

UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTE DE MEDECINE



ANNEE 1992

THESE N° 161 / -1
161

**L'ALLO-IMMUNISATION FOETO-MATERNELLE
ANTI-ERYTHROCYTAIRE EN 1992
(Expérience du CHRU Dupuytren)**

SCD UNIV.LIMOGES



D 035 135494 2

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

obtenu après soutenance du

MEMOIRE

DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES DE BIOLOGIE MEDICALE

Présenté et soutenu publiquement le 13 Octobre 1992 à Limoges

par

Gilles LESOURD

Né le 4 Mars 1961 à Toulouse (Haute-Garonne)

JURY

**Monsieur le Professeur MALINVAUD
Monsieur le Professeur PONTONNIER (Toulouse)
Monsieur le Professeur TABASTE
Monsieur le Professeur NICOLAS
Madame le Docteur GAILLARD**

**Président
Juge
Juge
Juge
Membre invité**



Ex 3
Sibel

421924

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE MEDECINE

ANNEE 1992

THESE N° 461

**L'ALLO-IMMUNISATION FOETO-MATERNELLE
ANTI-ERYTHROCYTAIRE EN 1992
(Expérience du CHRU Dupuytren)**

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

obtenu après soutenance du

MEMOIRE

DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES DE BIOLOGIE MEDICALE

Présenté et soutenu publiquement le 13 Octobre 1992 à Limoges

par

Gilles LESOURD

Né le 4 Mars 1961 à Toulouse (Haute-Garonne)

JURY

**Monsieur le Professeur MALINVAUD
Monsieur le Professeur PONTONNIER (Toulouse)
Monsieur le Professeur TABASTE
Monsieur le Professeur NICOLAS
Madame le Docteur GAILLARD**

**Président
Juge
Juge
Juge
Membre invité**

FACULTE DE MEDECINE

- DOYEN DE LA FACULTE : Monsieur le Professeur BONNAUD
- ASSESEURS : Monsieur le Professeur PIVA
Monsieur le Professeur COLOMBEAU

PERSONNEL ENSEIGNANT

* PROFESSEURS DES UNIVERSITES

ADENIS Jean-Paul	Ophtalmologie
ALAIN Luc	Chirurgie infantile
ARCHAMBEAUD Françoise	Médecine interne
ARNAUD Jean-Paul	Chirurgie orthopédique et Traumatologique
BARTHE Dominique	Histologie, Embryologie
BAUDET Jean	Clinique obstétricale et Gynécologie
BENSAID Julien	Clinique médicale cardiologique
BONNAUD François	Pneumo-Phtisiologie
BONNETBLANC Jean-Marie	Dermatologie
BORDESSOULE Dominique	Hématologie et Transfusion
BOULESTEIX Jean	Pédiatrie
BOUQUIER Jean-José	Clinique de Pédiatrie
BRETON Jean-Christian	Biochimie
CAIX Michel	Anatomie
CATANZANO Gilbert	Anatomie pathologique
CHASSAIN Albert	Physiologie
CHRISTIDES Constantin	Chirurgie thoracique et cardiaque
COLOMBEAU Pierre	Urologie
CUBERTAFOND Pierre	Clinique de chirurgie digestive
DE LUMLEY WOODYEAR Lionel	Pédiatrie
DENIS François	Bactériologie-Virologie
DESCOTTES Bernard	Anatomie
DESROGES-GOTTERON Robert	Clinique thérapeutique et rhumatologique
DUDOGNON Pierre	Rééducation fonctionnelle
DUMAS Michel	Neurologie
DUMAS Jean-Philippe	Urologie
DUMONT Daniel	Médecine du Travail
DUPUY Jean-Paul	Radiologie
FEISS Pierre	Anesthésiologie et Réanimation chirurgicale
GAINANT Alain	Chirurgie digestive
GAROUX Roger	Pédopsychiatrie
GASTINNE Hervé	Réanimation médicale
GAY Roger	Réanimation médicale
GERMOUTY Jean	Pathologie médicale et respiratoire
GUERET Pascal	Cardiologie et Maladies vasculaires
HUGON Jacques	Histologie-Embryologie-Cytogénétique
LABADIE Michel	Biochimie
LABROUSSE Claude	Rééducation fonctionnelle
LASKAR Marc	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
LAUBIE Bernard	Endocrinologie et Maladies métaboliques
LEGER Jean-Marie	Psychiatrie d'adultes

LEROUX-ROBERT Claude	Néphrologie
LIOZON Frédéric	Clinique Médicale A
LOUBET René	Anatomie pathologique
MALINVAUD Gilbert	Hématologie
MENIER Robert	Physiologie
MERLE Louis	Pharmacologie
MOREAU Jean-Jacques	Neurochirurgie
MOULIES Dominique	Chirurgie infantile
OLIVIER Jean-Pierre	Radiothérapie et Cancérologie
OUTREQUIN Gérard	Anatomie
PECOUT Claude	Chirurgie orthopédique et traumatologie
PESTRE-ALEXANDRE Madeleine	Parasitologie
PILLEGAND Bernard	Hépathologie-Gastrologie-Entérologie
PIVA Claude	Médecine légale
RAVON Robert	Neurochirurgie
RIGAUD Michel	Biochimie
ROUSSEAU Jacques	Radiologie
SAUTEREAU Denis	Hépatogastro-Entérologie
SAUVAGE Jean-Pierre	Oto-Rhino-Laryngologie
TABASTE Jean-Louis	Gynécologie-Obstétrique
TREVES Richard	Thérapeutique
VALLAT Jean-Michel	Neurologie
VANDROUX Jean-Claude	Biophysique
WEINBRECK Pierre	Maladies infectieuses

SECRETARE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

POMMARET Maryse

A Florence,

Pour l'amour que tu me donnes,

Pour ton aide et ton soutien qui m'ont été très précieux dans l'élaboration de ce travail.

A Marine,

Grâce à toi je connais désormais le bonheur d'être papa.

A mes Parents,

Vous qui m'avez toujours soutenu au cours de mes longues années d'études.

A mon Frère,

A toute ma famille et belle-famille,

Qu'ils trouvent ici le témoignage de toute mon affection.

A notre Maître et Président de thèse,

Monsieur le Professeur MALINVAUD
Professeur des Universités d'Hématologie
Biologiste des Hôpitaux
Chef de Service.

L'honneur que vous nous faites en présidant ce jury est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profond respect.

Les stages effectués dans votre service furent des moments forts de nos études.

Vous nous avez apporté votre aide et vos conseils précieux avec beaucoup de gentillesse en cette période difficile de fin d'internat.

Veillez croire en l'expression de notre respectueux attachement.

A nos Juges,

Monsieur le Professeur PONTONNIER
Professeur des Universités de Gynécologie-Obstétrique
Gynécologue-Obstétricien des Hôpitaux
Chef de Service.

Vous nous faites le très grand honneur de venir de Toulouse pour juger ce travail.

Vous nous avez toujours guidé avec beaucoup de bienveillance tout au long de nos études.

Votre compétence professionnelle et votre constante sérénité resteront pour nous des modèles.

Soyez assuré de notre profonde admiration et de toute notre affection.

Monsieur le Professeur TABASTE
Professeur des Universités de Gynécologie-Obstétrique
Gynécologue-Accoucheur des Hôpitaux
Chef de Service.

Vous nous avez réservé un accueil très chaleureux au cours des six mois passés dans votre service.

C'est avec spontanéité et bienveillance que vous avez accepté de juger ce travail. Veuillez trouver ici le témoignage de notre très respectueuse gratitude et de notre réel attachement.

Monsieur le Professeur NICOLAS

Professeur des Universités de Bactériologie-Virologie-Parasitologie.

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger à ce jury.

Soyez vivement remercié de votre disponibilité.

Veillez trouver ici l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

Madame le Docteur GAILLARD

Praticien Hospitalier.

Vous avez été l'initiateur de cette étude.

Vous nous avez accordé votre aide et toujours réservé un accueil chaleureux et bienveillant.

Nous avons trouvé auprès de vous appui et conseil.

Que ce travail soit le témoignage de notre sincère gratitude.

A tous mes Amis.

A tout le Laboratoire d'Hématologie-Immunologie.

A Marie-Françoise,

Pour sa gentillesse et sa disponibilité.

PLAN

I - INTRODUCTION

II- HISTORIQUE

**III- PRESENTATION CLASSIQUE DE
LA MALADIE HEMOLYTIQUE DU NOUVEAU-NE**

IV- ETUDE CLINIQUE

V- OBSERVATIONS ET RESULTATS OBTENUS

VI- COMMENTAIRES ET DISCUSSION

VII- CONCLUSION ET CONDUITE A TENIR

VIII- BIBLIOGRAPHIE

IX- TABLE DES MATIERES

X- ANNEXES

I - INTRODUCTION

Les allo-immunisations foeto-maternelles et la maladie hémolytique du nouveau-né restent encore, en 1992, des sujets d'actualité même si elles sont devenues plus rares que par le passé.

En effet, concernant les immunisations au facteur D, leur fréquence a considérablement diminué depuis la généralisation des mesures prophylactiques, par l'injection de gamma-globulines anti-D aux femmes Rhésus négatif (arrêté du 27 Août 1971)(29).

Concernant les immunisations aux antigènes autres que D, souvent secondaires à une transfusion, leur augmentation relative a imposé en 1985 une recherche systématique d'anticorps irréguliers anti-érythrocytaires chez toutes les femmes enceintes quel que soit leur groupe Rhésus, ainsi que de nouvelles règles transfusionnelles chez toutes les jeunes filles et femmes en âge de procréer (arrêté du 19 Avril 1985 et circulaire du 17 Mai 1985)(30).

L'objet de notre travail était de reprendre les observations de patientes présentant des agglutinines irrégulières anti-érythrocytaires au cours de leur grossesse, suivies dans les deux maternités du CHRU de Limoges durant ces cinq dernières années, et d'étudier le retentissement de l'immunisation sur les foetus et les nouveau-nés. Notre étude a porté sur 30 dossiers.

Après un bref rappel historique, une présentation des principaux mécanismes physiopathologiques et une étude clinique, paraclinique et biologique de cette affection materno-foetale, nous nous sommes intéressés chez les mères aux circonstances du diagnostic, aux causes de l'immunisation, au déroulement des grossesses et plus particulièrement à la surveillance biologique effectuée.

Chez les nouveau-nés, nous avons étudié leur état clinique à la naissance et leur évolution, en cas de maladie hémolytique, après prise en charge thérapeutique dans l'unité de néonatalogie.

II - HISTORIQUE

Décrite à la fin du XIX^{ème} siècle (2), la maladie hémolytique du nouveau-né a vu sa physiopathologie se préciser avec la découverte du facteur Rhésus à la suite des travaux de Landsteiner et Wiener en 1940 (32).

Ainsi fut confirmée l'hypothèse émise dès 1939 par Levine et Stetson (34) selon laquelle certains anasarques foeto-placentaires étaient secondaires à une immunisation maternelle par antigène foetal d'origine paternelle, et l'on put affirmer l'existence d'une immunisation anti-Rhésus chez des femmes Rhésus négatif ayant accouché d'enfants morts en état d'anasarque.

En 1946, Wallerstein (52) proposa l'exsanguino-transfusion pour traiter les nouveau-nés atteints de maladie hémolytique. Plus tard, les indications de ce traitement furent précisées, et le rôle de la bilirubine dans la genèse de l'ictère nucléaire avec sa notion de seuil dangereux furent établis par Mollison (40).

En 1956, Bevis (3) proposa l'amniocentèse avec étude de la bilirubinémie afin de mieux préciser l'état du fœtus, puis Liley (36) en 1961 établit un diagramme d'interprétation, encore utilisé actuellement, basé sur la description d'une méthode spectrophotométrique d'étude du liquide amniotique permettant d'estimer, de manière plus fiable, la sévérité des allo-immunisations foeto-maternelles.

En 1963, ce même auteur réalisa la première transfusion in-utéro de globules rouges Rhésus négatif pour traiter les formes graves (37), mais cette technique ne fut développée qu'ultérieurement grâce au contrôle échographique de ce geste, qui en améliora la sécurité, la précocité et par la même, l'efficacité (12).

En 1968, Bowman (5) préconisa l'épuration plasmatique chez la mère comme alternative de traitement de certaines formes très sévères. Au-delà même de l'efficacité très variable de ces plasmaphérèses sur la concentration des anticorps circulants et des

problèmes maternels posés par la méthode, les risques encourus par la mère (infectieux, hémodynamiques, thrombo-emboliques) expliquèrent que son développement soit resté limité.

Il fallut attendre 1981 avec Rodeck (44) et les premières transfusions intra-funiculaires sous contrôle foetoscopique, et 1984 avec Daffos qui effectua des ponctions directes du cordon sous échographie (13, 14, 15) pour qu'une étape décisive soit franchie. Il devint ainsi possible de chiffrer précisément l'anémie foetale et de la corriger beaucoup plus précocément, avant même l'installation de l'anasarque dont la présence prive la transfusion intra-péritonéale de toute efficacité.

Parallèlement, divers traitements médicaux furent proposés. L'utilité des antihistamiques fut très controversée ; la corticothérapie, dans le but de freiner la synthèse des anticorps maternels, ne fut pas sans danger pour la mère et pour le foetus.

En 1983, il fut tenté d'autres traitements à visée immunologique, comme l'utilisation orale d'antigènes érythrocytaires (41).

Concernant la prophylaxie, les premières tentatives revinrent à Gorman (24) et Finn (18), dès 1960, par l'administration par voie intra-musculaire de gammaglobulines anti-D purifiées à des patientes Rhésus négatif venant d'accoucher d'enfants Rhésus positif. Il fallut attendre le début des années 1970 pour que la généralisation de cette prévention permette la diminution spectaculaire de la fréquence des allo-immunisations anti-D.

Quant à l'apport de la technique du dosage pondéral des anticorps anti-D, pour le diagnostic biologique, proposée dès 1968 par Lalezari (31), sa mise au point ultérieure a clairement démontré sa supériorité sur le test de Coombs indirect, en précisant mieux la gravité de l'atteinte foetale, et en permettant ainsi de mieux codifier les indications de l'amniocentèse.

Enfin, l'individualisation d'un grand nombre d'antigènes de groupes sanguins autres que D (35) et la multiplication des transfusions (dans les années 70-80) ont entraîné une augmentation relative des immunisations foeto-maternelles liées à d'autres

antigènes érythrocytaires que l'antigène D. Ces immunisations représentent actuellement une proportion non négligeable.

**III - PRESENTATION CLASSIQUE DE
LA MALADIE HEMOLYTIQUE DU
NOUVEAU-NE**

III - 1 - FREQUENCE

Concernant le système D, la fréquence des allo-immunisations foeto-maternelles (AIFM) est relativement stable en France, aux alentours de 4 pour 1000 naissances (21), ceci malgré la mise en place, depuis plus d'une vingtaine d'années, des mesures de prophylaxie.

En réalité, sur les 10 % de couples constitués d'une mère Rhésus négatif et d'un père Rhésus positif, et donc théoriquement exposés au risque d'allo-immunisation anti-D, seulement 5 à 6 % des nouveau-nés présenteront des signes de maladie hémolytique en l'absence de toute mesure de prophylaxie.

L'incidence encore trop élevée et relativement stable de cette affection foeto-maternelle relève de plusieurs causes:

- Défaut de prévention: les immunisations au facteur D restent fréquentes, en particulier dans les populations d'immigrés, où les migrantes n'ont pas toujours bénéficié des mesures de prophylaxie dans leur pays d'origine.

- Echecs de la prophylaxie anti-D, en particulier les inefficacités de prévention par dose insuffisante ou trop tardive, avec procédure de contrôle non rigoureusement appliquées. Omission après interruption de grossesse ou fausse couche.

- Immunisations anti-D survenues au cours d'une première grossesse, avant toute possibilité de traitement préventif, dont un pourcentage variable de 0,6 à 2,8% a été rapporté (21).

- Augmentation d'allo-immunisations vis-à-vis d'autres antigènes de groupes sanguins qui constituent, à l'heure actuelle, près du tiers de l'ensemble (21,46).

III - 2 - PHYSIOPATHOLOGIE

La maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN) est une affection due à un processus d'allo-immunisation aboutissant à la production d'anticorps maternels dirigés contre un antigène de groupe sanguin érythrocytaire présent chez le fœtus. L'allo-immunisation foeto-maternelle implique donc:

- Une différence antigénique entre les groupes sanguins maternel et foetal
- Un contact antigénique foeto-maternel.

A - DIFFERENCE ANTIGENIQUE

Pour faciliter cette étude, nous individualiserons le système Rhésus, le plus largement en cause dans la MHNN, des autres systèmes de groupes sanguins plus rarement impliqués.

a) Le système Rhésus

Un sujet est dit Rhésus positif si ses globules rouges sont porteurs de l'antigène D produit par le gène D.

Un sujet Rhésus négatif ne portant pas cet antigène D sur ses érythrocytes, sera considéré comme porteur d'une structure hypothétique d contrôlée semble-t-il par un gène d (gène amorphe ou inexistant). Chaque individu Rhésus positif peut être homozygote DD ou hétérozygote Dd, alors que le sujet Rhésus négatif est obligatoirement homozygote dd.

	Phénotype	Génotype
Rhésus positif	D	DD Dd
Rhésus négatif	d	dd

En fait, il existe d'autres antigènes dans le système Rhésus: ce sont les antigènes antithétiques C, c, E, e produits respectifs des gènes C, c, E, e.

Au total, ces six gènes vont s'associer trois à trois pour déterminer un haplotype.

La combinaison au hasard de trois gènes parmi les six, donne huit types de combinaisons possibles dont la fréquence est extrêmement variable, d'où les huit génotypes selon la notation de Fisher Race et celle de Wiener (46) :

Génotypes Fisher Race	Génotypes Wiener	Fréquence
CDe	R1	0,420
cDE	R2	0,140
cDe	R0	0,026
CDE	Rz	0,002
cde	r	0,390
Cde	r'	0,010
cdE	r''	0,012
Cde	ry	0,000

Au moment de la fécondation, l'association deux à deux de ces haplotypes sur les chromosomes d'origine parentaux fournit 36 génotypes possibles, mais dont seulement 6 sont fréquemment rencontrés: R1R1, R1R2, R1r, R2r, R2R2, R0r.

Compte tenu du fait de notre incapacité à déterminer le produit du gène d, nous ne pouvons jamais déterminer avec certitude chez un individu son génotype sans enquête familiale. Celle-ci permettra, grâce à l'utilisation des anti-sérums anti-D, anti-C, anti-c, anti-E et anti-e la détermination d'un phénotype, avec l'aide duquel on déduira le génotype probable et la probabilité d'homozygotie ou d'hétérozygotie du père pour le gène D.

Ces données seront importantes pour l'évaluation du risque d'une incompatibilité foeto-maternelle lors d'une grossesse ultérieure chez les femmes immunisées.

Les anticorps anti-Rhésus sont les plus fréquents des anticorps irréguliers; les plus courants sont les anti-D, suivis des anti-E et des anti-c, alors que les anti-C et les anti-e sont plus rares. Ce sont le plus souvent des anticorps immuns et de nature IgG.

b) Les autres systèmes de groupes

Un mécanisme similaire peut être décrit pour les autres groupes sanguins:

- Système Kell

Deux antigènes principaux K et k déterminent trois phénotypes possibles: KK, Kk, kk.

Les sujets K+ (KK et Kk) représentent 9 % de la population française.

Les sujets K- (kk) représentent 91 %.

Les anticorps anti Kell sont le plus souvent immuns et de type IgG.

- Système Duffy

Deux allèles Fya et Fyb conduisent à la constatation de trois phénotypes principaux Fy (a+b-), Fy (a-b+), Fy (a+b+).

Chez les noirs, un quatrième phénotype est fréquent Fy (a-b-). Il est dû à l'existence d'un troisième allèle silencieux Fy.

Les anticorps anti Duffy sont immuns et de nature IgG.

- Système Kidd

Deux allèles Jka et Jkb déterminent également trois phénotypes principaux : Jk (a+b-), Jk (a-b+), Jk (a+b+).

Les anticorps anti Kidd sont immuns et de type IgG.

- Système MNSs et P

Ces deux systèmes ne sont encore que partiellement connus.

Les anticorps anti-M et anti-N sont généralement naturels de type IgM, ne passent pas la barrière placentaire (mais peuvent parfois avoir un caractère immun), alors que les anticorps anti-S et anti-s sont immuns et de type IgG.

Les anticorps anti-P sont naturels de type IgM.

B - CONTACT ANTIGENIQUE

L'allo-immunité se définit comme la survenue d'une réponse immunitaire d'un individu d'une espèce contre un antigène d'un autre individu de la même espèce que l'on appelle allo-antigène.

L'allo-immunisation ne s'observe chez l'homme que dans certaines situations: grossesses, transfusions ou greffes d'organes.

** Allo-immunisation par l'antigène Rhésus standard (D).*

Pour qu'il y ait immunisation Rhésus, la mère doit être Rhésus négatif et l'enfant Rhésus positif. C'est le plus souvent par voie transplacentaire que la mère s'immunise contre les hématies de l'enfant et les évènements aboutissant à la MHNN doivent se dérouler selon les étapes suivantes:

1) - Passage d'hématies foetales à travers le placenta :

Le plus souvent, ce passage s'effectue en fin de grossesse (dernier mois), plus particulièrement au moment de l'accouchement, mais est aussi possible dans d'autres circonstances (paragraphe C). Le volume minimal de sang foetal requis pour induire une immunisation serait de 0,1 à 1 ml de sang.

Au moment du travail, lors d'un accouchement normal, une hémorragie transplacentaire est constatée plus de 1 fois sur 2 (54).

- dans 50 % des cas, celle-ci est inférieure à 0,1 ml de sang,

- dans 50 % des cas, elle est supérieure à 0,1 ml et même supérieure à 5 ml une fois sur 100 (8).

Par contre lors d'un accouchement plus difficile nécessitant des manoeuvres obstétricales (version, forceps, délivrance artificielle) ou lors de césarienne, l'hémorragie de sang foetal dans l'organisme maternel peut être plus importante (25-30 ml et plus).

La présence d'hématies foetales dans la circulation maternelle sera mise en évidence par le test de Kleihauer réalisé à partir de frottis de sang maternel: A l'aide d'une solution tamponnée d'acide citrique, on dénature l'hémoglobine adulte contenue dans les hématies maternelles ; ainsi, seules les hématies foetales renfermant l'hémoglobine foetale

acido résistante, restent intactes et sont visibles lors de la coloration de May Grunwald Giemsa.

2) - Réponse primaire maternelle

Les hématies foetales, étrangères à l'organisme maternel et reconnues comme telles, vont induire une réponse immunitaire dite primaire, de faible intensité et tardive, avec production d'anticorps chez la mère à distance de l'accouchement, ce qui explique que le premier enfant soit souvent indemne. Une incompatibilité ABO entre la mère et son foetus (mère O et foetus A ou B) protège de l'immunisation Rhésus (10 fois plus rare qu'en cas de compatibilité ABO), car les hématies foetales seront détruites par les anticorps anti-A ou anti-B avant qu'elles puissent immuniser la mère.

Quoiqu'il en soit, si la stimulation primaire se produit, elle sera sensibilisante avec phénomène de mémorisation des cellules immunocompétentes.

3) - Réponse secondaire et traversée du placenta par les anticorps maternels.

Lors d'une grossesse ultérieure, avec à nouveau un foetus Rhésus positif, les quelques hématies foetales traversant le placenta seront suffisantes pour déclencher une réponse immunitaire, cette fois rapide et massive, avec réponse anamnesticque, se traduisant par une nette montée du taux des anticorps, ou leur réapparition rapide si dans l'intervalle des grossesses, les anticorps ont pu disparaître.

Ces anticorps maternels sont de deux types :

- soit des anticorps complets, agglutinants de type IgM, témoins de l'iso-immunisation, mais ne traversant pas la barrière placentaire,

- soit des anticorps incomplets non agglutinants de type IgG, traversant la barrière placentaire, à l'origine chez le foetus ou le nouveau né de la maladie hémolytique (paragraphe D).

4) - Sensibilisation des hématies foetales et conséquences physiopathologiques.

Les anticorps maternels se fixent à la surface des hématies foetales entraînant leur destruction rapide au niveau de la rate par hémolyse. Les conséquences foetales seront donc:

- une anémie hémolytique avec hyper-réticulocytose et érythroblastose sanguine,
- une hypertrophie des organes hématopoïétiques avec splénomégalie et hépatomégalie,
- une hyperbilirubinémie produite par la dégradation de l'hémoglobine.

Parfois même, du fait de l'anémie, il existe une véritable insuffisance cardiaque avec oedèmes généralisés et hypervolémie plasmatique entraînant un anasarque foeto placentaire.

L'hyperhémolyse chez le foetus (souvent en relation avec le titre des anticorps maternels) peut être suffisamment grave pour entraîner la mort in utéro dans les derniers mois de grossesse avec ou sans anasarque.

Si l'enfant naît, l'hémolyse (en l'absence d'exsanguino-transfusion) va se poursuivre, d'où l'apparition d'une déglobulisation plus ou moins intense.

Quant à la bilirubine, après la naissance, son élimination ne peut plus être assurée que par le foie de l'enfant. Or, celui-ci présente une insuffisance fonctionnelle liée à son état d'immaturation avec absence plus ou moins totale de glycuronyltransférase. Ce n'est donc qu'une petite quantité de bilirubine libre qui sera éliminée par le foie sous forme de bilirubine conjuguée. Cette hyperbilirubinémie devra être traitée rapidement au risque de voir s'installer un ictère néonatal sévère, avec danger d'ictère nucléaire par dépôt de bilirubine libre au niveau des noyaux gris centraux, responsable de lésions neurologiques graves, entraînant soit la mort de l'enfant, soit de graves séquelles neuropsychiques en

cas de survie. Notons par ailleurs que le degré de prématurité du nouveau né ainsi que l'existence de troubles associés à l'ictère tels qu'une anoxie cérébrale ou un état de choc sont des facteurs aggravants pour les lésions neurologiques.

** Allo-immunisation à des antigènes autres que D*

Les autres antigènes du système Rhésus (c, E, parfois C ou e) peuvent également être en cause, de même que les antigènes du système Kell (K), du système Duffy (Fya), du système Kidd (Jka) et du système MNSs (S).

En effet, chaque fois que l'enfant est porteur d'un antigène que ne possède pas sa mère, les conditions d'une allo-immunisation sont théoriquement réunies.

De tels cas d'immunisation autre qu' anti D, pour la plupart d'origine transfusionnelle, ont vu leur fréquence augmenter au cours des dernières décennies du fait de la pratique d'actes transfusionnels notamment chez les femmes enceintes ou accouchées. C'est pourquoi une réglementation s'est avérée nécessaire (Circulaire du 17 Mai 1985) imposant la sélection de sang compatible et phénotypé dans les systèmes Rhésus et Kell en cas de transfusion chez tous les sujets de sexe féminin non encore ménopausés .

C - CIRCONSTANCES DE SURVENUE

Mises à part les causes d'origine transfusionnelle et l'accouchement, toutes les circonstances cliniques normales ou pathologiques pendant la grossesse au cours desquelles une hémorragie transplacentaire peut survenir, sont susceptibles d'induire une immunisation: grossesse extra-utérine, fausse couche, IVG, mort foetale, ponction du liquide amniotique, traumatisme, version par manoeuvres externes, césarienne, délivrance artificielle, révision utérine, placenta praevia ...

La fréquence peu élevée des allo-immunisations foeto-maternelles (environ 5 % de l'ensemble des grossesses incompatibles mère Rhésus négatif / enfant Rhésus positif) ne

reste encore qu'imparfaitement expliquée. La survenue d'une telle immunisation peut être facilitée par un facteur génétique prédisposant ; il n'est pas possible de prévoir ce que sera la réponse à l'immunisation, mais le conditionnement génétique de la réponse immunitaire, encore assez mal connu chez l'homme, est sans doute l'une des explications de la rareté de l'allo-immunisation.

En fait, l'aptitude des femmes à l'immunisation anti-D est très variable : (25)

- au moins 1/3 des femmes est totalement réfractaire,
- chez certaines, la réponse immunitaire est grave d'emblée avec production d'un taux élevé d'anticorps à l'origine de formes mortelles de MHNN dès les premiers enfants,
- chez d'autres, au contraire, elle reste faible, leur permettant d'avoir de nombreux enfants Rhésus positif relativement peu atteints.

D - NATURE DES ANTICORPS MATERNELS

La classe G des immunoglobulines humaines se divise en quatre sous-classes désignées par IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 dont les propriétés chimiques et biologiques sont différentes. La plupart des anticorps de groupes sanguins résultant d'une stimulation immunogénétique par transfusion ou par grossesse sont les IgG1 et les IgG3, le plus souvent un mélange de ces deux sous-classes. Les IgG1 ont un transfert placentaire plus important, mais les IgG3 ont une plus grande capacité de fixer le complément et un plus grand pouvoir hémolytique. Il en résulte que les IgG1 sont responsables de la destruction anténatale des érythrocytes foetaux alors que les IgG3 seront à l'origine, le plus souvent, de l'ictère néonatal.

Le taux d'IgG1 maternel fournit donc un pronostic sur l'anémie foetale, tandis que le taux d'IgG3 apportera un élément de pronostic néonatal (49).

Cette notion de sous-classes d'immunoglobulines G devrait prendre de plus en plus d'importance dans l'évaluation du risque foetal car, à titre d'anticorps égal, le pronostic sera différent en fonction de la sous-classe d'IgG prédominante.

IV - ETUDE CLINIQUE

Compte tenu de la gravité du pronostic, il importe de mettre en évidence l'immunisation le plus précocément possible, avant même une traduction clinique ou paraclinique. C'est la raison du dépistage.

A - DEPISTAGE

La législation impose (30):

- la détermination des groupes ABO, du phénotype Rhésus et Kell chez toutes les primipares lors du premier examen prénatal et également chez les multipares n'ayant pas encore été soumises à cet examen.

- La recherche d'agglutinines irrégulières (RAI):

a) chez les femmes Rhésus négatif:

Elle doit être effectuée à 4 reprises :

- . à la fin du 3ème mois,
- . au cours du 6ème mois,
- . au cours du 8ème mois,
- . à l'accouchement ou les 8 semaines suivantes.

b) Chez les femmes Rhésus positif:

Elle doit être faite lors du 2ème ou 3ème examen prénatal. Elle sera pratiquée plus tôt s'il existe des antécédents transfusionnels ou obstétricaux évocateurs d'une incompatibilité foeto-maternelle érythrocytaire.

On peut ainsi distinguer les mères qui n'ont pas d'anticorps, des mères porteuses d'anticorps dont le foetus est susceptible de complications.

B - SURVEILLANCE CLINIQUE DES PATIENTES A RISQUE

Il s'agit de patientes soit immunisées antérieurement à leur grossesse, soit qui s'immunisent au cours de cette grossesse.

1 - Interrogatoire

Il précisera les antécédents obstétricaux:

- recherche d'antécédents de maladie hémolytique, d'anasarque foeto-placentaire, d'ictère nucléaire, de mort foetale in-utero,
- recherche d'antécédents de transfusion,
- recherche d'antécédents de fausses couches à répétition, de grossesse extra-utérine...

2 - Surveillance clinique

Elle s'attache à rechercher des complications foetales par le contrôle de la vitalité et de la croissance foetale et par le dépistage d'un hydramnios par mesure de la hauteur utérine.

Cette surveillance, bien qu'indispensable, peut constituer un signe d'appel mais elle reste insuffisante et impose le recours à des examens paracliniques.

C - SURVEILLANCE BIOLOGIQUE

Elle va constituer un des éléments d'appréciation de la gravité de l'atteinte foetale.

La mise en évidence d'anticorps anti-D, par exemple, chez une femme enceinte, ne signifie pas pour autant que le foetus est de groupe Rhésus positif, donc atteint de

maladie hémolytique. En effet, les anticorps découverts peuvent provenir d'une immunisation antérieure, du fait de grossesses, voire même de transfusions incompatibles. Il faut donc prouver que l'enfant est Rhésus positif et, par ailleurs, préciser le risque d'atteinte foetale et sa gravité.

1 - Détermination du groupe sanguin du père

Dans le cadre de l'allo-immunisation anti-D, cette détermination va constituer un élément d'orientation. Trois éventualités sont possibles :

- le père est Rhésus négatif: l'enfant sera dans ce cas Rhésus négatif et donc indemne de tout risque de maladie hémolytique par incompatibilité Rhésus, quel que soit le titre des anticorps maternels,

- le père est Rhésus positif: il y a lieu de déterminer le génotype paternel probable, celui-ci ne pouvant être précisé de façon certaine, compte tenu de la méconnaissance de l'antigène d.

. Si le père est homozygote probable (DD), l'enfant sera alors Rhésus positif, donc exposé au risque de maladie hémolytique,

. Si le père est hétérozygote (Dd), aucune conclusion n'est possible, l'enfant ayant une chance sur deux d'hériter du gène D paternel. C'est alors qu'il faut étudier, avec une particulière attention, l'évolution du titre des anticorps maternels.

Par contre, pour les autres antigènes du groupe Rhésus (C, c, E, e), ainsi que pour les autres systèmes de groupe sanguin, le génotype paternel pourra être connu avec précision.

2 - Recherche d'anticorps irréguliers. Détection, identification et titrage des anticorps maternels

La recherche d'agglutinines irrégulières se fait en étudiant l'action du sérum maternel sur des globules rouges dont les antigènes sont connus. L'agglutination est la technique de choix utilisée pour ce dépistage. Pour cela, il y a lieu d'avoir recours à des techniques bien standardisées de dépistage et de dosage vis-à-vis d'un panel d'hématies.

Un premier dépistage se fait sur un "panel de détection". Il est constitué de trois races d'hématies tests, fournies par le Centre de Transfusion Sanguine de Limoges, présentant un maximum d'antigènes érythrocytaires connus à leur surface (Tableau A).

Dans le cas où ce dépistage s'avère positif, il faut utiliser un "panel d'identification". Il est constitué de 11 races d'hématies sélectionnées de façon à ce que deux anticorps ne puissent agglutiner les mêmes échantillons (Tableau B).

La plupart des anticorps dirigés contre les antigènes du groupe Rhésus et des autres groupes sont des anticorps:

- appartenant à la classe IgG,
- de faible poids moléculaire,
- non agglutinants spontanément en milieu salin (soluté salé isotonique)

Leur pouvoir de fixation sur les hématies portant l'antigène correspondant, sans provoquer d'agglutination en milieu salin, impose, pour leur mise en évidence, le recours à des artifices techniques:

- réalisation d'un test de coombs indirect,
- utilisation d'hématies traitées par des enzymes protéolytiques (papaïne, broméline...).

CENTRE DE TRANSFUSION SANGUINE DE LIMOGES

**PANEL DE DETECTION DES SYSTEMES RHESUS, LEWIS, KELL,
KIDD, DUFFY et MNPSs**

I, II, III sont les trois races d'hématies choisies pour leurs antigènes de surface.

I) CCDee	MN	P1	Ss	Lea-b+	K-	Fya-b+	Jka-b+
II) ccDEe	MN	P1	SS	Lea-b+	K-	Fya+b+	Jka+b-
III) ccddee	N	P1	ss	Lea+b-	K+	Fya+b+	Jka+b+

TABLEAU A

Rh-ir	Spender Donor Donneur	Rh-ir				Keil			Duffy			Kidd	Lewis	P	MNS			Luth.	Kg	Spez. Antigene Special types Antigènes part.	Ergebnis/Resultat LIS Enzym Coombs Enzyme 4 C	Bemerkungen Remarks Remarques											
		D	C	E	c	e	̄c	̄e	V	R	k	Kp	Kp̄	Jsb	Fyb	Fya	Jka	Jkb	Lea	Leb			β ₁	M	N	S	̄s	̄b	̄g				
1	C ^w CD.ee R ₁ R ₁ ^w 933	+	+	0	0	+	nt	0	+	0	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M			
2	CCD.ee R ₁ R ₁ 727	+	+	0	0	+	nt	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	F				
3	ccD.EE R ₂ R ₂ 737	+	0	+	0	0	nt	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	F					
4	CcddEe r ₁ r ₁ 639	0	+	+	+	0	nt	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	M				
5	cCddEe r ₁ r ₁ 294	0	+	+	+	0	nt	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M				
6	ccddeE ir 846	0	0	+	+	0	nt	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M				
7	ccddeE ir 191	0	0	+	+	0	nt	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	nt	M				
8	ccD.ee Ror 027	+	0	+	+	0	nt	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	M				
9	ccddeE ir 637	0	0	+	+	0	nt	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	F				
10	ccD.EE R ₂ R ₂ 739	+	0	+	0	0	nt	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	nt	M				
11	CCD.ee R ₁ R ₁ 828	+	+	0	0	+	nt	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	F				
Patient																						Eigenkontrolle negative control											

ID-DiaPanel-Zellen 1-11 (wenn unter der Rubrik «spezielle Antigene» nicht anders vermerkt) sind:

ID-DiaPanel cells 1-11 (except as indicated under «special types») are:

Les hématies ID-DiaPanel 1-11 (exceptées celles qui sont indiquées sous «antigènes particuliers») sont:

positif/positive (+)
PP₁ P₂ (T₂)
D^b
U
Vel

negativ/negative (0)
V₂ (Verweyist)
W₂ (Wright)
D^b

Die farbig gekennzeichneten Antigene können im Enzymtest unterdrückt oder zerstört werden.
Shaded columns indicate antigens destroyed or diminished in reactivity by enzyme treatment.
La réaction peut être inhibée avec les anticorps des systèmes MNSs, Duffy et Xg, si les hématies sont traitées aux enzymes protéolytiques.

s = stark/strong/fort
w = schwach/weak/ faible
nt = nicht getestet
pas testé

Name/name/nom _____	Blutgruppe + Antigene Bloodgroup + antigens Groupe de sang + antigènes	Interpretation Interpretation Interprétation	Untersuchungsdatum Examined on Date de l'analyse
---------------------	------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------	--------------------------------------------------------

TABLEAU B

Deux types de méthodes de détection sont réalisables:

- techniques standard en tubes: méthodes traditionnelles qui, bien que longues, doivent rester les méthodes de référence
- techniques en milieu gélifié type Diamed, commercialisées depuis 1990, plus rapides et plus sensibles (33).

2 - 1 - Techniques standard en tubes

a) Test de coombs indirect

Principe :

Il permet de détecter des anticorps incomplets de type IgG, présents dans le sérum maternel.

Ces anticorps n'étant pas spontanément agglutinants en milieu salin, on va sensibiliser d'abord, *in vitro*, les hématies tests avec le sérum maternel. Cette manipulation peut se faire en milieu salin ou en milieu conditionné (basse force ionique). Ensuite, après lavage, l'adjonction d'un réactif antiglobuline qui reconnaît spécifiquement et se fixe sur l'anticorps lié aux antigènes globulaires, va provoquer l'agglutination des hématies sensibilisées.

- Sensibilisation "in vitro" des hématies tests.

Les hématies du panel de détection sont lavées avec du sérum physiologique (eau distillée ou déminéralisée contenant 9g/l de NaCl) afin de se débarrasser des anticorps et autres substances plasmatiques.

Technique :

- . centrifuger 5 mn à 3000 tours/m,
- . décanter le surnageant,

- . rajouter du sérum physiologique,
- . centrifuger 2 mn à 3000 tours/mn.

Après décantation du dernier lavage, remettre les hématies en suspension dans du sérum physiologique, puis prendre une série de tubes en verre et déposer successivement dans chaque tube : 1 goutte de sérum maternel + 1 goutte d'une des suspensions d'hématies préalablement obtenues.

Après une incubation de 1 heure à 37°C (température optima d'activité des anticorps du système Rhésus), remettre le culot globulaire en suspension dans le petit volume de liquide restant et noter éventuellement l'intensité de l'agglutination apparue (0 à +++).

Si l'agglutination est totale et (+++) il est inutile de poursuivre le test, sinon il faut continuer.

- Lavage

Pratiquer ensuite trois lavages successifs en soluté salé physiologique dans les différents tubes contenant les hématies sensibilisées.

- Adjonction de l'antiglobuline.

Après le 3ème lavage, ajouter 1 goutte d'antiglobuline polyvalente dans chaque tube. Centrifuger 1 mn à 3000 tours / mn et rechercher une agglutination en remettant le culot globulaire en suspension. L'intensité de l'agglutination est cotée de (0 à +++).

b) Test de coombs indirect à basse force ionique

Les hématies du panel de détection sont lavées comme précédemment. Après décantation du dernier lavage, les remettre en suspension dans un milieu de basse force ionique appelé "tampon Liss".

Un tel milieu a l'avantage de raccourcir le temps d'incubation nécessaire à la sensibilisation des hématies à 15 mn à 37°C. Ensuite, poursuivre le test de la même manière.

c) Enzymes protéolytiques

Cette technique repose sur le fait que des hématies soumises à l'action de certaines enzymes protéolytiques deviennent agglutinables en suspension saline par des anticorps non agglutinants. A Limoges nous utilisons la papaïne.

- Préparation de la papaïne

1 g de papaïne est mélangé à quelques gouttes de tampon ($\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ à 0,9 %) ayant un pH de 5,4. La pâte ainsi obtenue est laissée au bain marie 1 heure à 37°C puis après l'avoir remise en suspension avec le tampon, elle sera répartie en petite quantité et congelée à -20°C.

- Traitement des hématies tests par la papaïne :

Après lavage préalable des hématies du panel de détection, mélanger 0,5 ml du culot globulaire avec 0,5 ml de la solution de papaïne. Faire incuber 10 mn à 37°C, puis mettre les hématies en suspension dans le milieu salin ou le tampon Liss.

Le reste de la manipulation consiste à faire agir dans une série de tubes le sérum de la mère avec les différentes hématies tests papaïnées.

Après une incubation variable en fonction du milieu choisi, centrifuger 1 mn à 3000 tours/mn et rechercher une agglutination après remise en suspension du culot globulaire (0 à +++).

d) Identification

Si le dépistage s'avère positif avec l'une des techniques décrites précédemment, il faut identifier et titrer cet anticorps.

Pour cela, on utilise un panel d'identification comportant 11 races d'hématies et l'on recommence les techniques en milieu physiologique, milieu conditionné (à basse force ionique) et par les enzymes protéolytiques.

Le titrage de l'anticorps sera obtenu par dilution géométrique de raison 2 du sérum maternel, dans du sérum physiologique.

Avec ces méthodes, il est recommandé que tous les dosages soient pratiqués dans le même laboratoire, avec une technique et des réactifs rigoureusement identiques (en particulier pour les hématies tests) pour que les résultats soient fiables et interprétables.

2 - 2 - Technique en milieu gélifié (Diamed)

L'agglutination immunologique des globules rouges étant à la base des techniques les plus couramment employées en immuno-hématologie, un gel test a été développé pour standardiser le mode d'obtention des agglutinats et pour faciliter leur mise en évidence.

Ce gel est fabriqué à partir de dextrans (Séphadex G100 ou Séphacryl S200) et de tampons compatibles avec les hématies tests afin de ne pas les hémolyser (solution saline ou de basse force ionique). Deux sortes de gels existent : le gel neutre et le gel antiglobuline (une antiglobuline humaine polyvalente est rajoutée au moment de la fabrication).

Le gel est réparti dans des micropuits aux sommets desquels sera déposée 1 goutte d'hématie test, puis 1 goutte de sérum maternel. Après une incubation de 15 mn à 37°C, les microtubes seront centrifugés 10 mn à 3000 tours/mn et la lecture sera effectuée.

Deux types de résultats sont possibles:

- absence d'anticorps dans le sérum maternel : il n'y a pas de réaction antigène-anticorps, les hématies tests vont migrer au fond du micropuit sans être arrêtées par les mailles du gel.

La réaction est négative.

- Présence d'anticorps dans le sérum maternel : lors de l'incubation, il se produit une réaction antigène-anticorps avec formation d'immuns complexes. Du fait de leur taille importante, ils ne pourront traverser les mailles du gel et resteront au sommet de celui-ci.

La réaction est positive.

Dans ce test proposé par la société Diamed, le gel est déposé dans des plaques contenant 6 micropuits, recouverts par une feuille d'aluminium. Les cartes ainsi obtenues pourront être gardées à température ambiante et les hématies tests, préparées à partir du panel de détection, seront gardées dans des tubes en verre stériles.

Le gel neutre sera utilisé pour les hématies papainées, alors que le gel antiglobuline le sera pour le test de Coombs indirect.

L'avantage de cette technique réside dans l'absence de lavage des hématies ainsi que dans l'obtention d'une meilleure standardisation entre différents laboratoires.

Si la réaction est positive, un diluant spécial fourni par la société sera nécessaire pour le titrage et une dilution géométrique de raison 2 sera effectuée.

En fait, le test de Coombs indirect et les méthodes enzymatiques ne permettent qu'une évaluation du titre des anticorps maternels .

Le titrage souffre parfois de faux positifs (ascension du taux d'anticorps et foetus indemne, taux d'anticorps séquellaire d'une immunisation ancienne) et de faux négatifs (atteinte foetale avec taux stable d'anticorps).

De plus, la gravité de l'atteinte foetale n'est pas liée de façon linéaire au titre des anticorps d'où la nécessité de faire appel à d'autres techniques.

3 - Dosage pondéral

Il n'est réalisable actuellement que sur les seuls anticorps anti-D ; les résultats sont exprimés en microgrammes par millilitre.

La méthode est 50 fois plus sensible que le test de coombs indirect, car elle permet de peser tous les anticorps actifs *in vivo*, alors que le test de coombs indirect ne détecte que les anticorps de haute affinité. C'est pourquoi il a été proposé par Hughes-Jones (28) de mesurer le taux pondéral des anticorps grâce à une méthode isotopique utilisant une antiglobuline marquée au ^{125}I , permettant de mesurer la quantité totale de molécules d'anticorps fixées sur les hématies (la réaction se fait en excès d'antigène avec des concentrations telles que 50 % des sites antigéniques soient combinés avec l'anticorps, ce qui revient à dire que 50 % des anticorps sont fixés sur les hématies et 50 % sont libres). De ce fait, il devient possible de déduire la quantité totale d'anticorps contenue dans le sérum initial.

En fait, cette technique radio-immunologique ne constitue, en raison de sa complexité, qu'une méthode de référence permettant de doser des sérums servant d'étalons. En pratique, ce dosage pondéral fait appel à une technique d'agglutination artificielle sur auto-analyseur à flux continu, et consiste à mesurer la concentration de l'anticorps capable d'agglutiner 50 % d'une suspension standard d'hématies. La comparaison de la dilution du sérum à tester donnant 50 % d'agglutination (HD 50) à celle du sérum étalon de référence dosé par méthode radio-immunologique (en $\mu\text{g/ml}$), permet de déduire le taux pondéral d'anticorps présents dans le sérum maternel.

Cette technique est reproductible et les taux obtenus peuvent être facilement comparés d'un laboratoire à l'autre puisque les résultats sont donnés par référence à un sérum étalon.

Le seuil critique correspond à la valeur de 1 µg/ml.

La progression du taux d'anticorps est en faveur d'une grossesse conflictuelle. Il existe une bonne corrélation avec l'état de l'enfant, un taux inférieur à 1 µg/ml correspondant à un enfant peu ou pas atteint.

Il semble qu'il existe également une certaine corrélation entre le titrage et le dosage pondéral : un titre à 1/32ème correspondrait approximativement à un dosage de 1µg/ml.(21)

Au-delà de ce chiffre de 1 µg/ml, le risque foetal est réel et il existe une relation linéaire entre gravité de l'atteinte foetale et l'importance du dosage pondéral.

Cet examen semble donc tout particulièrement indiqué lorsque le test de coombs indirect est positif avec présence d'anticorps anti-D pour un titre supérieur à 1/16ème et sera répété tous les mois, les 6 premiers mois de la grossesse, puis tous les 15 jours par la suite. Toutefois, sa valeur prédictive n'est pas absolue, notamment un taux élevé peut correspondre à des anticorps résiduels avec un enfant Rhésus négatif (46).

4 - Etude du liquide amniotique

Depuis que Bévis a démontré en 1956 (3) que la quantité de pigments biliaires dans le liquide amniotique était en rapport avec l'importance de l'hémolyse, cette étude tient un rôle capital dans le diagnostic et le pronostic de l'affection, car elle permet d'apprécier d'une part la gravité de l'atteinte foetale, et d'autre part la maturation pulmonaire foetale par la mesure du rapport Lécithine sur Sphingomyéline.

La ponction de liquide amniotique (amniocentèse) sera réalisée en général à partir de la 28ème semaine d'aménorrhée, parfois plus tôt (dès la 20ème semaine), en cas d'antécédents graves de MHNN ou d'un dosage pondéral particulièrement élevé. Ce geste n'étant pas dénué de risques, son indication doit être correctement posée, et

uniquement lorsque sont redoutées des complications foetales graves (anémie sévère, souffrance foetale, mort foetale intra utérine...). Si le titrage des anticorps reste inférieur au 1/16ème ou si, pour les anticorps anti-D, le dosage pondéral reste inférieur à 1 µg/ml, l'indication ne doit pas être posée. Au-delà de ces valeurs, il faudra l'envisager, et la fréquence des ponctions sera dictée par les résultats du liquide amniotique.

Un recueil de 10 cc de liquide amniotique, placé immédiatement dans un tube protégé de la lumière afin d'éviter la dégradation des pigments biliaires, sera généralement suffisant pour permettre l'analyse spectrophotométrique du liquide amniotique. La bilirubine, n'existant qu'en très faible quantité dans le liquide amniotique, est presque indosable par les méthodes habituelles. Par contre, l'étude de l'absorption lumineuse à diverses longueurs d'ondes (de 320 à 600 nanomètres), permet de la mettre en évidence sous forme d'un pic aux environs de 450 nanomètres, correspondant à la bande d'absorption de ce pigment.

Les valeurs sont portées directement sur papier semi-logarithmique, la longueur d'onde étant en abscisse (échelle décimale) et la densité optique en ordonnée (échelle logarithmique)(figure 1).

La courbe d'absorption d'un liquide amniotique ne contenant aucun pigment, a une allure grossièrement exponentielle. La présence de bilirubine se traduit par une augmentation de la densité optique à 450 nm ; il en résulte sur la ligne d'absorption, une élévation proportionnelle à la concentration de la bilirubine dans cette zone.

Liley dans les années 60 (36), a proposé un diagramme d'interprétation, encore utilisé actuellement, permettant d'obtenir une mesure précise. Il est possible de calculer, à partir de la courbe spectrophotométrique, un indice optique (indice de Liley). On obtient, en dessinant une courbe tangente entre 365 nm et 550 nm, la ligne de référence permettant de mesurer la hauteur de la dénivellation à 450 nm ; c'est cette différence de hauteur entre la courbe réelle et la courbe théorique qui correspond à l'indice de Liley. Celui-ci doit être interprété en fonction de l'âge de la grossesse, le taux physiologique de la bilirubine dans

le liquide amniotique s'abaissant régulièrement au cours des dernières semaines de gestation.

Sa valeur doit être rapportée sur un diagramme portant en abscisse l'âge gestationnel et en ordonnée l'indice de Liley (figure 2).

Ce diagramme délimite 3 zones de pronostic foetal :

- une zone inférieure (Zone I) ou zone d'atteinte nulle correspondant à un foetus peu ou pas atteint. La ponction du liquide amniotique ne sera refaite qu'en cas d'aggravation biologique.

- Une zone supérieure (Zone III) ou zone d'atteinte sévère avec un risque foetal majeur.

- Une zone intermédiaire (zone II) signant une atteinte de gravité moyenne nécessitant un contrôle amniotique dans les dix jours.

L'analyse du liquide amniotique permet également d'apprécier la maturité pulmonaire foetale et de prévoir le risque de détresse respiratoire néonatale.

En pratique courante, la quantité de surfactant est évaluée par méthodes biochimiques telles que la mesure du rapport lécithine sur sphingomyéline (L/S) et du rapport acide palmitique sur acide stéarique (P/S) (23). La maturité pulmonaire semble acquise dans le cas d'une grossesse unique lorsque le rapport L / S est supérieur ou égal à 2.

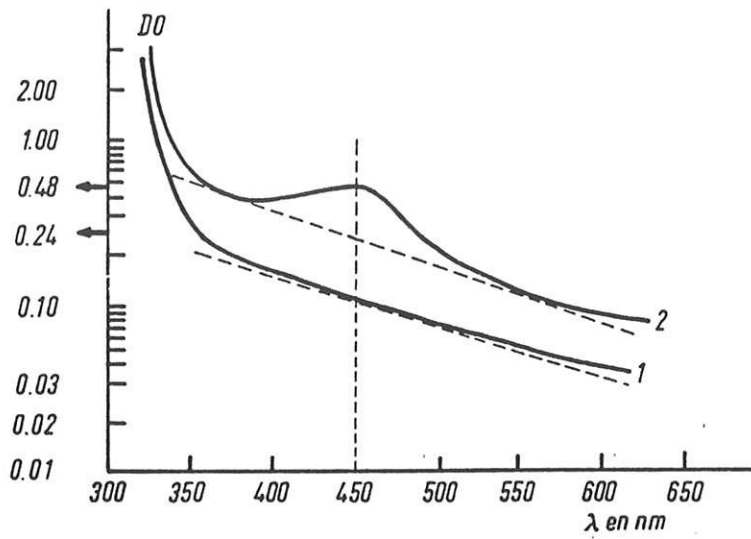


Figure 1 : Représentation semi-logarithmique de la densité optique (DO) du liquide amniotique en fonction de la longueur d'onde (λ)
1 : liquide amniotique normal ;
2 : liquide amniotique pathologique : pic à 450 nm(DO:0,24)

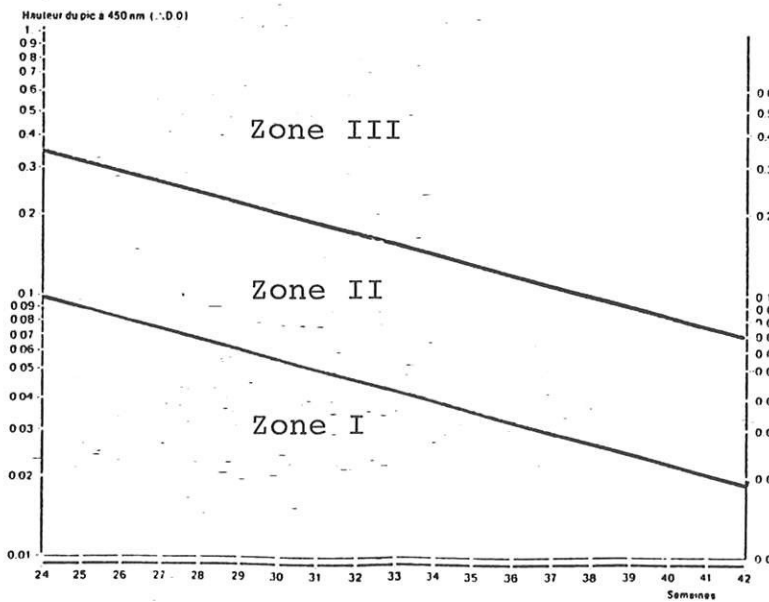


Figure 2 : Diagramme de Liley

D - SURVEILLANCE ECHOGRAPHIQUE

La surveillance échographique des grossesses compliquées d'allo-immunisation foeto-maternelle doit être systématique, débutée précocément et régulièrement répétée.

Elle offre plusieurs intérêts:

- Réalisée au cours du premier trimestre, elle permet de déterminer l'âge gestationnel, indispensable pour l'interprétation correcte des résultats de dosages biologiques tels que la bilirubinémie par exemple.
- Le diagnostic de certaines malformations par l'étude de la morphologie foetale.
- La surveillance de la croissance foetale par une biométrie soignée.
- L'échographie permet aussi une évaluation du degré d'atteinte foetale : étude du volume et de l'épaisseur placentaire, des volumes splénique et hépatique, et état des séreuses.

Quatre stades de gravité croissante ont pu être décrits et semblent bien corrélés avec les résultats de la ponction amniotique (47) :

- . aspect normal,
 - . dilatation anormale de la veine ombilicale, signe le plus précoce témoignant d'un excès du volume hépatique, source d'hypertension portale (17),
 - . "pré-hydrops foetalis" avec hépatomégalie, petit épanchement péricardique et lame d'ascite,
 - . "hydrops foetalis" associant oedème du scalp et du tissu cellulaire sous-cutané, hépatomégalie majeure, épanchement net de toutes les séreuses et augmentation du périmètre ombilical.
- L'échographie permet également de guider certains gestes diagnostiques ou thérapeutiques tels que l'amniocentèse, la cordocentèse (prélèvement d'un échantillon

de sang foetal au niveau du cordon afin de mesurer directement le taux d'hémoglobine foetale) ou transfusion foetale in utéro.

E - SURVEILLANCE DU RYTHME CARDIAQUE FOETAL

L'étude du rythme cardiaque foetal permet la surveillance du bien être foetal au cours des allo-immunisations foeto-maternelles. Elle sera nécessaire chaque fois que les dosages biologiques tels que le dosage pondéral ou l'amniocentèse feront redouter un risque foetal.

L'obtention d'un tracé au rythme sinusoïdal intermittent ou permanent pendant plus de 5 minutes fera craindre une anémie foetale sévère et sera en général bien corrélée avec un taux d'hémoglobine cordonal inférieur à 7 g/100 ml (51).

De tels enregistrements revêtent une importance toute particulière en cas d'atteinte foetale précoce (avant la 34ème semaine), car ils devront faire envisager une naissance prématurée programmée dans les plus brefs délais.

F - CONDUITE A TENIR THERAPEUTIQUE IN UTERO

Les modalités de la surveillance ayant été définies, étudions maintenant les indications thérapeutiques qui en découlent.

Trois attitudes thérapeutiques se discutent, en fonction de l'âge gestationnel et du degré d'atteinte foetale:

- l'interruption de la grossesse par déclenchement de l'accouchement ou césarienne,
- la transfusion foetale in utero,
- les échanges plasmatiques.

1 - Interruption de la grossesse

Elle permet de soustraire le fœtus à l'action néfaste des anticorps maternels, dont le taux augmente généralement en fin de grossesse, risquant d'entraîner la mort in utero de l'enfant. Le choix entre déclenchement de l'accouchement ou césarienne prophylactique dépendra de plusieurs paramètres obstétricaux, mais nécessite d'avoir la certitude d'une atteinte foetale sévère et la preuve d'une maturité pulmonaire foetale suffisante.

L'extraction foetale, du fait des dangers considérables liés à la prématurité et à la fragilité particulière de ces enfants ne sera envisagée qu'à partir de la 34^{ème} semaine. Ceci étant, les progrès de la néonatalogie autorisent actuellement des naissances plus précoces entre la 28^{ème} et la 32^{ème} semaine.

2 - Transfusion foetale in utero

Décrite par Liley dès 1963 (37), elle se propose de compenser les effets de la maladie hémolytique en fournissant au fœtus des globules rouges, invulnérables à l'action des anticorps maternels.

Initialement pratiquée dans la cavité péritonéale foetale, elle peut être réalisée sous contrôle échographique, directement dans un vaisseau foetal. Cet abord vasculaire direct permet de mieux apprécier le degré de l'anémie foetale par prélèvement de sang en début d'intervention. Ainsi, de petits volumes de sang seront alternativement soustraits puis injectés de manière à éviter toute surcharge volémique, l'idéal étant de ramener le taux d'hémoglobine foetale entre 12 et 17 g/100 ml. L'efficacité sera jugée sur la régression des signes échographiques, le rythme cardiaque foetal, la surveillance biologique du taux des anticorps, et ces transfusions pourront être renouvelées tous les 10 à 15 jours selon le contexte, jusqu'à ce que l'accouchement ou l'extraction puissent être envisagés.

Entre 32 et 34 semaines d'aménorrhée, certaines équipes utilisent cette technique pour gagner quelques semaines et obtenir une meilleure maturité pulmonaire foetale.

Avant 32 semaines, il apparaît logique de faire des transfusions in utero en cas d'anémie foetale grave, qui, débutées le plus tôt possible et réitérées jusqu'à 34 ou 36 semaines, permettront de conduire le fœtus dans des zones de viabilité avec un état hémodynamique acceptable pour envisager l'extraction par césarienne (16).

3 - Echanges plasmatiques

Il s'agit de plasmaphérèses thérapeutiques, permettant grâce à un appareil séparateur de cellules, d'épurer le sang maternel en allo anticorps anti-D ou autres.

Cette méthode, initialement proposée par Bowman (5) pour traiter une allo-immunisation au facteur Rhésus grave, est actuellement en désuétude et abandonnée par la plupart des équipes en raison de son coût, de la quantité de dérivés sanguins qu'elle requiert, de son efficacité variable, et des risques d'accidents infectieux décrits (hépatite, SIDA) liés essentiellement aux solutés de substitution utilisés (plasma frais congelé, etc...).

En fait, la conduite à tenir actuelle doit être d'obtenir la meilleure estimation biologique et échographique possible de l'état foetal, et en fonction de la viabilité, d'extraire l'enfant ou de réaliser des transfusions sanguines in-utero.

G - CONDUITE A TENIR A LA NAISSANCE

A la naissance, l'enfant doit être pris en charge en milieu spécialisé néonatalogique ; la conduite à tenir sera fonction de la gravité de l'atteinte à confronter aux risques induits par la prématurité (immaturité hépatique avec incapacité de conjugaison de la bilirubine libre, et immaturité pulmonaire à l'origine de détresses respiratoires).

Dès la naissance, à partir d'un prélèvement de sang au niveau du cordon, il faudra réaliser:

- une numération formule sanguine avec appréciation du taux d'hémoglobine pour juger de la gravité de l'anémie,

- un dosage de la bilirubine à la recherche d'une hyperbilirubinémie libre,

- un groupage sanguin complet (ABO Rhésus). Parfois en cas d'allo-immunisation anti-D, le groupage Rhésus est difficile à mettre en évidence, du fait de la saturation des sites antigéniques D par l'allo-anticorps maternel anti-D. Dans ce cas, la technique d'élution permettra d'affirmer la spécificité D des hématies à tester.

- Un test de Coombs direct : cette réaction permet la mise en évidence des allo-anticorps maternels fixés sur les hématies de l'enfant. Commencer par trois lavages successifs des globules rouges à tester, puis mettre en suspension le culot globulaire obtenu dans du sérum physiologique. Tester ensuite cette suspension avec trois antiglobulines polyspécifiques différentes: par exemple :

- antiglobuline polyvalente d'origine animale (Pasteur),

- antiglobuline polyvalente humaine (Jacques Boy),

- antiglobuline polyvalente (CDTS Versailles).

Centrifuger et apprécier l'intensité de la réaction d'agglutination en la cotant de (0 à +++).

En cas de positivité, rechercher la spécificité immunologique à l'aide d'un sérum test antiglobuline humaine anti-complément et d'un sérum test antiglobuline humaine anti-IgG.

Dans l'allo-immunisation foeto-maternelle, le test de Coombs direct sera nettement positif et de spécificité anti-IgG.

En période post-natale immédiate, en plus des complications liées à la prématurité comme la maladie des membranes hyalines, il faudra s'acharner à corriger rapidement l'hyperbilirubinémie libre (pour éviter le risque d'ictère nucléaire), et l'anémie précoce ou tardive, le plus souvent sévère.

Pour cela, le traitement va reposer sur l'action de la photothérapie continue puis discontinuée, surtout utile dans les formes modérées et sur l'exsanguino-transfusion.

La photothérapie permet, en exposant le nouveau-né à l'action d'une source lumineuse blanche fluorescente, une photo-oxydation de la bilirubine non conjuguée, d'autant plus facile que la peau du nourrisson est plus mince ; les photo-dérivés ainsi obtenus seront hydrosolubles, non toxiques et éliminés par le foie et les reins.

L'exsanguino-transfusion, quant à elle, devra être instaurée très précocement, dans les premières heures de vie, en cas de forme plus grave, de manière à bloquer le processus hémolytique en substituant aux hématies de l'enfant des hématies invulnérables à l'action des anticorps maternels. En cas d'immunisation anti-D, les globules à passer seront Rhésus négatif dce/dce (de même si l'anti-D est associé à un anti-C ou anti-E). De plus, on prévient le risque d'ictère nucléaire par un apport d'albumine, qui corrige l'hypoprotidémie plus ou moins nette et améliore la liaison bilirubine-albumine.

L'exsanguino-transfusion sera pratiquée par cathétérisme de la veine ombilicale dans des conditions d'aseptie parfaite, et la quantité de sang prévue sera deux à trois fois la masse sanguine du nouveau-né.

Une surveillance étroite clinique et biologique est alors indispensable à la recherche de complications cardio-vasculaires (surcharge volémique, thromboses), métaboliques (hypoglycémie, hypocalcémie, acidose métabolique), ou infectieuses (contamination bactérienne ou virale).

Le traitement doit maintenir le taux de bilirubine libre en dessous de 180 mg/l ou 300 mmol/l ce qui conduit à faire dans les quatre à cinq premiers jours de vie une à quatre exsanguino-transfusions (voire plus) selon la gravité de la maladie, en se basant sur l'évolution du taux de bilirubine déterminée toutes les 8 à 12 heures.

H - PREVENTION

La prophylaxie n'est possible que pour l'allo-immunisation anti-D. Elle est préconisée dans l'arrêté du 27 Août 1971 qui recommande l'injection de gamma-globulines anti-D chez toute patiente Rhésus négatif, n'ayant pas encore développé d'immunisation et exposée au risque lors:

- d'un accouchement d'un enfant Rhésus positif (ou Du),
- d'une interruption de grossesse quelle qu'en soient la cause et le terme,
- de métrorragies en cours de grossesse, amniocentèse, prélèvement de sang foetal, biopsie de trophoblaste, version par manoeuvre externe, traumatisme par choc direct ou indirect sur l'utérus gravide, etc...

Cette prévention de l'allo-immunisation est liée à la destruction rapide des globules rouges foetaux (présents dans la circulation maternelle), par les gamma-globulines injectées, avant que ceux-ci n'entrent en contact avec le système immunitaire maternel.

a) Pendant la grossesse:

Il peut se produire des passages spontanés d'hématies foetales. Ceux-ci expliquent le taux d'échec de la prophylaxie après l'accouchement et les immunisations chez les primigestes. C'est pourquoi Bowman (6,7) a proposé une prévention systématique pendant la grossesse chez les femmes Rhésus négatif non encore immunisées . Plusieurs protocoles sont possibles, en sachant que la demi-vie des gamma-globulines est voisine de 21 jours, on pourra injecter une dose de gamma-globulines à 28 semaines et une autre à 32 semaines d'aménorrhée. Cependant, les quantités plus importantes de gamma-globulines que cela exigerait, le coût très élevé, ainsi que les risques théoriques avancés par certains (26) sur l'état immunitaire ultérieur de l'enfant, en

ont fait limiter les indications pendant la grossesse qu'aux seules circonstances susceptibles d'aggraver le passage transplacentaire d'hématies foetales.

b) Après l'accouchement d'un enfant Rhésus positif

L'injection d'une dose standard devra avoir lieu dans les 72 heures suivant la naissance. On utilisera la voie veineuse (100 µg) ou la voie intra-musculaire (200 µg).

Un contrôle, par le test de Kleihauer ou un test de Coombs sensibilisé, 48 heures après l'injection s'assurera que les globules rouges foetaux sont absents du sang maternel ou qu'il y a au contraire des anti-D restants.

Un test de Kleihauer positif imposera de refaire une nouvelle injection avec un nouveau contrôle.

Le test de Coombs sensibilisé avec des hématies papainées, permet la recherche des "anticorps anti D restants" dans le sérum maternel après injection de la dose prophylactique standard. Dans ce cas, un test négatif signifiera que les gamma-globulines injectées ont été neutralisées et imposera une nouvelle injection, avec un nouveau contrôle.

En tout état de cause, cette prophylaxie sera à renouveler à chaque grossesse, ou lors des autres circonstances déjà mentionnées, en l'absence de toute immunisation et uniquement en présence d'un enfant Rhésus positif.

Dans les autres cas d'allo-immunisation, la prophylaxie consiste à limiter au maximum les transfusions et à ne prescrire en cas de nécessité que du sang compatible et phénotypé dans les systèmes Rhésus et Kell, chez la fillette et chez toutes les femmes en âge de procréer.

V - OBSERVATIONS ET RESULTATS OBTENUS

L'objet de ce travail a été de recenser et d'étudier sur une période de 5 ans (1988 à 1992), en collaboration avec les services de Gynécologie, de Pédiatrie et d'Hématologie du CHU de Limoges, les femmes enceintes porteuses d'anticorps irréguliers anti-érythrocytaires susceptibles de développer une allo-immunisation foeto-maternelle avec naissance d'enfants atteints de maladie hémolytique néonatale.

L'analyse des dossiers cliniques recueillis pendant cette période a permis de sélectionner 30 grossesses séparées en deux groupes:

- un premier groupe de 16 grossesses ayant donné naissance à des enfants indemnes de MHNN avec un test de coombs direct (TCD) négatif.

Le tableau I résume l'ensemble de ces observations avec leurs commentaires particuliers.

- un deuxième groupe de 14 grossesses avec allo-immunisation foeto-maternelle ayant donné naissance à des enfants atteints de MHNN (une mort in utero).

Le tableau II rapporte les caractéristiques des mères et des grossesses.

Le tableau III indique l'état des enfants atteints à la naissance et leur évolution post-natale en fonction du traitement.

N° obs	Groupe sanguin de la mère	Pare/Geste	Type d'Ac Titre maxi.	Groupe sanguin du père	Groupe sang. de l'enfant . Terme de naissance	Antécédents maternels
1	O- (cœekkk)	2/2	Anti-D 1/4 apparus au 9° mois	A+	O+ Né à terme TCD-	Inconnus (Turque)
2	AB- (cœekkk)	3/3	Anti-D 1/4 apparus au 9° mois	inconnu	A+ Né à terme TCD-	Inconnus (Gitane)
3	O- (cœekkk)	2/2	Anti-D 1/4 titre stable pendant la grossesse	A+ (Cœekkk)	A- (cœekkk) Né à terme TCD-	Anti-D positifs (1/4) à la fin de la 1° grossesse d'un enfant Rh+, TCD-
4	A- (cœekkk)	3/4	Anti-D 1/2 apparus au 9° mois	O+ (Cœekkk)	O+ (Cœekkk) Né à terme TCD-	1FCS (inj. Ig. Anti D) 2 enfants Rh-
5	A+ (cœekkk)	2/5	Anti-C 1/512 apparus à 37 SA	A+ (CCœekkk)	A+ (Cœekkk) Né à 39 SA par césa TCD-	1 IVG, 1 FCS, 1 GEU 1 enfant.
6	A+ (CCœekkk)	3/3	Anti-c 1/8 titre stable pendant la grossesse	O+ (Cœekkk)	O+ (CCœekkk) Né à terme TCD-	Anti-c apparus en fin de 2° grossesse (enfant TCD-)
7	O+ (CCœekkk)	2/3	Anti-c 1/2 apparus à 34 SA	inconnu	O+ (Cœekkk) Né à 35 SA par césa (RPM) TCD-	Transfusion
8	O+ (Cœekkk)	2/2	Anti-E 1/2 titre stable pendant la grossesse	A+ (œEekkk)	A+ (Cœekkk) Né à terme TCD-	Transfusion
9	O- (cœekkk)	1/1	Anti-E 1/8	O+ (Cœekkk)	O+ (Cœekkk) Né à 33 SA par césa (toxémie gravidique) TCD-	Transfusion
10	A- (cœekkk)	2/2	Anti-E 1/2	A- (cœekkk)	A- (cœekkk) Né à terme TCD-	Transfusion
11	A+ (CCœekkk)	2/4	Anti-c 1/16 Anti-E 1/8	A+ (CCœekkk)	A+ (CCœekkk) Né à terme TCD-	Transfusion après 1° grossesse en 1983
12	A+ (CCœekkk)	8/10	Anti-E 1/2 Anti-Lea	inconnu	O+ (Cœekkk) Né à terme TCD-	Grossesses et accouchements précédents en Algérie. Transfusion.
13	O+ (CœEekkk)	4/4	Anti-Kell 1/64	A+ (CCœekkk)	A+ (CœEekkk) Né à terme TCD-	Transfusion
14	O- (cœekkk)	1/2	Anti-Kell 1/4	O+ (CCœekkk)	O+ (Cœekkk) Né à terme TCD-	Transfusion 1 FCS (inj. Ig. Anti-D)
15	O+ (Cœekkk)	2/2	Anti-Kell 1/16	O+ (Cœekkk)	O+ (Cœekkk) Né à terme TCD-	Transfusion dans l'enfance
16	A+ (Cœekkk)	1/3	Anti-Kell 1/256	A+ (CœeKk)	A+ (Cœekkk) Né à terme TCD-	1 IVG 1FCS Transfusions multiples

Tableau I: Grossesses sans maladie hémolytique du nouveau-né et avec test de coombs direct de l'enfant négatif, chez des mères porteuses d'anticorps anti-érythrocytaires irréguliers.

FCS: Fausse couche spontanée. GEU: Grossesse extra-utérine. IVG: interruption volontaire de grossesse. RAI: recherche d'anticorps irréguliers. RPM: rupture prématurée des membranes. SA: Semaines d'aménorrhée. TCD-: test de coombs direct négatif.

N° obs	Age de la mère	Gr. sanguin de la mère	Pare/Geste	Type d'Ac.	Origine immunisation.	Titre d'Ac. maxi	Diag. Liley	Dosage pondéral µg/ml	Antécédents
17	26	A-(cceekk)	2/3	Anti-D	Defaut prev. Turquie	1/5096	Zone II	4	1 FC MHNN 2° gross. (EST. du Nné)
18	32	B-(Cceekk)	3/3	Anti-D	Defaut prev.	1/512	Zone II	0,40	MHNN gross.prec. (photothérapie)
19	30	A-(cceekk)	3/4	Anti-D	Defaut prev.	1/128	Zone III	3	mort foetale IU MHNN 2° gross. (EST. du Nné)
20	32	O-(cceekk)	2/2	Anti-D	Transf. en 1981	1/64	Zone II	4	MHNN gross.prec. (photothérapie)
21	28	O-(cceekk)	2/2	Anti-D	Prev. insuff.	1/128	Zone II	1,8	Enf.Rh+ gross. prec.:abs. controle après prevention.
22	30	A-(cceekk)	2/5	Anti-D	Defaut prev.	1/512	Zone II	3,4	2IVG,1FC, MHNN gross.prec. (photothérapie)
23	28	O-(cceekk)	2/2	Anti-D	?	1/128	Zone I (limite>)	0,5	1 Enfant Rh+ gross. précédente: préven- tion + controle corrects
24	28	B-(cceekk)	2/2	Anti-D apparus à 33 SA	chute à 30 SA	1/512	Zone II	1,5	Enf.Rh+ grossesse précédente:preven- tion.+ controle corrects.
25	18	B-(ccEekk)	1/1	Anti-D Anti-C	Transf. Turquie	1/16384 1/2	Zone II	9,16	
26	32	A-(cceekk)	3/3	Anti-D Anti-C	Defaut prev. Russie	1/4096 1/8	Zone II	7	MHNN à la gross.pécédente traitement ?
27	28	AB-(cceekk)	1/1	Anti-D Anti-C	Transf. en 1973	1/64 1/4	Zone I		
28	30	A+(CCceekk)	1/1	Anti-c Anti-E	Transf. en 1980.	1/128 1/64			RAI + en début de grossesse Anti-c : 1/8, Anti-E :1/4
29	32	B+(CCceekk)	3/5	Anti-c Anti-E	Transf. en 1982	1/64 1/32			2IVG avant 10SA
30	38	A+(Cceekk)	2/3	Anti-E	Transf. en 1973	1/32			1IVG avant 10 SA

Tableau II: Grossesses avec maladie hémolytique du nouveau-né et test de coombs direct positif chez l'enfant. Caractéristiques des mères et des grossesses.

EST: Exsanguino-transfusion. FC: fausse couche . IU: in utéro. IVG: interruption volontaire de grossesse; MHNN: maladie hémolytique du nouveau-né. Nné: nouveau-né. RAI: Recherche d'anticorps irréguliers.

N° obs	Terme de l'accouchement (SA)	Mode d'accouchement	Apgar 1'/10' Poids du Nné	Groupe sanguin du Nné	Hb de l'enfant g/dl	Bilirubine libre µmol/l	Traitement	Evolution
17	35	VB	8/10 2320g	O+	6,8 (Jo)	80 (H6) 250 (J2)	2EST H8 et J2 + photothérapie 6 jours.	Régression rapide de l'ictère normalisation de la NFS à J8, sortie à J23.
18	37	VB	10/10 3100g	B+ (CcEekk)	12 (Jo) 10,2 (J1)	60 (H3) 285 (J2)	photothérapie + albumine 2 jours.	Evolution précoce favorable, sortie à J4. Anémie persistante à J7: transfusion.
19	34	Césa	5/10 2230g	O+	4,3 (Jo)	105 (H4) 295 (J3)	3 EST H5,J2 et J3 + photothérapie 8 jours.	Disparition de l'ictère à J15, normalisation NFS à J7, sortie à J23.
20	35	Césa	8/10 1940g	O+	13,3 (Jo) 8,4 (H6)	55 (H1) 95 (H5) 195 (J2)	1 EST H6 + photothérapie 5 jours.	Régression rapide de l'ictère, sortie à J23 avec NFS et plaquettes normales.
21	33	Césa	1/7 2160g	O+	16,1 (Jo) 12 (J1) 9,9 (J15)	45 (H6) 180 (J1)	Ventilation assistée + 1 EST J1 + photothérapie 7 jours.	Splénomégalie à la naissance régressant rapidement. Sortie à J27 avec NFS et plaquettes normales.
22	29	VB	Mort in utéro	—	—	—	—	Mort foetale IU par hématome rétro-placentaire.
23	38	Césa	9/10 2680g	O+ (CcEekk)	16,9 (Jo) 14,9 (J1)	32 (Jo) 135 (J1)	photothérapie 2 jours.	Evolution favorable, sortie à J5. NFS-plaquettes normales.
24	37	VB	7/10 2500g	O+	12 (Jo) 7,9 (J2)	34,3 (Jo) 250 (J2)	1 EST J2 + photothérapie 6 jours.	Evolution favorable, correction de l'anémie, sortie à J11.
25	35	Césa	8/10 2360g	O+ (ccEekk)	13,2 (Jo) 8,2 (J1)	75 (H6) 270 (J2) 320 (J5)	3 EST J1,J2 et J6 + photothérapie 10 jours.	Disparition de l'ictère à J10, persistance d'une discrète anémie à J11, sortie à J25 sous Fumafer.
26	35	VB	5/9 3060g	O+ (ccEekk)	10,8 (Jo)	76 (Jo) 315 (J1)	1 EST J1 + albumine J1, photothérapie 7 jours	Evolution favorable, correction de l'anémie à J8 sortie à J10.
27	32	Césa Toxémie	7/10 1330g	A+ (ccEekk)	16,4 (Jo)	30 (Jo) 160 (J2)	photothérapie 4 jours.	Régression rapide de l'ictère sortie à J54.
28	38	VB	8/10 2540g	A+ (CcEekk)	10,7 (Jo) 7,9 (H6)	251 (H6)	2 EST H6 et J1 + photothérapie 6 jours.	Evolution favorable, NFS 16,3 d'Hb, sortie à J10.
29	39	Césa	10/10 2700g	B+ (CCEekk)	17,1 (Jo) 13,8 (H8)	80 (H4) 93,5 (H8)	photothérapie 3 jours.	Disparition de l'ictère à J3, sortie à J4. A J11, transfusion car Hb à 6,7 suites simples (anémie en cours de régénération).
30	37	VB	10/10 3780g	A+ (ccEekk)	15,5 (Jo) 12,4 (J4) 10,2 (J6)	288 (J2)	photothérapie 5 jours + albumine	Sortie à J7 sous Fumafer. Anémie en voie de régénération (réticulocytose).

**Tableau III : Grossesses avec maladie hémolytique du nouveau-né et test de coombs direct positif chez l'enfant.
Etat de l'enfant à la naissance et évolution post-natale.**

Césa: Césarienne, EST: exsanguino-transfusion, H: Heure (H6: 6^o heure de vie), IU: *in utéro*, J: Jour (Jo: jour de la naissance, J1: lendemain de la naissance...), Nné: nouveau-né, SA: semaines d'aménorrhée, VB: accouchement voie basse.

VI - COMMENTAIRES ET DISCUSSION

A TABLEAU I

Le tableau I regroupe 16 observations de grossesses chez des femmes présentant des agglutinines irrégulières, ayant donné naissance à des enfants indemnes de MHNN et chez lesquels le test de coombs direct est resté négatif.

Quatre dossiers concernent des femmes porteuses d'agglutinines irrégulières anti-D (observations n° 1 à 4).

Dans les observations n°1, 2 et 4, les immunoglobulines anti-D n'ont été retrouvées qu'à la fin de la grossesse (9ème mois) au titre faible de 1/4 ou 1/2. Ces réponses, probablement de type primaires, tardives et de faible intensité, n'ont pas positivé le test de coombs direct chez les nouveau-nés. Pour ces trois observations, les mères étant maintenant immunisées, une surveillance particulière du titre des anti-D sera impérative en cas de grossesse ultérieure.

Dans l'observation n°3, la présence d'agglutinines irrégulières anti-D a été détectée à la fin de la première grossesse. Leur titre retrouvé au 1/4 au début de la deuxième grossesse est resté stable. Le nouveau-né de groupe A négatif, ne portant pas l'antigène D, n'a pas provoqué de réactivation immunitaire.

Huit dossiers concernent des mères portant des agglutinines irrégulières autres que D, appartenant aux sous groupes Rhésus (observations n° 5 à 12).

Dans les observations n°6, 8, 9, 10, 11 et 12, les antigènes responsables de l'immunisation maternelle n'ont pas été retrouvés chez les nouveau-nés. En l'absence de réactivation immunitaire, le test de coombs direct pratiqué à la naissance est resté négatif.

Dans les observations n° 9, 10 et 11, l'analyse du phénotype sanguin de la mère, confronté à celui du père, suggère que les anticorps irréguliers sont d'origine transfusionnelle.

Dans l'observation n°8, l'anti-E présent au titre stable de 1/2 dès le début de la deuxième grossesse peut être soit d'origine transfusionnelle, soit témoin d'une immunisation lors de la grossesse précédente (le père étant Ee).

De même dans l'observation n°12, la méconnaissance du groupe et phénotype Rhésus du père ne permet pas de déterminer l'origine exacte de l'immunisation.

L'observation n°5 suscite quelques réflexions: cette femme, 5ème geste, 2ème pare, chez laquelle on ne retrouve pas d'antécédent de transfusion, a présenté à la 37ème semaine de sa dernière grossesse, un titre d'anticorps anti-C au 1/512e (en technique enzymatique) alors que la recherche d'agglutinines irrégulières pratiquée en début de grossesse était négative (cette femme étant Rhésus positif, aucune autre recherche des agglutinines irrégulières n'avait été effectuée). L'amniocentèse pratiquée à 37 semaines d'aménorrhée (SA) montrait un taux de bilirubinamnie situé dans la zone I de Liley. Une semaine après, un nouveau dosage des anticorps et une nouvelle amniocentèse donnaient les mêmes résultats.

A 39 SA, un dernier titrage montrait un taux d'anti-C abaissé au 1/256e, pouvant traduire une absorption de l'anticorps sur les hématies foetales, exposant le fœtus à un risque hémolytique élevé. Après échec du déclenchement du travail, une indication de césarienne était posée avec naissance d'un enfant A positif (Cceek), apgar à 10, TCD négatif et ne présentant pas d'anémie. Le TCD a été contrôlé sur le sang du cordon, puis chez le nouveau-né.

La positivité des anticorps anti-C en fin de grossesse avec un titre aussi élevé, est difficilement compatible avec un TCD négatif chez l'enfant. Cette observation suggère deux hypothèses:

- soit les anticorps détectés chez cette femme en fin de grossesse étaient des anticorps de nature IgM, ne traversant pas le placenta. En faveur de cette hypothèse,

on retrouve une recherche d'agglutinines irrégulières négative en début de grossesse (réponse primaire).

- Soit les anticorps dépistés chez la mère étaient de type IgG, présents chez l'enfant sous forme d'anticorps libres circulants ne positivant pas la TCD. En effet, plusieurs études (27, 38, 43, 53) portant sur la MHNN par incompatibilité Rhésus ont démontré que parfois, à la naissance, les nouveau-nés présentaient un TCD négatif, mais que du fait de la présence d'anticorps libres circulants, ces derniers développaient par la suite des anémies secondaires et des maladies hémolytiques néo-natales.

Contre cette hypothèse, l'enfant dans notre observation n'a pas présenté d'hémolyse ni d'anémie lors de la surveillance de son hémogramme.

Pour trancher entre ces deux possibilités, il aurait été intéressant de rechercher la nature immunologique des anticorps maternels (IgM ou IgG), ainsi que la présence d'anticorps circulants chez l'enfant.

En tout état de cause, une surveillance renforcée sera nécessaire en cas de grossesses ultérieures dans ce couple, où compte tenu des phénotypes parentaux, les enfants à naître seront tous hétérozygotes pour l'antigène C.

Dans l'observation n°7, les anticorps anti-c se sont positivés au titre faible de 1/2, une semaine avant la naissance prématurée du nouveau-né, ce qui peut expliquer que le TCD soit resté négatif.

Les quatre derniers dossiers concernent des mères présentant des agglutinines irrégulières anti-Kell (observations n°13 à 16).

La transfusion de sang Kell positif à des femmes Kell négatif représente la cause principale d'immunisation dans le système Kell (22).

Dans nos quatre observations, on retrouve un antécédent de transfusion chez les mères. Pour prévoir le phénotype foetal, il convient en premier lieu de déterminer le phénotype sanguin du père. Pour trois de nos dossiers (n°13, 14, 15), les pères étant Kell négatif (kk) (comme environ 90 % des sujets de la population française) les enfants (kk) n'ont pas présenté de maladie hémolytique.

Dans l'observation n°16, le père étant hétérozygote (Kk) pour l'antigène Kell, il y avait 50 % de risque que l'enfant à naître soit Kell positif. Dans ces cas là, le pouvoir immunogène des antigènes Kell étant superposable à celui des antigènes D, certains auteurs recommandent à partir de la 23ème SA de suivre l'évolution de la grossesse par amniocentèses, si le titre des anticorps anti Kell est supérieur ou égal à 1/32e, et de surveiller la morphologie foetale par échographie (10).

La concentration en anticorps anti-Kell en dessous de laquelle il n'y a pas de danger pour le foetus est cependant extrêmement difficile à déterminer. On retrouve en effet dans la littérature des cas de mort foetale pour des titres d'anticorps inférieurs à 1/32e (20).

Dans l'observation n°16, le titre est passé de 1/32e à 1/256e entre la 13ème et la 27ème SA. Les deux amniocentèses pratiquées avec étude spectrophotométrique du liquide amniotique relevaient des taux de bilirubinémie compris dans la zone I (limite supérieure) du diagramme de Liley.

La cordocentèse effectuée à la 27ème SA ramenait un échantillon de sang foetal de nature A positif (Cceek). L'absence d'antigène Kell chez le foetus permettait d'écarter un risque hémolytique pour le restant de la grossesse.

La découverte d'un phénotype foetal de type Kk aurait pour certains, nécessité la réalisation de cordocentèses répétées afin de déterminer avec précision le taux d'hémoglobine foetale.

Ce type de surveillance reste cependant très discuté et ne devrait être proposé que pour des cas sévères, étant donné le risque potentiel d'une réactivation immunitaire, principalement lorsque le passage transplacentaire de l'aiguille est inévitable (22).

Enfin, en présence d'un conjoint hétérozygote, par l'antigène Kell et d'une patiente refusant d'assumer une grossesse incompatible, certaines équipes proposent une biopsie des villosités choriales permettant une détermination précoce de l'antigène Kell sur les hématies foetales, possible dès le premier trimestre de la grossesse (9, 45).

B TABLEAUX II ET III

Les tableaux II et III résument 14 observations de grossesses chez des femmes présentant des agglutinines irrégulières et ayant donné naissance à des enfants avec un TCD positif et atteints de MHNN.

Dans onze observations, les mères Rhésus négatif étaient porteuses d'agglutinines irrégulières anti-D (observations n°17 à 27).

Parmi ces femmes, 3 présentaient des anticorps anti-C en même temps que les anti-D (observations n°25, 26, 27). Ils n'ont pas été impliqués dans la réponse immunitaire car les nouveau-nés étaient de phénotype cc.

Dans 3 observations, une allo-immunisation foeto-maternelle dans les sous groupes Rhésus c et/ou E a été retrouvée indépendamment de toute allo-immunisation anti-D (Observations n°28 à 30).

1) - Allo-immunisations foeto-maternelles par incompatibilité Rhésus (Observations n°17 à 27).

Le tableau II résume les principales caractéristiques des mères et la gravité de l'allo-immunisation foeto-maternelle.

L'âge moyen des femmes est de 28 ans. Neuf d'entre elles sont multipares et deux sont primipares.

Dans six observations, on retrouve un antécédent de maladie hémolytique lors d'une grossesse précédente, ayant nécessité un traitement de l'enfant à la naissance (photothérapie ou exsanguino-transfusion).

Six fois sur onze l'immunisation a été consécutive à une absence de prévention ou à une prévention insuffisante (absence de contrôle des anti-D restants).

Dans 3 cas (observations n°20, 25 et 27), les anticorps détectés chez les mères sont probablement d'origine transfusionnelle. En effet on retrouve chez ces patientes aux antécédents de transfusions, des agglutinines irrégulières positives en tout début de première grossesse. Ceci souligne l'importance de transfuser, en cas de nécessité, tous les sujets de sexe féminin non encore ménopausés avec du sang phénotypé dans les groupes Rhésus et Kell.

Enfin, dans 2 cas (Observations n°23 et 24), l'immunisation est apparue au cours de la deuxième grossesse, alors que la prévention par injection de gammaglobulines anti-D avait été effectuée correctement après la première grossesse d'un enfant Rhésus positif, et que le contrôle des anti-D restants était positif. Dans l'observation n°24, une chute de la patiente vers la 30ème SA a été retenue comme étiologie possible de l'allo-immunisation foeto-maternelle suite à un passage transplacentaire de sang foetal. Dans l'observation n°23, il n'a pas été retrouvé de cause déclenchante.

Dans tous ces cas rapportés d'immunisation anti-D, le risque foetal a été considéré comme sévère sur un ou plusieurs des critères suivants :

- titre des anticorps anti-D supérieur à 1/32e,
- dosage pondéral des anticorps anti-D supérieur à 1 µg/ml,
- bilirubinémie en zone II ou III sur le diagramme de Liley.

Il est admis que même si l'hémolyse foetale est proportionnelle au titre des anticorps, la détermination de ce titre ne représente qu'une approximation de la quantité réelle des anticorps. Pour la plupart des auteurs, les titres inférieurs ou égaux à 1/16e correspondraient à des atteintes foetales légères, alors que les titres plus élevés correspondraient le plus souvent à des atteintes sévères avec risque de mort foetale (46).

Toutefois, la gravité de l'atteinte foetale n'étant pas liée de façon linéaire au titre des anticorps, il est nécessaire à chaque fois que le titre est supérieur à 1/16e ou 1/32e, d'effectuer un dosage pondéral des immunoglobulines anti-D, technique plus fiable et plus sensible pour apprécier le degré de l'atteinte foetale (21).

Notre étude retrouve dans 8 cas sur 10, un dosage pondéral supérieur à 1 µg/ml. Dans deux autres cas (observations n°18 et 23), malgré un titre d'anticorps élevé (respectivement au 1/512e et 1/128e), le dosage pondéral des anticorps anti-D est resté inférieur ou égal à 0,5 µg/ml, valeurs pour lesquelles le risque et la gravité de l'atteinte foetale sont considérées comme faibles.

Si dans l'ensemble il existe une nette correspondance statistique entre le taux pondéral des anti-D et la gravité de la MHNN, d'assez grandes variations individuelles sont toutefois possibles : dans l'observation n°19 par exemple, alors que le dosage pondéral des anticorps était de 3 µg/ml, l'amniocentèse avec étude spectrophotométrique de la bilirubinémie indiquait une zone III dans le diagramme de Liley, imposant l'extraction en urgence du fœtus par césarienne à la 34ème SA (Hb à 4,3 g/dl et hyperbilirubinémie non conjuguée importante aux différents contrôles ayant nécessité trois exsanguino-transfusions et une photothérapie chez le nouveau-né.)

Dans l'observation n°26, alors que le dosage pondéral était plus élevé (7 µg/ml), la bilirubinémie n'était qu'en zone II de Liley et l'enfant est né à 35 SA avec un degré d'atteinte moins sévère, ayant nécessité un traitement moins lourd (une seule exsanguino-transfusion et photothérapie).

Ceci est en accord avec les travaux de Fraser et Tovey (19) qui, étudiant le taux pondéral des anticorps anti-D chez des femmes Rhésus négatif, ayant accouché d'enfants Rhésus positif, ont rapporté les résultats suivants :

- sur 490 grossesses avec un taux pondéral inférieur à 1 µg/ml (mesuré jusqu'à la 35ème SA), 96,3 % des enfants présentaient une MHNN à forme légère. Sur 145 grossesses avec un taux d'anticorps supérieur à 10 µg/ml, il n'y avait aucune forme

légère, mais 32 % de formes moyennes et 68 % de formes sévères. Par contre, dans 360 cas où le taux était compris entre 1 et 5 µg/ml, il y avait de larges variations dans la gravité de la maladie : 35 % de formes légères, 44 % de formes moyennes et 21 % de formes sévères.

De même, Rudigoz et coll (46) rapportent des résultats similaires en comparant les taux d'hémoglobine cordonale et le dosage pondéral obtenu, dans une étude portant sur 61 nouveau-nés.

Actuellement, tous les auteurs s'accordent pour retenir le taux de 1 µg/ml comme valeur seuil au-delà de laquelle il existe un risque d'atteinte grave pour le nouveau-né. Au-dessus de cette valeur, un examen du liquide amniotique voire un prélèvement de sang foetal au cordon, permettront de mieux apprécier la sévérité de l'atteinte foetale.

2) - Allo-immunisations autres qu'anti-D

Elles sont aujourd'hui mieux connues, leur fréquence semble aller croissant comparée aux immunisations vis-à-vis du facteur D. Elles représenteraient actuellement près du tiers de l'ensemble des allo-immunisations (21, 46).

Notre étude en rapporte 3 cas (observations n°28 à 30).

Chez nos 3 patientes, on retrouve un antécédent de transfusion sanguine avant 1985, mais l'origine transfusionnelle de ces immunisations n'est certaine que pour l'observation n°28 (patiente primipare avec RAI+ en début de grossesse). Pour les observations n°29 et 30, la méconnaissance des phénotypes des premiers enfants ainsi que ceux des pères ne permet pas d'affirmer que les anticorps maternels sont d'origine transfusionnelle.

Quoiqu'il en soit, l'ensemble des données de la littérature s'accordent pour dire que les transfusions de sang non phénotypé dans les systèmes de groupes sanguins Rhésus (C, c, E, e) et Kell (K) sont les principales causes d'immunisations maternelles vis-à-vis de ces antigènes de groupes sanguins (21, 46, 48).

Cliniquement et biologiquement, ce type d'immunisation ne présente aucune originalité sinon celle de pouvoir survenir chez des femmes Rhésus positif ou encore souvent dès une première grossesse (femme sensibilisée par une transfusion antérieure).

La surveillance devra être la même que pour l'immunisation anti-D, avec en cas d'ascension du titre des anticorps, amniocentèse voire prélèvement de sang foetal.

Malheureusement, le dosage pondéral des agglutinines autres qu'anti-D n'étant pas réalisable, l'appréciation du risque hémolytique néonatal est plus difficile.

Dans l'observation n°28, les anticorps anti-c et anti-E étaient présents chez la mère dès le début de la grossesse aux taux respectifs de 1/8e et 1/4. Chez cette femme, il n'a malheureusement pas été réalisé de dosages intermédiaires des agglutinines irrégulières. En fin de grossesse, les titres d'anticorps étaient au 1/128e pour les anti-c et au 1/64e pour les anti-E. L'ascension des taux d'anticorps chez cette patiente préalablement immunisée (réponse secondaire) a engendré une maladie hémolytique nécessitant une prise en charge du nouveau-né par exsanguino-transfusion et photothérapie.

Pour les deux autres observations, n°29 et 30, les titres des anticorps relativement faibles et stables, autour de 1/8e aux différents contrôles, ont augmenté en fin de grossesse (1/64e, 1/32e). Cette ascension explique la survenue d'une MHNN ayant nécessité un traitement par photothérapie.

Ces trois observations démontrent que l'incidence de la MHNN dans les sous-groupes Rhésus n'est pas négligeable, et que dans certains cas, la gravité peut être superposable à celle observée dans l'incompatibilité Rhésus proprement dite, imposant la même prise en charge des nourrissons.

Des cas sévères d'immunisations dans les sous-groupes Rhésus sont retrouvés dans la littérature.

Appelman et coll (1) rapportent deux cas graves d'allo-immunisation foeto-maternelle à l'antigène c, chez des mères multipares, Rhésus positif, avec des antécédents de transfusions, dont un a abouti à une mort foetale (anasarque foeto-placentaire).

Tous ces faits soulignent la nécessité d'une surveillance rapprochée à effectuer chez toute femme présentant des agglutinines irrégulières en début de grossesse quel que

soit leur type. Ceci est particulièrement important à rappeler chez les femmes Rhésus positif, ces dernières ne bénéficiant pas toujours d'un suivi aussi rigoureux que celui réservé aux femmes Rhésus négatif.

3) - Etat des nouveau-nés atteints de maladie hémolytique

L'ensemble des données concernant le mode d'accouchement, l'état des nouveau-nés à la naissance et leur évolution post-natale sont résumés dans le tableau III.

Chaque fois que cela a été possible, la naissance a eu lieu par voie basse après déclenchement du travail. Dans les autres cas, une indication de césarienne a dû être posée (dans l'observation n°20, l'indication a dû être portée en raison d'une disproportion foeto-pelvienne sur bassin traumatique, dans l'observation n°27 en raison d'une toxémie gravidique, dans l'observation n°29 pour antécédent de deux césariennes).

Le terme moyen des naissances a été de 35,5 SA.

Nous n'avons eu à déplorer qu'un cas de mort foetale à 29 SA (observation n°22) en rapport avec une complication obstétricale (hématome rétroplacentaire). Chez cette parturiente, aux antécédents d'allo-immunisation anti-D à la grossesse précédente (MHNN), le taux d'anticorps anti-D a été régulièrement suivi : ascension régulière du titre des anti-D jusqu'au 1/512e, dosage pondéral à 3,4 µg/ml à 29 SA.

L'amniocentèse réalisée 3 jours avant la mort foetale révélait un taux de bilirubinamnie compris dans la zone II du diagramme de Liley ; la cordocentèse donnait un TCD positif sur les hématies du fœtus, traduisant une fixation des anticorps maternels anti-D sur les hématies foetales. Avant que toute décision obstétricale ait pu être prise, le fœtus est décédé, suite à un décollement placentaire.

Dans les autres observations, après la naissance, les nouveau-nés ont été pris en charge dans l'unité de néonatalogie ou après un bilan initial et réanimation éventuelle, une indication de photothérapie et/ou d'exsanguino-transfusion a dû être portée. Le protocole suivi par les pédiatres du CHU est voisin de celui de Cockington (11) et est indiqué sur la figure 3.

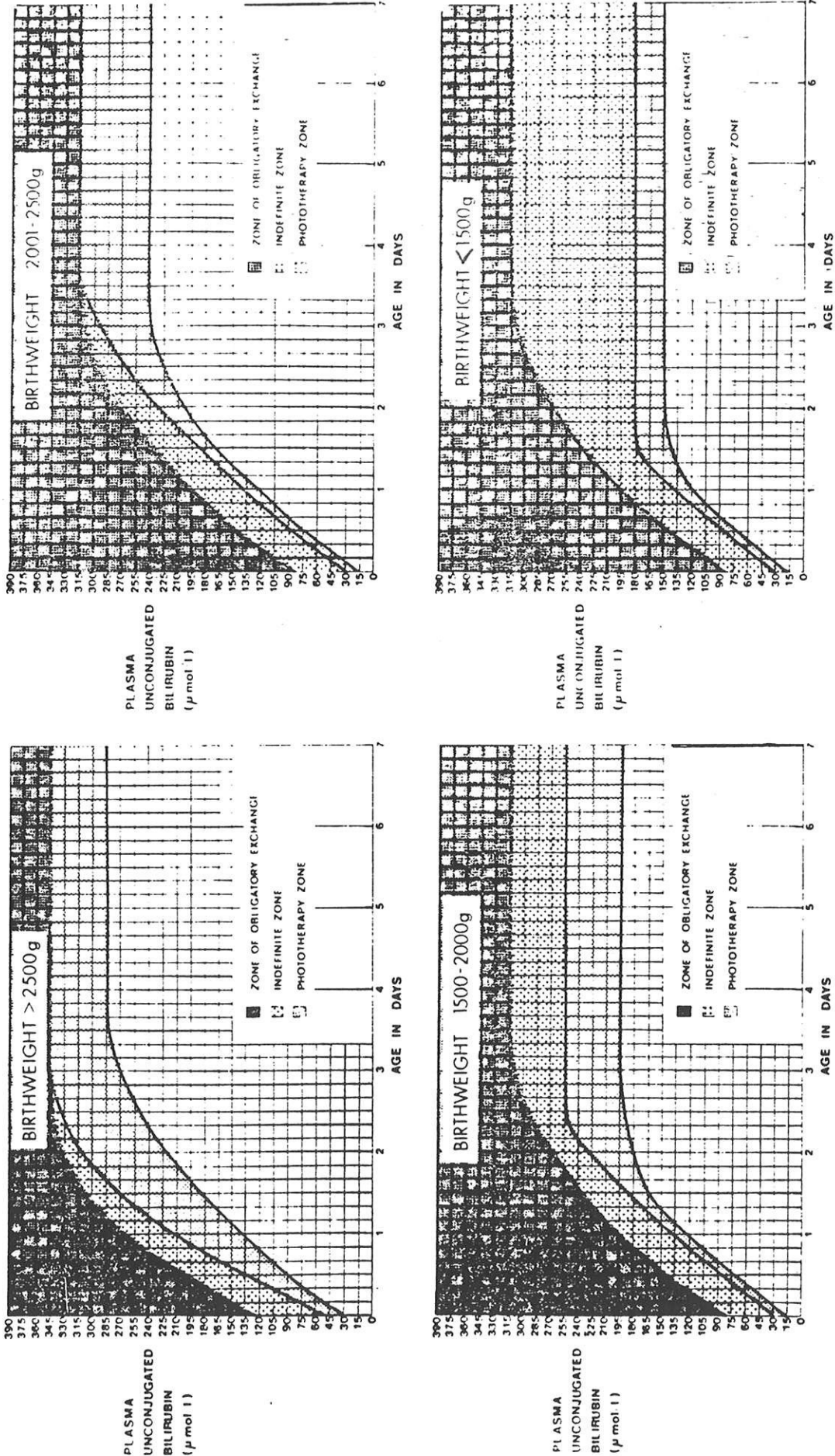


Figure 3

Indications de la photothérapie ou de l'exanguino transfusion post-natale en fonction de l'âge du nouveau-né, du poids de naissance et du taux de bilirubine libre. (Cockington, The Journal of Pediatrics - August 1979 - Vol. 95 n° 2 p. 282)

Il est fonction du taux de bilirubine non conjuguée, rapporté au poids et à l'âge (en jours) des nouveau-nés.

Généralement, une photothérapie première est réalisée en continu, complétée au besoin d'une ou de plusieurs exsanguino-transfusions en fonction de la cinétique d'évolution des taux de bilirubine non conjuguée (régulièrement dosée 2 à 3 fois par 24 heures) et du degré d'anémie (généralement quand l'hémoglobine est inférieure à 12 g/dl).

Rappelons que le taux d'hémoglobine normal chez le nouveau-né est de 16,5+/-3 g/dl.

Un relais par photothérapie discontinue sera généralement nécessaire quelques jours pour finir de faire décroître les taux de bilirubine non conjuguée.

L'exsanguino-transfusion a pour but d'épurer l'organisme du nouveau-né lorsque sont atteints les seuils dangereux d'hyperbilirubinémie libre (risque d'ictère nucléaire).

La quantité souhaitable de sang échangé peut représenter 3 fois la volémie du nouveau-né (qui est de l'ordre de 80 ml/Kg). Dans ces cas, l'exsanguino-transfusion portera donc sur 80 ml/Kg x 3, soit une masse totale de sang de 750 ml environ chez un enfant de 3 kilos (80 x 3 x 3)(4). Elle sera réalisée par voie ombilicale avec du sang rhésus négatif aussi frais que possible en cas d'allo-immunisation anti-D et avec du sang négatif pour l'antigène intéressé dans les autres cas.

Pour l'ensemble de ces observations, la durée du séjour d'hospitalisation de ces enfants a été variable en fonction du traitement appliqué et du terme de naissance, mais à leur sortie, leur état clinique était tout à fait satisfaisant.

Tous ces enfants ont été suivis par surveillance régulière de l'hémoграмme. Dans deux cas (observations n°18 et 29), une transfusion sanguine a été nécessaire pour corriger une anémie secondaire. Dans ces deux observations, le traitement initial des nouveau-nés s'était limité à une photothérapie avec dans un cas perfusion d'albumine.

Dans les cas limites, et compte tenu des risques de l'exsanguino-transfusion (cardio-vasculaires, métaboliques ou infectieux), les pédiatres du CHU de Limoges

tendent de limiter au maximum leurs indications d'exsanguino-transfusions en sachant qu'ils peuvent être amenés à transfuser les enfants dans un deuxième temps en cas d'hémolyse secondaire.

Nous n'avons pas eu recours, lors du suivi de ces grossesses, à la pratique de transfusions in utéro.

En effet, il a toujours été possible de mener ces grossesses jusqu'à un terme de viabilité convenable pour autoriser une naissance, même si dans deux cas (observations n°17 et 19) les taux d'hémoglobine foetale à la naissance témoignaient d'une anémie sévère (respectivement 6,8 g/dl et 4,3 g/dl).

Contrairement à d'autres équipes (39, 42, 50), les services de Maternité de notre CHU ont très peu d'expérience dans le domaine de la transfusion in utéro.

VII - CONCLUSION ET CONDUITE A TENIR

Les allo-immunisations foeto-maternelles dans le système Rhésus Dd ou dans les groupes antigéniques autres que D ne sont donc pas exceptionnelles. En effet, notre étude montre que l'on rencontre encore des allo-immunisations au facteur D principalement après omission ou échec de prévention, et des immunisations aux antigènes autres que D, en particulier chez des femmes ayant reçu des transfusions de sang non phénotypé dans les systèmes Rhésus et Kell.

Notre travail souligne la place du diagnostic biologique dans le dépistage de l'incompatibilité foeto-maternelle érythrocytaire et dans la surveillance des grossesses à risque. La prise en charge de telles grossesses s'est simplifiée ces dernières années grâce à la mise au point de dosages biologiques de plus en plus performants, permettant une meilleure appréciation du pronostic foetal et guidant la conduite à tenir obstétricale.

La surveillance préconisée est :

- pendant la grossesse :

* Toutes les femmes Rhésus négatif doivent bénéficier d'une recherche d'agglutinines irrégulières lors des différents examens prénatals obligatoires. Pour les femmes immunisées, cette recherche sera mensuelle ou bi-mensuelle après le 6ème mois en cas d'ascension du titre des anticorps. Un dosage pondéral des anti-D (meilleure technique pour leur évaluation) doit être réalisé pour des titres supérieurs au 1/16e. La valeur de 1 µg/ml constitue la valeur seuil de gravité généralement admise. Une amniocentèse avec étude spectrophotométrique de la bilirubinamnie voire une

cordocentèse avec détermination du taux d'hémoglobine foetale et du groupe sanguin de l'enfant permettront une meilleure appréciation de la gravité de l'atteinte foetale.

* Pour les femmes Rhésus positif, la recherche d'agglutinines irrégulières doit être effectuée au moins une fois lors du deuxième ou troisième examen prénatal. En cas de positivité, la surveillance devra être la même que pour les femmes Rhésus négatif.

La décision d'accouchement dépendra du terme et du degré d'atteinte foetale appréciés par les examens biologiques et l'échographie.

- A la naissance :

Le diagnostic biologique de la maladie hémolytique du nouveau-né se pose généralement devant un test de coombs direct positif, une hyperbilirubinémie libre et une anémie. En cas d'atteinte, la prise en charge de l'enfant dans le service de néonatalogie repose sur la photothérapie associée ou non à des exsanguino-transfusions.

- Après la naissance :

La surveillance biologique du nourrisson repose sur des hémogrammes itératifs, à la recherche d'une anémie, témoin d'une hémolyse secondaire et pouvant nécessiter une transfusion.

Le dépistage, la surveillance et le traitement de cette affection materno-foetale nécessitent donc une collaboration parfaite entre obstétriciens, pédiatres et biologistes.

Ce n'est qu'à ce prix que l'on parviendra à améliorer la prévention et à diminuer la gravité des maladies hémolytiques du nouveau-né.

VIII - BIBLIOGRAPHIE

- 1 - APPELMAN Z., LURIE S., JUSTER A., BORENSTEIN R.**
Severe hemolytic disease of the newborn due to anti-c.
Int. J. Gynecol. Obstet., 1990, 33 : 73-75.
- 2 - BALLANTYNE J. N.**
The diseases and deformities of the foetus.
Ohner et Boyd, Ed. Edimburgh, Vol 1, 1892.
- 3 - BEVIS D.C.A.**
Blood pigments in haemolytic disease of newborn.
J. Obstet. Gynaec.Brit. Emp., 1956, 63 : 68-75.
- 4 - BONNET H.**
Coord Médecine périnatale.
Villeurbanne : *Simep, Eds Pédiatrie*, (M. David, D. Floret, Vol 1, 1984).
- 5 - BOWMAN J.M., PEDDLE L.J., ANDERSON C.**
Plasmapheresis in severe Rh iso-immunization.
Vox Sang., 1968, 15 : 272-277.
- 6 - BOWMAN J.M., POLLOCK J.M. et coll.**
Rh. immunization during pregnancy : antenatal prophylaxis.
Can. Med. Assoc. J., 1976, 118 : 623-627.
- 7 - BOWMAN J.M., POLLOCK J.M.**
Antenatal prophylaxis of Rh immunization : 28 weens-gestation service program.
Can. Med. Assoc. J., 1976, 118: 627-630.
- 8 - BOWMAN J.M.**
The management of Rh isommunization.
Obstet. Gynecol., 1978, 52: 1-16.

- 9 - **BROSSARD Y., BIGNAZZI C., MULLIEZ N., LEWIN F.**
Le groupage érythrocytaire sur hématites extraites de fragments biopsiques de trophoblaste à l'aide de la technique immuno-or-argent. In "Diagnostic et prise en charge des affections foetales.II",
Association Saint-vincent de Paul (Prénatal), Paris 1986.
- 10- **CAINE M.E., MUELLER-HEUBACH E.**
Kell sensitization in pregnancy.
Am. J. Obstet. Gynecol., 1986, 154 : 85-90.
- 11- **COCKHINGTON R.A.**
A guide to the use of phototherapy in the management of neonatal hyperbilirubinemia.
The Journal of PEDIATRICS, August 1979, 95: 281-285.
- 12- **COOPERBERG P.L., CARPENTIER C.W.**
Ultrasound as an aid in intrauterine transfusion.
Am. J. Obstet. Gynecol., 1977, 128 : 329-341.
- 13- **DAFFOS F., FORESTIER F., CAPPELA-PAVLOVSKY M.**
Prélèvement de sang foetal.
In "*Mises à jour en Gynécologie-Obstétrique*"(CNGOF), Paris, Vigot, 1984.
- 14- **DAFFOS F., FORESTIER F., CAPPELA-PAVLOSIVSKY M.**
Prélèvement de sang foetal par ponction directe de la veine ombilicale sous contrôle ultrasonographique.
JEMU, 1984, 5 : 259-263.
- 15- **DAFFOS F.**
Fetal blood sampling during the third trimester of pregnancy.
Br. J. Obstet. Gynecol., 1984, 9 : 118-121.
- 16- **DALLAY D.**
Les allo-immunisations foeto-maternelles.
Journées d'Etudes sur les Grossesses pathologiques (Bordeaux), 1991.

- 17- DEVORE G.R., MAYDEN K., TORTORA M., BERKOWITZ R.L.,
HOBBINS J.C.**
Dilatation of the fetal umbilical vein in rhesus hemolytic anemia : a predictor of severe disease.
Am J. Obstet. Gynecol., 1981, 141: 464-466.
- 18- FINN R., CLARKE C.A., DONOHOE W.T. et coll**
Experimental studies on the prevention of Rh haemolytic disease of the Newborn.
Brit. Med.J . 1961, 1: 1486-1490.
- 19- FRASER .I. D.,TOVEY G.H., LOCKYER W.J.,SOBEY D.F.**
Antibody protein levels in the maternals serum in Rhesus iso-immunization.
J. Obstet. Gynecol. Brit. Cwlth, 1972, 79 : 1074.
- 20- FRIGOLETTO Jr F.D.**
Kell sensitization in pregnancy (letter).
Am. J. Obstet. Gynecol., 1987, 156 : 766.
- 21- GAUCHERAND P., RUDIGOZ R.C.**
Immunisation sanguine foeto-maternelle. Physiopathologie, Diagnostic, Traitement.
Rev. Prat. (Paris), 1990, 14 : 1329-1334.
- 22- GAVRIIL P., JAUNIAUX E., LAMBERMONT M, DONNER C.,
AVNI F.E., RODESCH F.**
Investigations périnatales de l'immuniation foeto-maternelle anti-Kell.
J. Obstet Gynecol. Biol. Reprod., 1989, 18 : 761-764.
- 23- GLUCK L., KULOVICH M.V., BORER R.C., BRENNER P.H.,
ANDERSON G., SPELLACY W.H.**
Diagnosis of the respiratory distress syndrome by amniocentesis.
Am. J. Obstet. Gynecol., 1971, 109: 440-445.

- 24- **GORMAN J.G., FREDA V.J., POLLOCK J.M.**
Intramuscular injection of a new experimental gamma-2- globulin preparation containing high level of anti Rh antibody as a means of preventing sensitization to Rh.
Proc. 9th Cong. Inst. Soc. Hematol., 1962, 2545.
- 25- **GOUDEMANT M., SALMON C.H.**
Immuno-hématologie et immunogénétique. Flammarion Ed., Paris, 1980.
- 26- **HENSLEIGH P.A.**
Preventing rhesus isoimmunization. Antepartum Rh immune globuline prophylaxis versus a sensitive test for risk identification.
Am. J. Obstet. Gynecol., 1983, 146: 749-755.
- 27- **HUGHES M.I., MURRAY S.**
Rhesus-immunized mother and direct -coombs-test -negative babies.
Lancet, 1966, 2, 549. (Letters to the editor).
- 28- **HUGHES-JONES N.C.**
The estimation of the concentration and equilibrium constant of Anti-D.
Immunology, 1967, 12 : 565.
- 29- *Journal Officiel de la République Française*
15 Septembre 1971, (Arrêté du 27 Août 1971) 9182-9183.
- 30- *Journal Officiel de la République Française*
30 Mai 1985, (Arrêté du 19 Avril 1985) 6000-6002.
- 31- **LALEZARI P.**
A new method for detection of red blood cell antibodies.
Transfusion, 1968, 8 : 372-380.
- 32- **LANDSTEINER K., WIENER A.S.**
Agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for Rhesus blood.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1940, 43 : 223.

- 33- LASSALE B.**
Etude comparative d'une agglutination en milieu gélifié avec les techniques standards pour la détection et l'identification des anticorps irréguliers anti-érythrocytaires.
Mémoire du concours de Médaille d'Or de Biologie, 1991.
- 34- LEVINE P., STETSON R.E.**
Unusual case of intra-group agglutination.
J. Amer. Med. Ass., 1939, 113 : 126-127.
- 35- LEVINE P.**
Hemolytic disease due to antibodies other than anti-D.
Rev. hematol., 1954, 10 : 215-226.
- 36- LILEY A.W.**
Liquor amnii analysis in the management of the pregnancy complicated by Rhesus sensitization.
Am. J. Obstet. Gynecol., 1961, 82 : 1359-1370.
- 37- LILEY A.W.**
Intrauterine transfusion of foetus in haemolytic disease.
Brit. Med. J., 1963, 2: 1107-1109.
- 38- MALINVAUD G.**
Etudes sur les anticorps circulants chez les enfants atteints de maladie hémolytique par incompatibilité Rhésus.
Revue Française de Transfusion, 1968, 11: 315-329.
- 39- MILLARD D.D., GIDDING S.S., SOCOL M., MACGREGOR S.N., DOOLEY S.L., NEY J.A., STOCKMAN J.A.**
Effects of intravascular, intrauterine transfusion on prenatal and postnatal hemolysis and erythropoiesis in severe fetal iso-immunization.
J. Pediatr., 1990, 117 : 447-454.
- 40- MOLLISON P.L.**
Blood transfusion in clinical medicine.
Blackwell Scientific Publications, Oxford Ed, 7e edition, 1983.

- 41- **PARINAUD J., FOURNIE A., GANDJEAN M., BLANC M, PONTONNIER G.**
Premiers essais de traitement de l'allo-immunisation foeto-maternelle dans le système rhésus par administration orale d'antigènes érythrocytaires.
J. Gynecol. obstet. Biol. Reprod., 1983, 12: 407-413.
- 42- **POISSONNIER M.H., BROSSARD Y., DE MEDEIROS N., PARNET-MATHIEU F., CHAVINIE J., HUCHET M.**
L'exsanguino-transfusion in utéro. Une nouvelle thérapeutique pour les incompatibilités sanguines foeto-maternelles sévères. In "*Diagnostic et Prise en charge des Affections Foetales*", II Ass. "Saint-Vincent de Paul", Paris, Vigot, 1986.
- 43- **POND J.C.**
Rhesus-immunised mothers and direct-coombs-test-negative babies.
Lancet, 1966, 2 : 386 (Letters to the editor).
- 44- **RODECK C.H., KEMP J.R., HOLMAN C.A., WHITMORE D.R.**
Direct intravascular fetal blood transfusion by fetoscopy in severe Rh isoimmunization.
Lancet, 1981, 1, 8221 : 625-627.
- 45- **RODESCH F., LAMBERMONT M., DONNER C., SIMON Ph., ROMASCO F., SCHWERS J., WYBRAN J.**
Chorionic biopsy in management of severe Kell allo-immunization.
Am. J. Obstet. Gynecol., 1987, 156 : 124-125.
- 46- **RUDIGOZ R.C., AUDRA Ph, PUTET G., RIGAL D.**
Les allo-immunisations foeto-maternelles.
Encycl. Med. Chir. (Paris, France), obstétrique, 1985, 5068 A¹⁰: 1-20.
- 47- **SCOTT J.R., KOCHENOUR N.K., LARKIN R.M., SCOTT M.J.**
Changes in the management of severely Rh immunized patients.
Am. J. Obstet. Gynecol., 1984, 149: 336-340.

- 48- **STANGENBERG M., SELBING A., LINGMAN G., WESTGREN M.**
Rhesus immunization : New Perspectives in Maternal Fetal Medicine.
Obstetrical and Gynecological Survey, 1991, 46: 189-195.
- 49- **THOUMSIN H.**
Les allo-immunisations foeto-maternelles.
Rev. Med., Liège, 15 Nov 1988, 43 (22) : 743-745.
- 50- **VANLIEFERINGHEN Ph., LEMERY D., STORME B. RAYNAUD E.J.**
Prise en charge des allo-immunisations foeto-maternelles anti-D graves. Intérêt des exsanguino-transfusions in utero.
Ann. Pediat. (Paris), 1988, 35: 103-108.
- 51- **VISSER G.H.A.**
Antepartum sinusoidal and decelerative heart rate patterns in Rh disease.
Am J. Obstet. Gynecol., 1982, 143: 538-544.
- 52- **WALLERSTEIN H.**
Treatment of severe erythroblastosis by simultaneous removal and replacement of blood of newborn infant.
Science, 1946, 103 : 583-584.
- 53- **WEINER W., WINGHAM J.**
Rhesus-immunized mothers and direct-coombs-test -negative babies.
Lancet, 1966, 1 : 85.
- 54- **WOODROW J.G.**
Rh-immunization and its prevention.
Nord. Med., 1971, 85 : 704-705.

IX - TABLE DES MATIERES

I -	INTRODUCTION	11
II -	HISTORIQUE	14
III -	PRESENTATION CLASSIQUE DE LA MALADIE HEMOLYTIQUE DU NOUVEAU-NE	18
	III-1- FREQUENCE	19
	III-2- PHYSIOPATHOLOGIE	20
	A - DIFFERENCE ANTIGENIQUE	20
	a) Le Système Rhésus	20
	b) Les autres systèmes de groupes	22
	B - CONTACT ANTIGENIQUE	23
	* Allo-immunisation par l'antigène Rhésus Standard (D)	24
	1) Passage d'hématies foetales à travers le placenta	24
	2) Réponse primaire maternelle	25
	3) Réponse secondaire et traversée du placenta par les anticorps maternels	25
	4) Sensibilisation des hématies foetales et conséquences physiopathologiques	26
	* Allo-immunisation à des antigènes autres que D	27
	C - CIRCONSTANCES DE SURVENUE	27
	D - NATURE DES ANTICORPS MATERNELS	28
IV -	ETUDE CLINIQUE	29
	A - DEPISTAGE	30
	B - SURVEILLANCE CLINIQUE DES PATIENTES A RISQUE	31
	1 - Interrogatoire	31
	2 - Surveillance clinique	31

C - SURVEILLANCE BIOLOGIQUE	31
1 - Détermination du groupe sanguin du père	32
2 - Recherche d'anticorps irréguliers. Détection, identification et titrage des anticorps maternels	33
2-1- Techniques standard en tubes	36
a) Test de coombs indirect	36
b) Test de coombs indirect à basse force ionique	37
c) Enzymes protéolytiques	38
d) Identification	39
2-2- Technique en milieu gélifié (Diamed)	39
3 - Dosage pondéral	41
4 - Etude du liquide amniotique	42
D - SURVEILLANCE ECHOGRAPHIQUE	46
E - SURVEILLANCE DU RYTHME CARDIAQUE FOETAL	47
F - CONDUITE A TENIR THERAPEUTIQUE IN UTERO	47
1 - Interruption de la grossesse	48
2 - Transfusion foetale in utero	48
3 - Echanges plasmatiques	49
G - CONDUITE A TENIR A LA NAISSANCE	49
H - PREVENTION	52
a) Pendant la grossesse	52
b) Après l'accouchement d'un enfant Rhésus positif	53
V - OBSERVATIONS ET RESULTATS OBTENUS	54

VI - COMMENTAIRES ET DISCUSSION	59
A - TABLEAU I	60
B - TABLEAUX II ET III	64
1) Allo-immunisations foeto-maternelles par incompatibilité Rhésus (Observations N°17 à 27)	64
2) Allo-immunisations autres qu'anti-D	67
3) Etats des nouveau-nés atteints de maladie hémolytique	69
VII - CONCLUSION ET CONDUITE A TENIR	73
VIII - BIBLIOGRAPHIE	76
IX - TABLE DES MATIERES	84
X - ANNEXES	88

X - ANNEXES

Arrêté du 19 avril 1985 modifiant l'arrêté du 27 août 1971 relatif aux examens médicaux pré et postnatals

Le ministre des affaires sociales et de la solidarité nationale, porte-parole du Gouvernement,

Vu les articles L. 159 et L. 160 du code de la santé publique ;
Vu l'article 7 du décret n° 62-840 du 19 juillet 1962 relatif à la protection maternelle et infantile complété par l'article 3 du décret n° 64-931 du 3 septembre 1964 ;
Vu l'arrêté du 27 août 1971 relatif aux examens pré et postnatals ;
Vu l'arrêté du 30 décembre 1975, modifié par les arrêtés du 18 avril 1979, du 21 février 1980 et du 24 octobre 1984, fixant les diplômes exigés pour l'exécution de certains actes de biologie médicale ;
Vu l'arrêté du 23 mai 1977 modifiant un précédent arrêté relatif aux examens médicaux pré et postnatals ;
Vu l'arrêté du 8 février 1984 relatif aux caractéristiques et normes des réactifs utilisés en immuno-hématologie érythrocytaire ;
Vu l'arrêté du 3 avril 1985 fixant la nomenclature des actes de biologie médicale, notamment le chapitre B (V) ;
Vu l'avis de l'Académie nationale de médecine ;
Sur la proposition du directeur général de la santé,

Arrêté :

Art. 1^{er}. - L'alinéa 4 de l'article 2 de l'arrêté du 27 août 1971 susvisé est abrogé et remplacé par les dispositions suivantes :

« Doivent être recherchés notamment les antécédents d'accidents obstétricaux, la tuberculose, la syphilis, les néphropathies, les cardiopathies, le diabète ainsi que les risques d'incompatibilités sanguines fœtomaternelles. L'examen doit aussi s'attacher à définir l'état d'immunité de la future mère vis-à-vis de la rubéole et de la toxoplasmosse. »

Les alinéas 7 et 8 sont abrogés et remplacés par :

« Dans le cas d'une première grossesse, en l'absence de carte de groupe sanguin, une détermination des groupes sanguins (A, B, O, phénotypes rhesus complet et Kell) doit être effectuée. Dès le premier examen, à chaque grossesse, chez toute femme rhesus négatif ainsi que chez toute femme rhesus positif présentant un risque d'allo-immunisation par suite d'une transfusion sanguine, une recherche d'anticorps irréguliers doit être obligatoirement effectuée, de même que chez les femmes antérieurement immunisées ou ayant présenté un accident obstétrical évocateur d'une étiologie allo-immune. »

« Les examens nécessaires à la détermination des groupes sanguins et au dépistage des allo-immunisations fœtomaternelles et leur identification seront exécutés conformément aux instructions données en annexe du présent arrêté. »

Art. 2. - L'article 9 de l'arrêté du 27 août 1971 susvisé est abrogé et remplacé par les dispositions suivantes :

« Les dispositions de l'arrêté du 7 juillet 1965 relatives à l'habilitation des laboratoires en vue de la pratique de la détermination nécessaire au dépistage des incompatibilités sanguines fœtomaternelles demeurent en vigueur en ce qui concerne les laboratoires publics. »

Art. 3. - Le directeur général de la santé est chargé de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié au Journal officiel de la République française.

Fait à Paris, le 19 avril 1985.

Pour le ministre et par délégation :
Le directeur général de la santé,
J. ROUX

ANNEXE

INSTRUCTIONS POUR LE DÉPISTAGE SYSTEMATIQUE DES ALLO-IMMUNISATIONS FŒTOMATERNELLES

Conformément aux dispositions figurant à l'article 1^{er} de l'arrêté du 19 avril 1985, il doit être pratiqué chez toutes les primipares lors du premier examen prénatal la détermination du groupe sanguin, du phénotype Rh - complet (D, C, c, E et éventuellement Cw et e) et du phénotype Kell. Cette mesure s'applique également aux multipares n'ayant pas été soumises à ce dépistage.

La pénétration par voie transfusionnelle ou fœtale d'un antigène érythrocytaire chez un receveur qui ne le possède pas peut entraîner une allo-immunisation qu'il importe de dépister précocement par la recherche et, si celle-ci s'avère positive, le titrage systématique des anticorps qui signalent l'immunisation. Ce risque est particulièrement élevé chez les femmes rhesus négatif et chez celles qui ont été transfusées.

L'obligation de la recherche des anticorps d'immunisation est étendue à toutes les femmes enceintes qu'elle soient rhesus négatif ou rhesus positif.

I. - Groupe sanguin (G.S.)

1. Groupe ABO Les épreuves doivent obligatoirement être réalisées

Epreuve de Beth-Vincent ou épreuve globulaire : elle consiste à mettre en évidence à la surface des hématies la présence des antigènes A ou B à l'aide de trois antisérum : anti A, anti B et anti A + B.

La garantie d'activité anticorps de ces sérums est liée à la présence d'un numéro de conformité délivré par le Centre national de référence pour les groupes sanguins (C.N.R.G.S.).

Epreuve de Simonin ou épreuve sérue : elle consiste à rechercher des anticorps anti A ou anti B dans le serum. Ces anticorps sont détectés à l'aide d'hématies A1, A2, B et O préparées selon les règles définies à l'article 12, paragraphe 1 de l'arrêté du 8 février 1984.

Ces deux épreuves (épreuve globulaire et épreuve sérue) doivent être réalisées par deux techniciens différents, à l'aide de deux séries de réactifs différents.

L'ensemble de ces tests correspond à une détermination.

2. Détermination du phénotype Rh standard (D)

Cet examen est réalisé au moyen de deux sérums-tests anti D. En même temps que la réaction sera réalisée une épreuve témoin à l'aide d'un réactif « témoin », de constitution identique aux réactifs et dépourvue de toute activité anticorps spécifique.

L'ensemble de ces tests correspond à une détermination. L'activité anticorps des sérums anti D sera attestée par le numéro de conformité délivré par le C.N.R.G.S.

Il faut rappeler que l'on doit désigner par Rh + les sujets dont les globules rouges sont agglutinés par les sérums anti D et par Rh - ceux dont les globules rouges ne le sont pas. Ces déterminations doivent être réalisées par deux techniciens différents et à l'aide de deux séries de réactifs différents.

Il convient de souligner que les résultats de groupe sanguin ne pourront être considérés comme définitifs qu'après une seconde détermination pratiquée ultérieurement à partir d'un nouveau prélevement à distance du précédent et selon l'ensemble des modalités indiquées ci-dessus.

II. - La détermination des phénotypes érythrocytaires

En dehors de la détermination des phénotypes ABO et Rh standard, il est justifié chez la femme enceinte de déterminer le phénotype dans les systèmes de groupes sanguins rhesus (D, c, Cw, E, e) et Kell (K).

En effet, celle-ci est susceptible de recevoir des transfusions qui devront être pratiquées avec du sang phénotype afin d'éviter une allo-immunisation.

Ces phénotypes doivent être réalisés à l'aide d'antisérum contrôlés par le C.N.R.G.S. selon l'arrêté du 8 février 1984. Les résultats de la détermination des phénotypes doivent être consignés sur la carte de groupe sanguin et la fiche d'accompagnement.

III. - La recherche des anticorps irréguliers anti-érythrocytaires (R.A.I.) à l'exclusion des anticorps dirigés contre les antigènes A et B

A. - Indications

Les anticorps irréguliers anti-érythrocytaires sont actuellement encore responsables d'accidents transfusionnels ou fœtomaternels qui sont d'autant plus regrettables qu'une bonne organisation de détection de ces anticorps a montré que ces accidents pouvaient être évités.

La recherche d'anticorps irréguliers autres que A et B doit être :

- a) Systematique chez les femmes enceintes de phénotype Rh négatif au moins à quatre reprises :
 - avant la fin du troisième mois (premier examen prénatal) ;
 - au cours du sixième mois (deuxième examen prénatal) ;
 - dans les quinze premiers jours du huitième mois (troisième examen prénatal) ;
- à l'accouchement ou dans les huit semaines suivantes.

b) Systematiquement, au moins une fois, chez les femmes enceintes de phénotype Rh +, à l'occasion du deuxième ou troisième examen prénatal.

En cas de présence d'anticorps susceptibles d'entraîner des accidents d'incompatibilité fœtomaternelle, une nouvelle programmation des examens est possible et des titrages doivent être effectués à périodes rapprochées.

B. - Réalisation

La recherche d'anticorps irréguliers (R.A.I.) est un examen de réalisation difficile et d'interprétation souvent complexe. Cet examen réalisé dans de bonnes conditions est la base de la sécurité immunologique des transfusions et de la prévention et de la détection des accidents d'allo-immunisation fœtomaternelle.

Les modalités de prélèvement pour l'exécution de cet examen doivent répondre aux mêmes règles que celles observées pour la détermination du groupe sanguin.

La recherche d'anticorps irréguliers se déroule toujours en deux temps : le dépistage et l'identification.

Le dépistage est le premier temps de toute recherche d'anticorps irréguliers : au terme de cette épreuve d'identification qui consiste à déterminer la spécificité du ou des anticorps présents.

Les recherches d'anticorps irréguliers sont essentiellement pratiquées selon des techniques manuelles. Trois techniques exécutées conjointement sont nécessaires pour mettre en évidence la totalité des anticorps-irréguliers : le test d'agglutination en « saline » à 22 °C, le test de Coombs indirect et un test aux enzymes. Le titrage de l'A.I. est obligatoire pendant la grossesse.

Le matériel utilisé dans les épreuves permettant la recherche des anticorps irréguliers doit être particulièrement bien défini :

- 1. Les panels de globules rouges tests doivent répondre aux données de l'arrêté du 8 février 1984 susvisé.
- 2. Les anti-globulines doivent avoir été contrôlées par le C.N.R.G.S. et porter de ce fait un numéro de conformité.
- 3. Les enzymes protéolytiques.

c) Résultats :

Les résultats de ces examens doivent être mentionnés en clair sur le compte rendu d'examen en vue de la transcription sur la carte de groupes sanguins. Sur le document de résultats, le laboratoire doit notamment mentionner :

- a) L'utilisation de panels de « n » hématies répondant au texte du 9 mai 1977 ;
- b) Les techniques utilisées.

Recommandations importantes

Les résultats du groupe sanguin, du groupe rhesus standard et la recherche des anticorps irréguliers devront être transcrits sur les dossiers médicaux. Un double de ces résultats sera remis aux femmes enceintes en leur recommandant de présenter ce document aux médecins appelés à diriger l'accouchement.

Il est recommandé instamment, chaque fois qu'un prélèvement de sang doit être transmis pour analyse au laboratoire, de procéder à cet envoi suivant les modalités suivantes :

- Etiquetage du flacon portant :
 - Mention du nom, prénom, nom de jeune fille de la parturiente ;
 - Date et lieu de naissance ;
 - Date de prélèvement.

Fiche d'accompagnement sur laquelle figurent :

- La nature de l'examen demandé ;
- Les mentions d'état civil énumérées ci-dessus ;
- Le domicile de la malade ;
- La date du prélèvement ;
- Le nom, la qualité, la signature de la personne ayant effectué le prélèvement ;
- Quelques renseignements cliniques s'il y a lieu, et notamment la date des grossesses et des transfusions éventuelles antérieures.

D'autre part, la plus grande attention doit être apportée à la transcription des résultats émanant du laboratoire tant sur les dossiers médicaux que sur la fiche remise à la parturiente.

La non-observation rigoureuse de ces recommandations pourra entraîner des erreurs lourdes de conséquences, tout particulièrement dans le cas de prélèvements simultanés à la naissance, chez la mère et l'enfant.

Extrait de la CIRCULAIRE DU 17 MAI 1985
Relative à la prévention des accidents transfusionnels
et des accidents d'allo-immunisation

DE TERMINATION DES PHENOTYPES ERYTHROCYTAIRES

• En dehors de la détermination des phénotypes ABO et Rh standard (D), le laboratoire peut, dans certains cas, devoir réaliser la détermination du phénotype dans les systèmes de groupes sanguins Rhésus (C,c, C^w, E,e) et Kell (K) (chapitre 8 V n° d'ordre 145 de la nomenclature des actes de biologie médicale). D'autres phénotypes peuvent, dans certains cas, être pratiqués : système Duffy (Fy^a, Fy^b), système Kidd (Jk^a, Jk^b), système MNSs (S,s), système Lewis (Le^a, Le^b) (chapitre 8 V n° d'ordre 146 de la nomenclature des actes de biologie médicale). Cette liste de phénotypes n'est pas exhaustive.

Ces phénotypes doivent être réalisés à l'aide de réactifs contrôlés par le C.N.R.G.S. selon l'arrêté du 8 février 1984 suscit. Les principales indications de la détermination des phénotypes érythrocytaires sont indiquées principalement :

- en cas d'existence d'anticorps irréguliers, afin de pouvoir confirmer ce résultat et ultérieurement de transfuser le patient à l'aide de sang phénotypé ; cet examen peut être pratiqué à l'initiative du biologiste.
- chez le patient polytransfusé potentiel (en sachant que les systèmes impliqués dans l'allo-immunisation sont essentiellement les systèmes Rhésus, Kell, Duffy, Kidd, Ss.....)
- chez les sujets de sexe féminin non ménopausés devant recevoir des transfusions afin d'éviter une allo-immunisation notamment dans les systèmes Rhésus et Kell.
- lorsqu'une transplantation est prévue.

Les résultats de la détermination des phénotypes doivent être consignés sur la carte de groupes sanguins et sur la fiche transfusionnelle.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette école, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

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

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les moeurs ni à favoriser les crimes.

Reconnaissant envers mes maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères et s'ils devaient entreprendre la Médecine ou recourir à mes soins, je les instruirai et les soignerai sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné à jamais de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes. Si je le viole, et que je me parjure, puissè-je avoir un sort contraire.

BON A IMPRIMER N° 61

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

RESUME

A partir de 30 dossiers répertoriés dans le laboratoire d'Hémobiologie du CHRU de Limoges durant ces cinq dernières années, nous avons étudié d'une part l'aspect biologique de la surveillance des immunisations foeto-maternelles pendant la grossesse, d'autre part les incidences cliniques et le traitement de ces immunisations chez les nouveau-nés, en collaboration avec les services de Maternité et de Pédiatrie.

Dans ce travail concernant des femmes enceintes immunisées dans les groupes Rhésus et Kell, les résultats suivants ont été rapportés: 13 enfants sont nés atteints de maladie hémolytique, 1 est décédé in utéro, 16 sont nés indemnes.

Cette étude montre que l'interprétation des différents examens biologiques, utilisés pour le diagnostic et l'évaluation de l'atteinte foetale, ainsi que la prise en charge néonatale, nécessitent une collaboration étroite entre obstétriciens, biologistes et pédiatres.

MOTS CLES

Allo-immunisation foeto-maternelle
Maladie hémolytique du nouveau-né
Anticorps irréguliers anti-érythrocytaires
Diagnostic anténatal
Thérapeutique néonatale