIOLOGIE CELLULAIRE
M.	Rajeev	<b>RAMANAH</b>	GYNÉCOLOGIE - OBSTÉTRIQUE
M.	Simon	<b>RINCKENBACH</b>	CHIRURGIE VASCULAIRE
M	Emmanuel	<b>SAMAIN</b>	ANESTHÉSIOLOGIE RÉANIMATION
M.	François	<b>SCHIELE</b>	CARDIOLOGIE
Mme	Marie-France	<b>SERONDE</b>	CARDIOLOGIE
M	Laurent	<b>TATU</b>	ANATOMIE
M.	Laurent	<b>TAVERNIER</b>	OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE
M.	Thierry	<b>THEVENOT</b>	HÉPATOLOGIE
M.	Laurent	<b>THINES</b>	NEUROCHIRURGIE
M.	Gérard	<b>THIRIEZ</b>	PÉDIATRIE
M.	Pierre	<b>TIBERGHIE</b>	IMMUNOLOGIE
M.	Eric	<b>TOUSSIROT</b>	THÉRAPEUTIQUE
M.	Pierre	<b>VANDEL</b>	PSYCHIATRIE d'ADULTES (DISPONIBILITE)
M.	Fabrice	<b>VUILLIER</b>	ANATOMIE
Mme	Lauriane	<b>VULLIEZ COADY</b>	PEDO-PSYCHIATRIE
Mme	Lucine	<b>VUITTON</b>	GASTRO-ENTEROLOGIE
Mme	Virginie	<b>WESTEEL-KAULEK</b>	PNEUMOLOGIE

## PROFESSEURS EMÉRITES

M.	Jean-Luc	<b>BRESSON</b>	BIOLOGIE ET MEDECINE DU DEVELOPPEMENT ET DE LA REPRODUCTION
M	Gilles	<b>CAPELLIER</b>	MÉDECINE INTENSIVE RÉANIMATION
M.	Jean-Luc	<b>CHOPARD</b>	MEDECINE LEGALE
M.	Alain	<b>CZORNY</b>	NEUROCHIRURGIE
M.	Bernard	<b>DELBOSC</b>	OPHTALMOLOGIE
M.	Gilles	<b>DUMOULIN</b>	PHYSIOLOGIE
M.	Dominique	<b>FELLMANN</b>	CYTOLOGIE ET HISTOLOGIE
M.	Georges	<b>MANTION</b>	CHIRURGIE GÉNÉRALE
Mme	Christiane	<b>MOUGIN</b>	BIOLOGIE CELLULAIRE
M.	Bernard	<b>PARRATTE</b>	ANATOMIE
M.	Patrick	<b>PLESIAT</b>	BACTERIOLOGIE - VIROLOGIE
M.	Christophe	<b>ROUX</b>	BIOLOGIE ET MÉDECINE DU DÉVELOPPEMENT ET DE LA REPRODUCTION
M.	Daniel	<b>SECHTER</b>	PSYCHIATRIE D'ADULTES
Mme	Dominique	<b>VUITTON</b>	IMMUNOLOGIE
M.	Daniel	<b>WENDLING</b>	RHUMATOLOGIE

## MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme	Clotilde	<b>AMIOT</b>	HISTOLOGIE EMBRYOLOGIE ET CYTOGENETIQUE
Mme	Anne-Pauline	<b>BELLANGER</b>	PARASITOLOGIE
M.	Matthieu	<b>BEREAU</b>	THERAPEUTIQUE
Mme	Sophie	<b>BOROT</b>	ENDOCRINOLOGIE, DIABÈTE ET MALADIES MÉTABOLIQUES
Mme	Malika	<b>BOUHADDI</b>	PHYSIOLOGIE
M.	Kévin	<b>BOUILLER</b>	MALADIES INFECTIEUSES (DELEGATION MISSION D'ETUDE)
M.	Paul	<b>CALAME</b>	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE
M.	Yann	<b>CHAUSSY</b>	CHIRURGIE INFANTILE
M.	Alain	<b>COAQUETTE</b>	VIROLOGIE
Mme	Elsa	<b>CURTIT</b>	CANCÉROLOGIE
M.	Etienne	<b>DAGUINDAU</b>	HEMATOLOGIE
M.	Maxime	<b>DESMARETS</b>	EPIDEMIOLOGIE, ECONOMISE DE LA SANTE ET PREVENTION
Mme	Julie	<b>GIUSTINIANI</b>	PSYCHIATRIE D'ADULTES ; ADDICTOLOGIE
M.	François	<b>LOISEL</b>	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
Mme	Tania	<b>MARX</b>	MEDECINE D'URGENCE
Mme	Elisabeth	<b>MEDEIROS</b>	NEUROLOGIE
M	Patrice	<b>MURET</b>	PHARMACOLOGIE CLINIQUE
Mme	Charlée	<b>NARDIN</b>	DERMATOLOGIE
M.	Fabien	<b>PELLETIER</b>	DERMATO-VÉNÉRÉOLOGIE
Mme	Isabelle	<b>PLUVY</b>	CHIRURGIE PLASTIQUE, RECONSTRUCTRICE ET ESTHETIQUE (DELEGATION MISSION D'ETUDE)
Mme	Anaïs	<b>POTRON</b>	BACTÉRIOLOGIE - VIROLOGIE
M.	Zohair	<b>SELMANI</b>	BIOLOGIE CELLULAIRE
M.	Antoine	<b>THIERY-VUILLEMIN</b>	CANCÉROLOGIE (DISPONIBILITE)
M.	Frank	<b>VERHOEVEN</b>	RHUMATOLOGIE
Mme.	Delphine	<b>WEIL- VERHOEVEN</b>	HEPATOLOGIE
M	Hadrien	<b>WINISZEWSKI</b>	MEDECINE INTENSIVE-REANIMATION

## ENSEIGNANTS ASSOCIÉS

M.	Rémi	<b>BARDET</b>	PR associé MÉDECINE GÉNÉRALE
M.	Francis	<b>BERTHIER</b>	PR associé ANESTHESIE-REANIMATION
Mme	Hélène	<b>BIGEARD- JOUFFROY</b>	MCF associé PARODONTOLOGIE
Mme	Anne-Lise	<b>BOLOT</b>	MCF associé MÉDECINE GÉNÉRALE
M.	Benoît	<b>DINET</b>	PR associé MÉDECINE GÉNÉRALE
M.	Edouard	<b>EUVRARD</b>	PR associé CHIRURGIE ORALE (ODONTOLOGIE)
Mme	Catherine	<b>GAY</b>	PR associé GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
M.	Abdo	<b>KHOURY</b>	PR associé Médecine d'urgence
Mme	Aurore	<b>LEBEAU-JEUNET</b>	MCF ASSOCIE MEDECINE GENERALE
M.	Thierry	<b>LEPETZ</b>	PR associé MÉDECINE GÉNÉRALE
M.	José-Philippe	<b>MORENO</b>	PR associé MÉDECINE GÉNÉRALE
Mme	Sophie	<b>PECHOUX</b>	MCF associé DENTISTERIE RESTAURATRICE (ODONTOLOGIE)
M.	Jean-Michel	<b>PERROT</b>	PR associé MÉDECINE GÉNÉRALE
M.	Thomas	<b>RODRIGUEZ</b>	MCF associé MÉDECINE GÉNÉRALE
Mme	Christine	<b>ROMAGNA</b>	PR associé CHIRURGIE ORAL
Mme	Esther	<b>SZWARC</b>	MCF associé SANTE AU TRAVAIL

# PHARMACIE

## PROFESSEURS

M.	Xavier	<b>BERTRAND</b>	MICROBIOLOGIE - INFECTIOLOGIE
Mme	Céline	<b>DEMOUGEOT</b>	PHARMACOLOGIE
Mme	Francine	<b>GARNACHE-OTTOU</b>	HÉMATOLOGIE
Mme	Corine	<b>GIRARD</b>	PHARMACOGNOSIE
M.	Yann	<b>GODET</b>	IMMUNOLOGIE
M.	Frédéric	<b>GRENOUILLET</b>	PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE
M.	Yves	<b>GUILLAUME</b>	CHIMIE ANALYTIQUE
M.	Lhassane	<b>ISMAILI</b>	CHIMIE ORGANIQUE
M.	Samuel	<b>LIMAT</b>	PHARMACIE CLINIQUE
M.	Frédéric	<b>LIRUSSI</b>	PHARMACOLOGIE - TOXICOLOGIE
M.	Dominique	<b>MEILLET</b>	PARASITOLOGIE – MYCOLOGIE
Mme	Virginie	<b>NERICH</b>	PHARMACIE CLINIQUE
M.	Yann	<b>PELLEQUER</b>	PHARMACIE GALÉNIQUE
M.	Bernard	<b>REFOUVELET</b>	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
M.	Philippe	<b>SAAS</b>	IMMUNOLOGIE (DISPONIBILITE)
Mme	Marie-Christine	<b>WORONOFF-LEMSI</b>	PHARMACIE CLINIQUE

## PROFESSEUR EMÉRITE

Mme	Laurence	<b>NICOD</b>	BIOLOGIE CELLULAIRE
-----	----------	--------------	---------------------

## MAITRES DE CONFÉRENCES

Mme	Aurélie	<b>BAGUET</b>	BIOCHIMIE
M.	Arnaud	<b>BEDUNEAU</b>	PHARMACIE GALÉNIQUE
M.	Laurent	<b>BERMONT</b>	BIOCHIMIE
M.	Oleg	<b>BLAGOSKLONOV</b>	BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE
Mme	Oxana	<b>BLAGOSKLONOV</b>	GÉNÉTIQUE
Mme	Céline	<b>BOUVIER-SLEKOVEC</b>	HYGIENE PREVENTION RISQUES INFECTIEUX
M.	Eric	<b>CAVALLI</b>	CHIMIE PHYSIQUE ET MINÉRALE
Mme	Anne-Laure	<b>CLAIRET</b>	PHARMACIE
M.	Jean-Patrick	<b>DASPET</b>	BIOPHYSIQUE
Mme	Sylvie	<b>SYLVIE BOBILLIER- CHAUMONT DEVAUX</b>	PHYSIOLOGIE
Mme	Jeanne	<b>GALAINE</b>	SCIENCES BIOLOGIQUES, FONDAMENTALES ET CLINIQUES
Mme	Marie	<b>KROEMER</b>	SCIENCES DU MÉDICAMENT ET AUTRES PRODUITS DE SANTÉ
Mme	Isabelle	<b>LASCOMBE</b>	BIOCHIMIE / ISIFC
Mme	Carole	<b>MIGUET ALFONSI</b>	TOXICOLOGIE
M.	Johnny	<b>MORETTO</b>	PHYSIOLOGIE
M.	Brice	<b>MOULARI</b>	PHARMACIE GALÉNIQUE
M.	Frédéric	<b>MUYARD</b>	PHARMACOGNOSIE
M.	Marc	<b>PUDLO</b>	CHIMIE THÉRAPEUTIQUE
M.	Florian	<b>RENOSI</b>	SCIENCES BIOLOGIQUES, FONDAMENTALES ET CLINIQUES
MME	Nathalie	<b>RUDE</b>	BIOMATHÉMATIQUES ET BIostatISTIQUES
M.	François	<b>SENEJOUX</b>	PHARMACOGNOSIE
Mme	Perle	<b>TOTOSON</b>	PHARMACOLOGIE

## ENSEIGNANTS ASSOCIÉS

M	Lionel	<b>PAZART</b>	PAST PHARMACIE SCIENCES DU MEDICAMENT
Mme	Florence	<b>VAN LANDUYT</b>	PAST PHARMACIE CLINIQUE – OFFICINE

---

## PROFESSIONS DE SANTE

---

Mme	Aline	<b>CHASSAGNE</b>	MAITRE DE CONFERENCES SCIENCES INFIRMIERES
M.	Alain	<b>DEVEVEY</b>	MAITRE DE CONFERENCES SCIENCES LANGAGE- ORTHOPHONIE
M.	Alexandre	<b>KUBICKI</b>	MAITRE DE CONFERENCES SCIENCES DE REEDUCATION ET DE READAPTATION - KINESITHERAPIE
M.	Yoshimasa	<b>SAGAWA JUNIOR</b>	MAITRE DE CONFERENCES SCIENCES DE REEDUCATION ET DE READAPTATION - KINESITHERAPIE
MME	Geneviève	<b>MERELLE</b>	MAST EN ORTHOPHONIE
MME	Sophie	<b>SALTARELLI</b>	MAST EN ORTHOPHONIE
MME	Christine	<b>BRET-LEGRAND</b>	MAST EN ORTHOPHONIE
MME	Alice	<b>BOULLAUD</b>	PROFESSEUR CERTIFIEE - ERGOTHERAPIE
MME	Gaelle	<b>BLERVAQUE</b>	MAST ERGOTHERAPIE/PSYCHOMOTRICITE
MME	Julie	<b>LAPREVOTTE</b>	MAST ERGOTHERAPIE/PSYCHOMOTRICITE

---

## AUTRES ENSEIGNANTS

---

MME	Lise	<b>FIARDET</b>	PROFESSEUR AGREGEE ANGLAIS
MME	Vanessa	<b>MARTIN</b>	PROFESSEUR AGREGEE ANGLAIS
M.	Nicolas	<b>MICHAUD</b>	PROFESSEUR AGREGE ANGLAIS
M.	Charles Dale	<b>SANTANA</b>	PROFESSEUR AGREGE ANGLAIS



## **REMERCIEMENTS**

### **Au Président du Jury, le Professeur Francine Garnache-Ottou,**

Vous me faites l'honneur de présider ce jury, et je vous en remercie. Vous avez été d'une grande aide et prodigué de précieux conseils. Je vous remercie de m'avoir accordé votre confiance et d'avoir toujours été disponible malgré vos nombreuses obligations. Je tiens à vous remercier tout particulièrement de m'avoir permis de maintenir cette double activité avec l'EFS dans le cadre de ma thèse. Je suis fier d'avoir bénéficié de votre formation et je tiens à vous exprimer mon profond respect.

### **A mon directeur de thèse, le Docteur Patrick Joubaud,**

Je vous remercie d'avoir accepté de diriger ma thèse. Je vous suis reconnaissant pour vos nombreux conseils ainsi que pour votre temps précieux consacré à mon travail. Je vous remercie pour votre investissement dans la formation des internes. Vous savez rendre les choses simples et votre esprit de synthèse est toujours apprécié. Votre expérience et votre vision de la biologie médicale sont pour moi une source d'inspiration. Enfin, je tiens à vous exprimer toute ma sympathie et mon estime, tant sur le plan professionnel que personnel.

### **Au Professeur Nicolas Mottet,**

Je vous remercie d'avoir accepté de juger mon travail malgré vos nombreuses obligations et d'apporter votre regard critique en tant que clinicien et expert dans les soins prénataux ainsi que dans la gestion des grossesses à risque. Soyez assuré de ma sincère reconnaissance.

### **Au Docteur Agnès Mailloux,**

Vous me faites l'honneur de vous déplacer pour juger mon travail, et je vous en remercie sincèrement. Votre expertise dans le domaine de l'hémobiologie périnatale m'inspire, et c'est un privilège de vous compter parmi les membres du jury. Soyez assurée de ma profonde gratitude.

### **Au Docteur Marine Branger,**

Je vous remercie d'avoir accepté de siéger au jury de cette thèse. Je vous suis reconnaissant de m'avoir permis de réaliser ce travail au sein de l'EFS-BFC. Votre expertise et votre engagement auprès des laboratoires d'immuno-hématologie de l'EFS sont très appréciés. Je tiens à vous exprimer mes sincères remerciements.





### **A toutes les équipes de l'EFS,**

Je tiens à exprimer ma plus grande gratitude à l'ensemble des biologistes, des techniciens et des secrétaires de l'EFS avec lesquels j'ai eu la chance de travailler.

Merci à Lydia, Alexandra F, Cindy, Karine, Patricia, Corinne, Lucie, Charline, Caroline, Florence, Alexandra B, Léa et Rachel. Vous formez une équipe formidable, et ce fut un plaisir de travailler à vos côtés, d'abord pendant mon stage, puis lors des travaux de ma thèse. Votre compétence, votre bonne humeur constante et votre disponibilité ont largement contribué à la réussite de ce travail. Sans vous, je n'aurais pas pu mener ce projet à bien, et je vous exprime mes sincères remerciements.

Merci Isabel, tu es toujours disponible et tu proposes toujours ton aide, les discussions avec toi sont toujours enrichissantes.

### **Au Docteur Vanessa Ratier,**

Vanessa, je tiens à t'exprimer toute ma gratitude. Tu m'as toujours mis dans d'excellentes conditions de travail, d'abord lors de mon stage où tu m'as accordé du temps pour me former en immuno-hématologie. Je te remercie pour la confiance que tu m'as accordée à cette occasion, ce fût un plaisir de travailler avec toi. Je te remercie tout particulièrement d'avoir œuvré pour me placer dans les meilleures conditions possibles pour la réalisation de cette thèse. Je t'estime énormément, tant sur le plan professionnel que personnel, toujours attentionnée et pleine de bons conseils.

### **Au Docteur Alizée Guyon,**

Alizée, c'est une mention spéciale que je tiens à te faire. Ce fut un réel plaisir de travailler à tes côtés durant tout ce temps passé à l'EFS. Tu dégages des ondes positives, toujours accompagnées de drôles d'anecdotes. Ta sincérité et ton humour contribuent à créer une excellente ambiance de travail. Tes conseils avisés et tes petites attentions sont toujours appréciés. C'est toujours avec grand plaisir que je discute avec toi, et je t'admire énormément. On peut toujours compter sur toi. Tu étais non seulement une collègue, mais aussi une amie. Je t'exprime toute ma gratitude.

**A vous deux, ma place à vos côtés me manquera.**

### **Au Docteur Fanny Delettre,**

Je tiens à te remercier pour ta bienveillance lors de mon stage. Tes nombreuses qualités font de toi une dirigeante remarquable et appréciée. Je tiens à t'exprimer ma sincère reconnaissance pour m'avoir permis de poursuivre ce travail au sein de l'EFS. Je te remercie et te souhaite beaucoup de succès et de courage dans tes nouvelles fonctions.



### **Aux équipes des laboratoire d'hématologie du CHU,**

Merci à tous les techniciens, secrétaires et biologistes du CHU avec qui j'ai eu la chance de travailler. J'ai passé d'excellentes années dans les services d'hématologie, où j'ai toujours été chaleureusement accueilli. Que ce soit avec les techniciens ou les biologistes, je me suis senti pleinement intégré à l'équipe, et cela m'a fait très plaisir. Vous avez brillamment surmonté le déménagement tant redouté, et vous êtes maintenant parfaitement installés au CHU. Je vous souhaite le meilleur pour la suite. Rendez-vous en mai pour la revanche à la course inter-entreprise, si vous êtes prêts à relever le défi !

### **A mes co-internes,**

Luna et Anaïs, je suis tellement heureux de vous avoir rencontrées dès le début de l'internat. Ces moments partagés avec vous resteront gravés à jamais. Vous êtes toujours là, une aide sans faille, et on peut vraiment compter sur vous. Vous êtes de vraies amies, et j'espère que ça continuera ainsi. Je n'ai pas besoin d'en dire plus, mais vous savez que ces quelques mots ne sont qu'un petit échantillon de ma pensée profonde. Vous allez me manquer. N'oubliez pas de m'inviter à Clermont (pour voir la mer ?).

Valentin, je te remercie, c'est toi qui m'as fait visiter les laboratoires pour la première fois. Je t'ai pris comme exemple et tu m'as donné envie de faire de la biologie médicale, c'était vraiment le bon choix ! On passe toujours de super moments à tes côtés, tes blagues sont exceptionnelles, on ne s'en lasse jamais, je suis très heureux d'avoir été ton co-interne.

Elsa L, tu n'es pas la moins stressée d'entre nous, et pourtant, ces derniers temps, tu paraissais zen à côté de moi. Merci de m'avoir rassuré dans cette dernière ligne droite, ça m'a vraiment beaucoup aidé. Merci pour tous ces moments passés à tes côtés en stage, je nous revois encore avec nos petits microscopes à l'EFS. C'était hier, et pourtant, j'ai l'impression que ça remonte à si longtemps !

Edgar, merci pour tes précieux conseils, tu es toujours d'une grande aide sur tous les sujets. C'est toujours un plaisir de venir discuter avec toi. Je te souhaite tout le bonheur pour la suite, tant sur le plan professionnel que personnel. Une nouvelle vie commence pour toi !

Eleonore et Paloma, toujours au courant de tout sur tout le monde, c'était un plaisir d'avoir partagé l'internat avec vous, que de bons moments passés ensemble.

Julie B, merci pour ce stage, tu m'as beaucoup aidé avec tes solides connaissances en cytométrie, bon courage pour ton départ à la Réunion !

Adrien, mérites-tu des remerciements ?

Anne-Kim, tu es la gardienne du laboratoire, l'interne de nuit. Merci beaucoup pour m'avoir repris toutes ces gardes, qu'aurais-je fais sans toi ! Toujours aux quatre coins du monde, tu es une source d'inspiration pour les voyages.

Nathan, merci de mettre l'ambiance comme tu sais si bien le faire, toujours dans les bons coups, tu nous régales tous les jours.

PYGU, merci pour ta bénédiction, ta version de la nuit du verglas restera à jamais floue pour nous tous.



Blandine, merci de nous avoir tant aidés pendant ce premier semestre, tes compétences de skieuse m'impressionnent encore. Un nouveau défi t'attend bientôt, je vous souhaite tout le bonheur à toi, Jérémy et au nouvel arrivant sous peu.

A mes autres co-internes, la bonne entente est toujours au rendez-vous en bio. Merci pour les bons moments partagés, que ce soit dans les différents services ou en dehors.

### **A mes amis,**

Mehdi, Zac, Enzo, Zizou, vous êtes mes meilleurs amis depuis si longtemps, que de moments passés ensemble et tant de fous rires. Ces moments de détente avec vous étaient toujours les bienvenus, et même si l'on se voit moins maintenant, rien ne change à chaque fois que l'on se retrouve. On peut toujours compter sur vous, et vous faites aussi partie de ma réussite.

Joris et Amandine, merci pour toutes ces longues années passées à vos côtés durant ces études si longues. Vous avez toujours été d'un soutien sans faille, et c'est toujours un plaisir de vous revoir, comme si rien n'avait changé. C'est cela qui définit la force de notre amitié.

Valentine, je suis très heureux d'avoir partagé ces années avec toi, tu es quelqu'un de formidable, et Fred a bien de la chance de t'avoir ! C'est toujours un plaisir de passer des moments avec toi. Je te souhaite beaucoup de réussite et de bonheur pour la suite. Profite bien de ton séjour prolongé à La Réunion !

Julie, JB, Anaïs, Achille, Aline, Victor, Sophie, Clément, j'aime nos moments passés ensemble, même s'ils sont trop rares à cause de nos emplois du temps respectifs et de la distance pour certains. Merci pour ces super années à la fac, je n'en garde que de bons souvenirs !

### **A ma belle-famille,**

Je tiens à vous remercier pour votre soutien tout au long de ce parcours. Vous m'avez accueilli chaleureusement et fait sentir comme un membre à part entière de la famille. Merci pour tout.

### **A ma famille,**

A vous papa et maman, vous m'avez apporté tout l'amour possible. Vous m'avez toujours soutenu et m'avez donné tout ce dont j'avais besoin. C'est grâce à vous que je réussis aujourd'hui. Je sais à quel point j'ai de la chance d'avoir des parents comme vous, je vous aime.

A mon petit frère, merci pour tous ces moments interminables passés à jouer ensemble. Malgré nos petites chamailleries, je n'en garde que de bons souvenirs ! J'ai vraiment de la chance d'avoir un frère comme toi. Le temps passe vite et tu es grand maintenant, tu as fini



tes études avant moi. C'est un nouveau départ pour toi, et je te souhaite qu'il soit le plus heureux possible.

A toute ma famille, merci pour votre soutien constant et pour m'avoir accompagné à chaque étape de ma vie. Nos repas de famille sont toujours des moments que j'adore, remplis de simplicité et de bonne humeur. La valeur de la famille est essentielle à mes yeux, et ces moments passés ensemble, depuis l'enfance jusqu'à aujourd'hui, sont inoubliables. Vous êtes un pilier pour moi, et je suis vraiment reconnaissant de vous avoir à mes côtés.

A mes grands-parents qui me regardent de là-haut, il ne se passe pas un jour sans que je pense à vous. Je sais que vous veillez sur moi et que vous êtes fiers de moi.

A Gipsy et Guizmo, vous faisiez partie de notre famille également, et vous resterez toujours avec nous, dans nos cœurs.

A toi Julie, mon amour, toi qui partages ma vie et avec qui je vais bientôt construire un nouveau chapitre, je suis tellement heureux à tes côtés. Merci pour ton soutien au quotidien et pour tous les merveilleux moments que nous partageons ensemble. De nouvelles aventures nous attendent, et je suis impatient de les vivre avec toi. Je t'aime.

**Du fond du cœur, merci à tous.**





## SERMENT D'HIPPOCRATE

*En présence des Maîtres de cette École, de mes chers condisciples, je promets et je jure, au nom de l'Être Suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité, dans l'exercice de la Médecine.*

*Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail.*

*Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me sont confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.*

*Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.*

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

*Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !*



## **TABLE DES MATIERES**

TABLE DES MATIERES .....	1
LISTE DES ABREVIATIONS .....	5
LISTE DES FIGURES .....	7
LISTE DES TABLEAUX .....	9
INTRODUCTION .....	11
1. Préambule .....	11
2. Incompatibilités fœto-maternelles érythrocytaires.....	12
2.1 Généralités .....	12
2.1.1 Retentissement clinique.....	12
2.1.2 Epidémiologie.....	12
2.2 Physiopathologie de l'incompatibilité fœto-maternelle.....	13
2.2.1 Immunisation maternelle.....	13
2.2.2 La réponse du système immunitaire.....	14
a. La réponse immunitaire primaire maternelle.....	14
b. La réponse immunitaire secondaire maternelle.....	16
2.2.3 Mécanismes de l'anémie fœtale.....	16
2.2.4 Paramètres influençant le risque hémolytique.....	17
2.2.5 Conséquences de l'hémolyse.....	18
2.3 Dépistage et suivi immuno-hématologique de l'allo-immunisation fœto-maternelle .....	19
2.3.1 Examens immuno-hématologiques obligatoires .....	19
a. Double détermination du groupe sanguin ABO et du phénotype érythrocytaire RH-KEL1 .....	19
b. Recherche d'anticorps anti-érythrocytaires .....	19

2.3.2	Quantification des anticorps .....	21
a.	Titrage des anticorps anti-érythrocytaires .....	21
b.	Dosage pondéral .....	23
2.3.3	Le génotypage fœtal (invasif et non invasif) .....	24
2.3.4	La mise en évidence d'une hémorragie fœto-maternelle .....	25
a.	Le test de Kleihauer .....	25
b.	La cytométrie de flux .....	25
2.3.5	Phénotypage du procréateur .....	26
2.4	Evaluation de l'atteinte fœtale .....	26
2.5	Traitement de l'anémie fœtale .....	27
2.5.1	La transfusion <i>in utero</i> .....	27
2.5.2	L'extraction fœtale .....	27
2.6	La prise en charge post-natale .....	28
2.6.1	Prise en charge de l'ictère néonatal .....	29
2.6.2	Prise en charge de l'anémie néonatale .....	30
2.6.3	Suivi prolongé de l'enfant .....	30
2.7	Prévention de l'allo-immunisation fœto-maternelle .....	30
3.	Le système MNS .....	31
3.1	Biosynthèse .....	31
3.2	Phénotype et prévalence des antigènes .....	32
3.3	L'anticorps anti-MNS1 .....	33
4.	Traitement du plasma par DTT .....	38
	OBJECTIFS DE L'ETUDE .....	39
	MATERIEL ET METHODES .....	41
	RESULTATS .....	47

A. Présentation des résultats .....	47
1. Caractéristiques de la cohorte .....	47
1.1 Disponibilité des données en fonction du stade d'avancement de la grossesse .....	47
1.2 Phénotype MNS1 des patientes.....	49
1.3 Antécédents transfusionnels des patientes.....	49
1.4 Phénotype RH1 et pluri-immunisation.....	49
1.5 Répartition entre primigestes et multigestes .....	49
1.6 Présence d'anticorps anti-MNS1 et antécédents obstétricaux .....	50
1.7 Phénotype MN du procréateur .....	51
2. Résultats bruts des expérimentations .....	51
2.1 Dépistage en milieu salin à température ambiante (20°C).....	51
2.2 TIA après traitement du plasma par DTT .....	51
2.2.1 TIA à 37°C après traitement du plasma par DTT (DTT 37) .....	52
2.2.2 TIA à température ambiante (20°C) après traitement du plasma par DTT (DTT TA) .....	52
2.2.3 Comparaison des résultats obtenus avec le DTT 37 et le DTT TA.....	53
2.3 Correspondance des résultats entre le DTT 37 et le DTT TA pour chaque échantillon .....	54
2.3.1 Résultats ininterprétables à 37°C (DTT 37) .....	54
2.3.2 Résultats négatifs à 37°C (DTT 37) .....	58
2.3.3 Résultats positifs à 37°C (DTT 37) .....	60
3. Données des patientes arrivées à terme .....	62
3.1 Fréquence et résultats des RAI .....	62
3.2 Fréquence et résultats des titrages.....	63
3.3 Données immuno-hématologiques et phénotype MNS1 des nouveau-nés.....	65

B. Analyse et interprétation des résultats .....	66
1. Nature des anticorps anti-MNS1.....	66
2. Recherche de facteurs de distinction entre les IgG et les IgM indépendants du DTT.....	68
2.1 Patientes présentant des anticorps anti-MNS1 de type IgG.....	69
2.2 Patientes présentant des anticorps anti-MNS1 de type IgM.....	70
2.3 Analyse comparative entre les catégories (IgG ou IgM) .....	70
3. Limite d'intensité réactionnelle et interprétabilité du DTT TA.....	74
DISCUSSION / CONCLUSION.....	75
ANNEXE .....	85
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	87

## LISTE DES ABREVIATIONS

Ac : Anticorps

BFC : Bourgogne-Franche-Comté

BNPI : Banque nationale des patients d'intérêt de l'EFS

CGR : Concentrés de globules rouges

CIQ : Contrôle interne de qualité

CMH II : Complexe majeur d'histocompatibilité de classe II

CPA : Cellules présentatrices de l'antigène

DTT 37 : TIA à 37°C après traitement du plasma par DTT

DTT TA : TIA à température ambiante (20°C) après traitement du plasma par DTT

DTT : Dithiothréitol

EDA : Examen direct à l'antiglobuline

EFS : Etablissement français du sang

HAS : Haute Autorité de santé

HbF : Hémoglobine fœtale

HFM : Hémorragie fœto-maternelle

IFME : Incompatibilité fœto-maternelle érythrocytaire

IgG : Immunoglobulines G

IgM : Immunoglobulines M

IH : Immuno-hématologie

LBM : Laboratoires de biologie médicale

MHFNN : Maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né

RAI : Recherche d'anticorps anti-érythrocytaires

SA : Semaines d'aménorrhée



SIL : Système d'information de laboratoire

TCR : Récepteur antigénique des lymphocytes T

TIA : Test indirect à l'antiglobuline

TIU : Transfusion *in utero*

TP : Témoin phosphate

UPR : Unité de production des réactifs de l'EFS

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Immunisation anti-érythrocytaire maternelle lors d'une HFM.....	14
Figure 2 : Mécanisme de la réponse immunitaire primaire.....	15
Figure 3 : Mécanisme classique de l'hémolyse fœtale immune.....	16
Figure 4 : Principe du test indirect à l'antiglobuline .....	20
Figure 5 : Exemple d'un panel de dépistage et d'identification de RAI.....	21
Figure 6 : Principe du titrage (matrice gel).....	23
Figure 7 : Principe de l'examen direct à l'antiglobuline.....	28
Figure 8 : Principe d'identification d'un anticorps fixé à la surface des globules rouges par l'élution.....	29
Figure 9 : Glycophorine A.....	32
Figure 10 : Structure d'une IgG et d'une IgM.....	36
Figure 11 : Potentiel Zêta des hématies.....	37
Figure 12 : Mécanisme d'installation de l'anémie médiée par l'anticorps anti-MNS1.....	37
Figure 13 : Lecture d'une réaction d'agglutination lors des examens d'immuno-hématologie .....	42
Figure 14 : Résumé du protocole des deux techniques effectuées : DTT 37 et DTT TA .....	44
Figure 15 : Construction de l'étude.....	45
Figure 16 : Echantillons collectés par patiente selon le moment du prélèvement durant la grossesse (en mois) .....	48
Figure 17 : Présence d'anticorps anti-MNS1 en fonction de l'existence d'une grossesse antérieure.....	50
Figure 18 : Comparaison des résultats obtenus avec le DTT 37 et le DTT TA.....	53
Figure 19 : Correspondance des résultats entre le DTT 37 et le DTT TA .....	55
Figure 20 : Nombre et résultats des RAI réalisées durant la grossesse par patiente .....	63

Figure 21 : Résultats des titrages réalisés pendant la grossesse des patientes arrivées à terme .....	64
Figure 22 : Nombre de RAI et de titrages réalisés durant la grossesse par patiente.....	65
Figure 23 : Répartition des patientes selon la nature (IgG ou IgM) de leurs anticorps anti-MNS1 .....	67
Figure 24 : Comparaison des intensités réactionnelles avec l'hématie M homozygote lors du test en milieu salin selon la nature (IgG ou IgM) de l'anticorps .....	72
Figure 25 : Comparaison de la réactivité de l'anticorps avec l'hématie M hétérozygote en milieu salin selon sa nature (IgG ou IgM).....	72
Figure 26 : Comparaison des intensités réactionnelles avec l'hématie M homozygote lors du TIA standard selon la nature (IgG ou IgM) de l'anticorps .....	73
Figure 27 : Comparaison de la réactivité de l'anticorps avec l'hématie M hétérozygote lors du TIA standard selon sa nature (IgG ou IgM).....	73
Figure 28 : Comparaison de la proportion d'anticorps anti-MNS1 identifiés avant la grossesse selon sa nature (IgG ou IgM) .....	74
Figure 29 : Proposition d'un modèle de suivi immuno-hématologique basé sur le traitement du plasma par DTT.....	83

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Allo-anticorps courants et risque de MHFNN – CNRHP (15).....	18
Tableau 2 : Phénotypes majeurs du système de groupe sanguin MNS.....	33
Tableau 3 : Prévalence des antigènes M, N, S et s.....	33
Tableau 4 : Interprétation du TIA après traitement du plasma par DTT .....	43
Tableau 5 : Echantillons présentant un résultat ininterprétable pour le DTT 37 et le DTT TA	55
Tableau 6 : Echantillons présentant un résultat ininterprétable pour le DTT 37 et négatif pour le DTT TA.....	56
Tableau 7 : Echantillons présentant un résultat ininterprétable pour le DTT 37 et positif pour le DTT TA.....	57
Tableau 8 : Echantillons présentant un résultat négatif pour le DTT 37 et le DTT TA.....	59
Tableau 9 : Echantillons présentant un résultat négatif pour le DTT 37 et positif pour le DTT TA .....	60
Tableau 10 : Echantillons présentant un résultat positif pour le DTT 37 et le DTT TA .....	61



# INTRODUCTION

## 1. Préambule

Une incompatibilité foëto-maternelle érythrocytaire (IFME) est une manifestation immuno-hématologique liée à la fixation d'un allo-anticorps anti-érythrocytaire maternel dirigé contre un antigène érythrocytaire présent chez le foëtus ou le nouveau-né, hérité du père et absent chez la mère de l'enfant (1).

L'IFME peut être responsable d'une maladie hémolytique du foëtus et du nouveau-né (MHFNN) lorsque le complexe immun ainsi formé est hémolysant. Cela se traduit par une anémie (*in utero* ou néonatale) et un ictère néonatal lié à l'hyperbilirubinémie provenant de l'hémolyse des hématies du nouveau-né. Le retentissement chez le foëtus ou le nouveau-né est très variable, se présentant d'un simple ictère néonatal à une anémie foëtale sévère, pouvant conduire à la mort foëtale malgré des transfusions *in utero*. (2)

Afin de prévenir les complications consécutives à une IFME, un suivi immuno-hématologique est obligatoire chez les femmes enceintes, notamment par la réalisation de recherche d'anticorps anti-érythrocytaires (RAI) selon un calendrier réglementaire.

Il est nécessaire de caractériser les anticorps pouvant être responsables d'une MHFNN et d'avoir dans son arsenal diagnostique des techniques de laboratoire permettant de spécifier au mieux leurs caractéristiques immunologiques. Les anticorps de type immunoglobulines G (IgG) franchissent la barrière foëto-placentaire, ils peuvent avoir un retentissement foëtale. Les immunoglobulines M (IgM) sont des anticorps qui ne franchissent pas la barrière foëto-placentaire, ils sont donc sans risque obstétrical. Le traitement du plasma par Dithiothréitol (DTT) est un procédé d'immuno-hématologie (IH) qui permet de réduire les ponts disulfures et donc de détruire les anticorps de type IgM, permettant ainsi d'évaluer le risque foëtale. Cependant, son utilisation reste mal définie en pratique.

Durant ce travail nous nous sommes intéressés à l'immunisation anti-MNS1 fréquemment mise en évidence chez la femme enceinte (3).

L'objectif global de cette étude est d'évaluer la pertinence du traitement du plasma par DTT pour les femmes enceintes présentant un anticorps anti-MNS1. De plus, il s'agira d'intégrer

cette technique de laboratoire dans le cadre du suivi obstétrical. Cette étude a été réalisée dans le laboratoire d'IH de l'Établissement français du sang de Bourgogne-Franche-Comté (EFS-BFC) sur le site de Besançon.

## **2. Incompatibilités fœto-maternelles érythrocytaires**

### **2.1 Généralités**

#### **2.1.1 Retentissement clinique**

Le complexe immunitaire formé entre l'anticorps anti-érythrocytaire présent dans le plasma maternel et l'antigène présent à la surface des globules rouges du fœtus peut, selon la nature de l'anticorps, provoquer une hémolyse tissulaire (2). L'hémolyse expose à la survenue d'une anémie fœtale plus ou moins sévère avec un risque d'évolution vers une anasarque et une mort fœtale en cas d'anémie sévère (4).

Les anticorps maternels persistent plusieurs semaines en circulation chez le nouveau-né et peuvent provoquer une hémolyse néonatale immédiate ou retardée (dans les semaines qui suivent la naissance). Dans ce cas, l'IFME peut se manifester par une anémie et un ictère lié à la bilirubine libérée par l'hémolyse. La gravité est liée à la sévérité de l'anémie qui peut entraîner un risque vital, mais aussi à l'hyperbilirubinémie qui peut occasionner des séquelles neurologiques par fixation de la bilirubine libre au niveau des noyaux gris centraux (5).

#### **2.1.2 Epidémiologie**

L'incidence clinique des incompatibilités fœto-maternelles érythrocytaires est estimée à 4 pour 1000 naissances (2). La détection et le suivi des allo-immunisations maternelles sont donc essentiels dans le suivi de grossesse afin de prévenir les complications fœtales ou néonatales.

## 2.2 Physiopathologie de l'incompatibilité fœto-maternelle

Il existe deux grands types d'IFME : l'IFME ABO et l'IFME non ABO.

- **IFME ABO**

C'est la plus fréquente des IFME. Elle est liée à une incompatibilité érythrocytaire dans le système ABO. Le risque d'ictère sévère avec hyperbilirubinémie très élevée est faible et elle n'est pas responsable d'anémie fœtale sévère (2). Les IFME de type ABO ne seront pas évoquées dans ce travail.

- **IFME non ABO**

Les IFME non ABO sont causées par des anticorps anti-érythrocytaires autres que ceux dirigés contre le système ABO. Leur sévérité est variable selon la spécificité et la concentration de l'anticorps. L'IFME non ABO peut mener à une MHFNN sévère ou n'avoir aucun retentissement clinique significatif (6). La caractérisation de l'anticorps est essentielle afin de différencier les anticorps à risque obstétrical de ceux sans risque obstétrical.

### 2.2.1 Immunisation maternelle

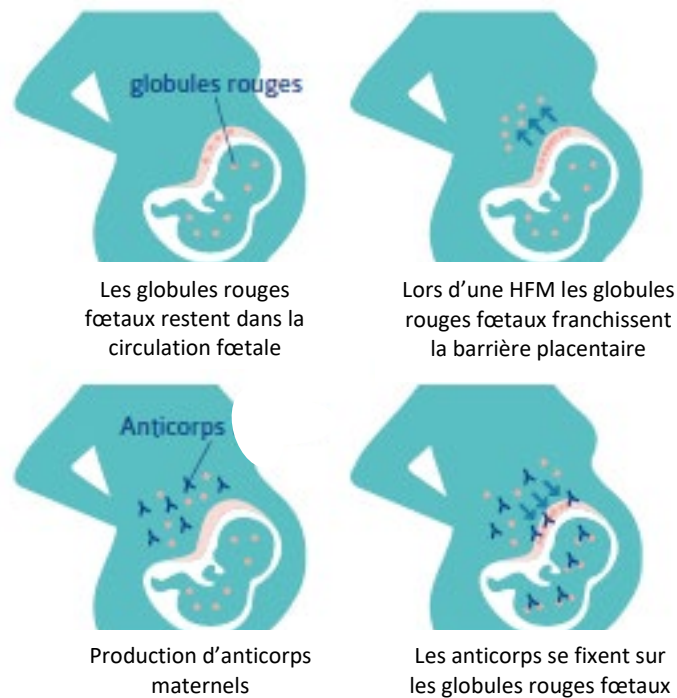
Lorsqu'une femme enceinte présente un phénotype érythrocytaire incompatible avec celui de son fœtus, son système immunitaire peut développer des allo-anticorps anti-érythrocytaires. Cette sensibilisation survient à la suite d'une migration d'hématies fœtales dans la circulation maternelle liée à une hémorragie fœto-maternelle (HFM) (Figure 1).

Les HFM peuvent survenir spontanément et passer inaperçues, à tout moment de la grossesse, mais principalement au cours du troisième trimestre de la grossesse (environ 45 % des cas). Elles peuvent également être provoquées par une fausse couche, une interruption volontaire de grossesse, une mort fœtale *in utero* ou lors de l'accouchement (7). Le volume de sang fœtal nécessaire à l'immunisation maternelle n'est pas clairement défini (8).

La transfusion est également un mécanisme possible d'immunisation chez la femme enceinte. Cependant, ce mécanisme d'immunisation est plus rare en France du fait de la réglementation transfusionnelle qui impose le respect de la phéno-compatibilité RH-KEL1 des concentrés de globules rouges chez la femme en âge de procréer. L'immunisation reste possible vis-à-vis d'autres antigènes que les antigènes Rhésus et KEL1.



Il existe une variabilité individuelle de la réponse immunitaire et de la capacité à produire des anticorps en réponse à la stimulation antigénique (9). Certaines femmes s'immunisent facilement, même après des HFM minimales tandis que d'autres ne s'immunisent presque jamais, même après des HFM plus importantes.



**Figure 1 : Immunisation anti-érythrocytaire maternelle lors d'une HFM**

*Les globules rouges fœtaux restent dans la circulation fœtale en condition physiologique. Lors d'une HFM les globules rouges fœtaux franchissent la barrière placentaire et migrent dans la circulation sanguine maternelle. Le système immunitaire de la femme enceinte développe des anticorps anti-érythrocytaires dirigés contre les antigènes érythrocytaires fœtaux. Lorsqu'ils sont de type IgG, ces anticorps peuvent franchir la barrière placentaire et se fixer sur les globules rouges fœtaux, aboutissant à leur destruction.*

## 2.2.2 La réponse du système immunitaire

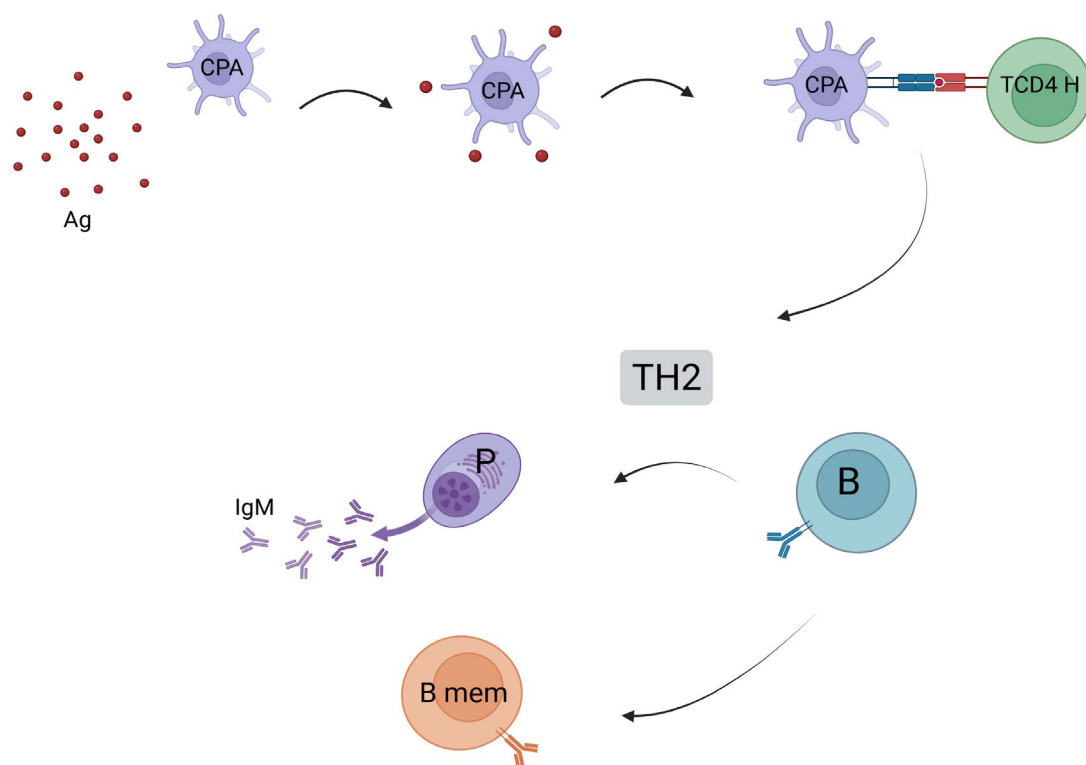
### a. La réponse immunitaire primaire maternelle

Plusieurs acteurs sont nécessaires au développement de l'allo-immunisation. Les antigènes érythrocytaires présents à la surface des globules rouges du fœtus sont reconnus comme étant étrangers (non-soi) par le système immunitaire maternel. Les cellules présentatrices de l'antigène (CPA) (cellules dendritiques, lymphocytes B, macrophages) capturent l'antigène fœtal et le présentent aux lymphocytes T CD4 helper par l'intermédiaire du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH II). L'interaction entre le récepteur antigénique des

lymphocytes T (TCR), présent à la surface des lymphocytes T CD4 helper, et le CMH II initie la cascade immunitaire de type TH2. Les lymphocytes B, stimulés par les lymphocytes T CD4 helper, se différencient en plasmocytes sécréteurs d'anticorps spécifiques. Cette cascade immunitaire est régulée par les lymphocytes T régulateurs (10). Les lymphocytes B mémoires gardent en mémoire le phénomène d'immunisation (Figure 2).

Différents facteurs influencent la sensibilité à l'immunisation. Tout d'abord, les variations génétiques du CMH II peuvent influencer la capacité de présentation de l'antigène foetal et la réponse immunitaire qui en découle. En outre, une activité accrue des lymphocytes T régulateurs peut limiter la réponse immunitaire et réduire le risque d'allo-immunisation (10).

Lors de la réponse immunitaire primaire les anticorps produits sont de type IgM. La réponse est faible et lente (environ 8 à 9 semaines après le premier contact antigénique) (7).



**Figure 2 : Mécanisme de la réponse immunitaire primaire**

*L'antigène érythrocytaire foetal est capturé par les CPA et présenté par l'intermédiaire du CMH II aux lymphocytes T CD4 helper. Une induction d'une réponse immunitaire de type TH2 a lieu avec une différenciation des lymphocytes B en plasmocytes sécréteurs d'anticorps de type IgM.*

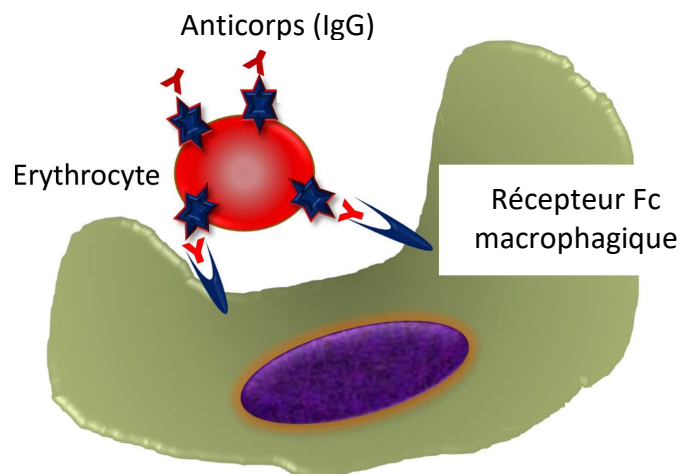
### b. La réponse immunitaire secondaire maternelle

Lors d'une deuxième grossesse incompatible pour le même antigène, l'exposition antigénique est à l'origine d'une réponse immunitaire secondaire. Cette fois la réponse est rapide (quelques jours suivant l'exposition antigénique) et fait intervenir les lymphocytes B mémoires, avec une production accrue d'anticorps de type IgG capables de franchir la barrière foeto-placentaire (11).

Il est à noter que la présence d'HFM à répétition peut être à l'origine d'une réponse immunitaire secondaire même pour une patiente primigeste.

### 2.2.3 Mécanismes de l'anémie foétale

L'hémolyse extravasculaire est le mécanisme classique de destruction des globules rouges foetaux. La destruction des hématies foetales sensibilisées par l'anticorps maternel se produit principalement par l'intermédiaire du système phagocytaire mononucléé (au niveau de la rate) (Figure 3). Les récepteurs Fc macrophagiques se lient aux anticorps (de type IgG) présents à la surface de l'hématie foétale, ce qui déclenche la phagocytose et la destruction de l'hématie foétale (12).



**Figure 3 : Mécanisme classique de l'hémolyse foétale immune**

*La destruction des hématies foetales se fait classiquement lors d'une hémolyse extravasculaire. Ce mécanisme fait intervenir le système phagocytaire mononucléé : le récepteur Fc macrophagique se lie au complexe antigène-anticorps des hématies foetales déclenchant leur phagocytose et leur destruction.*

L'inhibition de l'érythropoïèse est un autre mécanisme d'anémie fœtale (décrit notamment pour l'anticorps anti-KEL1). Les anticorps maternels peuvent déclencher l'apoptose des progéniteurs érythrocytaires ou modifier la structure du cytosquelette, ce qui empêche leur maturation. Dans d'autres cas, ils provoquent l'agglutination des progéniteurs érythrocytaires et inhibent ainsi l'érythropoïèse.

A noter qu'une hémolyse intravasculaire est possible mais reste d'implication limitée comparée à l'action des macrophages du système phagocytaire mononucléé. En effet, les IgG impliqués dans les IFME ne sont pas très efficaces pour activer le complément en totalité, ce qui ne permet pas d'aboutir à la formation du complexe d'attaque membranaire menant à l'hémolyse intravasculaire (13). Le complément est activé plus fortement par des anticorps de type IgM mais ces anticorps ne franchissent pas la barrière fœto-placentaire.

#### **2.2.4 Paramètres influençant le risque hémolytique**

Le risque hémolytique dépend de plusieurs paramètres intrinsèques aux anticorps maternels (14) :

- La spécificité de l'anticorps : certains anticorps sont à haut risque d'anémie fœtale tandis que d'autres sont sans risque pour le fœtus (Tableau 1).
- L'affinité de l'anticorps pour son antigène : elle est évaluée par la technique de titrage.
- Le pouvoir d'activation des récepteurs Fc macrophagiques : il dépend de la sous-classe d'IgG qui stimulent ce récepteur. Il existe quatre grandes classes d'IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4). Les IgG1 et les IgG3 sont celles majoritairement responsables d'hémolyse.
- La concentration en anticorps : le dosage pondéral permet de la quantifier, le titrage permet de l'approcher mais de manière moins précise.

**Tableau 1 : Allo-anticorps courants et risque de MHFNN – CNRHP (14)**

*Les allo-anticorps sont regroupés en quatre catégories : les anticorps anti-RH1, anti-RH4 et anti-KEL1 sont à haut risque d'anémie fœtale. L'anticorps anti-RH3 est moins fréquemment responsable d'anémie fœtale mais peut l'être lorsqu'il est présent à des taux élevés. Les anticorps anti-MNS1 et anti-KEL3 ne sont responsables d'anémie fœtale que dans des cas exceptionnels. Enfin, les anticorps anti-FY2, anti-JK2, anti-MNS3, anti-RH12 et anti-RH2 ne présentent pas de risque fœtal mais un risque d'anémie néonatale. Les anticorps dirigés contre les antigènes des systèmes LE ou LU ne sont pas mentionnés dans le tableau car ils ne présentent aucun risque obstétrical.*

Spécificité (nomenclature traditionnelle)	Spécificité (nomenclature numérique)	Risque d'anémie fœtale	Maladie hémolytique néonatale
Anti-D	Anti-RH1	OUI après 15 SA	OUI
Anti-Kell	Anti-KEL1	OUI après 15 SA	OUI
Anti-c	Anti-RH4	OUI après 20 SA	OUI
Anti-E	Anti-RH3	RARE (3 <sup>e</sup> trimestre)	OUI
Anti-e	Anti-RH5	Exceptionnel	OUI
Anti-Fya	Anti-FY1	Exceptionnel	OUI
Anti-Jka	Anti-JK1	Exceptionnel	OUI
Anti-Kpa	Anti-KEL3	Exceptionnel	OUI
Anti-M	Anti-MNS1	Exceptionnel	OUI
Anti-A	Anti-ABO1	NON	OUI
Anti-B	Anti-ABO2	NON	OUI
Anti-C	Anti-RH2	NON	OUI
Anti-Fyb	Anti-FY2	NON	OUI
Anti-Jkb	Anti-JK2	NON	OUI
Anti-S	Anti-MNS3	NON	OUI
Anti-G	Anti-RH12	NON	OUI

### 2.2.5 Conséquences de l'hémolyse

Chez le fœtus, le taux d'hémoglobine se situe physiologiquement entre 9 g/dL et 16 g/dL (selon l'âge gestationnel). Lorsque le taux d'hémoglobine est inférieur à 7 g/dL un accroissement du débit cardiaque se produit avec des anomalies du rythme cardiaque fœtal. Des œdèmes tissulaires et placentaires peuvent apparaître. Lorsque l'anémie devient sévère elle peut entraîner une anasarque fœto-placentaire, voire la mort fœtale *in utero* lorsque l'état d'anoxie chronique a induit des lésions tissulaires profondes. En période fœtale, la bilirubine est éliminée par le placenta et n'est donc pas source de complications (5).

Après la naissance, les anticorps maternels persistent plusieurs semaines dans la circulation sanguine du nouveau-né et peuvent causer une hémolyse à la naissance ou dans les semaines qui suivent. L'hémolyse peut provoquer une anémie. Elle entraîne aussi la libération de bilirubine, pouvant être responsable d'un ictère. Chez le nouveau-né, le processus de glucurono-conjugaison et l'excrétion de la bile sont rapidement saturés en raison d'une immaturité hépatique. Lorsque le transport de la bilirubine non conjuguée par l'albumine est dépassé, la bilirubine non conjuguée en excès peut diffuser dans le milieu extravasculaire et notamment au cerveau où elle exerce une toxicité irréversible au niveau des noyaux gris centraux (15).

## **2.3 Dépistage et suivi immuno-hématologique de l'allo-immunisation fœto-maternelle**

### **2.3.1 Examens immuno-hématologiques obligatoires**

Les examens immuno-hématologiques obligatoires sont légiférés par les articles R2122-1 à R2122-17 du Code de la santé publique (16). Les conditions de réalisation des examens d'immuno-hématologie érythrocytaires sont fixées par l'arrêté du 15 mai 2018 (17).

#### **a. Double détermination du groupe sanguin ABO et du phénotype érythrocytaire RH-KEL1**

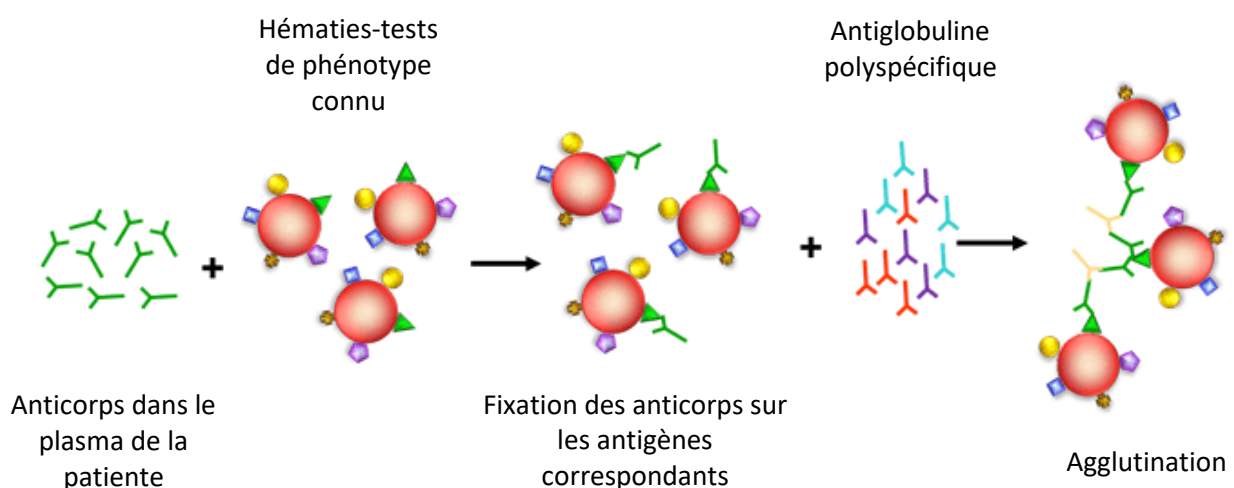
En l'absence de carte de groupe, une double détermination de groupe sanguin ABO et du phénotype érythrocytaire RH-KEL1 doit être effectuée au premier trimestre de la grossesse.

#### **b. Recherche d'anticorps anti-érythrocytaires**

La RAI est obligatoire au premier trimestre de la grossesse pour toutes les femmes enceintes quel que soit le phénotype RH1 de la patiente. Si la patiente est de phénotype RH:-1, la RAI sera renouvelée au 6<sup>e</sup> et 8<sup>e</sup> mois de grossesse. En cas de RAI positive, l'identification de l'anticorps est obligatoire afin d'en connaître sa spécificité et d'en déduire le risque obstétrical.

La RAI se compose de deux étapes. Premièrement, un dépistage est effectué par un test indirect à l'antiglobuline (TIA) à 37°C sur un panel de trois hématies-tests. Le principe du TIA repose sur la mise en évidence d'une agglutination en présence du plasma de la patiente (contenant les anticorps), des hématies-tests de phénotype érythrocytaire connu et d'antiglobuline polyvalente (anti-IgG et anti-C3d) (Figure 4). Deuxièmement, en cas de réaction positive, une identification par un TIA à 37°C sur un panel de 11 hématies-tests permet d'en connaître sa spécificité (Figure 5). Lorsque la spécificité de l'anticorps ne peut être établie après le TIA à 37°C, des techniques complémentaires sont effectuées. Ces techniques complémentaires reposent également sur la mise en évidence d'une agglutination mais en modifiant les différents paramètres à notre disposition :

- Sélection d'un autre panel d'hématies-tests
- Dénaturation ou exacerbation de certains antigènes présents à la surface des hématies-tests du panel par des techniques enzymatiques
- Suppression de l'antiglobuline pour une agglutination en milieu salin (qui met en évidence une agglutination spontanée des hématies, classiquement induite par des anticorps de type IgM)
- Modification de la température de réalisation du test



**Figure 4 : Principe du test indirect à l'antiglobuline**

*Les anticorps présents dans le plasma de la patiente se fixent sur les antigènes correspondants à la surface des hématies-tests de phénotype connu. Une antiglobuline est ajoutée, celle-ci fait le lien entre les anticorps et provoque une agglutination des hématies-tests : le TIA est positif.*

N°		Rhésus						Keil					Duffy		Kidd		Lewis		P	MNSs					Luth		Xg <sup>a</sup>	autre	G						
		D	C	E	c	e	C <sup>wo</sup>	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Js <sup>a</sup>	Js <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	P1	M	N	S	s	Lu <sup>a</sup>	Lu <sup>b</sup>	Xg <sup>a</sup>								
1	R <sub>1</sub> <sup>+</sup> R <sub>2</sub>	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	nt	nt	+	0	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+++
2	R <sub>1</sub> R <sub>2</sub>	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	nt	nt	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+++	
3	R <sub>1</sub> R <sub>2</sub>	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	nt	nt	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+++	
4	r <sup>+</sup> y	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+		
5	r <sup>+</sup> y	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	+	nt	Rg(a <sup>+</sup> )						
6	rr	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	nt	nt	+	0	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+		
7	rr	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	nt	nt	0	+	+	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
8	R <sub>1</sub> <sup>+</sup>	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	nt	0	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	Rg(a <sup>+</sup> )	+++
9	rr	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	+	0	0	+	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+		
10	rr	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+		
11	rr	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+		

Pat.																																		
1	R <sub>1</sub> <sup>+</sup> R <sub>2</sub>	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	nt	nt	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+++
2	R <sub>1</sub> R <sub>2</sub>	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	nt	nt	+	0	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+++
3 <sup>a</sup>	rr	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	nt	nt	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	

Figure 5 : Exemple d'un panel de dépistage et d'identification de RAI

Le tableau du bas représente un panel de dépistage de RAI sur trois hématies. Le test révèle une agglutination pour deux hématies-tests sur trois : le dépistage est positif. Le tableau du haut représente un panel d'identification de RAI sur 11 hématies. Une agglutination a lieu pour quatre hématies-tests, et il s'agit à chaque fois d'une hématie D+ (RH:1), toutes les autres spécificités ont été éliminées : il s'agit d'un anti-D (anti-RH1).

## 2.3.2 Quantification des anticorps

### a. Titrage des anticorps anti-érythrocytaires

En cas de RAI positive, le titrage permet d'estimer l'affinité et la quantité de l'anticorps (présent dans le plasma de la patiente) parmi les multiples paramètres influençant la capacité de l'anticorps à provoquer une MHFNN. Cette technique est particulièrement sensible à l'affinité des anticorps vis-à-vis de leur antigène cible : elle met en valeur les anticorps de haute affinité ayant un rendement de fixation élevé et, à l'inverse, sous-estime la concentration des anticorps de moyenne ou basse affinité qui peuvent se détacher des hématies tests à la suite des opérations de lavage et de contact avec l'antigobuline (18). C'est pourquoi un anticorps de haute affinité peut avoir un titre supérieur à un anticorps de faible affinité présent en plus grande concentration. En résumé, le titrage estime la quantité d'anticorps capable de se fixer *in vitro* sur les hématies incompatibles (quantité qui dépend de la constante d'affinité) et non pas la quantité totale d'anticorps présente dans le plasma. Ainsi, pour un même titre, les symptômes peuvent être très différents d'un fœtus ou d'un enfant à l'autre. On ne peut donc raisonner que par la notion de « seuil critique », c'est-à-dire la quantité d'anticorps à partir de laquelle on considère qu'il y a un risque qu'une MHFNN se développe (19). Ces seuils ont été établis lors d'études cliniques évaluant l'atteinte fœtale ou



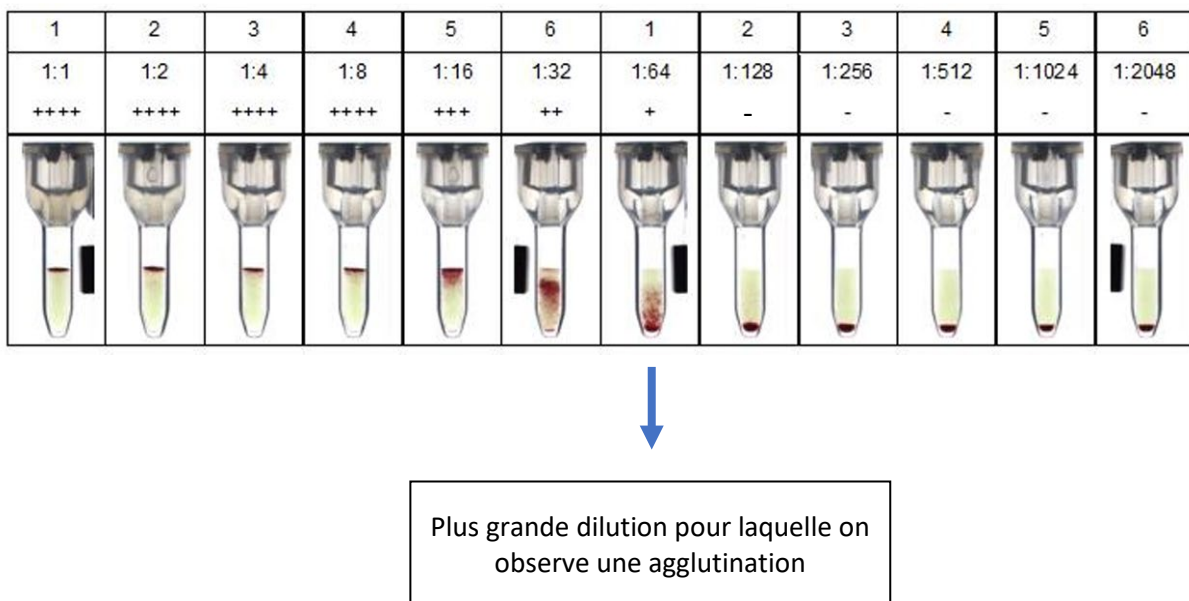
néonatale en fonction du titre de l'anticorps. Cependant, cette notion de seuil critique et les valeurs de ces seuils sont largement débattues dans la littérature quant à l'évaluation du risque foetal. Les seuils critiques établis diffèrent entre les sociétés savantes nationales et internationales (20).

La quantité d'anticorps peut varier au cours de la grossesse, notamment lorsque le système immunitaire est stimulé par le passage d'hématies fœtales dans la circulation sanguine maternelle. C'est particulièrement vrai pour l'anticorps anti-RH1 pour lequel une hausse de concentration est observée dans plus de 50 % des grossesses incompatibles (21). Pour d'autres spécificités d'anticorps, ces réactivations sont moins fréquentes voire exceptionnelles. Afin de pouvoir détecter ces réactivations et la hausse des taux d'anticorps, le titrage est réalisé, selon la spécificité de l'anticorps, à plusieurs reprises lors de la grossesse

La technique de référence repose sur le TIA à 37°C en milieu liquide (dit en « tube ») selon des dilutions en cascade de raison 2. Les réactifs utilisés pour le TIA sont une antiglobuline anti-IgG et des hématies-tests qui présentent l'antigène correspondant à l'anticorps (14). Il est recommandé d'utiliser des hématies-tests d'expression hétérozygote pour l'antigène. Le titre correspond à l'inverse de la plus grande dilution géométrique du plasma pour laquelle on observe une agglutination. C'est une technique manuelle chronophage, et elle dépend de nombreux paramètres : la concentration en anticorps, la concentration en antigène, la constante d'affinité de l'anticorps, les réactifs utilisés, la vitesse de centrifugation et la méthode de lecture. Le titrage est sujet à une variété intra et inter-laboratoires et doit être évalué dans un même laboratoire au cours de la grossesse avec la reprise en parallèle de l'échantillon précédent (conservé congelé dans le cadre d'un suivi périnatal) (17) pour garantir la comparabilité (6). Malgré cela, le titrage reste une technique peu précise, la reproductibilité inter-techniciens au sein d'un même laboratoire peut varier jusqu'à deux dilutions. La reproductibilité inter-laboratoires peut aller jusqu'à trois dilutions et plus (18).

L'automatisation des techniques en biologie médicale offre plusieurs avantages : elle réduit la variabilité inter-opérateurs, ce qui améliore la reproductibilité des résultats. De plus, elle permet de diminuer le temps technicien et de raccourcir les délais de rendu des résultats. Il

existe des méthodes de titrage automatisé sur matrice gel, lesquelles ont démontré de meilleures performances en termes de répétabilité et de reproductibilité (22). Toutefois, le changement de matrice modifie la sensibilité de cet examen ; la matrice gel semble dans la plupart des cas plus sensible, et les titres obtenus sont généralement supérieurs à ceux de la technique en tube. Les valeurs seuils critiques établies pour le titrage en tube ne sont donc pas applicables au titrage en gel. Des études supplémentaires avec des données cliniques seront nécessaires pour établir de nouveaux seuils pour cette technique automatisée (22).



**Figure 6 : Principe du titrage (matrice gel)**

*Un TIA à 37°C est effectué selon des dilutions géométriques de raison 2. 1:1 correspond au plasma pur, 1:2048 correspond à la plus grande dilution. Le titre est l'inverse de la plus grande dilution pour laquelle on obtient une agglutination. Dans cet exemple, la dernière agglutination correspond à la dilution 1:64 : le titre est donc de 64.*

### b. Dosage pondéral

Le dosage pondéral est uniquement applicable pour les allo-anticorps dirigés contre les cinq principaux antigènes du système RH ou contre des antigènes de fréquence élevée (anticorps dits « anti-publics »). La technique de référence est une technique d'hémagglutination automatisée en flux continu (AutoAnalyzer®). Des hématies-tests de phénotype RH:1,2,3,4,5 sont traitées par la broméline et sont mises en présence du plasma des patientes, permettant la fixation de l'anticorps à son antigène, ce qui produit une agglutination. Les agglutinats sont

éliminés et une lyse des hématies restantes non agglutinées est effectuée. L'auto-analyseur réalise une mesure photolorimétrique de l'hémolysat, 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 de l'anticorps testé (14). C'est une technique lourde nécessitant un appareillage conséquent et peu répandu, ainsi qu'une maintenance appropriée. De plus, elle a certaines limites et de nombreux facteurs influencent son résultat : la précision des dilutions, la température d'incubation, la date du prélèvement, etc. Bien qu'ayant une reproductibilité meilleure que le titrage, il existe un coefficient de variation estimé entre 5 % et 20 % (14).

Le dosage pondéral, comme le titrage, a permis de déterminer des seuils critiques au-delà desquels on observe un risque d'anémie fœtale sévère. Ils permettent d'alerter le clinicien afin qu'il mette en place un suivi spécifique du fœtus dans le but d'identifier des signes d'anémie fœtale. Le risque de MHFNN est mieux corrélé lorsque le titrage et le dosage pondéral sont associés, que lorsque le titrage est réalisé seul.

### **2.3.3 Le génotypage fœtal (invasif et non invasif)**

Les techniques de génotypage fœtal sont disponibles pour les antigènes RH1, RH3, RH4 et KEL1. La connaissance du génotype fœtal permet de faire le diagnostic d'IFME et de justifier une surveillance accrue. Cette méthode s'appuie sur un geste invasif d'amniocentèse qui comporte un risque de perte fœtale et un risque important d'HFM, ce qui pourrait réactiver une immunisation ou favoriser une nouvelle immunisation.

Plus récemment le génotypage fœtal RH1, RH3, RH4 et KEL1 non invasif sur sang maternel a fait son apparition. Il a l'avantage d'éviter les risques fœtaux car non invasif. La technique est validée actuellement et a révolutionné le suivi de la femme enceinte (23,24). A ce jour, seul le génotypage RH1 fœtal sur sang maternel est inscrit à la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale (25).

## 2.3.4 La mise en évidence d'une hémorragie fœto-maternelle

### a. Le test de Kleihauer

Le test de Kleihauer est un test cytochimique reposant sur la résistance des hématies fœtales à l'acide et permettant de mettre en évidence une HFM de manière simple et rapide. L'examen microscopique permet, après élution acide et coloration des lames par éosine, d'observer et de quantifier les hématies fœtales intactes (roses) parmi les hématies maternelles dénaturées (hématies « fantômes »). Dans le cadre de la prévention de l'allo-immunisation anti-RH1 chez les femmes enceintes, il permet également d'adapter la posologie des immunoglobulines anti-RH1. Toutefois, le test de Kleihauer est une technique manuelle ayant des performances médiocres notamment au niveau de la reproductibilité et de la justesse (26,27). Dans certains cas, il est ininterprétable en raison de la présence d'hématies maternelles possédant un contenu élevé en hémoglobine fœtale (HbF).

### b. La cytométrie de flux

La technique alternative au test de Kleihauer se réalise par cytométrie de flux (28). Elle repose sur le marquage antigénique érythrocytaire par un fluorochrome. Elle permet une analyse quantitative précise de l'HFM. Deux variantes existent :

- Le marquage HbF / Anhydrase carbonique : il permet de distinguer les hématies fœtales des hématies maternelles à fort taux d'HbF grâce à l'anhydrase carbonique qui est un marqueur des hématies adultes.
- Le marquage anti-RH1 : il marque les hématies fœtales qui présentent l'antigène RH1 et permet de les distinguer de celles de la mère de phénotype RH:-1. C'est un test fiable mais limité à la prophylaxie de l'allo-immunisation anti-RH1.

Cette technique est néanmoins peu adaptée à l'urgence car plus lente à réaliser. Elle est utile en seconde intention lors d'un défaut d'interprétabilité du test de Kleihauer ou pour confirmer un test de Kleihauer positif.

### 2.3.5 Phénotypage du procréateur

Une allo-immunisation maternelle est sans risque si le fœtus est compatible (il n'est pas pourvu de l'antigène érythrocytaire ciblé par l'anticorps maternel). Le phénotypage du procréateur permet d'estimer le risque de grossesse incompatible. En effet, si celui-ci est dépourvu de l'antigène cible, la grossesse est compatible et il n'existe pas de risque fœtal (29).

Cet examen présente néanmoins des limites, car il n'est contributif que si la personne prélevée est bien le procréateur de l'enfant. De plus, en cas d'hétérozygotie pour l'antigène chez le procréateur, la grossesse sera présumée incompatible alors que l'enfant a 50 % de chance de ne pas être porteur de cet antigène. Par ailleurs, dans certaines situations, le procréateur n'est pas disponible pour se faire prélever. La stratification du risque d'IFME par le phénotypage de procréateur, bien qu'informatrice, est imparfaite.

### 2.4 Evaluation de l'atteinte fœtale

En cas d'immunisation avec un anticorps présumé à risque obstétrical, une surveillance clinique rapprochée sera instaurée en fonction du titrage, du dosage pondéral et du terme de la grossesse, avec :

- La mesure du pic systolique de vélocité au niveau de l'artère cérébrale moyenne : cette mesure est réalisée par Doppler et permet une bonne évaluation du degré d'anémie chez le fœtus entre 16 et 35 semaines d'aménorrhée (SA), sans avoir recours à des gestes invasifs. L'augmentation de la vitesse, liée à la viscosité sanguine qui diminue, est corrélée au taux d'hémoglobine fœtale. Cette mesure permet de détecter de manière précoce l'apparition d'une anémie fœtale et d'intervenir avant la constitution d'une anasarque fœtale (30).
- La recherche de signes échographiques d'anasarque : œdème sous-cutané, ascite, épanchement péricardique, etc. Les signes échographiques témoignent d'une anémie sévère (<5 g/dL le plus souvent) et constituent un signe de gravité avec un risque de mortalité fœtale élevé (5).
- L'enregistrement du rythme cardiaque fœtal avec recherche d'un rythme sinusoïdal : il n'est pas utilisé pour le dépistage de l'anémie fœtale car c'est un signe tardif

d'anémie. La détection d'un rythme sinusoïdal impose des mesures correctives urgentes (extraction du fœtus ou transfusion in-utero).

## **2.5 Traitement de l'anémie fœtale**

### **2.5.1 La transfusion *in utero***

La transfusion fœtale par abord du cordon sous guidage échographique est la technique de référence après 20 SA et avant 34 SA. L'objectif est de prolonger la durée de la grossesse tout en compensant les effets de la maladie hémolytique en fournissant au fœtus *in utero* des globules rouges compatibles. Le seuil de 1.5 MoM (multiple of the median) par mesure du pic systolique de vélocité au niveau de l'artère cérébrale moyenne est utilisé pour le diagnostic d'anémie sévère et pour discuter une transfusion *in utero* (TIU) (31). Lorsque l'anémie survient précocement durant la grossesse, plusieurs TIU seront nécessaires afin de maintenir un taux d'hémoglobine au-dessus des taux critiques. La TIU reste un geste invasif qui n'est pas sans risque, le taux de perte fœtale est estimé à 3 % par TIU. En effet, ce geste peut être à l'origine de thromboses, de dissection des vaisseaux du cordon, d'une hémorragie au point de ponction, d'une HFM ou d'un hématome rétroplacentaire. Il peut également être à l'origine d'un accouchement prématuré ou d'une rupture prématurée des membranes (2).

En outre, les concentrés de globules rouges (CGR) choisis pour la TIU doivent dater de moins de cinq jours, être de phénotype O, compatibles avec le phénotype RH KEL1 et le phénotype étendu (FY JK MNS) de la mère. Ces CGR doivent être irradiés, compatibilisés avec le plasma maternel, déplasmatisés et avoir un hématocrite > 70% (afin d'éviter la surcharge volémique en limitant le volume).

### **2.5.2 L'extraction fœtale**

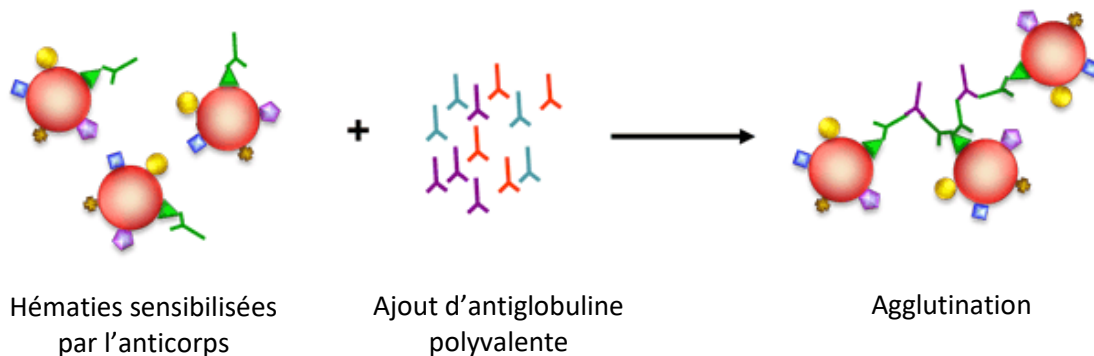
Lorsque le stade de grande prématurité est passé, une évaluation de la balance bénéfique/risque des moyens à disposition doit être faite. Le pronostic global des fœtus transfusés après 32 SA est meilleur que ceux qui n'ont été transfusés que jusqu'à 32 SA : la TIU pourrait être recommandée même après 32 SA (32). L'extraction fœtale est donc à

considérer en cas d'échec de TIU. Dans tous les cas, après 37 SA, il n'existe aucun bénéfice à prolonger la grossesse (2).

## 2.6 La prise en charge post-natale

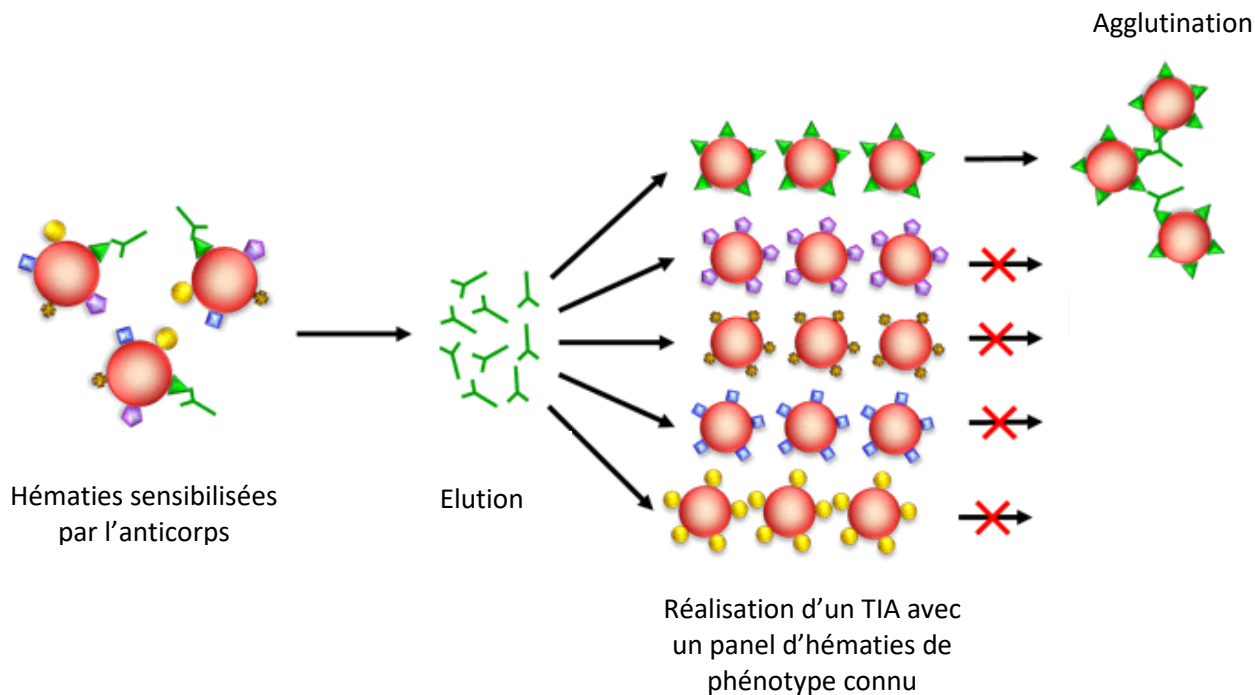
L'examen clinique néonatal doit rechercher des signes d'hémolyse : ictère, pâleur, hépatosplénomégalie. L'évaluation de l'hémolyse peut être complétée par des examens biologiques :

- Le dosage de la bilirubine
- Un examen direct à l'antiglobuline (EDA) permettant de mettre en évidence des anticorps fixés à la surface des globules rouges du nouveau-né (Figure 7). L'EDA peut être complété par une élution suivie d'un TIA permettant de déterminer la spécificité de l'anticorps (Figure 8)
- Une mesure du taux d'hémoglobine



**Figure 7 : Principe de l'examen direct à l'antiglobuline**

*Les globules rouges du patient présentent des anticorps fixés à leur surface. Une antiglobuline polyvalente (IgG + C3d) est ajoutée et une agglutination se produit : l'EDA est positif.*



**Figure 8 : Principe d'identification d'un anticorps fixé à la surface des globules rouges par l'éluion**

*Une éluion est effectuée afin de détacher les anticorps fixés à la surface des globules rouges. L'éluat est récupéré et testé vis-à-vis d'un panel de dépistage et/ou d'identification selon les techniques habituelles.*

### 2.6.1 Prise en charge de l'ictère néonatal

Lorsque la bilirubinémie dépasse 340  $\mu\text{M/L}$ , il existe un important risque d'ictère nucléaire à l'origine d'encéphalopathies graves.

La photothérapie est un traitement symptomatique qui utilise un rayon lumineux de longueur d'onde 430-490 nm (bleu). L'énergie lumineuse transforme la bilirubine libre localisée dans les tissus cutanés en photo-dérivés hydrophiles dont l'élimination se fait indépendamment de la conjugaison hépatique (2).

L'exsanguino-transfusion a pour objectifs de corriger une anémie profonde ou mal tolérée, ou encore de soustraire l'excès de bilirubine et une partie des anticorps circulants. Elle correspond à un échange de deux masses sanguines par du sang total reconstitué. Les hématies utilisées sont de phénotype O, avec une hématocrite comprise entre 45 % et 55 %, datant de moins de cinq jours, irradiées, KEL:-1, et reconstituées avec du plasma AB (33,34). L'exsanguino-transfusion est recommandée lorsque l'hyperbilirubinémie est précocement



très élevée (proche du seuil de 340  $\mu\text{M/L}$ ) et associée à un pronostic neurosensoriel défavorable. Elle est également recommandée lorsque la bilirubinémie reste élevée malgré la photothérapie, et si des signes cliniques d'encéphalopathie sont présents (35). Cependant, la morbi-mortalité n'est pas nulle et sa réalisation doit être discutée au cas par cas.

### **2.6.2 Prise en charge de l'anémie néonatale**

Les indications transfusionnelles reposent sur un ensemble d'arguments : le taux d'hémoglobine, des signes de mauvaise tolérance clinique, la capacité de régénération (taux de réticulocytes) (33,36). La sélection des CGR suit les recommandations de la Haute Autorité de santé (HAS) sur les bonnes pratiques transfusionnelles.

### **2.6.3 Suivi prolongé de l'enfant**

Les anticorps maternels persistent plusieurs semaines dans la circulation du nouveau-né (pouvant aller jusqu'à 4 mois) et une hémolyse est possible à distance de la naissance. Il faut donc surveiller un rebond de l'hyperbilirubinémie et une aggravation de l'anémie.

Les nouveau-nés qui ont subi des TIU pendant la période fœtale ont une érythropoïèse diminuée, ce qui conduit à une dépendance transfusionnelle lors des premiers mois de vie (37).

## **2.7 Prévention de l'allo-immunisation fœto-maternelle**

Seule la prévention médicamenteuse de l'allo-immunisation anti-RH1 est possible. Elle est réalisée chez les patientes de phénotype RH:-1 dont le fœtus est de phénotype RH:1 certain (génotypage RH:1 sur sang maternel) ou présumé (conjoint RH:1 ou inconnu). Elle repose sur l'injection d'immunoglobulines anti-RH1 (Rhopylac®). Il est actuellement préconisé pour ces femmes d'avoir recours à une injection systématique d'immunoglobulines anti-RH1 au début du troisième trimestre. Une injection est également réalisée lors de situations à risque d'HFM et la dose injectée est calculée selon le résultat du test de Kleihauer. Une RAI doit être effectuée avant une injection de Rhophylac® afin de vérifier que la patiente n'est pas déjà immunisée (38).

### 3. Le système MNS

#### 3.1 Biosynthèse

Les cinq antigènes majeurs de ce système sont MNS1 (M), MNS2 (N), MNS3 (S), MNS4 (s) et MNS5 (U). Les antigènes antithétiques M et N sont portés par la glycophorine A, glycoprotéine présente abondamment à la surface du globule rouge et riche en acide sialique (Figure 9). Les antigènes S, s et U sont portés par la glycophorine B, qui est une sialoglycoprotéine. Ces antigènes sont synthétisés respectivement à partir des gènes GYPA et GYPB situés sur le chromosome 4. Un troisième gène GYPE ne code pas pour les antigènes, mais est impliqué dans des réarrangements de gènes conduisant à des allèles variants (39).

Il existe, en plus des cinq antigènes majeurs, 45 autres antigènes, ce qui rend le système MNS complexe.

L'antigène M est exprimé très tôt dans le développement fœtal à la surface des globules rouges (avant la 9<sup>e</sup> semaine de gestation) (40), ce qui en fait une cible pour les anticorps anti-MNS1 durant la vie fœtale. Il est également exprimé très tôt dans la maturation érythrocytaire, puisque la glycophorine A est exprimée dès le stade de proérythroblaste (41,42).

La densité relative des antigènes M à la surface érythrocytaire dépend du statut homozygote ou hétérozygote de l'individu pour cet antigène. Lorsque l'individu est homozygote pour l'antigène M, la densité relative en antigène augmente et l'immunogénicité également (43).

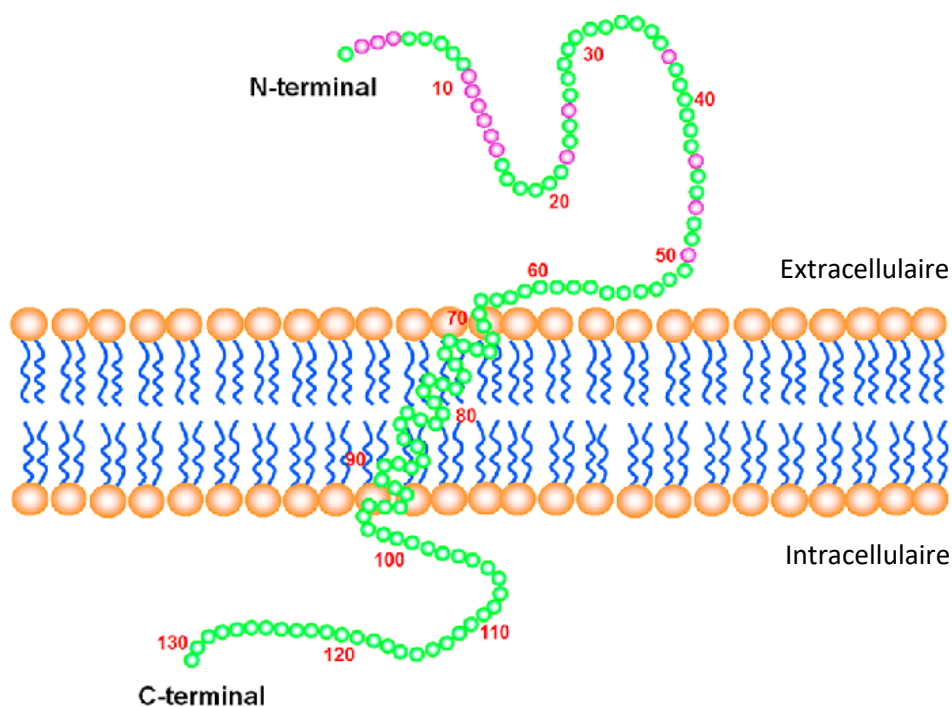


Figure 9 : Glycophorine A

*Les antigènes M et N sont portés par la glycophorine A. C'est une sialoglycoprotéine avec un passage transmembranaire. Elle est abondamment présente à la surface des globules rouges et riche en acide sialique.*

### 3.2 Phénotype et prévalence des antigènes

Les phénotypes et la prévalence des antigènes diffèrent selon les populations étudiées. Quatre haplotypes sont communs dans la population européenne : MS, Ms, NS et Ns. Le phénotype résulte de la combinaison de deux haplotypes (Tableau 2). La prévalence de l'antigène M et N sont globalement comparables en termes de prévalence dans la population européenne et la population afro-antillaise (environ 75 % pour l'antigène M et N). Pour ces populations, l'antigène M est majoritairement exprimé de manière hétérozygote (MN). L'antigène M est de prévalence légèrement plus élevée dans la population asiatique (84 % pour l'antigène M) (Tableau 3) (39).

**Tableau 2 : Phénotypes majeurs du système de groupe sanguin MNS**

*Phénotypes majeurs du système de groupe sanguin MNS dans la population européenne et afro-antillaise, selon la dénomination internationale ou commune. Le phénotype résulte de la combinaison de deux haplotypes.*

Dénomination internationale	Dénomination commune	Européens	Africains/Antillais
MNS:1,-2,3,-4	M+N-S+s-	6 %	2 %
MNS:1,-2,3,4	M+N-S+s+	14 %	7 %
MNS:1,-2,-3,4	M+N-S-s+	8 %	16 %
MNS:1,2,3,-4	M+N+S+s-	4 %	2 %
MNS:1,2,3,4	M+N+S+s+	24 %	13 %
MNS:1,2,-3,4	M+N+S-s+	22 %	33 %
MNS:-1,2,3,-4	M-N+S+s-	1 %	2 %
MNS:-1,2,3,4	M-N+S+s+	6 %	5 %
MNS:-1,2,-3,4	M-N+S-s+	15 %	19 %
MNS:1,-2,-3,-4	M+N-S-s-	Exceptionnel	0,4 %
MNS:1,2,-3,-4	M+N+S-s-	Exceptionnel	0,4 %
MNS:-1,2,-3,-4	M-N+S-s-	Exceptionnel	0,7 %

**Tableau 3 : Prévalence des antigènes M, N, S et s**

*La prévalence de l'antigène M est comparable dans la population européenne et afro-antillaise. Elle est légèrement plus élevée dans la population asiatique. Dans la population européenne et afro-antillaise, l'antigène M est majoritairement exprimé de manière hétérozygote.*

	Européens		Africains/Antillais		Asiatiques
	Prévalence	Hétérozygote	Prévalence	Hétérozygote	
M	78 %	64 %	74 %	63 %	84 %
N	72 %	65 %	75 %	60 %	73 %
S	55 %	80 %	31 %	90 %	20 %
s	89 %	50 %	93 %	29 %	92 %

### 3.3 L'anticorps anti-MNS1

Notre travail a porté sur l'anticorps anti-MNS1 ; nous n'aborderons pas les nombreux autres anticorps du système MNS.

Nous distinguons deux types d'acquisition de l'anticorps :

- Les anticorps naturels : l'anticorps anti-MNS1 peut être naturellement présent dans l'organisme de manière irrégulière, dans ce cas il est majoritairement de type IgM (parfois associé à une composante IgG) et apparaît en dehors d'une allo-immunisation. Il peut apparaître, entre autres, suite à des infections bactériennes chez l'enfant (44) ou des infections virales chez l'adulte (45). Un anticorps de type IgM a une structure

pentamérique (Figure 10) de grande taille (900 kDa), ce qui ne lui permet pas de franchir la barrière fœto-placentaire et d'atteindre les hématies fœtales (46–48). Les IgM sont sans incidence obstétricale. Leur optimum thermique se situe à des températures inférieures à 37°C pouvant aller jusqu'à 4°C.

- Les anticorps immuns : en réponse à une stimulation immune, le patient peut développer des allo-anticorps anti-MNS1. Il s'agit d'abord d'anticorps de type IgM, puis après un switch isotopique, les anticorps produits seront majoritairement de type IgG et remplaceront les IgM (49). Les IgG (150 kDa), de structure plus petite que les IgM, peuvent franchir la barrière fœto-placentaire et se retrouver dans la circulation fœtale (50). Ainsi, il existe un risque d'atteinte fœtale lié aux IgG. L'optimum thermique classique des IgG est de 37°C, cependant, pour l'anticorps anti-MNS1, il semble que les IgG puissent réagir à des températures plus faibles (51).

L'anticorps anti-MNS1 est fréquemment identifiée en période obstétricale : sur une cohorte de 6688 patientes enceintes suivies dans les laboratoires d'IH de l'EFS Provence-Alpes-Côte d'Azur, l'anticorps anti-MNS1 était l'anticorps le plus fréquemment identifié pendant la grossesse (18 % des grossesses immunisées) (3). Les panels utilisés pour le dépistage de RAI sont constitués très souvent d'au moins une hématie M homozygote, même s'il ne s'agit pas d'une exigence de l'arrêté du 15 mai 2018. Le TIA est donc sensible pour la détection des anticorps anti-MNS1.

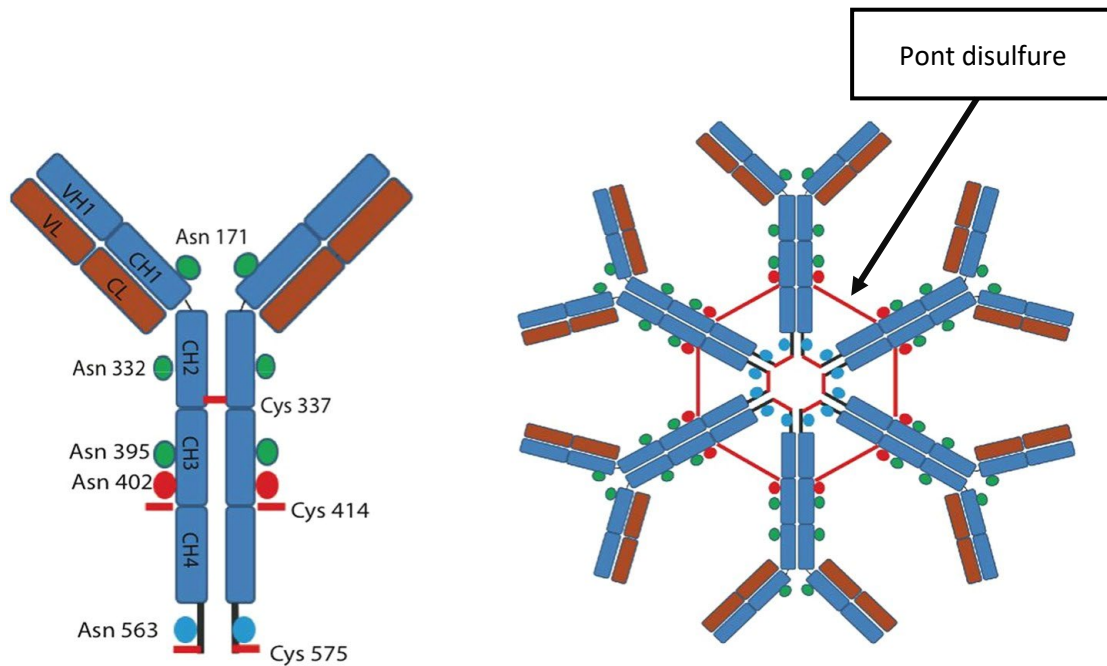
L'incidence obstétricale de l'anticorps anti-MNS1 est faible et le risque de maladie hémolytique fœtale est exceptionnel. Dans la littérature anglaise, seulement de très rares cas de maladies hémolytiques fœtales ont été rapportés, exposés dans l'étude de Moise KJ (52). De Young-Owens et al. ont rapporté qu'aucune maladie hémolytique fœtale n'a été déclarée dans leur étude portant sur 115 patientes aux Etats-Unis (53) . Cependant, il peut dans de rares cas, et uniquement lorsqu'il est de type IgG, être à l'origine d'une anémie sévère chez le fœtus (54). Il semble également que l'atteinte fœtale ou néonatale soit d'incidence plus élevée dans certaines populations, notamment en Asie où de nombreux cas de MHFNN sont

due à l'anticorps anti-MNS1, et ce même à des titres faibles ( $< 4$ ) (55). Cette différence d'incidence entre les populations est mal expliquée : l'hypothèse de facteurs génétiques, liés à l'ethnie et pouvant influencer la réponse immune envers les allo-antigènes érythrocytaires, est évoquée. L'influence des facteurs ethniques sur les disparités de la réponse immunitaire a déjà été étudiée dans des cas de greffe d'organe solide (56). Néanmoins, aucune donnée n'existe sur ces facteurs pour la réponse spécifique aux allo-antigènes érythrocytaires.

Le mécanisme prédominant de l'anémie médiée par l'anticorps anti-MNS1 est une inhibition de la croissance des précurseurs érythrocytaires (57). En effet, une réticulocytopenie est fréquemment observée lors des anémies médiées par l'anticorps anti-MNS1. Une érythroblastopénie, mise en évidence dans la moelle osseuse, a déjà été observée lors d'un bilan d'anémie suite à une IFME (58). De plus, Hinchliffe et al. ont démontré que l'anticorps anti-MNS1 maternel induisait une réduction dose-dépendante de la prolifération des cellules progénitrices érythroïdes M<sup>+</sup> en culture. Ce mécanisme fait intervenir la glycophorine A présente sur les précurseurs érythrocytaires (et les globules rouges matures) dès la 9<sup>e</sup> semaine de gestation. Cette sialoglycoprotéine est la plus abondante de la membrane érythrocytaire ( $1.10^6$  par cellule). Les O-glycanes présents sur cette sialoglycoprotéine contribuent au potentiel Zêta négatif des érythrocytes, qui empêche les érythrocytes d'adhérer les uns aux autres ainsi qu'à l'endothélium vasculaire (12,59) (Figure 11). La fixation de l'anticorps anti-MNS1 sur ces sites antigéniques a pour conséquence de diminuer le potentiel Zêta, ce qui provoque une agglutination des précurseurs érythrocytaires et empêche leur maturation (Figure 12). Ce mécanisme semble prédominant, mais parfois l'anémie est associée à une hyperbillirubinémie, suggérant également un mécanisme par hémolyse liée au système phagocytaire mononucléé (12,55). Ce mécanisme d'inhibition de l'érythropoïèse explique des cas d'anémie arégénérative retardée chez le nouveau-né liée à l'anticorps anti-MNS1 (58,60).

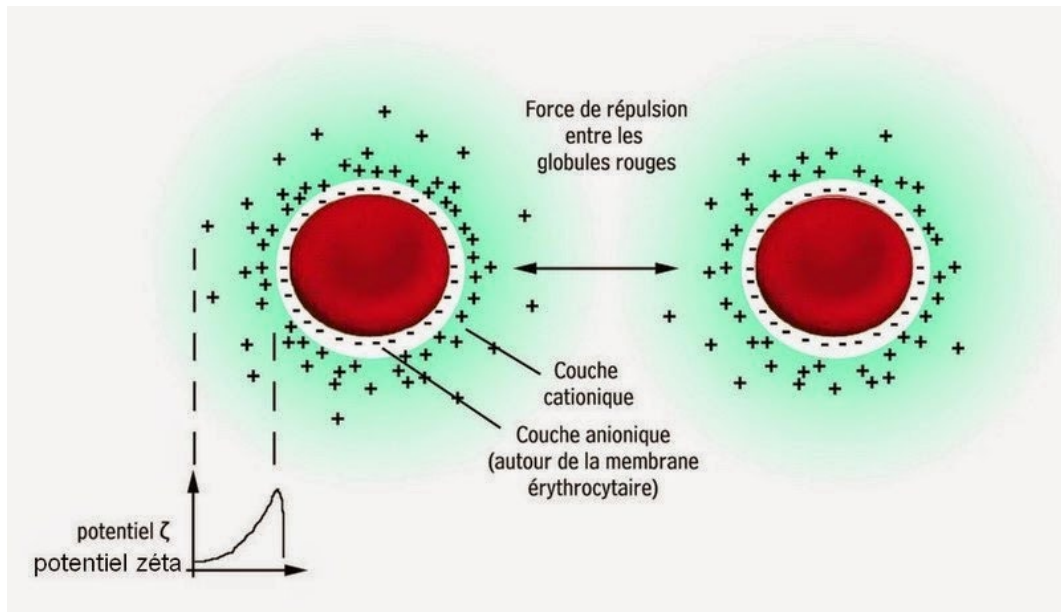
Il est à noter que l'anticorps anti-MNS1 montre un fort effet dose en cas de faible titre, réagissant plus fortement en TIA sur les hématies-tests M+N<sup>-</sup> (homozygotes) que sur les hématies M+N<sup>+</sup> (hétérozygotes).

Lorsqu'un anticorps anti-MNS1 est identifié chez une femme enceinte dans un laboratoire d'IH de l'EFS-BFC, un suivi immuno-hématologique est actuellement proposé toutes les quatre semaines (à partir de la 18<sup>e</sup> SA), avec une RAI et un titrage associé.



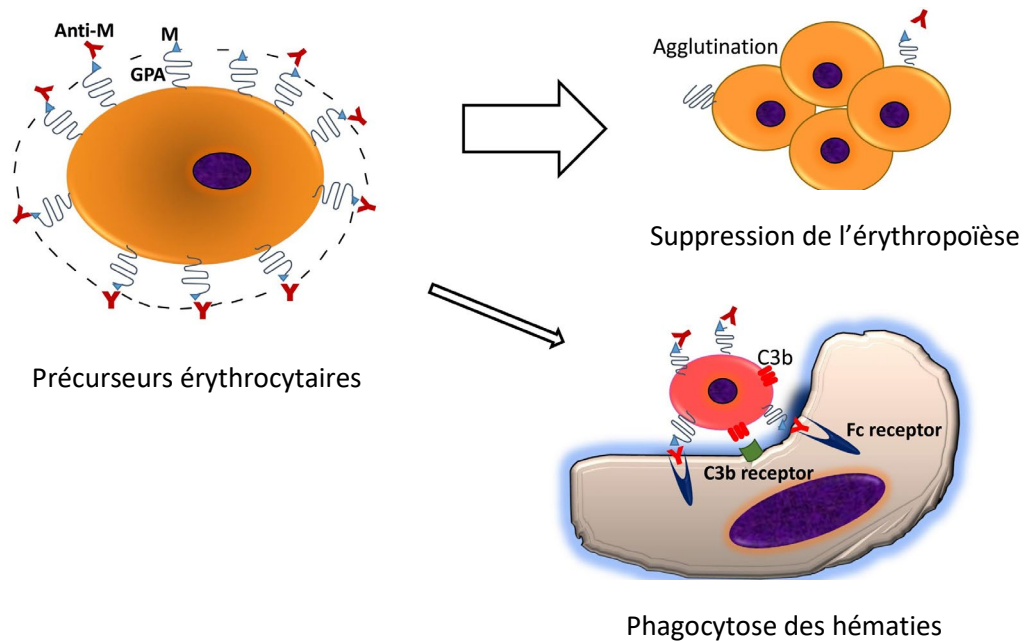
**Figure 10 : Structure d'une IgG et d'une IgM**

*A gauche : une IgG, constituée de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères (kappa ou lambda), qui peut franchir la barrière fœto-placentaire. A droite : une IgM avec sa structure pentamérique, reliée par des ponts disulfures (en rouge) ; elles ne franchissent pas la barrière fœto-placentaire.*



**Figure 11 : Potentiel Zêta des hématies**

Les globules rouges présentent à leur surface des charges négatives, et des cations positifs s'accumulent autour. Le potentiel Zêta est la différence entre les charges électriques négatives et positives. Cette force permet une répulsion des hématies entre elles et évite leur agglutination.



**Figure 12 : Mécanisme d'installation de l'anémie médiée par l'anticorps anti-MNS1**

La glycophorine A contribue au potentiel Zêta de l'hématie et empêche les hématies (et précurseurs érythrocytaires) d'adhérer les unes aux autres. L'anticorps anti-MNS1, en se fixant à l'antigène M présent sur la glycophorine A, réduit ce potentiel Zêta. Les précurseurs érythrocytaires s'agglutinent et ne peuvent plus maturer : c'est l'inhibition de l'érythropoïèse. Dans une moindre mesure, les hématies peuvent être phagocytées par le système phagocytaire mononucléé.



#### **4. Traitement du plasma par DTT**

Le dithiothréitol (DTT) est un agent réducteur capable de réduire les ponts disulfures (61). Appliqué en immuno-hématologie, il permet de réduire les ponts disulfures des IgM et ainsi abolir leur capacité d'agglutination. Le DTT n'a pas d'action sur les IgG, ce qui permet de différencier les IgG des IgM (62). Cette propriété est utilisée au laboratoire d'immuno-hématologie pour faire cette distinction avec des techniques validées. Le pré-traitement du plasma par DTT suivi d'un TIA permet de mettre en évidence une agglutination médiée par des anticorps de type IgG. Lorsqu'il n'y a pas d'agglutination, l'anticorps est donc de type IgM.

La mise en pratique au laboratoire est aisée : le plasma est mélangé avec du DTT dans un tube et incubé pendant 30 minutes à 37°C (63) puis un TIA est effectué avec ce mélange.

Cette utilisation dans le suivi de la femme enceinte s'avère donc intéressante pour différencier les anticorps à risque de causer une MHFNN (IgG) de ceux qui ne le peuvent pas (IgM). Cependant, son utilisation reste mal définie en pratique. Dans les laboratoires d'IH de l'EFS-BFC, cette technique est utilisée en seconde intention et son utilisation n'est pas, à ce jour, protocolisée ; elle est donc dépendante du biologiste en charge de la validation des examens.

## **OBJECTIFS DE L'ETUDE**

L'objectif global de cette étude est d'évaluer la pertinence du traitement du plasma par DTT dans le cadre du suivi des femmes enceintes présentant un anticorps anti-MNS1. De plus, il s'agira d'intégrer cette technique de laboratoire dans une stratégie diagnostique appliquée au suivi obstétrical. La finalité étant de stratifier le risque obstétrical en fonction du type d'anticorps (IgG ou IgM), et ainsi d'adapter le suivi biologique de la femme enceinte.



## MATERIEL ET METHODES

Nous avons réalisé une étude prospective qui a débuté le 1er décembre 2023 et s'est poursuivie jusqu'au 14 juin 2024 au sein du laboratoire d'immuno-hématologie de l'Établissement français du sang (EFS) de Besançon.

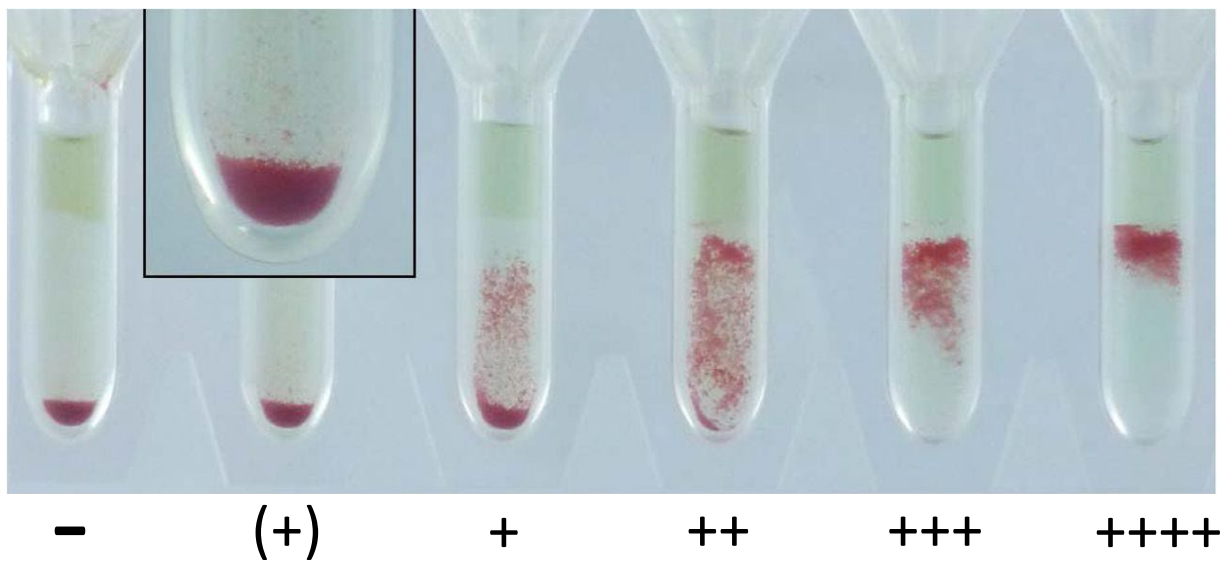
En cas de découverte d'une allo-immunisation pendant la grossesse, les renseignements cliniques sont soit fournis par le prescripteur, soit recherchés par entretien téléphonique. Ils comprennent au minimum la date de début de grossesse et le terme de la grossesse. Ainsi, durant cette période, nous avons collecté les échantillons de femmes dont la grossesse était confirmée et pour lesquels un anticorps anti-MNS1 avait été identifié. Les plasmas étaient congelés à -20°C et étaient décongelés pour les expérimentations.

Pour caractériser la nature IgG ou IgM de l'anticorps anti-MNS1 identifié, nous avons réalisé deux techniques pour chaque échantillon :

- Un TIA (dépistage sur trois hématies) à 37°C après traitement du plasma par DTT (nous l'appellerons par la suite **DTT 37**).
- Un TIA (dépistage sur trois hématies) à température ambiante (20°C) après traitement du plasma par DTT (nous l'appellerons par la suite **DTT TA**).

La méthode employée pour le DTT 37 est celle décrite dans le mode opératoire de l'EFS-BFC. Le DTT utilisé est un DTT pH 7.3 à 0,01M provenant de l'unité de production des réactifs de l'EFS (UPR). Dans un tube, un volume de 100 µL de plasma est mélangé avec un volume de 100 µL de DTT. Parallèlement, dans un autre tube, un volume de 100 µL de plasma est mélangé avec un volume de 100 µL de tampon phosphate, ce dernier n'ayant aucune action sur les anticorps et servant de témoin de réaction positive. Les deux tubes sont incubés pendant 30 minutes à 37°C (Figure 14). Après l'incubation, le plasma traité au DTT est distribué dans trois puits de cartes ID LISS/Coombs de Bio-Rad® contenant une antiglobuline polyvalente anti-IgG et anti-C3d. La quantité de plasma traité par DTT est doublée par rapport à un TIA standard (50 µL pour la technique après traitement du plasma par DTT contre 25 µL pour le TIA

standard) afin de compenser l'effet de dilution causé par l'ajout de DTT. Le plasma non traité (témoin) est également distribué dans trois puits des mêmes cartes de réactifs. Les hématies du panel de dépistage UPR sont ajoutées dans les puits contenant le plasma traité et non traité. La carte est ensuite incubée à 37°C pendant 15 minutes, puis centrifugée. Enfin, le test de dépistage peut être lu et interprété. La lecture du test s'effectue en fonction de l'agglutination des globules rouges et de l'intensité réactionnelle observée dans le puit (Figure 13).



**Figure 13 : Lecture d'une réaction d'agglutination lors des examens d'immuno-hématologie**

*Les intensités réactionnelles sont classées en six catégories : - = aucune agglutination visible ; (+) = agglutination légèrement visible au-dessus du culot globulaire ; + = agglutination visible dans le tiers inférieur de la colonne ; ++ = agglutination visible sur toute la colonne ; +++ = agglutination visible dans le tiers supérieur de la colonne ; +++++ = les cellules agglutinées forment une bande en haut de la colonne.*

Le TIA après traitement du plasma par DTT est négatif si aucune agglutination n'est observée dans chacun des trois puits. Il est positif dès qu'une agglutination est visible dans au moins un des trois puits réactionnels. L'interprétation du test est réalisée selon le Tableau 4.

**Tableau 4 : Interprétation du TIA après traitement du plasma par DTT**

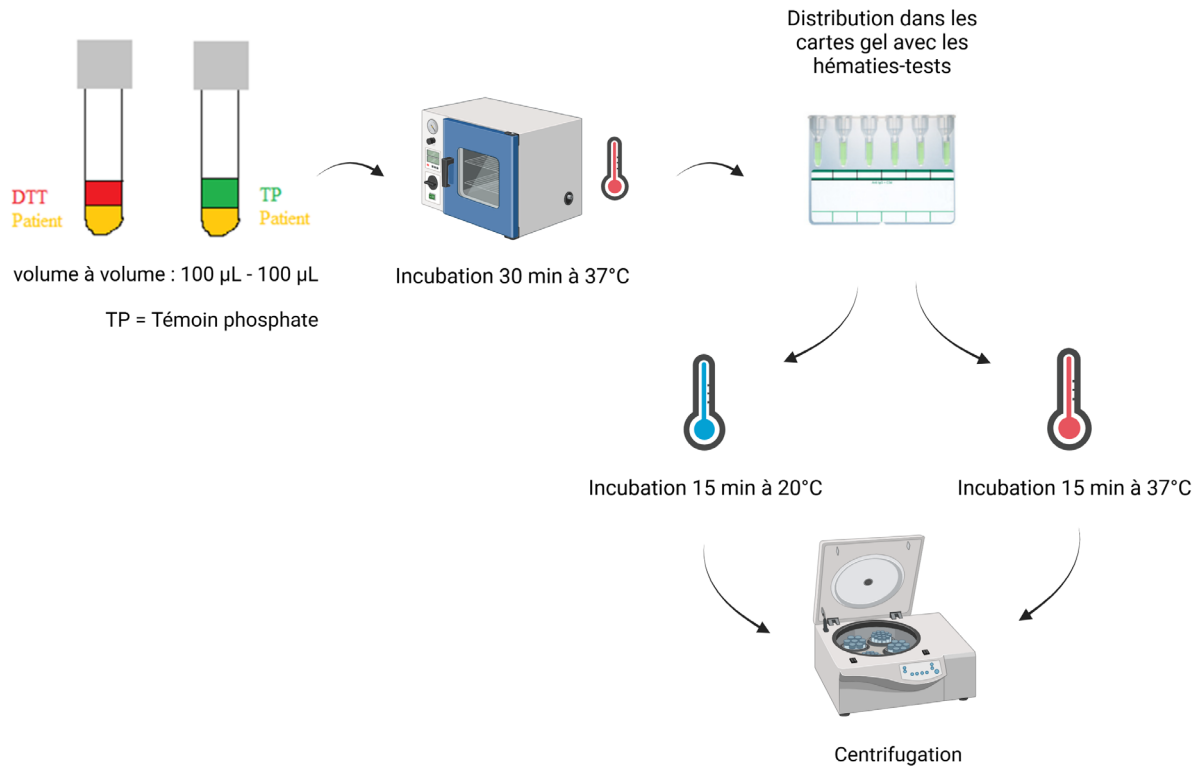
*TIA après traitement du plasma par DTT négatif et témoin positif = Anticorps (Ac) de nature IgM ; TIA après traitement du plasma par DTT positif et témoin positif = Ac de nature IgG ou mélange IgG/IgM ; TIA après traitement du plasma par DTT négatif et témoin négatif = Test ininterprétable*

Plasma patient traité par DTT	Plasma patient non traité (témoin)	Conclusion
-	+	<b>Anticorps de nature IgM</b>
+	+	<b>Anticorps de nature IgG ou mélange IgG/IgM</b>
-	-	<b>Ininterprétable</b>

Un contrôle interne de qualité (CIQ) a été réalisé pour chaque série en utilisant un sérum anti-H de nature IgM pure (Grifols®). Ce sérum anti-H a été traité de la même façon qu'un plasma de patiente afin de s'assurer du bon fonctionnement de la technique et confirmer que les IgM avaient bien été réduites par le DTT.

L'anticorps anti-MNS1 est réputé peu réactif à 37°C (64). Afin de caractériser la nature IgG ou IgM des anticorps, nous avons donc réalisé, en parallèle, un deuxième TIA après traitement du plasma au DTT, mais cette fois l'agglutination a eu lieu à température ambiante (20°C) (DTT TA). Les conditions optimales de réduction des IgM par le DTT sont de 37°C pendant 30 minutes (63). La première phase de la technique reste inchangée : le plasma est mélangé au DTT et incubé pendant 30 minutes à 37°C afin de réduire les ponts disulfures des IgM. Le plasma traité est ensuite mis en contact avec les hématies du panel de dépistage dans les puits réactionnels. Au lieu d'incuber les cartes à 37°C pendant 15 minutes, nous les avons incubées à température ambiante pendant 15 minutes avant de les centrifuger et de procéder à la lecture (Figure 14). Le sérum anti-H IgM pur, utilisé comme CIQ, a également été testé dans les mêmes conditions pour chaque série afin d'assurer la conformité de la technique.

Les CIQ des deux techniques étaient conformes pour chaque série effectuée : les IgM étaient totalement réduites et le témoin était positif.



**Figure 14 : Résumé du protocole des deux techniques effectuées : DTT 37 et DTT TA**

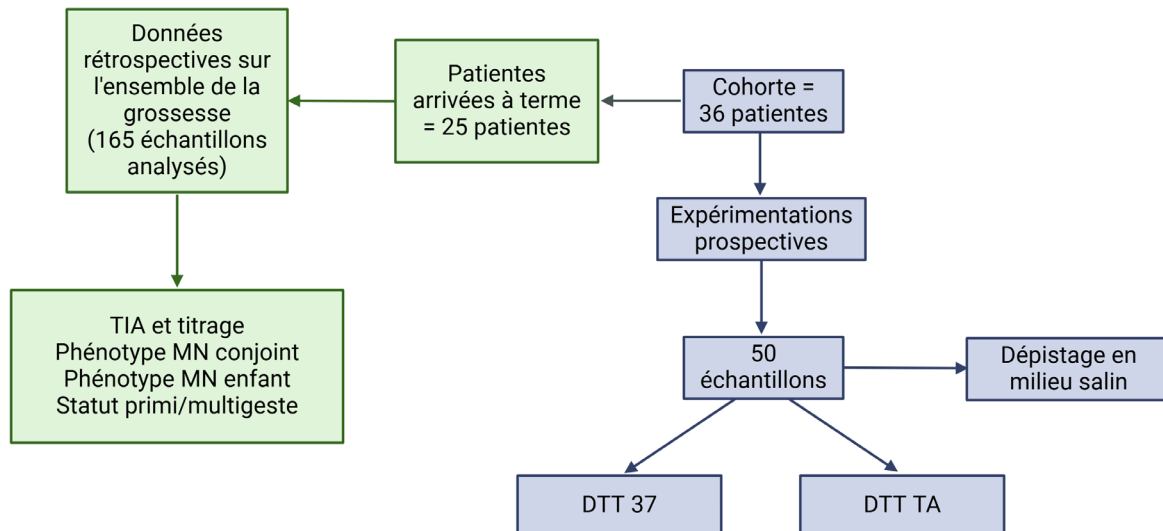
*Une seule étape diffère entre les deux techniques utilisées : il s'agit de l'étape d'incubation des cartes de réactifs. Les cartes de la technique DTT 37 sont incubées pendant 15 minutes à 37°C tandis que les cartes de la technique DTT TA sont incubées pendant 15 minutes à température ambiante (20°C). Les deux techniques ont été réalisées en parallèle pour chaque échantillon.*

De plus, un dépistage en milieu salin à 20°C a été réalisé pour chaque échantillon. Celui-ci consiste à incuber un volume de 25 µL de plasma avec un volume de 50 µL d'hématies du panel de dépistage (UPR) dans des cartes en gel neutre contenant du NaCl et dépourvues d'antiglobuline (Carte-ID 50520 , Bio-Rad®). Les cartes sont incubées pendant 15 minutes à température ambiante (20°C), suivie d'une centrifugation. Enfin, la lecture du résultat peut être effectuée. Un résultat négatif est classiquement en faveur de l'absence d'anticorps de type IgM.

Au total, 50 échantillons de plasma ont été collectés entre le 1er décembre 2023 et le 14 juin 2024. Ces échantillons proviennent de 36 patientes distinctes (Figure 15) dont les échantillons ont été traités et analysés au laboratoire d'IH de l'EFS de Besançon.

Le nombre d'échantillons collectés diffère selon les patientes (Figure 16) :

- Pour 28 patientes, un seul échantillon a pu être collecté.
- Pour 8 patientes, au moins deux échantillons ont été collectés : la période de suivi variait de 1 à 5 mois, ce qui correspondait à un nombre de 2 à 4 prélèvements par patiente.



**Figure 15 : Construction de l'étude**

36 patientes ont été incluses dans l'étude, pour lesquelles nous avons collecté 50 échantillons à différents moments de la grossesse. Un DTT TA, un DTT 37 et un dépistage en milieu salin ont été effectués sur ces échantillons. Des données rétrospectives ont été recueillies pour les patientes arrivées à terme.

Pour chaque patiente incluse dans l'étude, des données supplémentaires ont été relevées rétrospectivement : le statut primigeste ou multigeste, le résultat des RAI précédentes, le résultat des titrages antérieurs (Les titrages étaient réalisés en technique tube), le phénotype MN de la patiente, ses antécédents transfusionnels, et, s'ils étaient disponibles, les données immuno-hématologiques de l'enfant né au terme de la grossesse en cours lors de cette étude, ainsi que le phénotype MN du conjoint et du nouveau-né (Figure 15). Ces données ont été recueillies par une extraction depuis le système d'information de laboratoire (SIL) de l'EFS-BFC ainsi que depuis la banque nationale des patients d'intérêt de l'EFS (BNPI). Des données ont également été obtenues via le protocole d'échange des résultats entre les laboratoires de biologie médicale (LBM) et l'EFS. Toutes les données collectées lors de cette étude ont été anonymisées.



Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide des logiciels Microsoft Excel® et GraphPad - Prism® : Microsoft Excel® pour la gestion et l'organisation des données, et GraphPad - Prism® pour les analyses statistiques et la représentation graphique des résultats.

# RESULTATS

## A. Présentation des résultats

### 1. Caractéristiques de la cohorte

#### 1.1 Disponibilité des données en fonction du stade d'avancement de la grossesse

Les échantillons ont été collectés entre le 1<sup>er</sup> et le 9<sup>e</sup> mois de grossesse, avec une médiane du moment du prélèvement des échantillons située au 6<sup>e</sup> mois de grossesse (Figure 16).

Parmi les 36 patientes incluses dans l'étude :

- 25 patientes ont mené leur grossesse à terme, permettant de recueillir des données complètes. Ces données incluent notamment les résultats des RAI et des titrages d'anticorps sur l'ensemble de la grossesse, ainsi que les données postnatales relatives à l'enfant et au conjoint, lorsqu'elles étaient disponibles.
- 11 patientes avaient une grossesse encore en cours au moment de la rédaction de cette thèse. Les données du suivi biologique sont donc incomplètes pour ces patientes ainsi que les données postnatales.

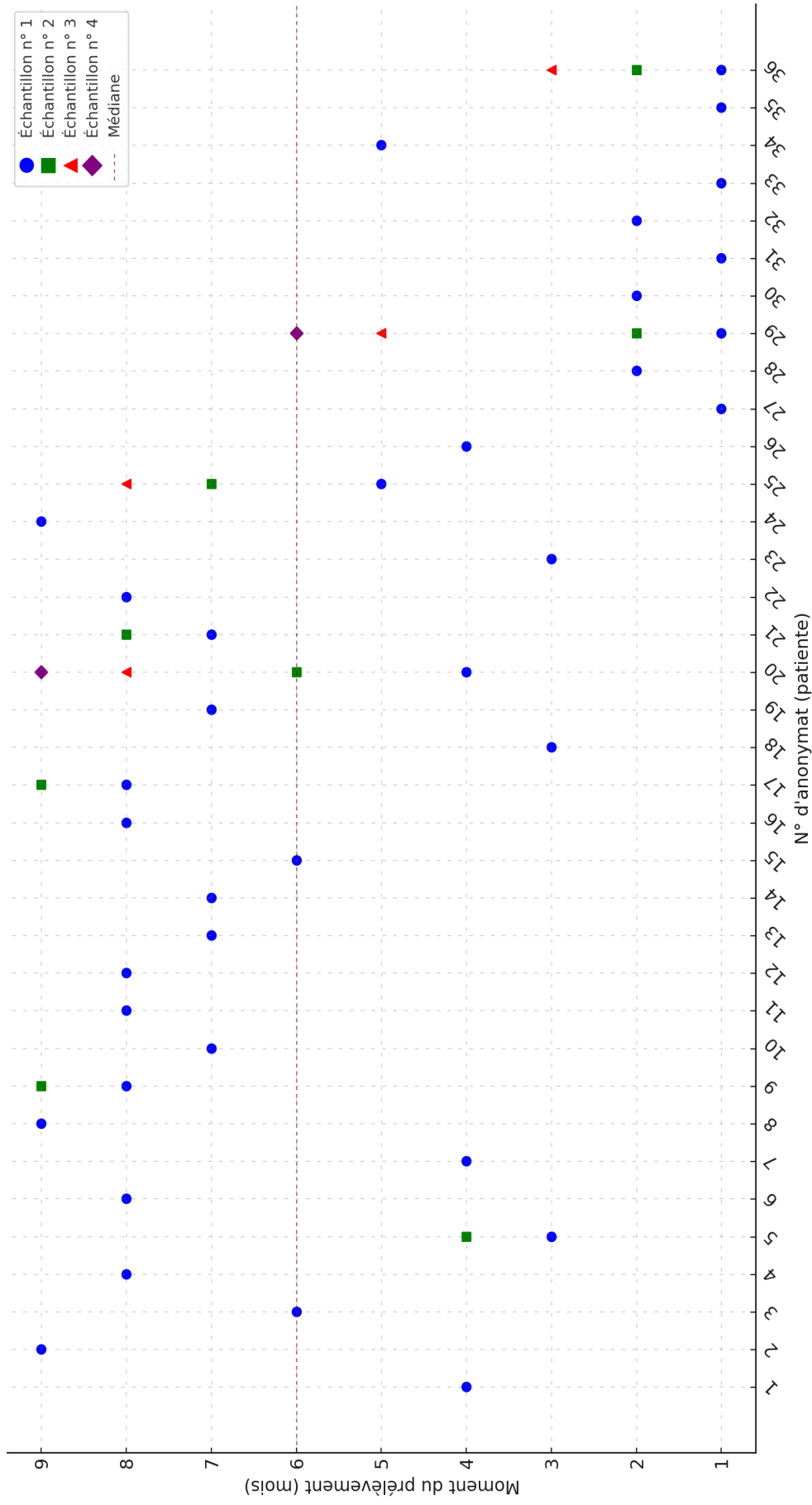


Figure 16 : Échantillons collectés par patiente selon le moment du prélèvement durant la grossesse (en mois)  
 50 échantillons ont été collectés auprès de 36 patientes. Le moment du prélèvement s'étend du 1<sup>er</sup> mois de la grossesse au 9<sup>e</sup> mois. La médiane du moment du prélèvement se situe au 6<sup>e</sup> mois de grossesse. Pour huit patientes (patientes n° 5, 9, 17, 20, 21, 25, 29 et 36), plusieurs échantillons ont été collectés.

## **1.2 Phénotype MNS1 des patientes**

Toutes les patientes incluses dans l'étude [100 % ; 36/36] sont de phénotype MNS:-1 .

## **1.3 Antécédents transfusionnels des patientes**

Afin d'exclure un biais lié à l'acquisition d'anticorps après une transfusion, nous avons vérifié si les patientes avaient déjà reçu des CGR au cours de leur vie. Aucune des patientes [0/36] n'avait d'antécédents transfusionnels avant la grossesse en cours dans le cadre de cette étude.

## **1.4 Phénotype RH1 et pluri-immunisation**

Afin d'exclure un biais d'interprétation des résultats lié à une pluri-immunisation, nous avons exclu toutes les femmes ayant un anticorps concomitant à l'anticorps anti-MNS1, ainsi que celles ayant reçu des immunoglobulines anti-RH1 (Rhophylac®) dans le cadre de la prévention de l'allo-immunisation anti-RH1. Cette précaution garantit que les résultats obtenus soient exclusivement attribuables à l'anticorps anti-MNS1.

Seules deux patientes [5 % ; 2/36] étaient de phénotype RH:-1. Les expérimentations ont été réalisées pour ces deux patientes avant l'injection des immunoglobulines anti-RH1 afin d'éviter toute interférence dans l'interprétation des résultats.

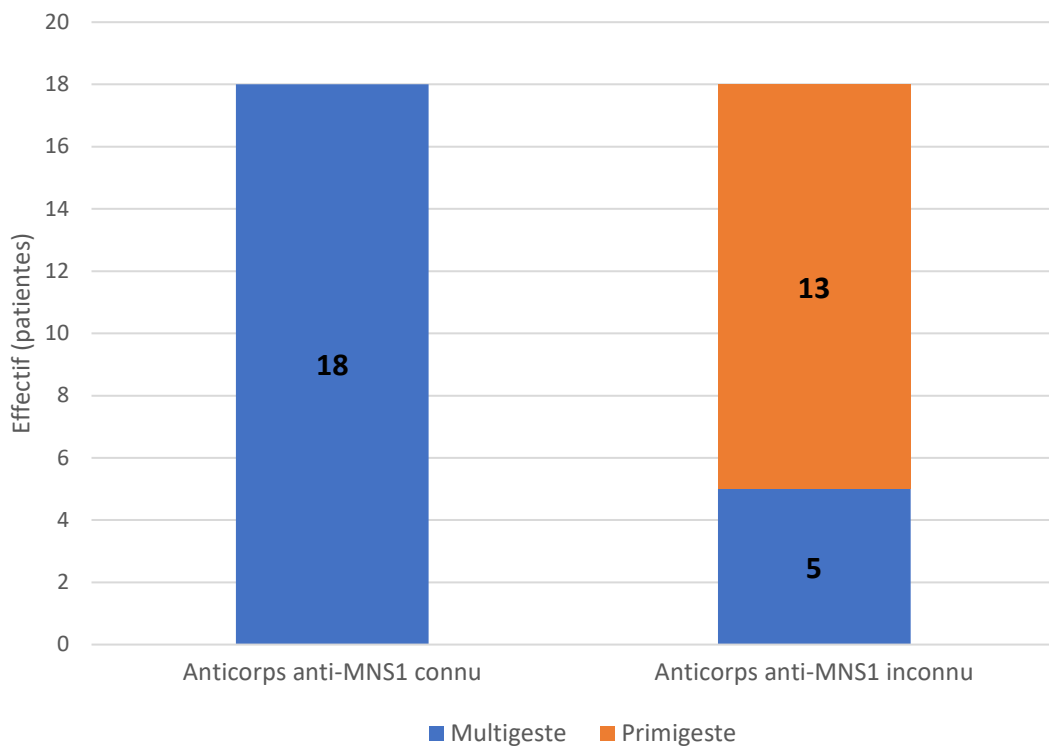
## **1.5 Répartition entre primigestes et multigestes**

Parmi les patientes incluses dans l'étude, 36 % [13/36] étaient primigestes. Les 64 % [23/36] restantes avaient déjà eu au moins une grossesse avant celle suivie dans cette étude.

## 1.6 Présence d'anticorps anti-MNS1 et antécédents obstétricaux

Parmi les patientes incluses dans l'étude :

- 50 % [18/36] avaient déjà été identifiées comme porteuses de l'anticorps anti-MNS1 avant la grossesse suivie dans le cadre de l'étude. Pour toutes ces patientes [18/18], cet anticorps avait été détecté au cours d'une grossesse antérieure.
- L'autre moitié [18/36] des patientes a été identifiée comme porteuse de l'anticorps anti-MNS1 pour la première fois durant la grossesse en cours de cette étude. Parmi elles, 72 % [13/18] étaient primigestes, tandis que 28 % [5/18] avaient déjà eu une grossesse antérieure, sans qu'un anticorps anti-MNS1 n'ait été détecté auparavant (Figure 17).



**Figure 17 : Présence d'anticorps anti-MNS1 en fonction de l'existence d'une grossesse antérieure**

18 patientes [50 %] avaient déjà été identifiées comme porteuses de l'anticorps anti-MNS1 lors d'une grossesse précédente. En revanche, 18 patientes [50 %] n'avaient jamais été identifiées avec un anticorps anti-MNS1 avant la grossesse suivie dans cette étude : pour 13 d'entre elles [72 % ; 13/18] il s'agissait de leur première grossesse, tandis que les 5 autres [28 % ; 5/18] étaient multigestes.

### **1.7 Phénotype MN du procréateur**

L'information sur le phénotype MN du procréateur était disponible pour sept patientes. Parmi ces sept procréateurs, cinq étaient de phénotype MNS:-1, et deux de phénotype MNS:1, tous deux hétérozygotes pour cet antigène.

## **2. Résultats bruts des expérimentations**

Dans cette section, nous présentons les résultats bruts des expérimentations réalisées au cours de l'étude. Pour chaque échantillon (n = 50), un dépistage en milieu salin à température ambiante (20°C) a été réalisé, ainsi qu'un TIA à 37°C après traitement du plasma par DTT (DTT 37) et un TIA à température ambiante (20°C) après traitement du plasma par DTT (DTT TA).

### **2.1 Dépistage en milieu salin à température ambiante (20°C)**

Au total, 48 dépistages en milieu salin ont été réalisés. Deux échantillons n'ont pas pu être testés en raison d'une quantité insuffisante de plasma. Sept patientes [19 % ; 7/36] ont présenté un dépistage négatif en milieu salin à un ou plusieurs moments du suivi de leur grossesse. Les autres patientes présentaient un profil de dépistage compatible avec la présence d'un anticorps anti-MNS1.

### **2.2 TIA après traitement du plasma par DTT**

Nous présentons ici les résultats bruts des TIA réalisés sous deux conditions de température (à 37°C et à température ambiante) après traitement du plasma par DTT. Une analyse comparative des résultats obtenus avec ces deux techniques a ensuite été effectuée.

### 2.2.1 TIA à 37°C après traitement du plasma par DTT (DTT 37)

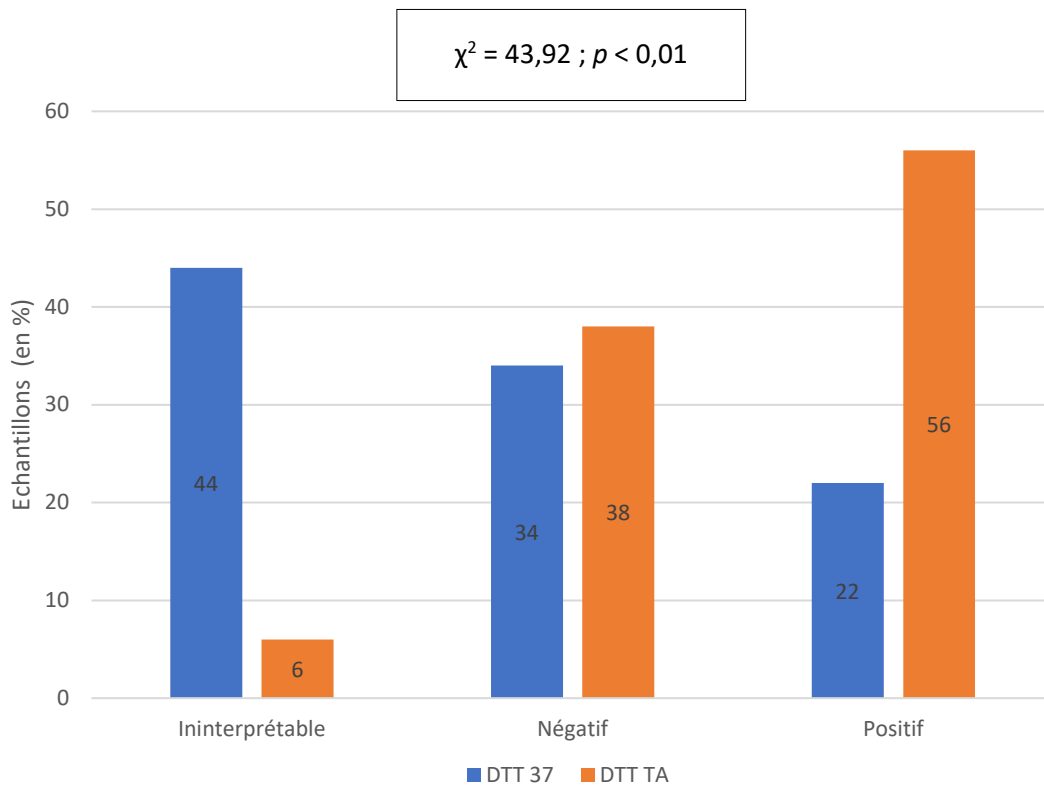
Parmi les 50 échantillons analysés (Figure 18) :

- 44 % des échantillons [22/50] présentaient un témoin négatif pour les trois hématies du panel testées. Dans ce cas, le DTT 37 ne peut pas être interprété.
- 34 % des échantillons [17/50] présentaient un résultat négatif pour le DTT 37 avec un témoin positif. Ce résultat suggère que l'anticorps responsable de la positivité du témoin à 37°C a été détruit par le DTT, rendant la RAI négative.
- 22 % des échantillons [11/50] présentaient un résultat positif pour le DTT 37 avec un témoin positif. Cela indique que l'anticorps responsable de la positivité du témoin à 37°C était résistant au DTT.

### 2.2.2 TIA à température ambiante (20°C) après traitement du plasma par DTT (DTT TA)

Parmi les 50 échantillons analysés (Figure 18) :

- 6 % des échantillons [3/50] présentaient un témoin négatif pour les trois hématies du panel testées. Dans ce cas, le DTT TA ne peut pas être interprété.
- 38 % des échantillons [19/50] présentaient un résultat négatif pour le DTT TA avec un témoin positif. Ce résultat suggère que l'anticorps responsable de la positivité du témoin à température ambiante (20°C) a été détruit par le DTT, rendant la RAI négative.
- 56 % des échantillons [28/50] présentaient un résultat positif pour le DTT TA avec un témoin positif. Cela indique que l'anticorps responsable de la positivité du témoin à température ambiante (20°C) était résistant au DTT.



**Figure 18 : Comparaison des résultats obtenus avec le DTT 37 et le DTT TA**

*44 % des échantillons présentent un résultat ininterprétable pour le DTT 37, contre 6 % pour le DTT TA. 34 % des échantillons présentent un résultat négatif pour le DTT 37, contre 38 % pour le DTT TA. Enfin, 22 % des échantillons présentent un résultat positif pour le DTT 37, contre 56 % pour le DTT TA. La valeur de  $p < 0,01$  indique une différence significative entre les résultats obtenus avec les deux conditions de température.*

### 2.2.3 Comparaison des résultats obtenus avec le DTT 37 et le DTT TA

Afin de comparer les résultats obtenus lors des deux conditions de température (DTT 37 et DTT TA), un test du khi-deux a été réalisé. Ce test révèle une différence statistiquement significative entre les deux procédés [ $\chi^2 = 43,92 ; p < 0,01$ ], indiquant que les résultats obtenus avec le DTT 37 diffèrent de manière significative de ceux réalisés avec le DTT TA. 44 % des échantillons présentent un résultat ininterprétable pour le DTT 37, contre 6 % pour le DTT TA (Figure 18). Le TIA à 37°C après traitement du plasma par DTT (DTT 37) est donc fréquemment mis en défaut, n'étant interprétable que pour 56 % des échantillons, probablement en raison de l'optimum thermique faible (<37°C) de l'anticorps anti-MNS1.



## 2.3 Correspondance des résultats entre le DTT 37 et le DTT TA pour chaque échantillon

Pour chaque échantillon (n=50), nous avons d'abord déterminé le résultat obtenu avec le DTT 37 (ininterprétable, positif ou négatif), puis nous l'avons comparé avec celui obtenu avec le DTT TA. Cette analyse a permis d'observer si un échantillon ininterprétable, positif ou négatif à 37°C présentait un résultat similaire ou différent lorsqu'il était testé à température ambiante (Figure 18). De plus, pour chaque échantillon, nous avons mis en relation ces résultats avec ceux du dépistage en milieu salin, du titrage, le statut primi/mutigeste de la patiente ainsi que le phénotype MNS1 du conjoint et de l'enfant, lorsqu'ils étaient disponibles.

### 2.3.1 Résultats ininterprétables à 37°C (DTT 37)

Parmi les 22 échantillons dont le résultat du DTT 37 était ininterprétable :

- 13 % [3/22] étaient également ininterprétables lors du DTT TA (Tableau 5). De plus, le dépistage en milieu salin pour ces trois échantillons s'est également révélé négatif. Cela suggère une concentration très faible d'anticorps anti-MNS1 en dessous du seuil de sensibilité de ces analyses. Aucun titrage n'a été réalisé pour ces échantillons. Pour 2 patientes [66 % ; 2/3], le phénotype MNS1 du conjoint était connu et de phénotype MNS:-1 .
- 86 % [19/22] ont pu être interprétés lors du DTT TA. Ces échantillons se répartissent ainsi :
  - 45 % [10/22] ont présenté un résultat négatif lors du DTT TA (Tableau 6). Parmi eux, 30 % [3/10] ont montré un dépistage en milieu salin négatif. Un seul échantillon a été titré [10 % ; 1/10], et le titre était négatif. Pour une patiente, l'enfant né au terme de la grossesse était de phénotype MNS:1. Cette patiente avait déjà été identifiée avec un anticorps anti-MNS1 lors d'une grossesse précédente.
  - 41 % [9/22] ont présenté un résultat positif lors du DTT TA (Tableau 7). Parmi eux, 22 % [2/9] ont montré un dépistage en milieu salin négatif. Un seul

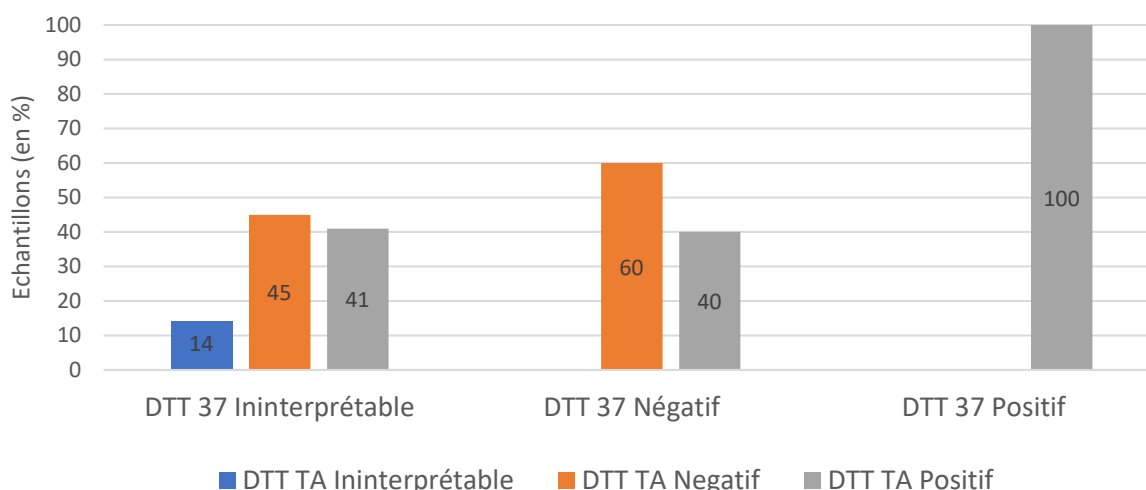
échantillon a été titré [11 % ; 1/9], et le titre était négatif. Le phénotype MNS1 du conjoint était connu pour quatre patientes : l'une d'elles, multigeste, avait un conjoint de phénotype MNS:-1, avec un anticorps anti-MNS1 déjà identifié lors d'une grossesse précédente. Les trois autres patientes, primigestes, avaient un conjoint de phénotype MNS:1, et l'une d'elles a eu un enfant également de phénotype MNS:1.

**Tableau 5 : Echantillons présentant un résultat ininterprétable pour le DTT 37 et le DTT TA**

*N° PAT = N° patiente ; N° Ech = N° d'échantillon ; Anti-MNS1 connu = Anticorps anti-MNS1 déjà identifié lors d'une grossesse précédente ; Inint = Ininterprétable ; Saline = Dépistage en milieu salin ; NR = Non réalisé ; NC = Non connu*

*Trois échantillons présentent un résultat ininterprétable pour le DTT 37 et le DTT TA, avec un dépistage en milieu salin également négatif. Pour deux patientes, le phénotype MNS1 du conjoint est MNS:-1.*

N° Pat	N° Ech	Anti-MNS1 connu	Grossesse antérieure	DTT 37	DTT TA	Saline	Titre	Phénotype MNS1 conjoint
32	32.1	OUI	OUI	Inint	Inint	-	NR	-
33	33.1	NON	OUI	Inint	Inint	-	NR	-
36	36.3	NON	NON	Inint	Inint	-	NR	NC



**Figure 19 : Correspondance des résultats entre le DTT 37 et le DTT TA**

*Parmi les échantillons dont le résultat était ininterprétable pour le DTT 37 : 45 % étaient négatifs pour le DTT TA, tandis que 41 % étaient positifs pour le DTT TA. Par ailleurs, 40 % des échantillons qui présentaient un résultat négatif pour le DTT 37 étaient positifs pour le DTT TA. Tous les échantillons positifs pour le DTT 37 sont également positifs pour le DTT TA.*

**Tableau 6 : Echantillons présentant un résultat ininterprétable pour le DTT 37 et négatif pour le DTT TA**

*N° PAT = N° patiente ; N° Ech = N° d'échantillon ; Anti-MNS1 connu = Anticorps anti-MNS1 déjà identifié lors d'une grossesse précédente ; O = Oui ; N = Non ; Inint = Ininterprétable ; Saline = Dépistage en milieu salin ; Homo = Résultat de l'hématie-test M homozygote ; Hétéro = Résultat de l'hématie-test M hétérozygote ; NR = Non réalisé ; NC = Non connu*

*Dix échantillons présentent un résultat négatif pour le DTT TA, bien qu'ils soient interprétables pour le DTT 37. Le titrage a été réalisé pour un échantillon : le titre était négatif et l'enfant né au terme de la grossesse était de phénotype MNS:1 ; il s'agissait d'une patiente déjà identifiée comme porteuse d'un anticorps anti-MNS1 lors d'une grossesse précédente.*

N° Pat	N° Ech	Anti-MNS1 connu	Grossesse antérieure	DTT 37	DTT TA	Saline		Titre	Phénotype MNS1 enfant
						Homo	Hétéro		
13	13.1	O	O	Inint	-	+++	-	NR	NC
15	15.1	N	N	Inint	-	++	-	NR	NC
18	18.1	O	O	Inint	-	+++	++	-	+
19	19.1	N	O	Inint	-	-	-	NR	NC
20	20.1	O	O	Inint	-	+	-	NR	NC
20	20.2	O	O	Inint	-	++	-	NR	NC
20	20.3	O	O	Inint	-	+	-	NR	NC
20	20.4	O	O	Inint	-	+	-	NR	NC
21	21.1	N	N	Inint	-	-	-	NR	NC
21	21.2	N	N	Inint	-	-	-	NR	NC

**Tableau 7 : Echantillons présentant un résultat ininterprétable pour le DTT 37 et positif pour le DTT TA**

*N° PAT = N° patiente ; N° Ech = N° d'échantillon ; Anti-MNS1 connu = Anticorps anti-MNS1 déjà identifié lors d'une grossesse précédente ; O = Oui ; N = Non ; Inint = Ininterprétable ; Homo = Résultat de l'hématie-test M homozygote ; Hétéro = Résultat de l'hématie-test M hétérozygote ; Saline = Dépistage en milieu salin ; NR = Non réalisé ; Phéno MNS1 conjoint = Phénotype érythrocytaire MNS1 du conjoint ; NC = Non connu ; Phéno MNS1 enfant = Phénotype érythrocytaire de l'enfant né au terme de la grossesse*

*Neuf échantillons présentent un résultat positif en DTT TA, bien qu'ils soient ininterprétables pour le DTT 37. Le titrage a été réalisé pour un échantillon, et le résultat était négatif. Pour une patiente multigeste, le phénotype du conjoint était MNS1:-1. Pour trois patientes primigestes, le phénotype du conjoint était MNS:1, et l'une d'elles a eu un enfant également de phénotype MNS:1.*

N° Pat	N° Ech	Anti-MNS1 connu	Grossesse antérieure	DTT 37	DTT TA		Saline		Titre	Phéno MNS1 conjoint	Phéno MNS1 enfant
					Homo	Hétéro	Homo	Hétéro			
4	4.1	O	O	Inint	(+)	-	++	-	NR	NC	NC
12	12.1	O	O	Inint	(+)	(+)	+	+	NR	-	NC
14	14.1	O	O	Inint	+	-	-	-	NR	NC	NC
22	22.1	N	N	Inint	+	(+)	+	+	NR	+	+
24	24.1	N	N	Inint	+	-	++	+	-	+	NC
25	25.2	N	N	Inint	++	-	++++	++++	NR	NC	NC
26	26.1	N	N	Inint	+	-	++	-	NR	+	NC
34	34.1	N	O	Inint	+++	++	++	+	NR	NC	NC
36	36.1	N	N	Inint	(+)	-	-	-	NR	NC	NC

### 2.3.2 Résultats négatifs à 37°C (DTT 37)

Parmi les 15 échantillons présentant un résultat négatif pour le DTT 37 :

- 60 % [9/15] ont également présenté un résultat négatif lors du DTT TA (Tableau 8). Parmi eux, tous ont montré un dépistage en milieu salin positif. Un seul échantillon a été titré [7 % ; 1/15], et le titre était négatif. Le phénotype MNS1 du conjoint était connu pour une patiente primigeste et était de phénotype MNS:-1 . Le phénotype MNS1 de l'enfant était connu pour deux patientes, et dans les deux cas, les enfants étaient de phénotype MNS: -1 .
- 40 % [8/15] ont présenté un résultat positif lors du DTT TA (Tableau 9). Parmi eux, 88 % [7/8] ont montré un dépistage en milieu salin positif, tandis qu'un échantillon n'a pas pu être testé, faute de plasma disponible. Deux échantillons ont été titrés, et les résultats étaient négatifs. Le phénotype MNS1 de l'enfant né au terme de la grossesse était connu pour une patiente multigeste déjà identifiée avec un anticorps anti-MNS1 lors d'une grossesse précédente ; il était de phénotype MNS:-1 .

**Tableau 8 : Echantillons présentant un résultat négatif pour le DTT 37 et le DTT TA**

*N° PAT = N° patiente ; N° Ech = N° d'échantillon ; Anti-MNS1 connu = Anticorps anti-MNS1 déjà identifié lors d'une grossesse précédente ; O = Oui ; N = Non ; Saline = Dépistage en milieu salin ; Homo = Résultat de l'hématie-test M homozygote ; Hétéro = Résultat de l'hématie-test M hétérozygote ; NR = Non réalisé ; NC = Non connu*

*Neuf échantillons présentent un résultat négatif lors du DTT 37 et du DTT TA. Le titrage a été réalisé pour un échantillon, et le résultat était négatif. Pour une patiente primigeste, le conjoint était de phénotype MNS:-1 . Pour deux patientes, l'enfant né au terme de la grossesse était de phénotype MNS:-1 .*

N° Pat	N° Ech	Anti-MNS1 connu	Grossesse antérieure	DTT 37	DTT TA	Saline		Titre	Phénotype MNS1 conjoint	Phénotype MNS1 enfant
						Homo	Hétéro			
2	2.1	O	O	-	-	+++	++	-	NC	-
3	3.1	N	N	-	-	+++	-	NR	-	NC
6	6.1	N	N	-	-	++	-	NR	NC	-
29	29.1	O	O	-	-	++	(+)	NR	NC	NC
29	29.2	O	O	-	-	+++	(+)	NR	NC	NC
29	29.4	O	O	-	-	+++	++	NR	NC	NC
29	29.3	O	O	-	-	+++	-	NR	NC	NC
30	30.1	O	O	-	-	+	(+)	NR	NC	NC
31	31.1	O	O	-	-	++	+	NR	NC	NC

**Tableau 9 : Echantillons présentant un résultat négatif pour le DTT 37 et positif pour le DTT TA**

N° PAT = N° patiente ; N° Ech = N° d'échantillon ; Anti-MNS1 connu = Anticorps anti-MNS1 déjà identifié lors d'une grossesse précédente ; O = Oui ; N = Non ; Homo = Résultat de l'hématie-test M homozygote ; Hétéro = Résultat de l'hématie-test M hétérozygote ; Saline = Dépistage en milieu salin ; NR = Non réalisé ; NC = Non connu

Huit échantillons présentent un résultat positif pour le DTT TA, bien qu'ils soient négatifs pour le DTT 37. Le titrage a été réalisé pour deux échantillons, et le résultat était négatif. Le phénotype MNS1 de l'enfant né au terme de la grossesse était connu pour une patiente multigeste, et il était de phénotype MNS:-1 .

N° Pat	N° Ech	Anti-MNS1 connu	Grossesse antérieure	DTT 37	DTT TA		Saline		Titre	Phénotype MNS1 enfant
					Homo	Hétéro	Homo	Hétéro		
9	9.1	O	O	-	++	-	++++	+++	NR	NC
9	9.2	O	O	-	+	-	NR	NR	NR	-
11	11.1	N	N	-	++	-	++++	+++	-	NC
25	25.1	N	N	-	(+)	-	++++	++++	-	NC
25	25.3	N	N	-	++	-	+++	+++	NR	NC
27	27.1	O	O	-	+	-	++	-	NR	NC
28	28.1	O	O	-	++	(+)	+++	++	NR	NC
35	35.1	N	O	-	+	-	++	-	NR	NC

### 2.3.3 Résultats positifs à 37°C (DTT 37)

100 % [11/11] des échantillons positifs pour le DTT 37 sont également positifs pour le DTT TA (Tableau 10). Parmi eux, 18 % [2/11] ont montré un dépistage en milieu salin négatif. 55 % [6/11] des échantillons ont été titrés, et tous étaient négatifs.

**Tableau 10 : Echantillons présentant un résultat positif pour le DTT 37 et le DTT TA**

*N° PAT = N° patiente ; N° Ech = N° d'échantillon ; Anti-MNS1 connu = Anticorps anti-MNS1 déjà identifié lors d'une grossesse précédente ; O = Oui ; N = Non ; Homo = Résultat de l'hématie-test M homozygote ; Hétéro = Résultat de l'hématie-test M hétérozygote ; Saline = Dépistage en milieu salin ; NR = Non réalisé*

*Onze échantillons présentent un résultat positif pour le DTT 37 et pour le DTT TA. Le dépistage en milieu salin était négatif pour deux échantillons. Le titrage a été réalisé pour six échantillons, et tous étaient négatifs.*

N° Pat	N° Ech	Anti-MNS1 connu	Grossesse antérieure	DTT 37		DTT TA		Saline		Titre
				Homo	Hétéro	Homo	Hétéro	Homo	Hétéro	
1	1.1	N	N	+++	++	++++	+++	++++	++++	-
5	5.1	N	N	++	+	++	+	+	(+)	NR
5	5.2	N	N	++	(+)	++	++	++	-	NR
7	7.1	O	O	+	(+)	+	+	-	-	-
8	8.1	O	O	+	+	+	+	+	+	-
10	10.1	O	O	++	+	++	++	+++	+++	-
16	16.1	N	O	(+)	-	++	+	++	+	NR
17	17.1	O	O	(+)	-	++	+	+++	-	-
17	17.2	O	O	(+)	-	+	(+)	++	+	-
23	23.1	N	N	(+)	-	++	+	++	-	NR
36	36.2	N	N	(+)	-	(+)	-	-	-	NR



### 3. Données des patientes arrivées à terme

Pour les 25 patientes ayant mené leur grossesse à terme, nous avons réalisé une analyse rétrospective du nombre de prélèvements effectués pour le suivi des RAI, ainsi que du nombre de titrages associés. Lorsque ces informations étaient disponibles, nous avons également recueilli les données immuno-hématologiques de l'enfant né au terme de la grossesse ainsi que son phénotype MN.

#### 3.1 Fréquence et résultats des RAI

Nous avons analysé la fréquence des RAI réalisées tout au long de la grossesse des 25 patientes arrivées à terme. Le nombre médian de RAI par grossesse était de 7, avec un minimum de 4 et un maximum de 10 RAI (Figure 20). Ce nombre médian équivaut à environ une RAI toutes les quatre semaines à partir de 18 SA.

A noter que deux patientes (patiente n° 3 et n° 12), dont le conjoint était de phénotype MNS:-1, sont arrivées à terme et avaient eu respectivement 6 et 5 RAI durant leur suivi. Cela suggère que, bien que la grossesse soit compatible, le suivi biologique était similaire à celui des femmes dont la grossesse était présumée incompatible.

Concernant le résultat des RAI :

- 68 % [17/25] ont présenté des RAI positives tout au long de leur grossesse.
- 32 % [8/25] ont présenté au moins une RAI négative :
  - Pour deux patientes [2/8], la première RAI réalisée en début de grossesse était négative ; l'anticorps anti-MNS1 a été détecté lors de la RAI effectuée au sixième mois, en raison de leur phénotype RH:-1.
  - Pour les six autres patientes [6/8], les résultats négatifs de RAI sont survenus en milieu ou en fin de grossesse, bien que l'anticorps anti-MNS1 ait déjà été identifié au cours de la grossesse.

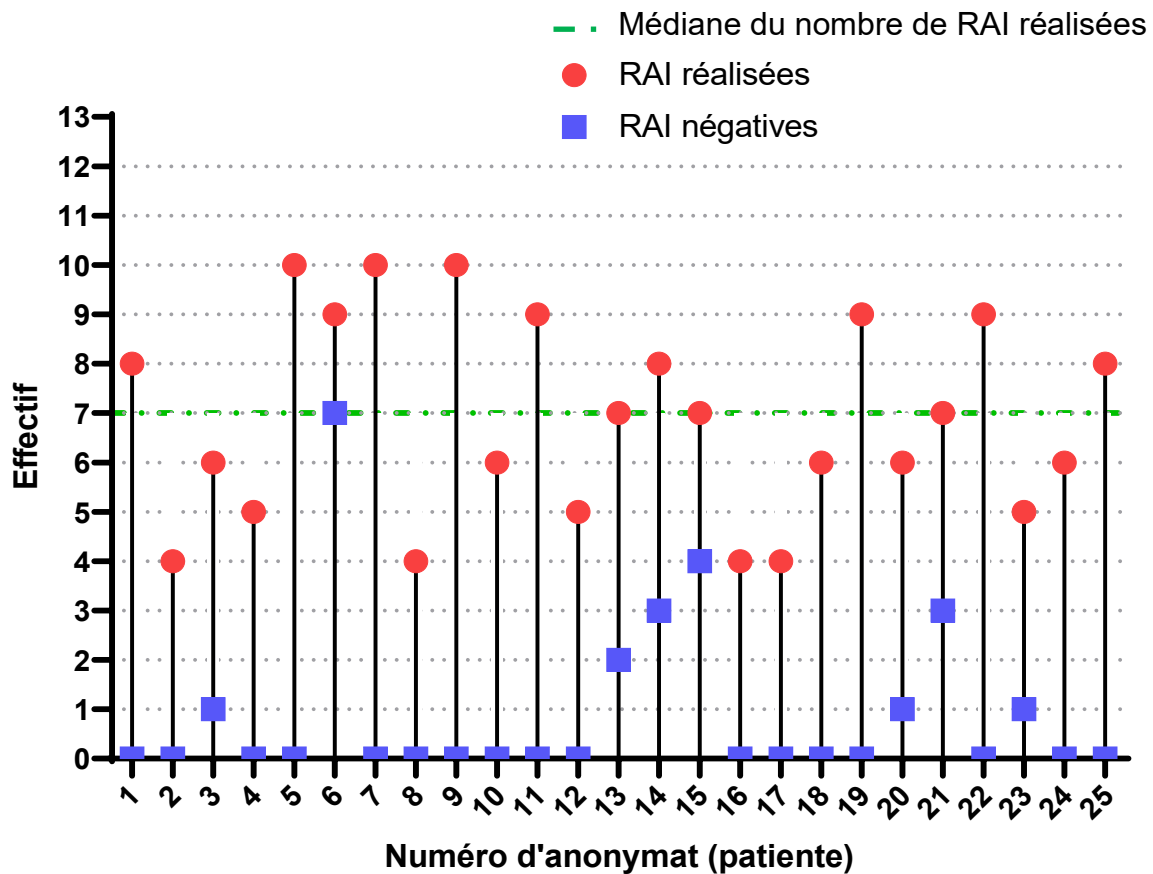


Figure 20 : Nombre et résultats des RAI réalisées durant la grossesse par patiente

Le nombre de RAI réalisées durant la grossesse varie de quatre à dix par grossesse, avec une médiane de 7 RAI par grossesse. Huit patientes ont présenté au moins une RAI négative. La patiente n° 6 a présenté sept RAI négatives sur les neuf effectuées pendant sa grossesse.

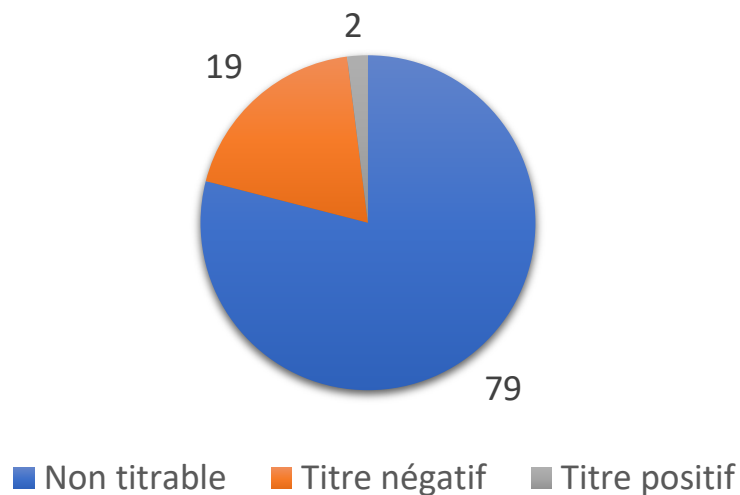
### 3.2 Fréquence et résultats des titrages

Conformément aux procédures actuellement en vigueur dans les laboratoires d'IH de l'EFS-BFC, un titrage de l'anticorps anti-MNS1 est recommandé toutes les quatre semaines à partir de 18 SA. Le titrage est effectué uniquement si l'anticorps réagit avec toutes les hématies-tests M hétérozygotes lors du TIA standard ; dans le cas contraire, le titrage n'est pas réalisé.

Une analyse rétrospective de 165 résultats de RAI a été effectuée pour les 25 patientes ayant mené leur grossesse à terme. Ces résultats de RAI se réfèrent exclusivement à la grossesse qui a été suivie lors de cette étude. L'objectif était d'évaluer si un titrage avait été réalisé en parallèle et, le cas échéant, d'analyser les résultats.

Dans notre cohorte, 79 % [130/165] des anticorps anti-MNS1 étaient non titrables (absence de réaction de toutes les hématies M hétérozygotes en TIA standard), 19 % [32/165] présentaient un titre négatif, et seuls 2 % [3/165] ont été titrés à 1:1 (Figure 21). Les trois échantillons titrés à 1:1 provenaient de la même patiente (le titre était de 1:1 à trois reprises sur les huit titrages réalisés au cours de sa grossesse ; les cinq autres étaient négatifs).

Par ailleurs, pour 44 % [11/25] des patientes, l'anticorps anti-MNS1 n'a jamais été titré (Figure 22). Une seule patiente [1/25 ; 4 %] présentait un anticorps anti-MNS1 constamment titré lors de chaque prélèvement (toujours réactif avec les hématies-tests M hétérozygotes) ; c'est également la seule patiente pour laquelle un titre positif (1:1) a été observé.



**Figure 21 : Résultats des titrages réalisés pendant la grossesse des patientes arrivées à terme**

*165 RAI répartis entre 25 patientes ont été analysés afin de déterminer la valeur du titrage associée : 79 % des anticorps anti-MNS1 étaient non titrables, 19 % présentaient un titre négatif, et seuls 2 % ont été titrés à 1:1 .*

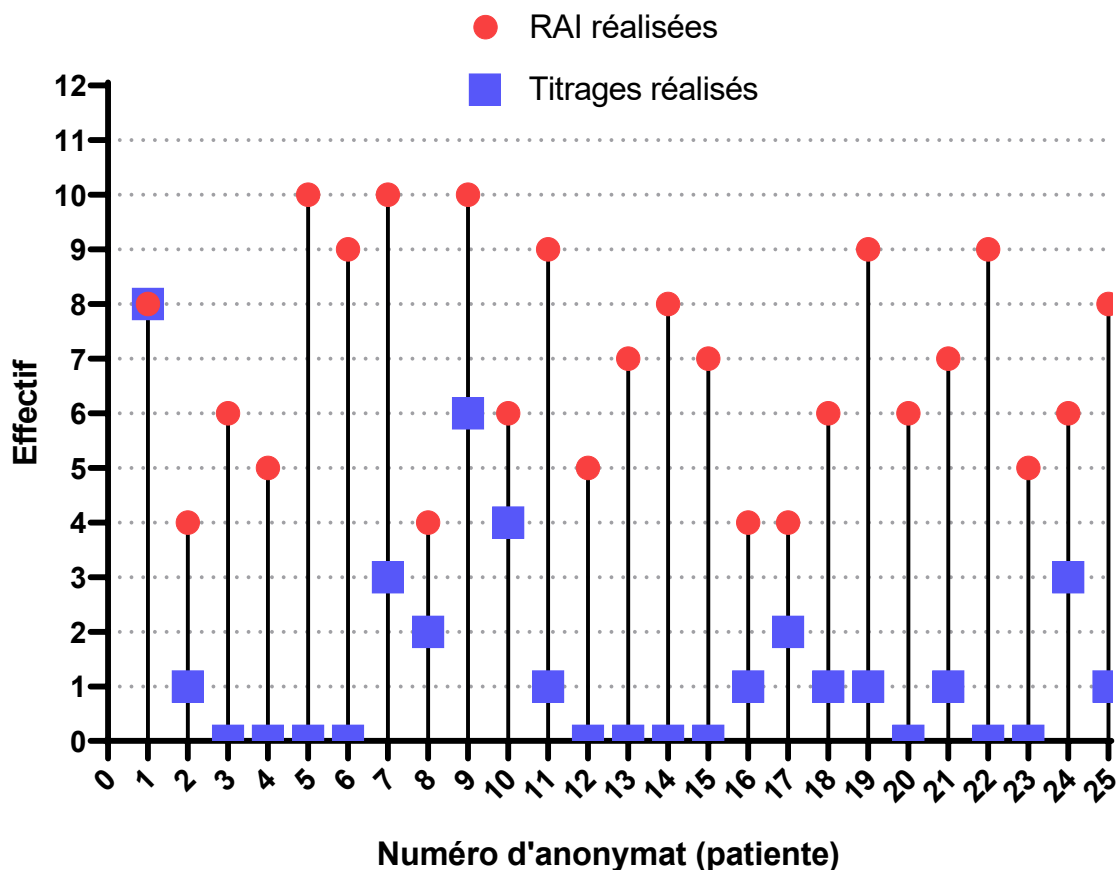


Figure 22 : Nombre de RAI et de titrages réalisés durant la grossesse par patiente

11 patientes [11/25 ; 44 %] présentaient un anticorps anti-MNS1 qui n'a jamais été titré. La patiente n° 1 est la seule pour laquelle un titrage a été réalisé lors de chaque RAI, et également la seule à avoir présenté un anticorps anti-MNS1 de titre positif (1:1).

### 3.3 Données immuno-hématologiques et phénotype MNS1 des nouveau-nés

Les données immuno-hématologiques étaient disponibles pour neuf enfants issus de la cohorte. L'ensemble des neuf enfants présentaient un EDA négatif. Un phénotypage MN a été réalisé pour cinq d'entre eux : trois étaient de phénotype MNS:-1 et deux de phénotype MNS:1.

Il est à noter que, pour la seule patiente présentant anticorps anti-MNS1 de titre positif (1:1), l'EDA et le phénotype MN de l'enfant n'ont pas été recherchés à la naissance.

## B. Analyse et interprétation des résultats

### 1. Nature des anticorps anti-MNS1

L'anticorps anti-MNS1 est fréquemment décrit comme un anticorps naturel irrégulier, majoritairement de type IgM (3,65–67). Cependant, certaines études indiquent que les anticorps anti-MNS1 n'étaient principalement pas réduits par le DTT, suggérant qu'il s'agissait majoritairement d'IgG (ou un mélange d'IgG et d'IgM) avec un optimum thermique inférieur à 37°C (« IgG froide »), et qu'ils étaient capables de provoquer une agglutination spontanée en milieu salin (51,68).

Dans le cadre de notre étude, nous avons interprété nos résultats en tenant compte de cette hypothèse. En effet, nous avons observé une différence dans l'interprétation des résultats des TIA après traitement du plasma par DTT (DTT 37 ou DTT TA) en fonction de la température à laquelle l'agglutination se produisait. Cela nous a conduit à catégoriser les anticorps en trois groupes distincts :

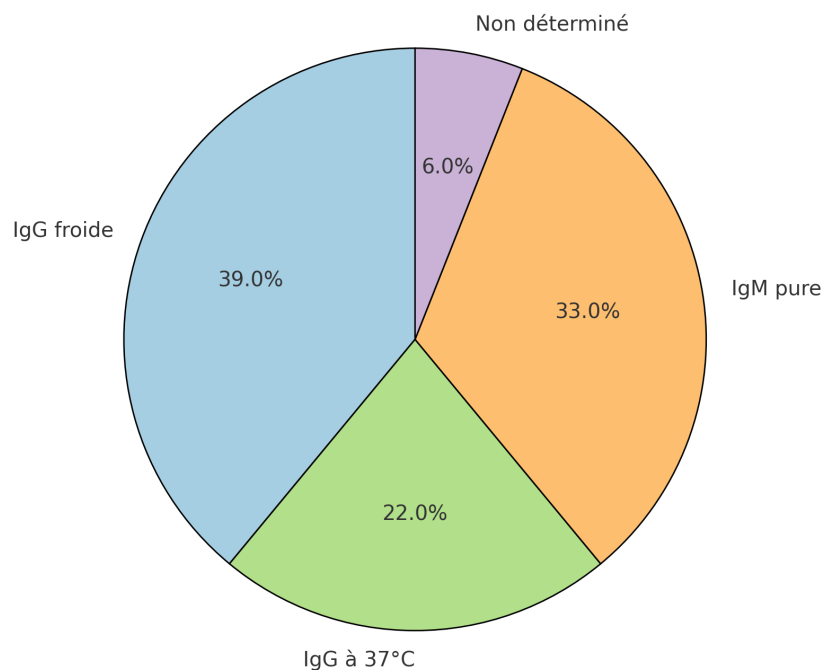
- DTT 37 **ET** DTT TA positifs : l'anticorps anti-MNS1 est de type IgG ou un mélange IgG/IgM, avec une agglutination qui se produit à 37°C.
- DTT 37 négatif **ET** DTT TA négatif : l'anticorps anti-MNS1 a été totalement réduit par le DTT, indiquant qu'il s'agit d'une IgM pure.
- DTT 37 négatif **ET** DTT TA positif : l'anticorps anti-MNS1 n'était pas ou peu réactif à 37°C. Le DTT a réduit une petite fraction des anticorps, faisant passer l'anticorps anti-MNS1 sous le seuil de détection de la technique à 37°C. Cependant, à température ambiante, les réactions étaient plus fortes et le DTT TA était positif, indiquant que l'action du DTT n'avait pas complètement détruit les anticorps. Cela suggère la présence d'IgG avec un optimum thermique inférieur à 37°C, ou d'un mélange IgG/IgM réagissant faiblement à 37°C.

Ainsi, la nature (IgG ou IgM) des anticorps anti-MNS1 a été déterminée pour chaque patiente en fonction des résultats obtenus avec le DTT 37 et le DTT TA. Les huit patientes pour

lesquelles plusieurs échantillons ont été collectés présentait des anticorps anti-MNS1 de nature (IgG ou IgM) constante lors de chaque prélèvement. Cela nous a permis de classer les 36 patientes de notre cohorte en trois catégories (Figure 23) :

- 22 % [8/36] des patientes présentaient des anticorps anti-MNS1 de type IgG (ou un mélange IgG/IgM) réagissant à 37°C
- 33 % [12/36] des patientes présentaient des anticorps anti-MNS1 de type IgM pur
- 39 % [14/36] des patientes présentaient des anticorps anti-MNS1 de type « IgG froide » ou un mélange IgG/IgM peu réactif à 37°C

A noter que 6 % [2/36] des patientes présentaient des résultats ininterprétables aussi bien lors du DTT 37 que du DTT TA, ce qui n'a pas permis de conclure sur la nature de l'anticorps anti-MNS1 chez ces deux patientes.



**Figure 23 : Répartition des patientes selon la nature (IgG ou IgM) de leurs anticorps anti-MNS1**

*39 % des patientes présentaient des anticorps anti-MNS1 de type « IgG froide ». 22 % des patientes présentaient des anticorps anti-MNS1 de type IgG réagissant à 37°C. 33 % des patientes présentaient des anticorps anti-MNS1 de type IgM pur. Pour 6 % des patientes, la nature de l'anticorps anti-MNS1 n'a pas pu être déterminée en raison de résultats ininterprétables lors du DTT 37 et du DTT TA.*

## **2. Recherche de facteurs de distinction entre les IgG et les IgM indépendants du DTT**

Nous avons regroupé les patientes de notre cohorte en deux catégories : celles présentant des IgG (incluant les IgG « froides » et les IgG réactives à 37°C) et celles présentant des IgM pures. Ces deux catégories (IgG et IgM) correspondent classiquement aux deux entités cliniques pertinentes à distinguer lors du suivi des patientes enceintes.

Pour chacune des deux catégories, nous avons analysé les résultats du test en milieu salin réalisé lors de nos expérimentations et quantifié l'intensité réactionnelle lors du test pour l'hématie M homozygote du panel. L'intensité était classée comme faible ( $\leq 2+$ ) ou forte ( $> 2+$ ). Nous avons également évalué la réactivité de l'anticorps en milieu salin avec l'hématie M hétérozygote du panel.

Nous avons réitéré l'analyse sur les résultats du TIA standard (à 37°C), réalisé dans le cadre de l'analyse de « routine » ayant permis d'identifier l'anticorps anti-MNS1 (celui réalisé en dehors de nos expérimentations pour le suivi « réel » des patientes). Nous avons quantifié l'intensité réactionnelle lors du TIA standard pour l'hématie M homozygote du panel (faible ou forte), ainsi que la réactivité de l'anticorps en TIA standard pour l'hématie M hétérozygote du panel.

De plus, nous avons déterminé si l'anticorps anti-MNS1 avait été identifié lors d'une grossesse antérieure et relevé les données sur le phénotype MNS1 du conjoint et de l'enfant lorsqu'elles étaient disponibles.

A partir de ces données, nous avons comparé les deux catégories de patientes (celles présentant des anticorps de type IgG et celles présentant des anticorps de type IgM) afin d'identifier d'éventuels facteurs permettant de distinguer la nature de l'anticorps (IgG ou IgM) indépendamment de l'utilisation du DTT. Cette analyse nous a permis d'évaluer la pertinence de l'utilisation du DTT pour cette distinction par rapport aux autres examens courants. Comme la nature des anticorps est restée inchangée chez les 36 patientes tout au long de leur suivi, nous avons sélectionné un échantillon unique par patiente, correspondant au prélèvement effectué le plus tôt lors de la grossesse.

La comparaison entre les deux catégories a été réalisée à l'aide du test du khi-deux.

## 2.1 Patientes présentant des anticorps anti-MNS1 de type IgG

22 patientes présentaient des anticorps anti-MNS1 de type IgG :

- Test en milieu salin

Pour 27 % [6/22] des patientes, le test en milieu salin montrait une intensité réactionnelle forte avec l'hématie M homozygote, tandis que 55 % [12/22] présentaient une intensité faible. Seules 18 % [4/22] avaient des résultats négatifs (Figure 24). Chez ces patientes, la positivité du test en milieu salin peut s'expliquer par la présence d'une composante IgM associée aux IgG, ou par le fait que les IgG étaient capables de provoquer une agglutination en milieu salin. Le test en milieu salin était positif pour l'hématie M hétérozygote chez 59 % [13/22] des patientes (Figure 25).

- TIA standard

Pour 86 % [19/22] des patientes, le TIA standard montrait une intensité faible avec l'hématie M homozygote, tandis que 14 % [3/22] présentaient une intensité forte (Figure 26). Le TIA standard était positif avec l'hématie M hétérozygote chez 55 % [12/22] des patientes (Figure 27).

- Autres données

Pour 55 % [12/22] des patientes, l'anticorps anti-MNS1 n'était pas connu avant la grossesse suivie lors de cette étude (Figure 28). Le phénotype MNS1 du conjoint était documenté pour quatre patientes, et 75 % [3/4] des conjoints étaient de phénotype MNS:1. Une origine immune de l'anticorps anti-MNS1 est possible chez ces femmes en raison d'une potentielle IFME. La patiente dont le conjoint était de phénotype MNS:-1 était une patiente multigeste, avec un anticorps anti-MNS1 déjà identifié lors d'une grossesse précédente. Le phénotype MNS1 de l'enfant était connu pour deux patientes, et dans 50 % [1/2] des cas, l'enfant était de phénotype MNS:1. La patiente dont l'enfant était de phénotype MNS:-1 était une patiente multigeste avec un anticorps anti-MNS1 identifié lors d'une précédente grossesse.



## 2.2 Patientes présentant des anticorps anti-MNS1 de type IgM

12 patientes présentaient des anticorps anti-MNS1 de type IgM :

- Test en milieu salin

Pour 33 % [4/12] des patientes, le test en milieu salin montrait une intensité réactionnelle forte avec l'hématie M homozygote, tandis que 50 % [6/12] présentaient une intensité faible. Malgré la présence d'IgM, le test en milieu salin était négatif pour 17 % [2/12] des patientes (Figure 23), probablement en raison d'une concentration très faible d'anticorps. Le test en milieu salin était positif avec l'hématie M hétérozygote chez 50 % [6/12] des patientes (Figure 24).

- TIA standard

Pour 100 % [12/12] des patientes, le TIA standard montrait une intensité faible avec l'hématie M homozygote (Figure 26). Le TIA standard était positif avec l'hématie M hétérozygote dans seulement 8 % [1/8] des cas (Figure 27).

- Autres données

Pour 42 % [5/12] des patientes, l'anticorps anti-MNS1 n'était pas connu avant la grossesse suivie lors de cette étude (Figure 27). Chez 58 % [7/12] des patientes, l'anticorps anti-MNS1 avait déjà été identifié lors d'une grossesse précédente, sans qu'un switch isotypique vers une IgG ne soit observé, ce qui suggère une origine naturelle de cet anticorps de type IgM. Le phénotype MNS1 du conjoint était connu pour une patiente et il était de phénotype MNS:-1 . Le phénotype MNS1 de l'enfant était connu pour deux patientes et, dans les deux cas, les enfants étaient de phénotype MNS:-1 ; l'une d'elle était primigeste. Ces résultats sont également en faveur d'une origine naturelle de l'anticorps anti-MNS1 chez ces patientes.

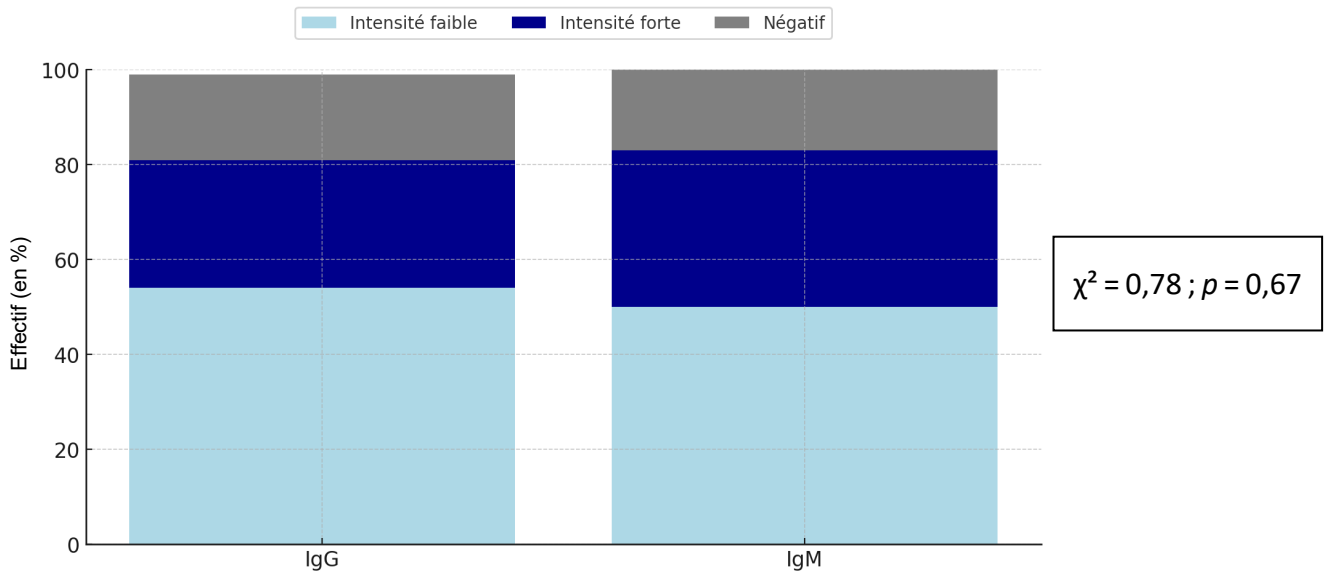
## 2.3 Analyse comparative entre les catégories (IgG ou IgM)

Il n'existait pas de différence significative d'intensité réactionnelle lors du test en milieu salin avec l'hématie-test M homozygote selon la nature de l'anticorps [ $\chi^2 = 0.78$  ;  $p = 0.67$ ] (Figure

24). De plus, aucune différence significative n'a été observée entre les groupes concernant la réactivité de l'hématie-test M hétérozygote lors du test en milieu salin [ $\chi^2 = 1.3$  ;  $p = 0.26$ ] (Figure 25). Classiquement, une agglutination en milieu salin est attendue pour les anticorps de type IgM. Cependant, ces résultats montrent que l'intensité réactionnelle et la réactivité de l'hématie M hétérozygote sont similaires, que l'anticorps anti-MNS1 soit de nature IgG ou IgM. Cela peut s'expliquer par la capacité de l'anticorps anti-MNS1 de type IgG à provoquer une agglutination en milieu salin ou par la présence d'un mélange d'IgG et d'IgM.

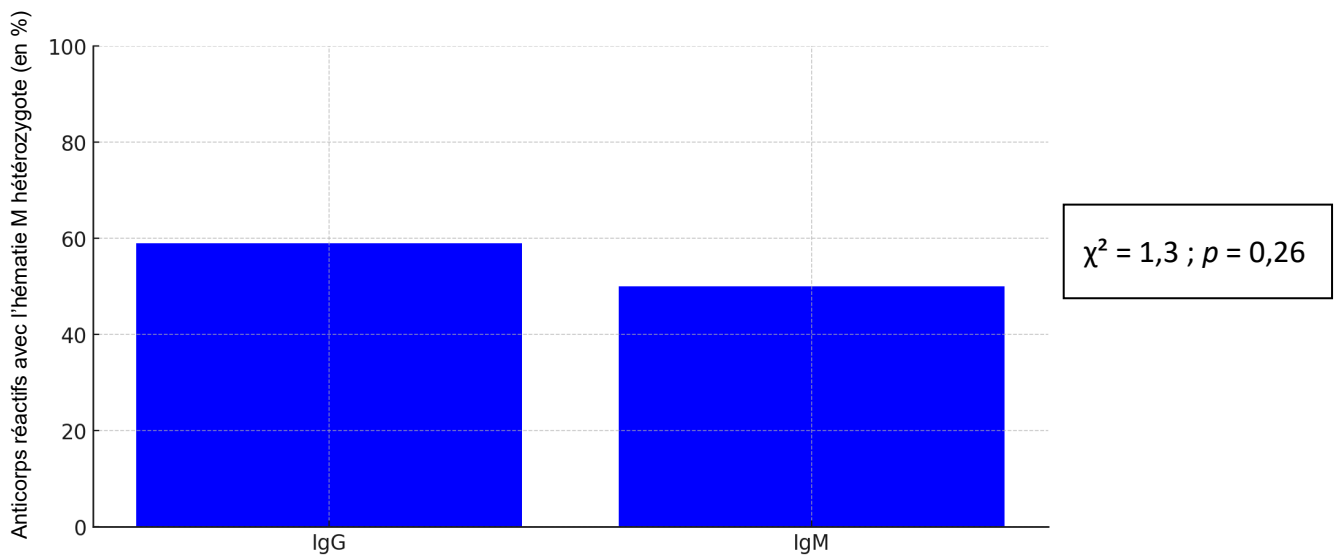
Une différence significative d'intensité réactionnelle a été observée lors du TIA standard avec l'hématie M homozygote [ $\chi^2 = 13$  ;  $p < 0.01$ ] (Figure 26) ainsi que pour la réactivité de l'hématie M hétérozygote en TIA standard [ $\chi^2 = 49.0$  ;  $p < 0.01$ ] (Figure 27). Ces résultats indiquent que les anticorps de type IgG provoquaient une réaction significativement plus forte avec l'hématie M homozygote lors du TIA standard et réagissaient plus fréquemment avec l'hématie M hétérozygote en TIA standard. Toutefois, ces résultats sont insuffisants pour corrélérer la nature de l'anticorps (IgG ou IgM) avec la différence de réaction des hématies du panel en TIA standard, d'autant plus que les intensités varient selon les lots de réactifs utilisés.

Enfin, l'anticorps anti-MNS1 était connu avant la grossesse suivie dans le cadre de cette étude, dans des proportions similaires, que l'anticorps soit de type IgG ou IgM [ $\chi^2 = 0,13$  ;  $p = 0,72$ ] (Figure 28).



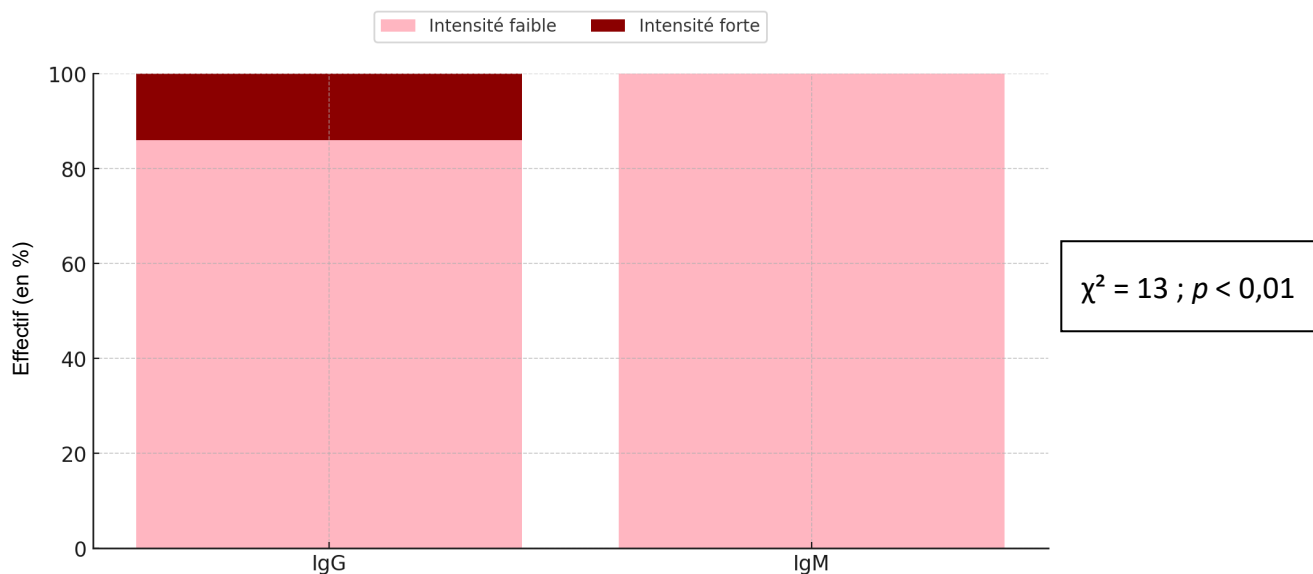
**Figure 24 : Comparaison des intensités réactionnelles avec l'hématie M homozygote lors du test en milieu salin selon la nature (IgG ou IgM) de l'anticorps**

*Il n'y a pas de différence statistiquement significative d'intensité réactionnelle lors du test en milieu salin avec l'hématie-test M homozygote entre les anticorps de type IgG et IgM [p = 0,67]. L'intensité réactionnelle avec l'hématie M homozygote lors du test en milieu salin ne semble pas être indicative de la nature des anticorps.*



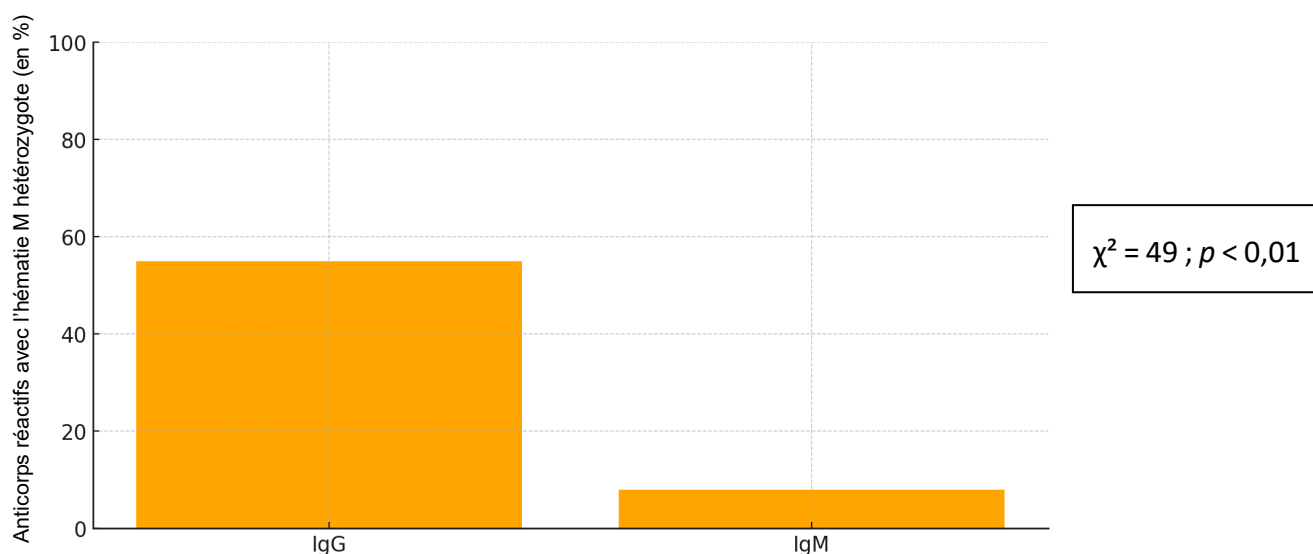
**Figure 25 : Comparaison de la réactivité de l'anticorps avec l'hématie M hétérozygote en milieu salin selon sa nature (IgG ou IgM)**

*Aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre les IgG et les IgM [p = 0,26]. La réactivité de l'hématie M hétérozygote en milieu salin ne semble pas être indicative de la nature des anticorps.*



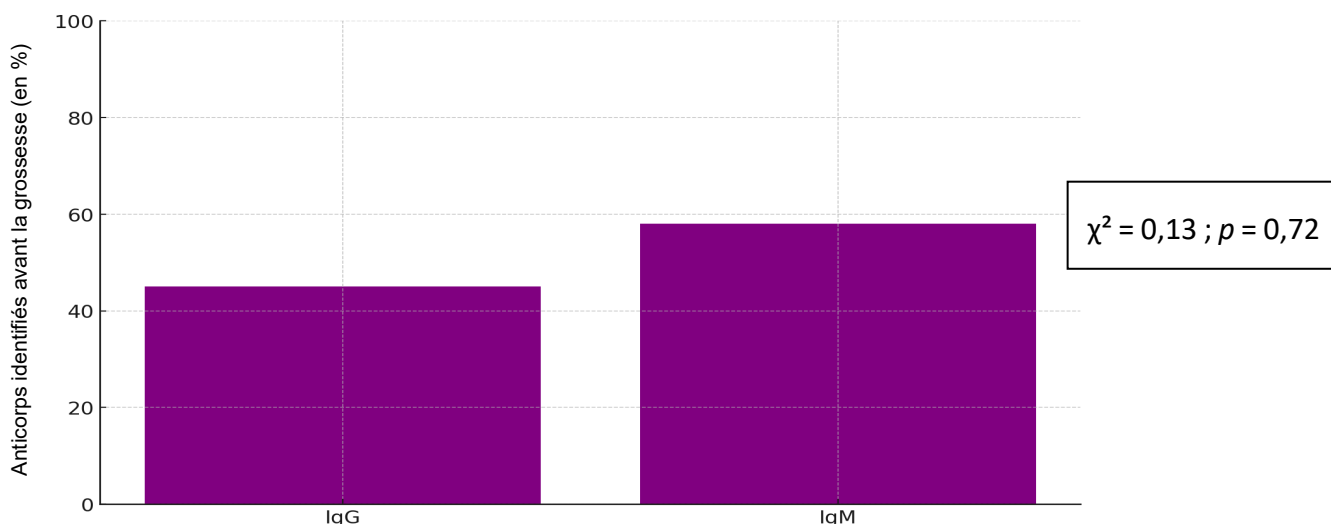
**Figure 26 : Comparaison des intensités réactionnelles avec l’hématie M homozygote lors du TIA standard selon la nature (IgG ou IgM) de l’anticorps**

Une différence statistiquement significative d’intensité réactionnelle avec l’hématie M homozygote lors du TIA standard est observée entre les IgG et les IgM [ $p < 0,01$ ]. 100 % des anticorps anti-MNS1 de type IgM étaient faiblement réactifs avec l’hématie M homozygote lors du TIA standard, tandis que 14 % des anticorps anti-MNS1 de type IgG montraient une intensité réactionnelle forte.



**Figure 27 : Comparaison de la réactivité de l’anticorps avec l’hématie M hétérozygote lors du TIA standard selon sa nature (IgG ou IgM)**

Une différence statistiquement significative a été observée entre les IgG et les IgM [ $p < 0,01$ ]. Seuls 8 % des anticorps anti-MNS1 de type IgM étaient réactifs avec l’hématie M hétérozygote lors du TIA standard, contre 55 % des anticorps de type IgG.



**Figure 28 : Comparaison de la proportion d'anticorps anti-MNS1 identifiés avant la grossesse selon sa nature (IgG ou IgM)**

*Les anticorps anti-MNS1 avaient été identifiés avant la grossesse en cours de cette étude dans des proportions similaires pour les IgM et les IgG [ $p = 0,72$ ].*

### 3. Limite d'intensité réactionnelle et interprétabilité du DTT TA

Nous avons cherché à déterminer s'il existait une limite d'intensité réactionnelle en TIA standard pour laquelle le DTT TA devenait non contributif (c'est-à-dire ininterprétable en raison d'un témoin négatif). Notre analyse a porté sur les 50 échantillons testés lors de nos expérimentations. Parmi ceux-ci, trois échantillons étaient ininterprétables en DTT TA en raison d'un témoin négatif. Nous avons comparé les intensités réactionnelles relevées lors du dépistage et lors de l'identification de l'anticorps en TIA standard (TIA réalisés lors des analyses de « routine » en dehors de nos expérimentations) et comparé deux groupes (DTT TA ininterprétable et DTT TA interprétable) :

- Les 3 échantillons ininterprétables en DTT TA présentaient tous des intensités réactionnelles inférieures ou égales à 0,5+ en TIA standard.
- Les 47 échantillons interprétables en DTT TA présentaient tous, au minimum, une intensité réactionnelle supérieure à 0,5+ en TIA standard.

L'utilisation du traitement du plasma par DTT suivie d'un TIA à température ambiante (DTT TA) n'est pertinente que si les intensités réactionnelles en TIA standard atteignent au moins 1+ sur les hématies-tests du panel.

## DISCUSSION / CONCLUSION

L'identification d'anticorps anti-érythrocytaires anti-MNS1 est fréquente durant la grossesse (69–71). Cependant, cet anticorps présente rarement un intérêt clinique (2). Seuls les anticorps de type IgG, capables de traverser la barrière fœto-placentaire, peuvent provoquer une maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né. Le traitement du plasma par DTT permet de détecter la présence d'anticorps de type IgG, susceptibles de traverser la barrière fœto-placentaire et de causer une atteinte du fœtus s'il est porteur de l'antigène érythrocytaire MNS1. Cette étude avait pour objectif d'évaluer l'intérêt de la technique de traitement du plasma par DTT pour déterminer s'il était pertinent de l'intégrer dans le suivi immunologique des patientes enceintes présentant un anticorps anti-MNS1. De plus, il s'agissait d'évaluer comment intégrer ce procédé afin d'adapter la prise en charge de ces patientes. Cette étude réalisait également un état des lieux du suivi biologique des grossesses associées à un anticorps anti-MNS1, dont les échantillons étaient traités, analysés et interprétés dans les laboratoires IH de l'EFS-BFC.

Les données de 36 patientes enceintes, identifiées avec un anticorps anti-MNS1 dans les laboratoires IH de l'EFS-BFC entre décembre 2023 et juin 2024, ont été analysées. Deux TIA (à 37°C et à température ambiante) après traitement du plasma par DTT ont été réalisés sur 50 échantillons. Cette étude a permis de dégager plusieurs conclusions.

**En moyenne, les patientes de notre cohorte étaient prélevées sept fois au cours de leurs grossesses pour des analyses immuno-hématologiques.**

Ce chiffre correspond aux préconisations de l'EFS transmises au clinicien par le compte-rendu de résultat. En effet, l'EFS préconise un suivi par une RAI et un titrage de l'anticorps toutes les quatre semaines à partir de 18 SA jusqu'à l'accouchement. Cette préconisation s'applique à tous les anticorps anti-MNS1, même s'ils sont uniquement réactifs à température ambiante. Le nombre de prélèvements effectués était similaire chez les patientes dont la grossesse était compatible (conjoint de phénotype MNS:-1). Dans 79 % des cas, l'anticorps n'était pas titrable, et dans 19 % des cas, il était négatif. Seuls 2 % des anticorps anti-MNS1 étaient titrés à 1:1. Ces résultats amènent à s'interroger sur la pertinence de la fréquence du suivi proposé

actuellement dans les laboratoires d'IH de l'EFS. Par ailleurs, il est à noter que plusieurs résultats de RAI se révélaient négatifs. En effet, 32 % des patientes ont présenté au moins une RAI négative au cours de leur suivi. De plus, chez 5 % des patientes, l'anticorps anti-MNS1 n'aurait pas été identifié si les patientes n'avaient pas été de phénotype RH:-1. Bien que cette proportion soit faible, elle doit être nuancée par l'exclusion des patientes ayant reçu une prophylaxie par immunoglobulines anti-RH1.

Le centre national de référence en hémobiochimie périnatale (CNRHP) recommande un titrage au premier trimestre de la grossesse, puis à 37 SA si le titre initial est  $< 4$ , ou à 32 et 37 SA si le titre initial est égal à 4, ou à 28, 32 et 37 SA si le titre initial est  $> 4$  (19). En suivant ces recommandations, l'ensemble des patientes de notre cohorte n'aurait bénéficié que de deux prélèvements à des fins d'analyses immuno-hématologiques, contre une moyenne de sept prélèvements observés dans notre étude.

Cependant, aucun consensus n'existe entre les sociétés savantes, tant au niveau national qu'international, concernant la fréquence des RAI et du titrage chez les patientes enceintes immunisées avec un anticorps anti-MNS1. De plus, ces recommandations sont fondées sur le titrage de l'anticorps, dont les seuils critiques sont débattus dans la littérature et varient selon la technique employée.

L'utilisation du DTT permettrait d'alléger le suivi chez ces patientes lorsque le résultat indique la présence d'une IgM sans risque obstétrical.

**Aucune incidence fœtale ni néonatale sévère liée à l'anticorps anti-MNS1 n'a été observée pour les patientes de notre cohorte.**

Aucune demande de sang pour une TIU n'a été relevée ni aucune demande de sang pour l'enfant né au terme de la grossesse. De plus, un EDA a été réalisé à la naissance pour neuf nouveau-nés, et les résultats étaient négatifs pour chacun d'entre eux. Ces résultats indiquent qu'aucune anémie fœtale ou néonatale sévère ne s'est déclarée au cours de cette étude. En 13 ans, au sein d'une cohorte du CNRHP recensant les cas d'IFME ayant provoqué une anémie fœtale sévère, seulement quatre cas étaient dus à un anticorps anti-MNS1 (57). L'étude de Stetson et al. (72) montre que, sur une cohorte de 195 patientes présentant un anticorps anti-MNS1, aucune MHFNN bénigne ou sévère n'a été déclarée. Les résultats de l'étude de De

Young-Owens et al. (53) aboutissaient aux mêmes conclusions, avec une cohorte de 115 patientes enceintes aux Etats-Unis sans incidence fœtale ou néonatale sévère. D'autres études occidentales corroborent ces résultats (70,71,73). Ces données de la littérature, associées aux résultats de notre étude, soulèvent des questions quant à la fréquence du suivi préconisé par l'EFS pour ces patientes, au regard du faible risque d'atteinte fœtale ou néonatale lié à cet anticorps.

Toutefois, des cas exceptionnels de MHFNN sévère ont été rapportés chez des patientes caucasiennes, avec parfois une mort fœtale *in utero* (74–76).

De plus, dans certaines populations ethniques, l'anticorps anti-MNS1 semble plus à risque de provoquer une MHFNN. En effet, 88 % des cas de MHFNN liés à l'anticorps anti-MNS1 surviennent dans la population asiatique, avec une prédominance de cas recensés au Japon. (77,78). La littérature asiatique recense de nombreux cas de MHFNN causés par l'anticorps anti-MNS1. Elles sont parfois dues à un anticorps anti-MNS1 de faible titre (<4), peu ou pas réactif à 37°C et entraînant parfois la mort fœtale *in utero* (malgré TIU) ou des manifestations sévères chez le nouveau-né (78–86).

Afin de stratifier ce risque, bien que rare, le traitement du plasma par DTT pourrait s'avérer utile pour distinguer les anticorps capables de traverser la barrière fœto-placentaire et donc à risque de provoquer une MHFNN.

### **Les anticorps anti-MNS1 sont majoritairement de nature IgG.**

Dans notre cohorte, 39 % des patientes présentaient un anticorps anti-MNS1 de type « IgG froide » réactif à des températures inférieures à 37°C, 22 % des patientes présentaient un anticorps anti-MNS1 de type IgG réagissant à 37°C et 33 % des patientes présentaient un anticorps anti-MNS1 de type IgM pure. A noter que pour 6 % des patientes, les résultats des tests n'étaient pas interprétables.

Nos résultats, qui indiquent que 61% des patientes présentaient un anticorps anti-MNS1 de type IgG sont concordants avec les résultats de Smith et al. (51) qui montraient que 78 % des anticorps anti-MNS1 étaient résistants au DTT et donc de nature IgG. La nature des anticorps anti-MNS1 avait été confirmée par chromatographie ce qui appuyait les résultats obtenus. Nous rejoignons également Wang et al. qui ont montré que 28 % des anticorps anti-MNS1



déTECTÉS ÉTAIENT DE TYPE IgM (68), ainsi que Makroo et al. dont l'étude a montré que 50 à 80 % des anticorps anti-MNS1 détectés étaient de type IgG (ou d'un mélange IgG/IgM) (87).

Par ailleurs, dans notre cohorte, une patiente primigeste ayant un anticorps anti-MNS1 identifié lors de sa grossesse a donné naissance à un enfant de phénotype érythrocytaire MNS:-1. L'anticorps était de nature IgM, ce qui corrobore le fait que les anticorps anti-MNS1 peuvent survenir de manière naturelle en l'absence d'une stimulation immunitaire en réponse à un allo-antigène.

### **Aucun switch IgM/IgG n'a été observé lors du suivi de grossesse.**

Quatre patientes présentant un anticorps anti-MNS1 de type IgM ont été suivies à différents moments de leur grossesse. L'anticorps de type IgM n'a jamais évolué vers un anticorps de type IgG. Ces résultats doivent être nuancés par la taille limitée de notre échantillon et il serait intéressant d'observer ce paramètre sur une cohorte plus large.

Aux Pays bas, une cohorte de 69 patientes présentant un anticorps anti-MNS1 de type IgM a été suivie pendant leur grossesse. Aucun anticorps n'a évolué vers une nature IgG, du début de la grossesse jusqu'à l'accouchement (73). Cela indique que lorsque l'anticorps anti-MNS1 est de type IgM et détecté tôt dans la grossesse, il ne switch pas nécessairement vers un anticorps de type IgG capable de provoquer une MHFNN. Ces données de la littérature confortent nos observations et suggèrent qu'un TIA après traitement du plasma par DTT en début de grossesse pourrait permettre de déterminer la nature (IgG ou IgM) de l'anticorps anti-MNS1, et ce, pour toute la durée de la grossesse.

En outre, dans notre cohorte, une patiente multigeste présentant un anticorps anti-MNS1 identifié lors d'une grossesse précédente a accouché d'un enfant de phénotype érythrocytaire MNS:1 et l'anticorps identifié était de nature IgM. Ce résultat indique que, même en présence d'une grossesse incompatible pour l'antigène, l'anticorps identifié n'est pas nécessairement de type IgG. Ainsi, la présence d'une incompatibilité ne correspond pas toujours à un risque d'atteinte fœtale, et ce risque n'est pleinement évaluable qu'en différenciant les IgG des IgM à l'aide du DTT.

**Après le traitement du plasma par DTT le TIA doit être effectué à température ambiante maîtrisée.**

Des différences d'interprétation existent entre le TIA à 37°C après traitement du plasma par DTT (DTT 37) et le TIA à température ambiante après traitement du plasma par DTT (DTT TA) pour un même échantillon.

En effet, 44 % des tests réalisés avec le TIA à 37°C après DTT (DTT 37) étaient interprétables contre 6 % des tests effectués avec le TIA à température ambiante après DTT (DTT TA). De plus, 40 % des échantillons pour lesquels le TIA à 37°C après DTT était négatif devenaient positif à température ambiante. Cela met en évidence une différence notable d'interprétation des tests selon la température à laquelle l'agglutination se produit. Cette différence s'explique par l'optimum thermique d'agglutination des anticorps anti-MNS1 qui se situe en dessous de 37°C (39).

Ces résultats traduisent le risque de classer à tort un anticorps anti-MNS1 comme étant de classe IgM en utilisant le TIA à 37°C après traitement du plasma par DTT (DTT 37), alors qu'il peut s'agir en réalité d'IgG réagissant à des températures inférieures à 37°C. En effet, dans certains cas le DTT 37 était négatif, suggérant initialement un anticorps de type IgM. Cependant, pour le même échantillon, le DTT TA était positif, indiquant que l'anticorps n'a pas été entièrement détruit par le DTT, révélant ainsi qu'il s'agit en réalité d'une IgG réactive à basse température. Dans ces cas, le DTT 37 a donc conduit à une interprétation erronée, classant faussement l'anticorps comme une IgM.

En outre, tous les anticorps anti-MNS1 de type IgG réactifs à 37°C étaient également réactifs à température ambiante (DTT TA), montrant que le DTT TA ne perdait pas en sensibilité pour détecter les anticorps anti-MNS1 réactifs à 37°C.

En résumé, le DTT TA permet une distinction fiable entre les IgG et les IgM quel que soit l'optimum thermique de l'anticorps anti-MNS1.

**L'intensité réactionnelle en TIA standard à 37°C (sans pré-traitement du plasma par DTT) ou en milieu salin ne permet pas de déterminer avec certitude la nature IgM ou IgG de l'anticorps anti-MNS1.**

Dans notre cohorte, 14 % des anticorps anti-MNS1 de type IgG étaient fortement réactifs (intensité > 2+) lors du TIA standard à 37°C, tandis que 100 % des anticorps anti-MNS1 de type IgM étaient faiblement réactifs. De plus, le TIA standard était positif pour l'hématie-test M hétérozygote dans 55 % des cas lorsqu'il s'agissait d'une IgG, contre 13 % lorsqu'il s'agissait d'une IgM. Bien que les intensités réactionnelles et la réactivité avec l'hématie-test M hétérozygote soient significativement différentes entre les deux types d'immunoglobulines, ces paramètres ne permettent pas, pour une patiente donnée, de déterminer avec certitude la nature (IgG ou IgM) de l'anticorps. Il est à noter que les intensités réactionnelles et la réactivité avec l'hématie-test M hétérozygote en milieu salin ne différaient pas significativement entre les IgG et les IgM. Cela peut s'expliquer par la présence d'une composante IgM associée aux IgG ou par la capacité des anticorps anti-MNS1 de type IgG à provoquer une agglutination spontanée en milieu salin (51).

Le DTT constitue un atout dans la distinction des IgG des IgM puisqu'aucun autre examen d'immuno-hématologie couramment utilisé ne permet de déterminer avec certitude la nature (IgG ou IgM) de l'anticorps.

**L'interprétation du TIA à température ambiante après traitement du plasma par DTT (DTT TA) n'était pas contributive lorsque les intensités réactionnelles n'excédaient pas 0.5+ en TIA standard à 37°C.**

En effet, les trois échantillons dont le DTT TA était ininterprétable présentaient des intensités réactionnelles inférieures ou égales à 0.5+ en TIA standard à 37°C. En revanche, les 47 échantillons interprétables en DTT TA présentaient tous au moins une intensité réactionnelle supérieure à 0,5+ en TIA standard à 37°C. Ainsi, l'utilisation du DTT ne doit être envisagée que lorsque les intensités réactionnelles des hématies-tests M homozygotes en TIA standard à 37°C sont supérieures ou égales à 1+ .

Notre étude présente certaines limites. Tout d'abord, la taille de la cohorte reste restreinte, et une cohorte plus large permettrait d'obtenir des résultats plus robustes. De plus, peu de patientes ont été suivies à plusieurs reprises au cours de la gestation, principalement en raison de l'accès parfois limité aux échantillons. En effet, nos expérimentations étaient basées sur les tubes prélevés pour les analyses de « routine ». Dans certains cas, il n'y avait plus suffisamment de plasma disponible, et dans d'autres, les plasmas devaient être congelés pour être stockés en sérothèque, les rendant ainsi inaccessibles pour nos expérimentations. Par ailleurs, les échantillons n'ont pas tous été testés avec le même panel d'hématies-tests, ce qui limite la comparaison des intensités réactionnelles entre eux, lors du TIA ou lors du test en milieu salin.

Nous avons montré que le traitement du plasma par DTT suivi d'un TIA à température ambiante permet une distinction fiable entre les anticorps de type IgG et ceux de type IgM, offrant une plus-value par rapport aux examens immuno-hématologiques couramment utilisés. Cette technique reste efficace même lorsque l'anticorps est faiblement réactif en TIA standard à 37°C. La stratification du risque obstétrical grâce au DTT est donc réalisable de façon pertinente, elle complète des éléments imparfaits basés sur la recherche d'une incompatibilité fœto-maternelle présumée, tel que le phénotypage du procréateur. La technique du traitement du plasma par DTT est aisée à mettre en œuvre et peu coûteuse, elle est utilisable en routine dans les laboratoires. Nous proposons d'adapter le suivi immuno-hématologique de la femme enceinte en incluant le traitement du plasma par DTT lors de la RAI du premier trimestre si celle-ci est positive à un anticorps anti-MNS1. Ce procédé permettrait, en présence d'un anticorps de type IgM, de se passer du titrage et des seuils critiques habituellement utilisés pour évaluer le risque d'atteinte fœtale. De plus, le suivi pourrait être allégé chez ces patientes. En revanche, lorsque l'anticorps est de type IgG, la quantification de l'anticorps à l'aide du titrage reste nécessaire afin d'évaluer le risque fœtal.

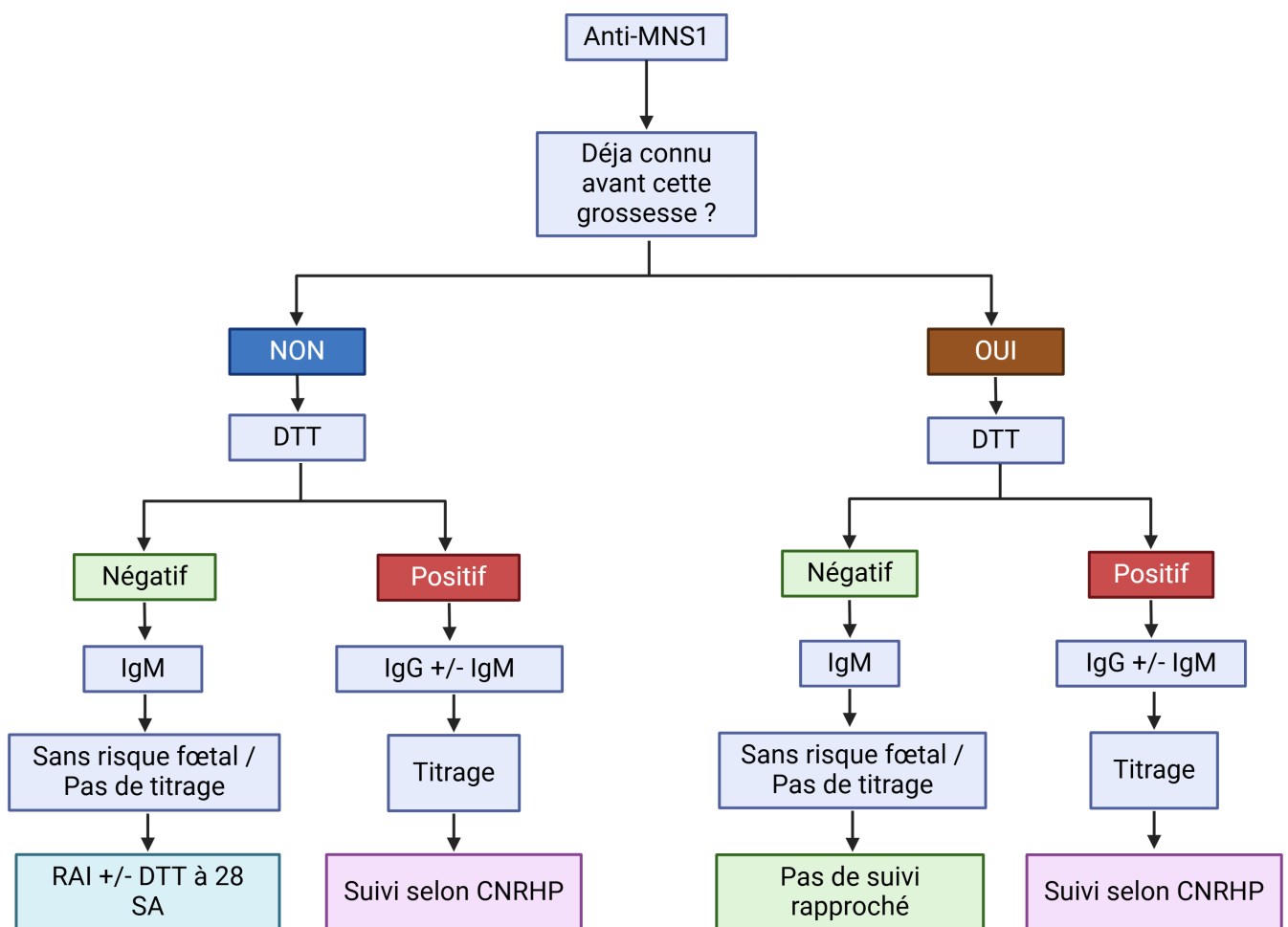
À partir des résultats de cette étude, nous avons élaboré un arbre décisionnel proposant un modèle de suivi biologique pour les femmes enceintes présentant un anticorps anti-MNS1. Cet arbre décisionnel repose sur le traitement du plasma par DTT (Figure 29) :

- **Lorsqu'il s'agit de la première grossesse au cours de laquelle un anticorps anti-MNS1 est identifié :**
  - **Si l'anticorps est de type IgM** : il n'y a pas de risque pour le fœtus et le titrage n'est pas nécessaire. Afin de vérifier l'absence de switch isotypique vers un anticorps de type IgG au cours de la grossesse, nous recommandons une RAI à 28 SA et, s'il est réalisable, un traitement du plasma par DTT.
  - **Si l'anticorps est de type IgG** : le titrage est nécessaire pour évaluer le risque fœtal. En fonction du titre obtenu, le suivi doit être adapté conformément aux recommandations du CNRHP (Annexe 1).
  
- **Lorsque l'anticorps anti-MNS1 a déjà été identifié lors d'une précédente grossesse :**
  - **Si l'anticorps est de type IgM** : il n'y a pas de risque pour le fœtus, et le titrage n'est pas nécessaire. L'anticorps anti-MNS1, déjà identifié lors d'une grossesse précédente, est resté de type IgM, le risque de switch isotypique vers un anticorps de type IgG est donc faible. Un suivi rapproché n'est donc pas nécessaire.
  - **Si l'anticorps est de type IgG** : le titrage est nécessaire pour évaluer le risque fœtal. En fonction du titre obtenu, le suivi doit être adapté conformément aux recommandations du CNRHP (Annexe 1).

Ce modèle de suivi pourra être débattu, testé et ajusté en fonction de sa faisabilité et des conditions de mise en œuvre.

En outre, cette étude a permis d'enrichir nos connaissances sur les anticorps anti-MNS1 en contexte obstétrical, ouvrant la voie à une optimisation des pratiques dans les laboratoires d'IH de l'EFS-BFC, et permettant un suivi plus ciblé et efficace des patientes.

Cette application du traitement du plasma par DTT serait intéressante à explorer pour d'autres anticorps à risque obstétrical, pouvant être présents à l'état naturel irrégulier sous la forme d'IgM, comme l'anti-RH3 ou l'anti-KEL3.



**Figure 29 : Proposition d'un modèle de suivi immuno-hématologique basé sur le traitement du plasma par DTT**

Lorsque le TIA après traitement du plasma par DTT est négatif, il s'agit d'une IgM, et le titrage n'est pas nécessaire. En cas de première identification d'un anticorps anti-MNS1, un contrôle est préconisé à 28 SA. Si l'anticorps anti-MNS1 a déjà été identifié lors d'une grossesse précédente, un suivi rapproché n'est pas nécessaire. Si le résultat du test indique la présence d'IgG le titrage reste nécessaire et le suivi doit être effectué conformément aux recommandations du CNRHP.



## ANNEXE

### Annexe 1 : Recommandations du CNRHP concernant la fréquence des titrages/dosages et le suivi échographique/clinique anténatal (19)

Les anticorps anti-MNS1 sont classés dans les « autres spécificités à risque obstétrical ». La fréquence des titrages dépend du titre initial de l'anticorps.

Spécificité de l'anticorps	Test de quantification	Fréquence des titrages/dosages*	Seuil de mise en place d'un suivi échographique foetal (risque d'anémie foetale sévère)
Anti-D (RH1)	Titration (tube)	Au premier trimestre, puis toutes les 2 semaines à partir de 18SA	16 (dès 18SA) mais pouvant être adapté en fonction du dosage pondéral
	Dosage pondéral	Au premier trimestre, puis toutes les 2 semaines à partir de 18SA	5 UI/mL = 1 µg/mL = 250 UCHP/mL (dès 18SA)
Anti-c (RH4)	Titration (tube)	Au premier trimestre, puis tous les mois à partir de 18SA, puis toutes les 2 semaines à partir de 28SA	4 (dès 18SA) mais pouvant être adapté en fonction du dosage pondéral
	Dosage pondéral	Au premier trimestre, puis tous les mois à partir de 18SA, puis toutes les 2 semaines à partir de 28SA	500 UCHP/mL ≈ 7,5 UI/mL (dès 18SA)
Anti-E (RH3)	Titration (tube)	Au premier trimestre, puis tous les mois à partir de 28SA	8 (dès 28SA) mais pouvant être adapté en fonction du dosage pondéral
	Dosage pondéral	Au premier trimestre, puis tous les mois à partir de 28SA	700 UCHP/mL (troisième trimestre)
Autres anti-RH	Titration (tube)	Au premier trimestre, puis tous les mois à partir de 28SA	Anti-e (RH5) et « anti-publics » : 8 (dès 28SA) mais pouvant être adapté en fonction du dosage pondéral Autres anticorps : 16 (dès 28SA) mais, selon la spécificité, pouvant être adapté en fonction du dosage pondéral
	Dosage pondéral (pour anti-C (RH2), anti-G (RH12), anti-e (RH5) et anti-public)	Au premier trimestre, puis tous les mois à partir de 28SA	Anti-e (RH5) et « anti-publics » : 700 UCHP/mL (dès 28SA) Anti-C (RH2) et anti-G (RH12) : 1 000 UCHP/mL (dès 28SA)
Anti-Kell (KEL1)	Titration (tube)	Au premier trimestre, puis tous les mois dès 16SA	16 (dès 16SA)
Anti-Jra (JR1)	Titration (tube)	Au premier trimestre, puis toutes les 2 semaines à partir de 18SA	16 (dès 18SA) Dosage pondéral recommandé en supplément pour préciser le risque
Autres spécificités à risque obstétrical	Titration (tube)	Au premier trimestre, puis à 37SA, si titre initial < 4 ou à 32 et 37SA, si titre initial = 4 ou à 28, 32 et 37SA, si titre initial > 4	64 (dès 28SA) Cas particulier anti-M : titre global 64 / titre des IgG seules 16 (dès 28SA)





## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine [Internet]. [cité 4 sept 2024]. Disponible sur: <https://www.academie-medecine.fr/le-dictionnaire/index.php?q=incompatibilit%C3%A9%20sanguine%20foeto-maternelle>
2. Cortey A, Mailloux A, Huguet-Jacquot S, Castaigne-Meary V, Macé G, N'Guyen A, et al. Incompatibilités fœtomaternelles érythrocytaires. EMC - Pédiatrie - Mal Infect. juill 2012;7(3):1-22.
3. Paci C. État des lieux et suivi de l'allo-immunisation anti-érythrocytaire des femmes enceintes, par l'EFSAM de 2006 à 2016. 15 sept 2017;113.
4. Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français. J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod. sept 2005;34(5):513.
5. Collège national des gynécologues et obstétriciens français. Gynécologie, obstétrique. 4e édition. Lieu de publication inconnu: Elsevier Masson; 2018. (Les référentiels des Collèges (En ligne)).
6. Joubert C. Évaluation du risque immuno-hémolytique d'un anticorps anti-érythrocytaire dans un contexte d'incompatibilité fœto-maternelle.
7. Masson E. EM-Consulte. [cité 1 oct 2024]. Allo-immunisation fœtomaternelle érythrocytaire. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/1229449/allo-immunisation-f?tomaternelle-erythrocytaire>
8. Choavaratana R, Uer-Areewong S, Makanantakosol S. Feto-maternal transfusion in normal pregnancy and during delivery. J Med Assoc Thail Chotmai het Thangphaet. févr 1997;80(2):96-100.
9. Zimring JC, Hudson KE. Cellular immune responses in red blood cell alloimmunization. Hematol Am Soc Hematol Educ Program. 2 déc 2016;2016(1):452-6.
10. Yazdanbakhsh K, Ware RE, Noizat-Pirenne F. Red blood cell alloimmunization in sickle cell disease: pathophysiology, risk factors, and transfusion management. Blood. 19 juill 2012;120(3):528-37.

11. Dean L. Blood transfusions and the immune system. In: Blood Groups and Red Cell Antigens [Internet] [Internet]. National Center for Biotechnology Information (US); 2005 [cité 14 sept 2024]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2265/>
12. Ohto H, Denomme GA, Ito S, Ishida A, Nollet KE, Yasuda H. 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* [Internet]. 1 oct 2020 [cité 14 sept 2024];59(5). Disponible sur: [https://www.trasci.com/article/S1473-0502\(20\)30265-2/fulltext](https://www.trasci.com/article/S1473-0502(20)30265-2/fulltext)
13. Anliker M, Schmidt CQ, Harder MJ, Ganchev G, von Zabern I, Höchsmann B, et al. Complement activation by human red blood cell antibodies: hemolytic potential of antibodies and efficacy of complement inhibitors assessed by a sensitive flow cytometric assay. *Transfusion (Paris)*. déc 2018;58(12):2992-3002.
14. 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 Lab*. 1 mars 2015;2015(470):73-80.
15. Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine [Internet]. [cité 14 sept 2024]. Disponible sur: <https://www.academie-medecine.fr/le-dictionnaire/index.php?q=ict%C3%A8re%20nucl%C3%A9aire>
16. Chapitre II : Examens de prévention durant et après la grossesse (Articles R2122-1 à R2122-17) - Légifrance [Internet]. [cité 14 sept 2024]. Disponible sur: [https://www.legifrance.gouv.fr/codes/section\\_lc/LEGITEXT000006072665/LEGISCTA000006178538/](https://www.legifrance.gouv.fr/codes/section_lc/LEGITEXT000006072665/LEGISCTA000006178538/)
17. Arrêté du 15 mai 2018 fixant les conditions de réalisation des examens de biologie médicale d'immuno-hématologie érythrocytaire.
18. Noizat-Pirenne C par JC Francis Roubinet, Pascal Bailly, Lucienne Mannessier, France. Les analyses immunohématologiques et leurs applications cliniques. John Libbey Eurotext; 2011. 348 p.
19. Toly-Ndour C, Huguet-Jacquot S, Delaby H, Maisonneuve E, Cortey A, Mailloux A. Quantification des anticorps anti-érythrocytaires chez la femme enceinte. 2019;

20. Jackson ME, Grabowska K, Lieberman L, Clarke G, Yan MTS. Management of Pregnancies Alloimmunized with Non-Rh and Non-K Alloantibodies. *J Obstet Gynaecol Can* [Internet]. 1 janv 2024 [cité 20 sept 2024];46(1). Disponible sur: [https://www.jogc.com/article/S1701-2163\(23\)00499-1/abstract](https://www.jogc.com/article/S1701-2163(23)00499-1/abstract)
21. Toly-Ndour C, Mourtada H, Huguet-Jacquot S, Maisonneuve E, Friszer S, Pernot F, et al. Clinical input of anti-D quantitation by continuous-flow analysis on autoanalyzer in the management of high-titer anti-D maternal alloimmunization. *Transfusion (Paris)*. 2018;58(2):294-305.
22. Beaud J, Adiogo A, Huguet-Jacquot S, Delaby H, Mailloux A, Toly-Ndour C. Performances de la méthode de titrage des anticorps anti-érythrocytaires sur carte gel Liss Coombs IgG sur l'automate IH-500 (Bio-Rad®). *Transfus Clin Biol*. 1 sept 2019;26(3, Supplement):S61.
23. Carbonne B, Cortey A, Rouillac-Le Sciellour C, Brossard Y. Génotypage RhD fœtal non invasif sur sang maternel : vers une utilisation chez toutes les femmes enceintes RhD négatif. *Gynécologie Obstétrique Fertil*. 1 févr 2008;36(2):200-3.
24. Sciellour CRL, Puillandre P, Gillot R, Baulard C, Métral S, Le Van Kim C, et al. Large-Scale Pre-Diagnosis Study of Fetal RHD Genotyping by PCR on Plasma DNA from RhD-Negative Pregnant Women. *Mol Diagn*. 1 mars 2004;8(1):23-31.
25. Le codage des actes biologiques - NABM [Internet]. [cité 20 sept 2024]. Disponible sur: <https://www.ameli.fr/doubs/medecin/exercice-liberal/facturation-remuneration/consultations-actes/nomenclatures-codage/codage-actes-biologiques-nabm>
26. Masson E. EM-Consulte. [cité 15 sept 2024]. Test de Kleihauer par technique cytochimique. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/892899/test-de-kleihauer-par-technique-cytochimique>
27. Huguet-Jacquot S, Toly-Ndour C, Delaby H, Beaud J, Mailloux A. recommandations du Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale. 2022;
28. Bricca P, Guinchard E, Guitton Bliem C. Prise en charge des allo-immunisations fœto-maternelles antiérythrocytaires. *Transfus Clin Biol*. avr 2011;18(2):269-76.

29. Mannessier L. Suivi de l'allo-immunisation fœto-maternelle. *Transfus Clin Biol.* mai 2003;10(3):258-62.
30. Carbonne B, Castaigne-Meary V, Cynober E, Gougeul-Tesnière V, Cortey A, Soulié JC, et al. Intérêt pratique du pic systolique de vélocité à l'artère cérébrale moyenne dans la prise en charge des anémies fœtales par allo-immunisation érythrocytaire. *J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod.* avr 2008;37(2):163-9.
31. Mottet N, Cattin J, Magnin C, Sananes N. Terapia prenatal: anemia fetal y transfusión in utero. *EMC - Pediatría.* 1 déc 2023;58(4):1-5.
32. Klumper FJ, van Kamp IL, Vandenbussche FP, Meerman RH, Oepkes D, Scherjon SA, et al. Benefits and risks of fetal red-cell transfusion after 32 weeks gestation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* sept 2000;92(1):91-6.
33. Arnaud F, Simeoni U. La transfusion de produits sanguins labiles en période néonatale. *Transfus Clin Biol.* 1 oct 2005;12(4):336-41.
34. Murki S, Kumar P. Blood Exchange Transfusion for Infants with Severe Neonatal Hyperbilirubinemia. *Semin Perinatol.* 1 juin 2011;35(3):175-84.
35. American Academy of Pediatrics Subcommittee on Hyperbilirubinemia. Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. *Pediatrics.* juill 2004;114(1):297-316.
36. Haute Autorité de Santé [Internet]. [cité 15 sept 2024]. Transfusions de globules rouges homologues : produits, indications, alternatives. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/jcms/c\\_1349939/fr/transfusions-de-globules-rouges-homologues-produits-indications-alternatives](https://www.has-sante.fr/jcms/c_1349939/fr/transfusions-de-globules-rouges-homologues-produits-indications-alternatives)
37. Ree IMC, Lopriore E, Zwiers C, Böhringer S, Janssen MWM, Oepkes D, et al. Suppression of compensatory erythropoiesis in hemolytic disease of the fetus and newborn due to intrauterine transfusions. *Am J Obstet Gynecol.* 1 juill 2020;223(1):119.e1-119.e10.
38. Collège national des gynécologues et obstétriciens français (CNGOF). Prévention de l'allo-immunisation Rhésus-D fœto-maternelle: Recommandations pour la pratique clinique élaborées par le Collège national des gynécologues et obstétriciens français. *Gynécologie Obstétrique Fertil.* 1 avr 2006;34(4):360-5.

39. Chiaroni J, Peyrard T, Pirenne F. Les groupes sanguins érythrocytaires. 2e édition. Arcueil: JOHN LIBBEY; 2024. 496 p.
40. Bony V, Gane P, Bailly P, Cartron JP. Time-course expression of polypeptides carrying blood group antigens during human erythroid differentiation. *Br J Haematol.* 1999;107(2):263-74.
41. Southcott MJG, Tanner MJA, Anstee DJ. The Expression of Human Blood Group Antigens During Erythropoiesis in a Cell Culture System: Presented in part as an abstract at the 39th American Society of Hematology Meeting, December 5-9, 1997 (*Blood* 90:175b, 1997 [abstr, suppl 1, part 2]). *Blood.* 15 juin 1999;93(12):4425-35.
42. Daniels G, Green C. Expression of red cell surface antigens during erythropoiesis. *Vox Sang.* 2000;78 Suppl 2:149-53.
43. Chung Y, Kim HJ, Kim H, Hwang SH, Oh HB, Ko DH. Investigation of variables affecting the immunogenicity of blood group antigens using a calculation formula. *Sci Rep.* 30 mai 2023;13:8748.
44. Kao YS, Frank S, de Jongh DS. Anti-M in Children with Acute Bacterial Infections. *Transfusion (Paris).* 1978;18(3):320-2.
45. Jeannet R, Descazeaud A, Daix T, Pauthier H, Pascal V, Hantz S, et al. De novo natural anti-M alloantibody emergence in severe Coronavirus Disease 2019. *J Infect Public Health.* déc 2022;15(12):1455-8.
46. Elefant É. Le passage placentaire des immunoglobulines. *Bull Académie Natl Médecine.* nov 2012;196(8):1601-12.
47. Malek A, Sager R, Kuhn P, Nicolaidis KH, Schneider H. Evolution of maternofetal transport of immunoglobulins during human pregnancy. *Am J Reprod Immunol N Y N* 1989. nov 1996;36(5):248-55.
48. Justiz Vaillant AA, Jamal Z, Patel P, Ramphul K. Immunoglobulin. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [cité 22 sept 2024]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513460/>
49. Stavnezer J, Schrader CE. Ig heavy chain class switch recombination: mechanism and regulation. *J Immunol Baltim Md* 1950. 1 déc 2014;193(11):5370-8.

50. Palmeira P, Quinello C, Silveira-Lessa AL, Zago CA, Carneiro-Sampaio M. IgG Placental Transfer in Healthy and Pathological Pregnancies. *Clin Dev Immunol.* 2012;2012:985646.
51. Smith ML, Beck ML. The Immunoglobulin Structure of Human Anti-M Agglutinins. *Transfusion (Paris).* 1979;19(4):472-4.
52. Moise KJ. Fetal anemia due to non-Rhesus-D red-cell alloimmunization. *Semin Fetal Neonatal Med.* août 2008;13(4):207-14.
53. De Young-Owens A. Anti-M Isoimmunization: Management and Outcome at The Ohio State University From 1969 to 1995. *Obstet Gynecol.* déc 1997;90(6):962-6.
54. Stone B, Marsh WL. Haemolytic Disease of the Newborn Caused by Anti-M. *Br J Haematol.* 1959;5(4):344-7.
55. Yasuda H, Ohto H, Nollet KE, Kawabata K, Saito S, Yagi Y, 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.* 1 janv 2014;28(1):1-6.
56. Padiyar A, Hricik DE. Immune factors influencing ethnic disparities in kidney transplantation outcomes. *Expert Rev Clin Immunol.* nov 2011;7(6):769-78.
57. Toly-Ndour C, Huguet-Jacquot S, Delaby H, Maisonneuve E, Cortey A, Mailloux A. Anti-Jra (JR1) et anti-M (MNS1) responsables d'anémie fœtale sévère : un mécanisme d'action commun ? *Transfus Clin Biol.* sept 2019;26(3):S61.
58. Hinchliffe RF, Nolan B, Vora AJ, Stamps R. Neonatal pure red cell aplasia due to anti-M. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* nov 2006;91(6):F467-8.
59. Palacajornsuk P. Review: molecular basis of MNS blood group variants. *Immunohematology.* 2006;22(4):171-82.
60. Ishida A, Ohto H, Yasuda H, Negishi Y, Tsuiki H, Arakawa T, et al. Anti-M Antibody Induced Prolonged Anemia Following Hemolytic Disease of the Newborn Due to Erythropoietic Suppression in 2 Siblings. *J Pediatr Hematol Oncol.* août 2015;37(6):e375.
61. Cleland WW. Dithiothreitol, a New Protective Reagent for SH Groups\*. *Biochemistry.* 1 avr 1964;3(4):480-2.

62. Pirofsky B, Rosner ER. DTT Test: A New Method to Differentiate IgM and IgGErythrocyte Antibodies. *Vox Sang.* 1974;27(5):480-8.
63. Okuno T, Kondelis N. Evaluation of dithiothreitol (DTT) for inactivation of IgM antibodies. *J Clin Pathol.* déc 1978;31(12):1152-5.
64. Professional Education [Internet]. [cité 8 sept 2024]. Système MNS : l'anticorps anti-M. Disponible sur: <https://professionaleducation.blood.ca/fr/transfusion/bonnes-pratiques/pratiques-suivre-en-matiere-de-serologie/systeme-mns-lanticorps-anti-m>
65. Perrault R. Naturally-Occurring Anti-M and Anti-N with Special Case: IgG Anti-N in a NN Donor. *Vox Sang.* 1973;24(2):134-49.
66. Das R, Dubey A, Agrawal P, Chaudhary RK. Spectrum of anti-M: a report of three unusual cases. *Blood Transfus.* janv 2014;12(1):99-102.
67. Ranjan V, Khillan K. Naturally occurring anti-M with high thermal amplitude complicating ABO blood grouping. *Curr Med Res Pract.* 1 mars 2018;8(2):71-2.
68. Wang S, Wang J, Mo X, Wang Z, Wu Y, Liu F, et al. Analysis of anti-M antibody status and blood transfusion strategy in Hunan, China. *Ann Transl Med.* nov 2022;10(21):1166-1166.
69. Leibovitch ER, Carlisle RT. Management of anti-M antibody during pregnancy: a case report. *Fam Pract.* 1 juill 2023;cmad067.
70. Smith HM, Shirey RS, Thoman SK, Jackson JB. Prevalence of clinically significant red blood cell alloantibodies in pregnant women at a large tertiary-care facility. *Immunohematology.* 2013;29(4):127-30.
71. Awowole I, Cohen K, Rock J, Sparey C. Prevalence and obstetric outcome of women with red cell antibodies in pregnancy at the Leeds Teaching Hospitals NHS Trust, West Yorkshire, England. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* juin 2019;237:89-92.
72. Stetson B, Scrape S, Markham KB. Anti-M Alloimmunization: Management and Outcome at a Single Institution. *AJP Rep.* oct 2017;7(4):e205-10.
73. Koelewijn JM, Vrijkotte TGM, Van Der Schoot CE, Bonsel GJ, De Haas M. Effect of screening for red cell antibodies, other than anti-D, to detect hemolytic disease of the fetus and newborn: a population study in the Netherlands. *Transfusion (Paris).* mai 2008;48(5):941-52.



74. Wikman A, Edner A, Gryfelt G, Jonsson B, Henter JI. Fetal hemolytic anemia and intrauterine death caused by anti-M immunization. *Transfusion (Paris)*. mai 2007;47(5):911-7.
75. Macpherson CR, Christiansen MJ, Newton WA Jr, Zartman ER. Anti-M Antibody as a Cause of Intrauterine Death. Report of Two Stillbirths Resulting from Anti-M Antibody. *Am J Clin Pathol*. 1 janv 1961;35(1):31-5.
76. Andersen LH, Jacob EK, McThenia SS, Tauscher CD, Patterson ER, Oliveira JL, et al. Hemolytic disease and reticulocytopenia of the newborn attributable to maternal immunoglobulin G anti-M reacting optimally at cold temperatures. *Transfusion (Paris)*. mars 2021;61(3):974-8.
77. Yasuda H, Ohto H, Nollet KE, Kawabata K, Saito S, Yagi Y, 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*. janv 2014;28(1):1-6.
78. Li S, Mo C, Huang L, Shi X, Luo G, Ji Y, et al. Hemolytic disease of the fetus and newborn due to alloanti-M: three Chinese case reports and a review of the literature. *Transfusion (Paris)*. janv 2019;59(1):385-95.
79. Li S, He Z, Mo C, Ji Y, Luo Y, Fang Q, et al. Hyporegenerative anemia in anti-M-associated hemolytic disease of the fetus. *Transfusion (Paris)*. juin 2021;61(6):1908-15.
80. Liang Y, Shi Y, Su Y, Wu F, Liang Y, Fan X, et al. Maternal Cold-Reacting Immunoglobulin G Anti-M of MNS Blood Group System Causing Hemolytic Disease of the Fetus. *Iran J Immunol [Internet]*. mars 2023 [cité 17 nov 2023];20(1). Disponible sur: <https://doi.org/10.22034/iji.2023.93993.2273>
81. Gao X yu, Huang H, Li L da. [Hemolytic disease of neonates due to anti-M: report of one case and review of reports of 21 cases]. *Zhonghua Er Ke Za Zhi Chin J Pediatr*. sept 2009;47(9):648-52.
82. Lin TH, Shih JC, Lin CH, Lin SY, Su YN, Lee CN. Intraperitoneal and intracardiac transfusion of recurrent fetal erythroblastosis due to anti-M alloimmunization with unfavorable outcome. *Taiwan J Obstet Gynecol*. juin 2012;51(2):253-5.

83. Seo MW, Won HS, Kim SK, Shim JY, Kwon SW, Lee PR, et al. Successful treatment of fetal erythroblastosis due to anti-M alloimmunization with fetal intravascular transfusion. *Prenat Diagn.* 2007;27(4):385-7.
84. Matsumoto H, Tamaki Y, Sato S, Shibata K. A case of hemolytic disease of the newborn caused by anti-M: serological study of maternal blood. *Acta Obstet Gynaecol Jpn.* avr 1981;33(4):525-8.
85. Sharma D, Murki A, Murki S, Pratap T. Anti-M antibodies as a cause of intrauterine fetal death and neonatal hyperbilirubinaemia. *BMJ Case Rep.* 15 avr 2014;2014:bcr2014203534.
86. Kanra T, Erdem G, Tekinalp G, Gurgey A, Yigit S, Doeru D. Further hemolytic diseases of the newborn caused by anti-M. *Am J Hematol.* 1996;53(4):280-1.
87. Makroo RN, Arora B, Bhatia A, Chowdhry M, Luka RN. Clinical significance of antibody specificities to M, N and Lewis blood group system. *Asian J Transfus Sci.* 2014;8(2):96-9.







## RÉSUMÉ

PORTETS Sylvain

Thèse soutenue le 15 octobre 2024

### Traitement du plasma par dithiothréitol (DTT) et son application au suivi des femmes enceintes présentant une allo-immunisation anti-MNS1

**Introduction :** L'identification d'anticorps anti-érythrocytaires anti-MNS1 est fréquente durant la grossesse. Cependant, l'anti-MNS1 présente rarement un intérêt clinique. Il peut, seulement lorsqu'il est de type IgG, être à l'origine d'une maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né (MHFNN). Le traitement du plasma par DTT permet de rechercher la présence d'anticorps de type IgG ayant la capacité de franchir la barrière fœto-placentaire et de provoquer une atteinte du fœtus s'il est porteur de l'antigène MNS1. Cette étude réalise un état des lieux du suivi clinico-biologique des grossesses associées à un anticorps anti-MNS1, tout en évaluant l'apport du DTT dans ce contexte.

**Matériel et méthodes :** 36 patientes avec un anti-MNS1 ont été incluses dans une étude prospective. Leurs plasmas ont été traités par DTT à 37°C afin de réduire la capacité d'agglutination des IgM. Un test indirect à l'antiglobuline (TIA) avec le plasma traité a été réalisé sous deux conditions de température : 37°C et 20°C. Les données obstétricales et biologiques des patientes ont été recueillies pour évaluer le suivi clinico-biologique.

**Résultats :** Après traitement du plasma par DTT, il a été observé que 39 % des patientes présentent des anti-MNS1 de type IgG réactifs uniquement à température ambiante, 22 % ont des IgG réactifs à 37°C, et 33 % présentent des IgM. Aucune atteinte fœtale ou néonatale n'a été observée malgré la présence d'IgG chez 61 % des patientes. Aucun anticorps de type IgM n'a évolué en IgG au cours de la grossesse. 79 % des anti-MNS1 étaient non titrables en raison d'une réactivité trop faible, tandis que 19 % étaient de titre négatif, seulement 2 % étaient positifs à faible titre (1:1). En moyenne, sept recherches d'anticorps anti-érythrocytaires (RAI) ont été réalisées par patiente pendant la grossesse.

**Conclusion :** Cette étude pourrait contribuer à optimiser le suivi clinico-biologique des femmes enceintes porteuses d'un anticorps anti-MNS1 en introduisant la réalisation systématique, selon l'intensité réactionnelle de l'anticorps, d'un TIA après traitement du plasma par DTT. Son utilisation pourrait être étendue à d'autres spécificités d'anticorps anti-érythrocytaires (anti-RH3, anti-KEL3...).

Mots clés : Immuno-hématologie ; Anti-MNS1 ; Incompatibilité fœto-maternelle ; IgM ; IgG ; Test indirect à l'antiglobuline (TIA) ; Dithiothréitol (DTT) ; Suivi obstétrical