HAL
open science

Prévention, suivi et prise en charge de la femme enceinte allo-immunisée en Lorraine : le point en 2011

Thomas Vallotton

To cite this version:

Thomas Vallotton. Prévention, suivi et prise en charge de la femme enceinte allo-immunisée en Lorraine : le point en 2011. Sciences pharmaceutiques. 2012. hal-01732338

HAL Id: hal-01732338

https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01732338

Submitted on 14 Mar 2018

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

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

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE DE LORRAINE

2012

FACULTE DE PHARMACIE

MEMOIRE
du DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
de BIOLOGIE MEDICALE

Soutenu devant le Jury Interrégional

Le 29 février 2012

Par Thomas VALLOTTON

né le 14/05/1983

Conformément aux dispositions de l'arrêté

du 4 octobre 1988 tient lieu de

THESE
pour le DIPLOME D'ETAT
de DOCTEUR en PHARMACIE

Prévention, suivi et prise en charge de la femme enceinte allo-immunisée en Lorraine : le point en 2011

Président : Mme le Pr. Chantal FINANCE

Juges : Mme le Dr. Christine ANDRE-BOTTE
Mr le Pr. Philippe JONVEAUX
Mr le Dr. Alain MITON

UNIVERSITÉ Henri Poincaré, NANCY 1
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2011-2012

DOYEN
Francine PAULUS
Vice-Doyen
Francine KEDZIEREWICZ
Directeur des Etudes
Virginie PICHON
Président du Conseil de la Pédagogie
Bertrand RIHN
Président de la Commission de la Recherche
Christophe GANTZER
Président de la Commission Prospective Facultaire
Jean-Yves JOUZEAU
Responsable de la Cellule de Formations Continue et Individuelle
Béatrice FAIVRE

Responsable ERASMUS :	Francine KEDZIEREWICZ
Responsable de la filière Officine :	Francine PAULUS
Responsables de la filière Industrie :	Isabelle LARTAUD, Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable du Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier :	Jean-Michel SIMON
Responsable Pharma Plus E.N.S.I.C. :	Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable Pharma Plus E.N.S.A.I.A. :	Bertrand RIHN

DOYENS HONORAIRES

Chantal FINANCE
Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES
Jeffrey ATKINSON
Gérard SIEST
Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES

Roger BONALY
Pierre DIXNEUF
Marie-Madeleine GALTEAU
Thérèse GIRARD
Maurice HOFFMANN
Michel JACQUE
Lucien LALLOZ
Pierre LECTARD
Vincent LOPPINET
Marcel MIRJOLET
François MORTIER
Maurice PIERFITTE
Janine SCHWARTZBROD
Louis SCHWARTZBROD

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES

Monique ALBERT
Gérald CATAU
Jean-Claude CHEVIN
Jocelyne COLLOMB
Bernard DANGIEN
Marie-Claude FUZELLIER
Françoise HINZELIN
Marie-Hélène LIVERTOUX
Bernard MIGNOT
Jean-Louis MONAL
Dominique NOTTER
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Maria WELLMAN-ROUSSEAU

ASSISTANT HONORAIRE

Marie-Catherine BERTHE
Annie PAVIS

ENSEIGNANTS	*Section CNU**	*Discipline d'enseignement*
PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS		
Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ ¤	*82*	*Thérapie cellulaire*
Chantal FINANCE	*82*	*Virologie, Immunologie*
Jean-Yves JOUZEAU	*80*	*Bioanalyse du médicament*
Jean-Louis MERLIN ¤	*82*	*Biologie cellulaire*
Jean-Michel SIMON	*81*	*Economie de la santé, Législation pharmaceutique*
PROFESSEURS DES UNIVERSITES		
Jean-Claude BLOCK	*87*	*Santé publique*
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	*86*	*Pharmacologie*
Pascale FRIANT-MICHEL	*85*	*Mathématiques, Physique*
Christophe GANTZER	*87*	*Microbiologie*
Max HENRY	*87*	*Botanique, Mycologie*
Pierre LABRUDE	*86*	*Physiologie, Orthopédie, Maintien à domicile*
Isabelle LARTAUD	*86*	*Pharmacologie*
Dominique LAURAIN-MATTAR	*86*	*Pharmacognosie*
Brigitte LEININGER-MULLER	*87*	*Biochimie*
Pierre LEROY	*85*	*Chimie physique*
Philippe MAINCENT	*85*	*Pharmacie galénique*
Alain MARSURA	*32*	*Chimie organique*
Patrick MENU	*86*	*Physiologie*
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	*86*	*Chimie thérapeutique*
Bertrand RIHN	*87*	*Biochimie, Biologie moléculaire*
MAITRES DE CONFÉRENCES - PRATICIENS HOSPITALIERS		
Béatrice DEMORE	*81*	*Pharmacie clinique*
Nathalie THILLY	*81*	*Santé publique*
MAITRES DE CONFÉRENCES		
Sandrine BANAS	*87*	*Parasitologie*
Mariette BEAUD	*87*	*Biologie cellulaire*
Emmanuelle BENOIT	*86*	*Communication et santé*
Isabelle BERTRAND	*87*	*Microbiologie*
Michel BOISBRUN	*86*	*Chimie thérapeutique*

François BONNEAUX	*86*	*Chimie thérapeutique*
Ariane BOUDIER	*85*	*Chimie Physique*
Cédric BOURA	*86*	*Physiologie*
Igor CLAROT	*85*	*Chimie analytique*
Joël COULON	*87*	*Biochimie*
Sébastien DADE	*85*	*Bio-informatique*
Dominique DECOLIN	*85*	*Chimie analytique*
Roudayna DIAB	*85*	*Pharmacie clinique*
Joël DUCOURNEAU	*85*	*Biophysique, Acoustique*
Florence DUMARCAY	*86*	*Chimie thérapeutique*
François DUPUIS	*86*	*Pharmacologie*

ENSEIGNANTS (suite)	*Section CNU**	*Discipline d'enseignement*
Raphaël DUVAL	*87*	*Microbiologie*
Béatrice FAIVRE	*87*	*Hématologie*
Adil FAIZ	*85*	*Biophysique, Acoustique*
Luc FERRARI	*86*	*Toxicologie*
Caroline GAUCHER-DI STASIO	*85/86*	*Chimie physique, Pharmacologie*
Stéphane GIBAUD	*86*	*Pharmacie clinique*
Thierry HUMBERT	*86*	*Chimie organique*
Frédéric JORAND	*87*	*Santé publique*
Olivier JOUBERT	*86*	*Toxicologie*
Francine KEDZIEREWICZ	*85*	*Pharmacie galénique*
Alexandrine LAMBERT	*85*	*Informatique, Biostatistiques*
Faten MERHI-SOUSSI	*87*	*Hématologie*
Christophe MERLIN	*87*	*Microbiologie*
Blandine MOREAU	*86*	*Pharmacognosie*
Maxime MOURER	*86*	*Chimie organique*
Francine PAULUS	*85*	*Informatique*
Christine PERDICAKIS	*86*	*Chimie organique*
Caroline PERRIN-SARRADO	*86*	*Pharmacologie*
Virginie PICHON	*85*	*Biophysique*
Anne SAPIN-MINET	*85*	*Pharmacie galénique*
Marie-Paule SAUDER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Gabriel TROCKLE	*86*	*Pharmacologie*
Mihayl VARBANOV ¤	*87*	*Immuno-Virologie*
Marie-Noëlle VAULTIER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Emilie VELOT ¤	*86*	*Physiologie-Physiopathologie humaines*
Mohamed ZAIOU	*87*	*Biochimie et Biologie moléculaire*
Colette ZINUTTI	*85*	*Pharmacie galénique*

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER	*86*	*Sémiologie*

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD	*11*	*Anglais*

⌑ *En attente de nomination*

**Discipline du Conseil National des Universités :*
80ème et 85ème : Sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé
81ème et 86ème : Sciences du médicament et des autres produits de santé
82ème et 87ème : Sciences biologiques, fondamentales et cliniques

32ème : Chimie organique, minérale, industrielle

11ème : Langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

SERMENT DES APOTHICAIRES

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

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

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

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

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR »

REMERCIEMENTS :

A Madame le Professeur Chantal FINANCE

Vous me faites l'honneur d'accepter la présidence de ce jury.
Veuillez trouver ici le témoignage de ma sincère reconnaissance.

A Madame le Docteur Christine ANDRE-BOTTE

Vous m'avez encadré et soutenu tout au long de la rédaction de ce mémoire.
Merci pour votre gentillesse et vos nombreux conseils.
Recevez ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Philippe JONVEAUX et Monsieur le Docteur Alain MITON

Vous me faites l'honneur de siéger dans ce jury.
Soyez assurés de mes remerciements les plus sincères.

A vous, Gynécologues-Obstétriciens qui avez répondu à notre questionnaire

Sans vos réponses détaillées, ce travail n'aurait pas été possible.
Soyez assurés de ma profonde gratitude.

A tous les biologistes et techniciens des laboratoires qui m'ont accueilli au cours de mon internat

Merci pour votre accueil et les connaissances que vous m'avez apportées.

A ma femme

Depuis plus de huit ans tu m'accompagnes au quotidien.
Merci pour tout ce que tu m'apportes.

A mes parents

Merci pour votre soutien sans faille et les valeurs que vous m'avez transmises.

A mon frère

Ton « petit frère » te remercie de l'avoir toujours accompagné.
C'est aussi grâce à toi que j'en suis-là aujourd'hui.

A ma famille

Je tiens à remercier tout particulièrement mes grands-parents qui ont toujours été présents pour moi.

A tous les internes dont j'ai croisé la route

Leïla, Carole, Anne-Laure, Isabelle, Amélie, Guerric, Anthony, Céline, Thibault et tous les autres.
Vous m'avez supporté pendant près de quatre ans, bravo à vous !

A ma promo de pharmacie

Et tout particulièrement à Aurélie, Anne ma « binomette », Gaëlle, Stéphanie, Laura, Anne-Sophie, Elise…

A mes amis

Benjamin, Béranger, Cédric, Jean, Marjorie, Stéphane et tant d'autres.

LISTE DES ABREVIATIONS LES PLUS SOUVENT CITEES :

Ac	Anticorps
AFP	Anasarque foeto-placentaire
Ag	Antigène
AIFM	Allo-immunisation foeto-maternelle
BNC	Bilirubine non conjuguée
CEF	Cytométrie en flux
CGR	Culot de globule rouge
CMV	Cytomégalovirus
CNGOF	Collège national des gynécologues obstétriciens français
CNRGS	Centre national de référence des groupes sanguins
EFS	Etablissement français du sang
EPO	Erythropoïétine
EST	Exsanguino-transfusion
ESTIU	Exsanguino-transfusion in-utéro
FCS	Fausse couche spontanée
FY	Groupe Duffy
GEU	Grossesse extra-utérine
GO	Gynécologue obstétricien
GR	Globules rouges
GRF	Globules rouges foetaux
GS	Groupe sanguin
Hb	Hémoglobine
HbF	Hémoglobine foetale
HFM	Hémorragie foeto-maternelle
Ig	Immunoglobuline
IMG	Intérruption médicale de grossesse
JK	Groupe Kidd
MFIU	Mort foetale in-utéro
MHNN	Maladie hémolytique du nouveau-né
MoM	Multiple de la moyenne
PCR	Polymérisation en chaîne
PSV-ACM	Pic de vélocimétrie de l'artère cérébrale moyenne
PT	Photothérapie
QCM	Question à choix multiple
RAI	Recherche d'agglutinines irrégulières
RH	Groupe Rhésus
RIP	Réponse immunologique primaire
RIS	Réponse immunologique secondaire
SA	Semaine d'aménorrhée
TDA	Test direct à l'antiglobuline
TIA	Test indirect à l'antiglobuline
TIU	Transfusion in-utéro
TK	Test de Kleihauer

SOMMAIRE :

REMERCIEMENTS : *8*

LISTE DES ABREVIATIONS LES PLUS SOUVENT CITEES : *11*

SOMMAIRE : *12*

INTRODUCTION : *16*

I. L'Allo-Immunisation Foeto-Maternelle (AIFM) en France : *17*

1. Rappels Immuno-Hématologiques : *17*

1.1. Les systèmes de Groupes Sanguins (GS) : **17**
1.1.1. Définition : 17
1.1.2. Les systèmes ABO/Rhésus/Kell : 17
1.1.2.1. Le système ABO : 17
1.1.2.2. Le système Rhésus [5] : 19
1.1.2.3. Le système Kell : 22
1.1.3. Systèmes Duffy, Kidd et MNS : 23
1.1.3.1. Le système Duffy : 23
1.1.3.2. Le système Kidd : 23
1.1.3.3. Le système MNS : 24
1.1.4. Autres systèmes de GS : 24

1.2. Les Anticorps (Ac) de GS : **25**
1.2.1. Rappels : 25
1.2.1.1. Structure : 25
1.2.1.2. Les différentes classes d'Ig : 26
1.2.2. Les différents Ac : 26
1.2.2.1. Les Ac naturels : 26
1.2.2.2. Les Ac immuns : 26
1.2.2.3. Les Allo-Ac : 27
1.2.2.4. Les Auto-Ac : 27
1.2.2.5. Les Iso-Ac : 27
1.2.2.6. Les Hétéro-Ac : 27
1.2.3. Situations exposants au risque de développer un Allo-Ac : 27

2. Définition et physiopathologie de l'AIFM : *29*

2.1. Définition : **29**

2.2. Physiopathologie de l'AIFM : **29**
2.2.1. L'hémorragie foeto-maternelle : le premier contact avec l'Ag érythrocytaire : 29
2.2.2. Le 2ème contact : 31

2.3. Conséquences cliniques de l'AIFM : **31**
2.3.1. Pour la mère : 31
2.3.2. Pour l'enfant à naître : 32
2.3.3. Pour un enfant futur : 32

3. Les chiffres de l'AIFM en France : 35

3.1. L'AIFM ABO : 35

3.2. Les autres incompatibilités : 35

4. Moyens biologiques de dépistage de l'AIFM : 38

4.1. Détermination du phénotype érythrocytaire ABO-RH-KELL : 39

4.2. La recherche d'Agglutinines Irrégulières (RAI) : 39

4.2.1. Définition : 39
4.2.2. Principe : 40
4.2.2.1. Le dépistage : 40
4.2.2.2. L'identification : 41

5. Moyens et Impacts clinico/biologiques de la prévention anti-RH1 : 45

5.1. Les moyens biologiques de la prévention : 45

5.1.1. Le Test de Kleihaeur (TK) : l'examen « clef » de la prévention : 45
5.1.1.1. Définition : 45
5.1.1.2. Principe : 45
5.1.1.3. Interprétation et quantification de l'HFM : 46
5.1.1.4. Adaptation de la dose d'anti-RH1 passif selon le TK : 47
5.1.1.5. Indications du test de Kleihauer : 47
5.1.1.6. Limites du test de Kleihauer : 48
5.1.1.7. La cytométrie en flux : 48
5.1.2. La RAI : 49
5.1.3. La microtitration : 49
5.1.3.1. Définition : 49
5.1.3.2. Informations indispensables à la réalisation : 50
5.1.3.3. Mode opératoire : 50
5.1.3.4. Interprétation : 51
5.1.3.5. Conclusion : 51
5.1.4. Génotypage fœtal : 52
5.1.4.1. Définition : 52
5.1.4.2. Présentation de la technique : 52
5.1.4.3. Interprétation : 53
5.1.4.4. Indications : 55
5.1.4.5. Etude Geniferh : 56
5.1.4.6. Conclusion : 56

5.2. Les impacts : 58

5.2.1. Impact biologique : 58
5.2.2. Impact clinique : 58
5.2.3. Impact éthique : 58
5.2.3.1. Les anti-RH1 passifs : 58
5.2.4. Impact financier : 60
5.2.5. Les échappements : 61

6. Prise en charge de l'AIFM avérée : 63

6.1. Les Ac dangereux : 63

6.2. Le calendrier de suivi : 64

6.3. Les moyens biologiques de suivi de l'AIFM : 65

6.3.1. Tests d'évaluation du risque : 65
6.3.1.1. La titration : 65
6.3.1.2. Le dosage pondéral : 66
6.3.2. Les autres moyens de suivi : 67

6.3.2.1. Pic systolique de vélocité à l'artère cérébrale moyenne (PSV-ACM) : 67
6.3.2.2. L'échographie foetale : 69
6.3.2.3. Autres techniques non invasives : 70
6.3.3. Phénotypage du père : 70

6.4. Possibilités thérapeutiques : 70
6.4.1. Pour le fœtus : 70
6.4.1.1. La Transfusion In-Utéro (TIU) : 70
6.4.1.2. Maturation pulmonaire : 72
6.4.1.3. Césarienne : 72
6.4.2. Pour l'enfant à la naissance : 72
6.4.2.1. Prise en charge de l'anémie : 72
6.4.2.2. Prise en charge du taux de bilirubine : 74

II. Le suivi de la femme enceinte allo-immunisée en Lorraine : 77

1. Les recommandations en vigueur : 77

1.1. Promoteur des recommandations : 77

1.2. Plan des recommandations CNGOF 2005 : 77

1.3. Détails des recommandations pratiques et niveaux de preuve (Grade ANAES) : 77
1.3.1. Mesures générales au cours de la grossesse : 78
1.3.2. Prophylaxie au premier trimestre de la grossesse : 79
1.3.3. Prophylaxie au second trimestre de grossesse : 79
1.3.4. Prophylaxie au 3ème trimestre de grossesse : 79
1.3.5. Recommandations lors de l'accouchement : 80

2. Les gynécologues obstétriciens (GO) : des acteurs au cœur de la prévention : 81

2.1. Réalisation d'un questionnaire : 81
2.1.1. Thème du questionnaire : 81
2.1.2. Public visé : 81
2.1.3. Contenu du questionnaire : 81
2.1.3.1. Nombre d'items : 81
2.1.3.2. Choix des questions et organisation des items : 81
2.1.4. Format du questionnaire : 81

2.2. Envoi du questionnaire et retours obtenus : 82

2.3. Problèmes rencontrés : 82

3. Analyses des données des questionnaires complétés : 83

III. Analyse d'un cas lorrains d'AIFM : 108

1. Présentation du cas de Mme R : 108

1.1. Antécédents obstétricaux de Mme R : 108

1.2. Déroulement de la 4ème grossesse : 108

1.3. Circonstances d'apparition de l'anti-RH1 : 108

2. Suivi de l'AIFM : 111

3. Conclusion :..... 113

Conclusion/Discussion :..... 114

ANNEXE 119

BIBLIOGRAPHIE :..... 126

INTRODUCTION :

Les cas d'anémies hémolytiques foetales par allo-immunisations érythrocytaires ont fortement diminué, depuis la mise en place de la prévention systématique par immunoglobulines anti-RH1 à la 28ème SA (en plus de la prévention ciblée lors de la grossesse, et à l'accouchement) [1]. Cependant l'Allo-Immunisation Foeto-Maternelle (AIFM) est un sujet qui touche, aujourd'hui encore, de trop nombreuses familles, et sa prise en charge pluridisciplinaire en complique le suivi. En effet des cas d'anémies foetales sévères persistent, du fait d'échecs du programme de prévention anti-RH1, et de l'absence de prévention dans les autres groupes érythrocytaires [1,2].

Dans un premier temps nous ferons quelques rappels d'immuno-hématologie, nécessaires pour aborder la physiologie de l'AIFM, et nous décrirons les différents moyens biologiques actuellement disponibles en France, dans le cadre de la prévention, du dépistage et de la prise en charge des AIFM en Lorraine.

Dans un second temps, nous étudierons comment les gynécologues obstétriciens (GO), véritable « plaque tournante » dans la prévention de l'AIFM, assurent cette prévention (application du programme de prévention anti-RH1, suivi du calendrier de Recherche des Agglutinines Irrégulières (RAI), homogénéité de pratique…), par l'analyse des réponses à un questionnaire que nous avons préalablement établi et envoyé aux GO de Lorraine.

Enfin nous nous efforcerons de porter un regard objectif sur la gestion globale de l'AIFM en Lorraine, pour tenter d'en définir les points critiques et de proposer des axes de réflexion pour l'optimiser.

I. L'Allo-Immunisation Foeto-Maternelle (AIFM) en France :

1. Rappels Immuno-Hématologiques :

Il est indispensable de faire quelques rappels d'immuno-hématologie afin de bien comprendre les mécanismes qui peuvent conduire à l'AIFM.

1.1. Les systèmes de Groupes Sanguins (GS) [3] :

1.1.1. Définition :

Les groupes sanguins érythrocytaires, représentent une classification d'Ag présents à la surface des hématies. Ils sont génétiquement induits et génétiquement indépendants. Ces Ag peuvent être de nature glucidique ou protéique, et leurs rôles physiologiques ne sont pas tous connus. On rassemble habituellement les groupes sanguins en deux familles selon leurs caractéristiques :

- Système ABO et Associés (Hh, Sese, Lewis, Ii, P, Luthéran, MN)
- Système Rhésus et Collègues (Kell, Duffy, Kidd, Ss)

1.1.2. Les systèmes ABO/Rhésus/Kell :

Ces systèmes sont majeurs pour la sécurité transfusionnelle et obstétricale des patients.

1.1.2.1.Le système ABO :

Ce système, découvert en 1900 par Karl Landsteiner, est un groupe tissulaire, d'où une importance particulière en transfusion et en transplantation. Les antigènes de ce système sont des sucres (hydrates de carbone) qui sont fixés sur des glycoprotéines ou des glycolipides. Le locus ABO se trouve sur le Chr 9 et comprend trois gènes principaux : A, B et H codants pour des enzymes :

- Gène A : 3N-acétyl-D-galactosaminyltransférase
- Gène B : 3D-galactosyltransférase
- Gène H : 2-L-fucosyltransférase

La substance de base est la substance H sur laquelle viennent se greffer selon les enzymes présentes, un GalNac pour créer l'Ag A ou un Galactose pour créer l'Ag B. Le point fondamental dans ce groupe est la présence d'Ac dits « naturels », de type IgM, spontanément agglutinants. C'est ce qui rend ce groupe essentiel à respecter en transfusion sanguine et en transplantation d'organe.

A la surface des GR d'un individu, on peut donc retrouver :

- L'Ag A uniquement : Individu de groupe A.
- L'Ag B uniquement : Individu de groupe B.
- Les Ag A et B simultanément : Individu de groupe AB.
- Ni l'Ag A, ni l'Ag B, mais uniquement de la substance H : Individu de groupe O.

L'absence d'un Ag entraînant nécessairement dans ce groupe la présence de l'Ac (IgM) correspondant, on retrouvera dans le sérum :

- Un Ac anti-A uniquement : patient de groupe B.
- Un Ac anti-B uniquement : patient de groupe A.
- Les Ac anti-A et Ac anti-B : patient de groupe O.
- Aucun Ac : Patient de groupe AB.

On définit ainsi le groupe sanguin ABO d'un individu, par deux épreuves complémentaires :

- L'épreuve Globulaire dite de « Beth-Vincent », à la recherche des Ag présents à la surface des GR de l'individu, grâce à des antisérums (anti-A, anti-B, et anti-AB).
- L'épreuve Sérique dite de « Simonin » à la recherche des Ac présents dans le sérum de l'individu (à l'aide d'hématies tests de groupe A1 et B).

Ces deux épreuves doivent être concordantes chez un individu mature immunologiquement, pour que l'on puisse attribuer un groupe sanguin à un patient. Ce n'est pas le cas chez les enfants de moins de six mois, pour lesquels l'épreuve sérique n'est pas réalisée (absence de synthèse propre des Ac). En cas de discordance entre ces deux épreuves, aucun groupe ne pourra être rendu au sens biologique du terme, mais une consigne transfusionnelle sera donnée au clinicien.

Schéma récapitulatif du groupe ABO (Individus matures immunologiquement) et fréquence en France [80] :

	Groupe A	Groupe B	Groupe AB	Groupe O
Antigènes présents (hématies)	Ag A	Ag B	Ag A Ag B	
Ac présents (sérum)	Ac anti-B	Ac anti-A		Ac anti-A Ac anti-B
Fréquence	45%	9%	3%	43%

Enfin, pour plus de sécurité, le groupe sanguin ne sera légalement valide, pour autoriser une transfusion, qu'après deux déterminations de groupe sanguin, sur deux échantillons différents. Afin de maîtriser l'identitovigilance, ces deux prélèvements doivent être réalisés à un moment différent et, dans la mesure du possible, par deux personnes différentes [4].

1.1.2.2. Le système Rhésus [5] :

1.1.2.2.1. Présentation du système RH :

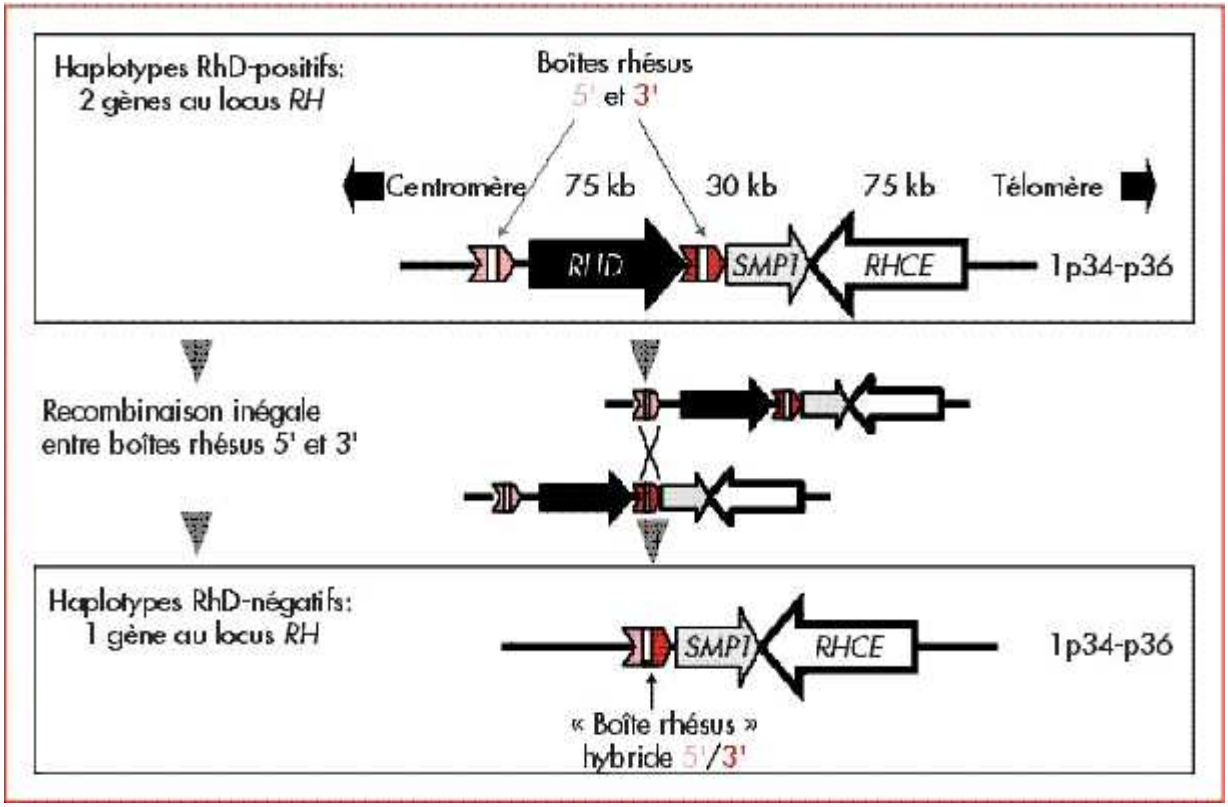
Groupe strictement érythrocytaire, le plus important en transfusion sanguine après le groupe ABO, car comportant des Ag très immunogènes. Les Ag sont ici de nature protéique, à la différence de ceux du groupe ABO (sucres). Les deux protéines, D et CE, sont codées par deux gènes homologues, *RHD* et *RHCE*, localisés sur le chromosome 1. Les gènes *RHD* et *RHCE* sont étroitement liés ; il faut de ce fait considérer la fréquence des haplotypes dans une population plutôt que la fréquence des allèles de chaque gène :

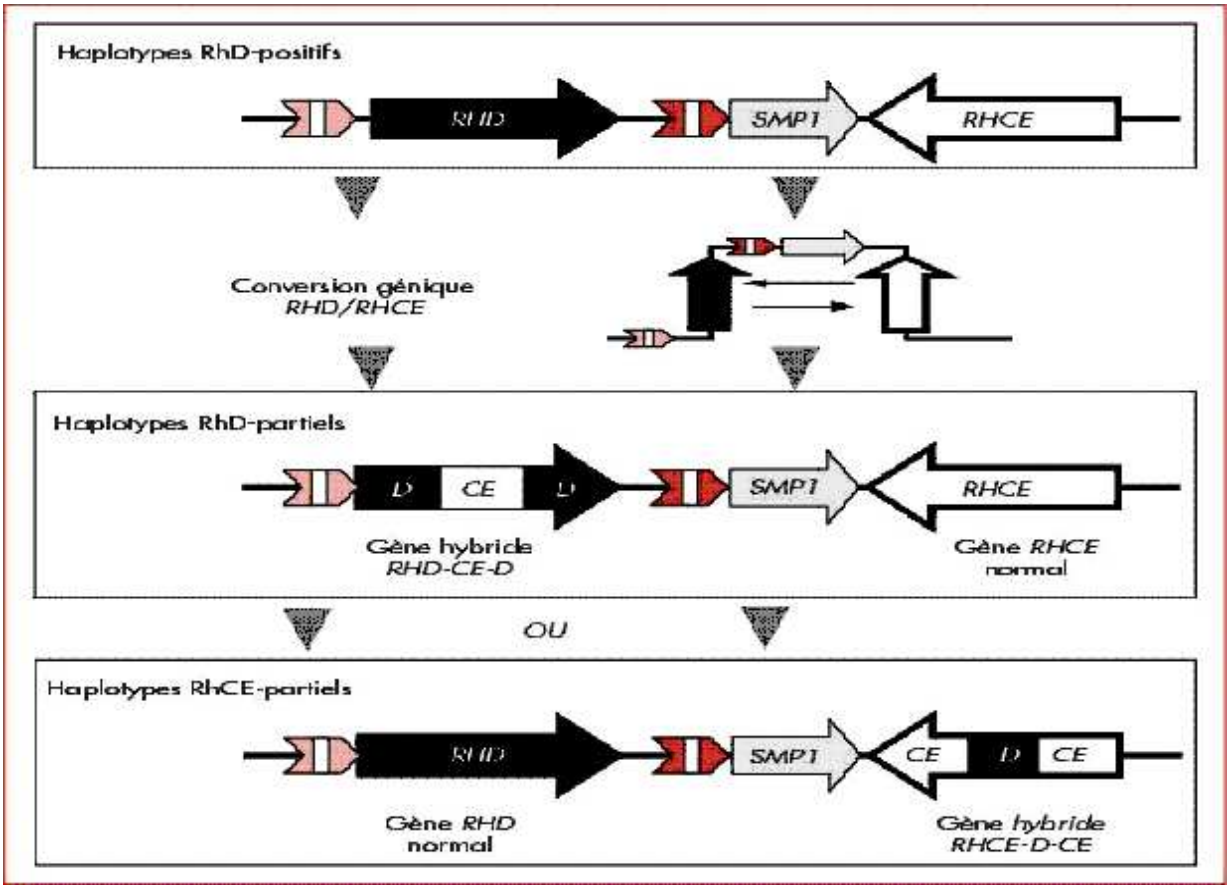
	Haplotypes	Europe	Afrique
DCE	R^1	**0,420**	0,060
DcE	R^2	**0,141**	0,115
Dce	R^0	0,025	**0,590**
DCE	R^Z	0,001	0,000
dCe	r'	0,090	0,031
dcE	r''	0,012	0,000
dce	r	0,388	0,202
dCE	r^y	0,000	0,000

1.1.2.2.2. Les Ag du système RH :

Le polymorphisme antigénique principal du système RH (RH1 ou RH-1) est associé, dans la population caucasienne à la présence ou à l'absence totale du gène *RHD*. Un haplotype RH1 est ainsi composé des deux gènes : *RHD* et *RHCE*, celui des sujets de phénotype RH-1 ne contenant que le gène *RHCE*. Dans certaines populations des mutations sont fréquentes. Par exemple, dans la population noire d'origine afro-antillaise, le phénotype RH-1 résulte le plus souvent de mutations au sein du gènes *RHD*, conduisant, par l'insertion de 18 paires de bases dans l'intron 3, à un gène *RHD* non fonctionnel : *RHDΨ*. De plus il existe des variants du phénotype RH1, qui sont dit « partiels », car ils sont déficitaires en certains épitopes de la mosaïque épitopique composant l'Ag D. Ces variants résultent de mutations ou d'allèles hybrides (par échange de segments géniques), qui peuvent notamment conduire à une protéine hybride D-CE-D ne conservant que certains des épitopes D. Le phénotype DHar représente quant à lui un gène hybride *RHCE-D-CE* ne possédant que l'exon 5 du gène *RHD*.

Illustrations d'après C. Le Van Kim et Al. [6] :





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

RH1 (D) : 85 %
RH2 (C) : 68%
RH3 (E) : 29%
RH4 (c) : 81%
RH5 (e) : 98%

Les Ag RH2 et RH4 sont dits antitétiques tout comme RH3 et RH5, c'est-à-dire que si l'un est absent, l'autre est forcément présent (hors délétion génique). On peut cependant posséder les deux antigènes simultanément. Il est à noter que l'Ag RH1 (le plus immunogène) est, soit présent (patient RH positif, RH1), soit absent (patient RH négatif, RH-1) et qu'il n'existe pas d'Ag complémentaire (d). Le plus souvent c'est une délétion qui est à l'origine du phénotype RH-1. Pour affirmer le caractère homozygote ou hétérozygote d'un patient pour le gène *RHCE*, il suffit de pratiquer un phénotypage. En revanche, pour le gène *RHD*, c'est impossible. Seules les fréquences haplotypiques peuvent apporter une probabilité, qui ne pourra être confirmée que par une étude moléculaire.

Parmi la population française, la répartition de l'Ag RH1 se fait comme suit :

- Individus RH:1 : 85 %
- Individus RH:-1 : 15 %

Le risque de grossesse incompatible pour l'Ag RH1 est donc assez élevé : 12,75%.

1.1.2.2.3. Les Ac du système RH :

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

1.1.2.3.Le système Kell :

C'est un système codé par un seul gène situé sur le chromosome 7. On relève quatre Ag principaux (sur 27) : KEL1 (K), KEL2 (k = cellano), KEL3 (Kpa) et KEL4 (Kpb). KEL1 et KEL2 sont antithétiques. L'Ag KEL1 est mature très précocement au cours de la grossesse, c'est de plus l'Ag le plus immunogène après RH1 (risque élevé de développer un allo-Ac, dès la première grossesse [7]).

Les principaux phénotypes se répartissent en Europe comme suit :

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

Notons que la glycoprotéine Kx (Ag du groupe Kx) est indispensable à l'expression de la protéine Kell. Son absence conduit au phénotype McLeod, qui ne doit être transfusé qu'avec des poches de même phénotype.

Dans ce système les Ac sont également de classe IgG et peuvent ainsi conduire à une anémie fœtale après passage de la BFP. L'hémolyse fœtale est de plus aggravée par une inhibition de l'érythropoïèse de la part des anticorps anti-Kell [7].

1.1.3. Systèmes Duffy, Kidd et MNS :

Ces trois systèmes sont très importants au cours de la grossesse et en transfusion.

1.1.3.1.Le système Duffy :

C'est un système codé par un seul gène situé sur le chromosome 3. On retrouve deux antigènes : FY1 et FY2, matures à la naissance. En cas d'immunisation les Ac anti-Duffy sont de nature IgG, et donc potentiellement dangereux. Rare en Europe mais fréquent chez les africains, le phénotype : FY:-1,-2, peut entraîner l'apparition d'un Ac très dangereux, appelé anti-FY3 chez l'européen.

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

- FY : 1,-2 : 17%
- FY : 1,2 : 34%
- FY : -1,2 : 49% (1% chez les noirs)
- FY : -1,-2 : < 1% (68% chez les noirs)

1.1.3.2.Le système Kidd :

C'est un système codé par un seul gène situé sur le chromosome 18. On retrouve là aussi 2 antigènes : JK1 et JK2, également matures à la naissance. En cas d'immunisation les Ac anti-Kidd sont ici aussi de nature IgG, et donc à surveiller. Le phénotype très rare JK:-1,-2 peut entraîner le développement d'un Ac très dangereux appelé anti-JK3.

<u>Les Ag sont répartis chez les Caucasiens comme suit :</u>

- JK : 1,-2 : 27%
- JK : 1,2 : 23%
- JK : -1,2 : 50%
- JK : -1,-2 : < 1% (Ac anti-JK3)

1.1.3.3.Le système MNS :

Ce système est codé par deux gènes situés sur le chromosome 4. On dénombre quatre Ag principaux : MNS1, MNS2, MNS3 (S), MNS4 (s) mais 43 sont connus à ce jour. MNS1 et MNS2 sont codominants. Ces Ag sont matures à la naissance. Au niveau des Ac qui peuvent être dirigés contre ce système il est à noter que :

- Les Ac anti-MNS1 et anti-MNS2 sont le plus souvent des Ac naturels, de nature IgM et ne peuvent donc pas traverser le placenta.
- Les Ac anti-MNS3 et anti-MNS4 sont, à contrario, des Ac immuns de nature IgG qui peuvent ainsi être responsable de MHNN.

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

1.1.4. Autres systèmes de GS :

Les autres systèmes de groupes sanguins n'ont que peu d'intérêt dans le suivi de grossesse (Ag peu immunogène, pas d'Ac de classe IgG) hormis quelques rares cas d'immunisation anti-privés (cellano, vel) et anti-publics (Cw).

<u>Exemple du système Lewis :</u>

Le système Lewis est un système de « sécrétion ». Il génère des substances de groupe solubles (de nature protéique), sous forme de glycoprotéines dans la salive et de glycosphingolipides dans le plasma. Ces substances solubles sont par la suite adsorbées sur la membrane des hématies. Tous les nouveau-nés sont de phénotype : LE:-1,-2, car la synthèse des Ag Lewis ne commence qu'au 10ème jour de vie (ex-utéro). Ce système n'a donc aucun intérêt pour l'enfant dans le suivi de la grossesse (les Ac sont de plus en plus souvent de nature IgM).

<u>Les antigènes Léwis Lea (LE1) et Leb (LE2) se répartissent comme suit (caucasiens):</u>

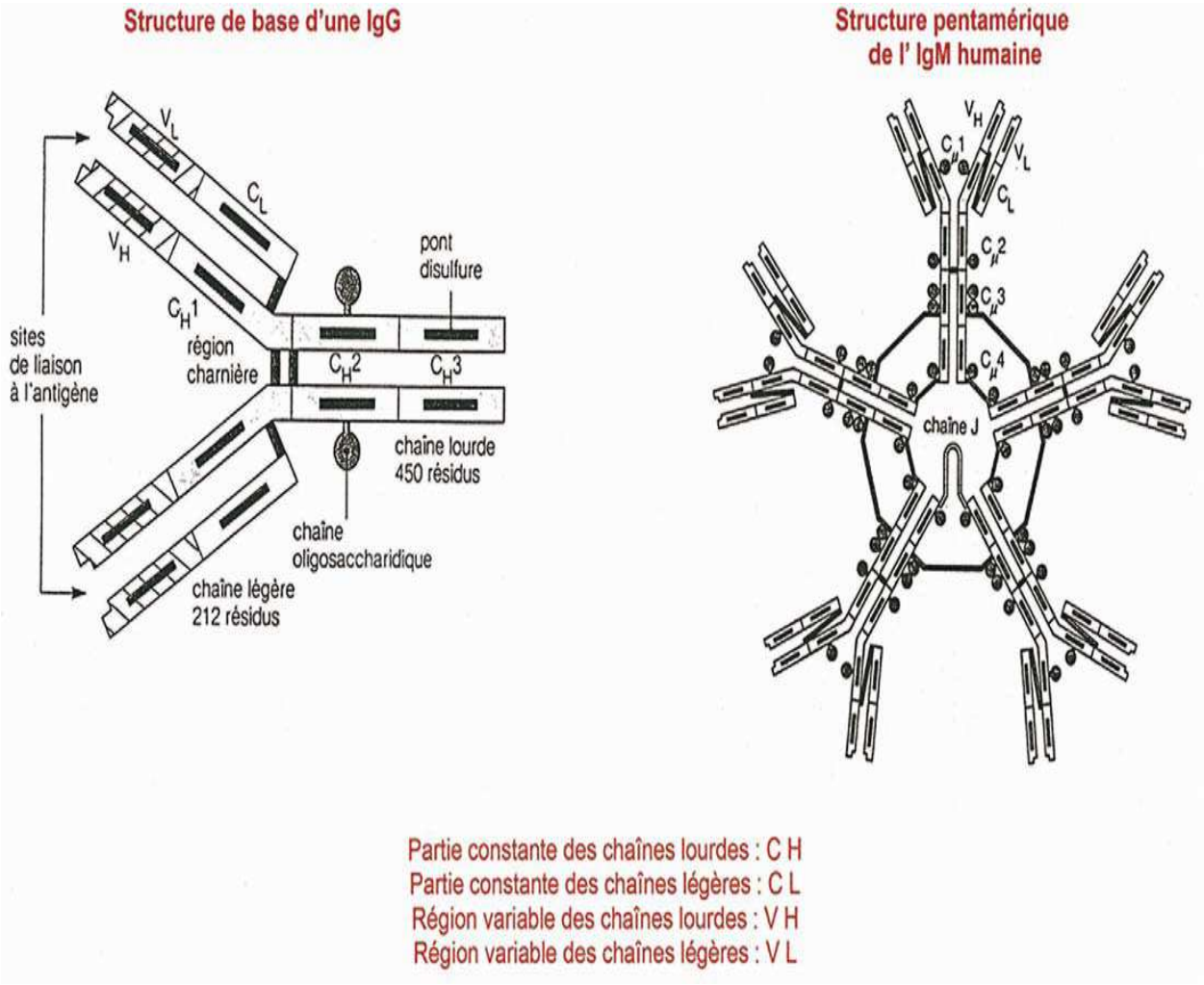
- LE : 1,-2 : 20%
- LE : 1,2 : 70%
- LE : -1,2 : 10%

1.2. Les Anticorps (Ac) de GS :

1.2.1. Rappels :

1.2.1.1. Structure :

Les Ac sont des protéines du système immunitaire. Ce sont des glycoprotéines de la superfamille des immunoglobulines, formées de 4 chaînes polypeptidiques, dont 2 chaînes lourdes (CH) et 2 chaînes légères (CL), qui sont reliées entre-elles par un nombre variable de ponts disulfures. Il existe une portion dite « constante » (fragment Fc) et une partie « variable », responsable de la spécificité antigénique (très grand polymorphisme).



E. Miquel et al. / Transfusion Clinique et Biologique 12 (2005) 45–55 [8]

1.2.1.2. Les différentes classes d'Ig :

Il existe 5 classes d'Ig : IgG, IgM, IgA, IgD et IgE. La classe qui nous intéresse le plus dans le cadre de l'AIFM est celle des IgG.

Rappels sur les IgG :

- Isotype le plus abondant dans le sérum et dans les espaces extra-vasculaires.
- Il en existe 4 sous-classes: IgG1, IgG2, IgG3 et IgG4
- Les sous-classes : IgG1 (dès la 20°SA) et IgG3 (vers la 28°SA) peuvent traverser la barrière foeto-placentaire et sont donc responsables d'AIFM.
- Les IgG2 traversent beaucoup moins et les IgG4 pas du tout.
- Ces passages placentaires ce font par transport actif (en fin de grossesse +++), d'où une concentration en Ac plus élevée chez le fœtus que chez la mère ([fœtus] > [maman]) [56].
- Les IgG1 entraînent les anémies les plus sévères.
- Le temps de demi-vie des IgG est de 21 jours, sauf pour IgG3 (6 jours).

1.2.2. Les différents Ac :

1.2.2.1.Les Ac naturels :

Ce sont des anticorps réguliers, c'est-à-dire qu'ils sont présents même en l'absence d'exposition antigénique. Ils sont de nature IgM, spontanément agglutinants, et ne peuvent pas franchir la barrière foeto-placentaire (ils ne sont donc pas responsables de MHNN). Les anticorps naturels Anti-A et Anti-B du système ABO en sont des exemples types.

1.2.2.2.Les Ac immuns :

Ce sont des anticorps qui n'apparaissent qu'en cas de situation d'incompatibilité ; ils sont dits irréguliers. Ils sont de nature IgG (mais IgM initialement). Ils peuvent ainsi franchir la barrière foeto-placentaire et être responsables d'anémie fœtale si l'Ag correspondant est mature chez le fœtus (risque majeur pour les groupes Rhésus et Kell).

1.2.2.3.Les Allo-Ac :

On parle d'Allo-Ac quand le sujet développe un Ac contre un Ag qu'il ne possède pas mais qui existe au sein de la même espèce. Ce sont des anticorps qui peuvent apparaître lors d'une situation d'incompatibilité, telle qu'une grossesse ou une transfusion.

1.2.2.4.Les Auto-Ac :

L'identification d'un Ac anti-érythrocytaire dans le sérum d'un patient nécessite de réaliser un phénotypage du patient afin de caractériser l'anticorps en tant qu'Auto ou qu'Allo-Ac, selon que le patient possède ou non l'antigène correspondant. On parle donc d'Auto-Ac quand le sujet développe un Ac contre l'un de ses propres antigènes. Ils peuvent souvent être retrouvés après une infection et n'être que transitoires ou, au contraire, permanents (c'est notamment le cas dans les maladies auto-immunes). Les Auto-Ac n'ont aucune incidence foetale, mais ils entraînent des difficultés de recherche (ils peuvent masquer la présence d'un Allo-Ac) et d'identification (étape d'adsorption nécessaire).

1.2.2.5.Les Iso-Ac :

Un Iso-Ac est un Ac produit en réponse à l'exposition à un antigène élaboré par un organisme de la même espèce. Les Allo-Ac sont donc des Iso-Ac.

1.2.2.6.Les Hétéro-Ac :

Un Hétéro-Ac est un Ac produit en réponse à l'exposition à un antigène élaboré par un organisme d'une espèce différente.

1.2.3. Situations exposants au risque de développer un Allo-Ac :

Pour qu'un patient développe un Allo-Ac il faut que son système immunitaire entre en contact avec un Ag érythrocytaire qu'il ne possède pas.

Cette situation peut se produire dans deux cas principaux :

- Les transfusions :

Rappelons à ce titre que la poche d'urgence est classiquement : O rhésus négatif, RH:-1,-2,-3,4,5. Cette transfusion expose donc au risque de développer notamment un anti-RH4 si le patient est RH:-4, ce qui peut avoir des conséquences dramatique en cas de nouvelle transfusion ou de grossesse incompatible. C'est pour cette raison que toute transfusion chez une femme de moins de 50 ans doit se faire en compatibilité dans les systèmes RH et KEL.

- Les grossesses et fausses couches (AIFM)

2. Définition et physiopathologie de l'AIFM :

2.1. Définition :

On parle d'AIFM quand, lors d'une grossesse avec incompatibilité foeto-maternelle (ABO, Rhésus, Kell, Kidd, MNS, Duffy…), on isole un allo-anticorps du sérum maternel. Cet Ac doit être apparu au cours de la grossesse (RAI précédentes négatives pour cet Ac), être dirigé contre un Ag érythrocytaire du foetus (hérité du géniteur) et absent chez la mère (ce qui exclut un Auto-Ac).

2.2. Physiopathologie de l'AIFM [9,10,11] :

Plusieurs étapes se succèdent dans l'AIFM.

2.2.1. L'hémorragie foeto-maternelle : le premier contact avec l'Ag érythrocytaire [12,13] :

L'hémorragie foeto-maternelle (HFM) transplacentaire, aboutit au passage de GRF dans la circulation maternelle, exposant ainsi le système immunitaire de la mère aux Allo-Ag du fœtus. Le volume nécessaire et suffisant de sang fœtal pour déclencher une AIFM est variable (sous la dépendance de la nature de l'Ag, du groupe HLA de la mère…), mais il est le plus souvent très faible (< 0,1ml). Ces HFM peuvent se produire tout au long d'une grossesse normale, lors de l'accouchement, ou lors de traumatismes (d'où l'importance, si possible, d'éviter tout geste de transpercement abdominal au profit de techniques non invasives).

<u>Les HFM lors d'une grossesse normale concernent :</u>

- 4 % des femmes au 1er trimestre.
- 12 % des femmes au 2ème trimestre.
- 45 % des femmes au 3ème trimestre.
- 60 % des femmes lors de l'accouchement.

Volumes de ces HFM :

- Très faible lors des deux 1er trimestres (hors manoeuvres obstétricales)
- 1 % des HFM survenant lors du 3ème trimestres (souvent occultes) sont de V > 2,5 ml
- A l'accouchement : 50 % des HFM sont d'un volume supérieur à 0,1 ml, dont 1 % de V > 5 ml et 0,1% de V > 30 ml.

Ente la 6ème et la 34ème SA, des études ont démontré le passage de GRF dans 100% des cas par des techniques d'enrichissement [14].

Circonstances à même de provoquer ou de majorer le volume des HFM [15] :

➢ Au premier trimestre :

- Fausse couche spontanée.
- IVG et IMG.
- GEU et grossesse molaire.
- Métrorragies.
- Choriocentèse et amniocentèse.
- Cerclage cervical.
- Réduction embryonnaire.
- Traumatisme abdominal.

➢ Au 2ème trimestre :

- Amniocentèse.
- Métrorragies.
- Cerclage.
- Menace d'accouchement prématuré.

➢ Au 3ème trimestre :

- IMG.
- FCS tardive.
- Mort fœtale in-utéro.
- Version par manœuvre externe.
- Traumatisme abdominal ou pelvien.
- Intervention chirurgicale abdominale ou pelvienne.
- Syndromes vasculo-rénaux.
- Métrorragies de fin grossesse (Placenta praevia et hématomes rétro-placentaire +++).

Au cours de ces HFM, au contact de l'Allo-Ag fœtal, le système immunitaire maternel peut réagir par une réaction communément appelée « Réponse Immunitaire Primaire (RIP)». Cette RIP n'est pas constante (on estime à 80 % le pourcentage de femme RH:-1 à même de s'immuniser au contact d'hématies RH:1 [3]). Souvent la notion d'incompatibilité ABO est citée comme protectrice à l'égard des autres allo-immunisations, par suppression précoce des GRF dans la circulation maternelle (avant la RIP), mais ceci ne semble pas réellement établi. La RIP est tardive et les Ac sont de nature IgM (ils ne passent pas le placenta) et donc sans conséquence pour le fœtus.

2.2.2. Le 2ème contact :

Dans le cadre d'une deuxième grossesse (ou dès la première si la RIP est précoce, en présence d'Ag très immunogène : Ag KEL1 et RH1), l'exposition du système immunitaire de la mère, au même Ag que celui envers lequel était dirigée la RIP, induit une « Réponse Immunitaire Secondaire (RIS) ». La RIS comparativement à la RIP, ne nécessite qu'une infime quantité d'Ag car l'organisme est dit « sensibilisé » par la grossesse précédente et réagit ainsi très rapidement, et massivement, par la synthèse d'Ac de classe IgG. Ces IgG possèdent un fragment constant sur leurs chaînes lourdes appelé « Fragment Fc » qui leur confère la propriété de franchir le placenta. Ce sont ces Ac de classe IgG qui sont dangereux pour la mère en cas de transfusion incompatible, mais surtout dangereux pour le fœtus car à même de conduire à une anémie fœtale par destruction des GRF.

<u>En conclusion, le risque d'un Allo-Ac dans le cadre d'une grossesse repose sur 3 facteurs :</u>

- Précocité de maturation de l'Ag (KEL1 +++)
- Immunogénicité (RH1, KEL1, RH4)
- Nature de l'Ac (classe IgG +++)

2.3. Conséquences cliniques de l'AIFM [10,16]:

2.3.1. Pour la mère :

Le développement d'un allo-Ac expose la mère à un risque transfusionnel en cas de nécessité de transfusion sanguine future. C'est pour cette raison, nous y reviendrons, qu'il est particulièrement important de réaliser une RAI en post-partum (1 mois après l'accouchement)

dans le but de détecter tout Allo-Ac de développement tardif, afin de le faire figurer sur la carte de groupe sanguin de la mère.

2.3.2. Pour l'enfant à naître :

Au cours de la première grossesse incompatible, dite « immunisante », la RIP est faible et tardive. La première grossesse arrivera donc classiquement à terme sans problème particulier pour l'enfant qui sera indemne à la naissance (car le contact avec l'Ag se faisant souvent tardivement, la RIS n'a pas le temps de se réaliser au cours de la même grossesse), malgré une hémolyse qui peut être significative. Mais, nous l'avons déjà évoqué, certains Allo-Ac dirigés contre des Ag fœtaux de maturation précoces et très immunogènes (KEL1+++) peuvent conduire à une allo-immunisation sévère dès cette première grossesse (RIP et RIS se réalisent alors au cours de la même grossesse) et donc engendrer une anémie.

2.3.3. Pour un enfant futur :

C'est au cours d'une grossesse ultérieure que le risque est souvent le plus élevé car la RIS sera quasi immédiate, en réponse à la réexposition à l'Ag. Il s'en suivra une production massive d'Ac de classe IgG qui franchiront le placenta et se fixeront sur les GR fœtaux, conduisant à une anémie et une stimulation de l'érythropoïèse fœtale (dont le siège est le foie chez le fœtus), avec pour effet une hépatomégalie et une érythroblastémie fœtale (présence de précurseurs des GR dans le sang fœtal).

<u>Les évolutions sans prise en charge sont, du moins grave au plus grave [17] :</u>

- <u>Anémie et Ictère :</u>

Le passage de ces IgG dans la circulation du fœtus conduit à leur fixation sur leur Ag cible. La conséquence en est une élimination rapide de ces GRF par la rate et l'apparition d'une anémie (baisse du taux d'hémoglobine). En pré-natal c'est cette anémie qui représente le principal risque pour le fœtus. Par contre après l'accouchement, l'enfant devra toujours faire face à l'anémie, mais aussi à l'autre conséquence de l'hémolyse : l'ictère. En effet, la destruction des GR de l'enfant par l'allo-Ac libère de grandes quantités de bilirubine libre (non conjuguée) qui était jusqu'alors filtrée par le placenta maternel. Mais après l'accouchement, ce filtre n'existant plus, et le foie fœtal étant immature et incapable de

conjuguer la bilirubine, celle-ci s'accumule. Cette accumulation de bilirubine non conjuguée peut conduire à de graves conséquences neurologiques par toxicité pour les noyaux gris centraux de l'encéphale (perméabilité de la barrière hémato-encéphalique chez le prématuré [18]). Ce risque, qui persiste tant que les Ac maternels sont présents chez l'enfant, dépend donc directement de la demi-vie de l'Ac.

- Anasarque Foeto-Placentaire (AFP) :

L'anasarque foeto-placentaire est un œdème cutané généralisé associé à un épanchement des séreuses (plèvre, péricarde, péritoine) dû à l'accumulation anormale de fluide séreux dans les tissus, liée à une anémie grave. On retrouve fréquemment un épaississement placentaire et un hydramnios associés. Sa fréquence est de 0,3 à 1 pour 1000 naissances. La mortalité périnatale restant très élevée (40-90%) avec plus de 50% de Morts Fœtales In-Utéro (MFIU).

- MFIU :

C'est l'évolution ultime de l'anémie, consécutive à l'allo-immunisation, et compliquée d'une anasarque foeto-placentaire. Elle correspond au décès du fœtus après la limite de viabilité fœtale (22ème SA).

Pour rappel :

- Décès en cours de travail : mort per-partum
- Décès au-delà de 22 SA : MFIU
- Décès < 16 SA : fausse couche précoce
- Décès > 16 SA et < 22 SA : fausse couche tardive

Schéma des différentes étapes conduisant jusqu'à l'anasarque :

Hémolyse des GR par les Ac maternels

↓

Anémie + hématopoïèse réactionnelle (Foie – Rate)

↓

Altération des hépatocytes

↓

Hépatosplénomégalie

↓

Hypertension portale – Obstruction de la Veine ombilicale

↓

Retentissement sur le placenta :

- Oedème placentaire/Ascite
- Diminution synthèse hépatique
- Diminution protéinémie

↓

Anasarque foeto-placentaire

(Hydrops foetalis)

↓

Mort Fœtale In-Utéro (MFIU)

3. Les chiffres de l'AIFM en France :

Rappels :

Le CNGOF [15] estime le nombre de grossesses conçues chaque année en France à 1 million, incluant les naissances vivantes (794 000 en 2004), les fausses couches spontanées, les grossesses extra-utérines, et les interruptions médicales et volontaires de grossesse. La fréquence des anticorps anti-érythrocytaires détectés chez les femmes enceintes est importante (entre 11 % et 15%).

Deux types d'anticorps sont concernés : les anticorps naturels et les anticorps immuns [9] :

- Les Ac naturels représentent 35 % des anticorps dépistés ; ils n'ont aucune incidence fœtale, mais ils sont dangereux pour la mère dès la première transfusion s'ils sont actifs à chaud (+ 37 °C). Les plus fréquents sont les anti-Lewis (anti-LE1, anti-LE2...) qui représentent 90 % de ces Ac.
- Les Ac immuns représentent donc 65% des anticorps dépistés, et sont dans tous les cas dangereux, pour la mère et pour son fœtus : Anti-RH1, Anti-RH4, Anti-KEL...

3.1. L'AIFM ABO :

Elle est très fréquente, on la retrouve dans 5 % des grossesses [19]. Par contre elle n'est pas responsable d'anémie fœtale sévère car les Ac de classe IgG ne sont pas à des taux très élevés (majorité d'IgM), et les antigènes A et B fœtaux étant immatures (contrairement aux Ag Rhésus), les complexes Ag/Ac se font moins bien. La prise en charge transfusionnelle doit en revanche être adaptée à la compatibilité ABO mère/enfant. Le risque d'ictère hémolytique est de 0,5 à 2 %

3.2. Les autres incompatibilités :

Leur fréquence est de 0,05 à 0,1 % des grossesses.

Les Ac les plus fréquents sont [20] :

- Anti-RH1 : 0,01% des grossesses (contre 1 % en 1970 avant la prévention anti-RH1) soit plus de 1000 cas par an en France. Elle représente 50 % de toutes les immunisations hémolytiques (Hors ABO), 70 % des IFM dépistées, et 90 % des IFM graves avec traitement anténatal. La mortalité reste élevée : 2 à 5 % de décès.

- anti-RH4
- anti-RH3

Répartition par spécificité d'Ac chez les femmes enceintes :

Etude EFSAM 2000-2005 (n = 3141 dossiers) [21] :

Spécificité Ac	**Nombre**	**Fréquence (%)**
Allo-anti-RH1	359	11,4
Allo-anti-RH3	262	8,6
Allo-anti-RH4	39	1,3
Allo-anti-RH8 (Cw)	19	0,6
Allo-anti-KEL1	28	1,2
Allo-anti-JK1	26	0,8
Allo-anti-JK2	6	0,2
Allo-anti-FY1	6	0,2
Allo-anti-FY2	2	0,06
Allo-anti-MNS3	33	1,0
Allo-anti-public (LU2,VEL,MNS5,JK3,FY5,I)	10	0,3
TOTAL	**790**	**25,2**
Allo-anti-LE1	653	20,8
Allo-anti-LE2	562	17,9
Allo-anti-P1	141	4,5
Allo-anti-MNS1	145	4,6
Allo-anti-MNS2	7	0,2
TOTAL	**1508**	**48**
Autre Allo-Ac et Auto-Ac	**840**	**26,8**

Soit, pour les anticorps responsables de maladie hémolytique, une répartition comme suit :

anti-RH1	45,4 %
anti-RH3	33,2 %
anti-RH4	5,0 %
anti-KEL1	3,5 %
Autre : Anti-FY,JK...	12,9 %

Dans cette étude l'Ac retrouvé présentait un danger de choc hémolytique en cas de transfusion incompatible dans 25% des cas (790). De plus pour 10 patientes, la transfusion aurait nécessité le recours à la banque nationale des sang rares. Enfin la transfusion avec des poches d'urgence O négatif RH :-1,-2,-3 était en regard d'un risque d'hémolyse sévère, contre-indiquée pour 3,8% des patientes (39 allo-anti-RH4 et 83 allo-Ac non RH-Kell. Les auteurs [21] soulignent que ces même poches d'urgence exposaient à un risque d'immunisation les femme RH-5 (2%) ou FY-1,-2 (70% des femmes d'origine sub-saharienne), ce qui compromettrait leur avenir obstétrico-transfusionnel. Rappelons de plus que le risque d'allo-immunisation est maximal au cours du 3ème trimestre et à l'accouchement [13].

<u>Au final, le risque d'anémie fœtal sévère est le plus élevé pour :</u>

- L'anti-RH1 (+/- RH2 ou RH3)
- L'anti-RH4 (+/- RH3)
- L'anti-KEL1

4.Moyens biologiques de dépistage de l'AIFM :

Selon les textes réglementaires, voici les prescriptions obligatoires lors de la grossesse [22] (chaque examen doit en plus comporter un examen clinique, une recherche de l'albuminurie et de la glycosurie) :

a) Lors du premier examen prénatal :

- En cas de première grossesse, une détermination des groupes sanguins (A, B, O, phénotypes rhésus complet et Kell) si la patiente ne possède pas de carte de groupe sanguin complète (deux déterminations).

- Dans tous les cas, les dépistages de la syphilis, de la rubéole et de la toxoplasmose (en l'absence de résultats écrits permettant de considérer l'immunité comme acquise), ainsi que la recherche d'anticorps irréguliers (à l'exclusion des anticorps dirigés contre les antigènes A et B ; si la recherche est positive, l'identification et le titrage des anticorps sont obligatoires).

b) Au cours du quatrième examen prénatal (sixième mois de grossesse), un dépistage de l'antigène Hbs, une numération globulaire, et, chez les femmes à rhésus négatif ou précédemment transfusées, la recherche d'anticorps irréguliers (à l'exclusion des anticorps dirigés contre les antigènes A et B) sont obligatoires. Si la recherche est positive, il est nécessaire de réaliser l'identification et le titrage des anticorps.

c) Au cours du sixième ou du septième examen prénatal (huitième ou neuvième mois de grossesse), une deuxième détermination du groupe sanguin A, B, O, rhésus standard si nécessaire ;

d) Au cours des sixième et septième examens prénatals (huitième et neuvième mois de grossesse), chez les femmes à rhésus négatif ou précédemment transfusées, la recherche d'anticorps irréguliers (à l'exclusion des anticorps dirigés contre les antigènes A et B) sont obligatoires ; si la recherche est positive, réaliser l'identification et le titrage des anticorps.

En outre, la sérologie toxoplasmique sera répétée chaque mois à partir du deuxième examen prénatal si l'immunité n'est pas acquise.

Contenu	3e mois	4e mois	5e mois	6e mois	7e mois	8e mois	9e mois
Examens obligatoires							
HCG qualitatif	si doute						
Diagnostic de grossesse	✓						
Groupe sanguin	✓					2e détermination si non faite avant	
Recherche d'agglutinines irrégulières	✓	si rhésus négatif ou si antécédents de transfusion, poursuite des recherches d'agglutinines irrégulières mensuelles au cours des 6e, 8e et 9e mois					
Identification et titrage des anticorps	si RAI[2] ✓			si RAI[2] ✓			si RAI[2] ✓
Sérologie rubéole	✓[3]	✓					
Sérologie syphilis	✓						
Sérologie toxoplasmose	✓[3]	si résultat négatif : mensuelle jusqu'au 9e mois et après accouchement					
Recherche Ag HBs				✓			
Glycosurie-albuminurie	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Hémogramme				✓			

4.1.Détermination du phénotype érythrocytaire ABO-RH-KELL :

Une première détermination du phénotype ABO-RH-KELL doit obligatoirement être réalisée [22] au cours du premier trimestre ; elle sera confirmée si besoin par une deuxième détermination lors du 8ème ou du 9ème mois.

4.2.La recherche d'Agglutinines Irrégulières (RAI) :

4.2.1. Définition :

La RAI est un examen de biologie médicale réglementaire [4,22,23] qui a pour objet de rechercher, dans le sérum d'un patient, la présence éventuelle d'Ac dirigés contre des Ag érythrocytaires qu'il ne possède pas (autres que ceux du groupe ABO), et donc normalement absents.

4.2.2. Principe :

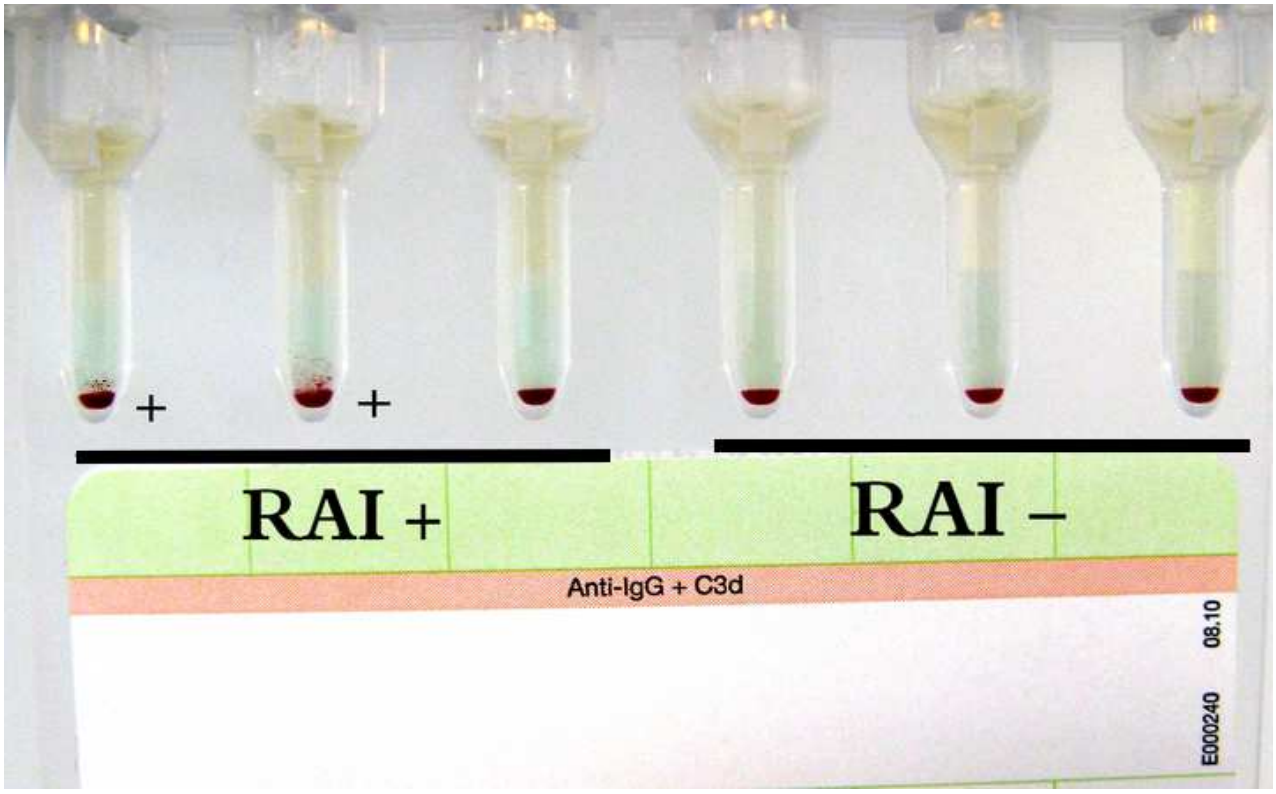
Cette recherche s'effectue aujourd'hui en deux temps :

- Premier temps : Une étape de dépistage.
- Deuxième temps : Une étape d'identification de l'Ac trouvé (quand le dépistage est positif), associé au phénotypage érythrocytaire correspondant, afin de prouver qu'il ne s'agit pas d'un auto-Ac.

4.2.2.1. Le dépistage :

Il s'effectue sur un support de gel filtration par TIA (haute sensibilité) contenant 3 puits imprégnés d'anti-IgG, associé à l'utilisation d'un panel d'au moins 3 hématies test de groupe O (pour s'affranchir de l'interférence des Ac anti-A et anti-B) et de phénotypes connus, couvrant la majeure partie des Ag de groupes sanguins d'intérêt (RH1, RH2, RH3, RH4, RH5, KEL1, KEL2, KEL4, FY1, FY2, JK1, JK2, MNS1, MNS2, MNS3, MNS4, LE1, LE2, P1, LU2) [4].

<u>Exemple de RAI : gel de dépistage (3 puits) :</u>



Panel correspondant (phénotypes des trois hématies tests) :

Antigen-Tabelle / Antigen-Table / Table d'antigènes / Tabella antigenica / Tabla de antígenos / Tabela de antigénios

	Rh-hr	Spender / Donor / Donneur / Donatore / Donante / Dador	Rh-hr						Kell						Duffy		Kidd		Lewis		P	MNS				Luth.		Xg	
			D	C	E	c	e	C^w	K	k	Kp^a	Kp^b	Js^a	Js^b	Fy^a	Fy^b	Jk^a	Jk^b	Le^a	Le^b	P_1	M	N	S	s	Lu^a	Lu^b	Xg^a	♀ ♂
I	$C^WCD.eeR_1$	$R_1{}^WR_1$ 031575	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	nt	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	M
II	ccD.EE	R_2 R_2R_2 320008	+	0	+	+	0	0	0	+	+	+	nt	+	+	0	+	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	M
III	ccddee	rr rr 353467	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	nt	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	M

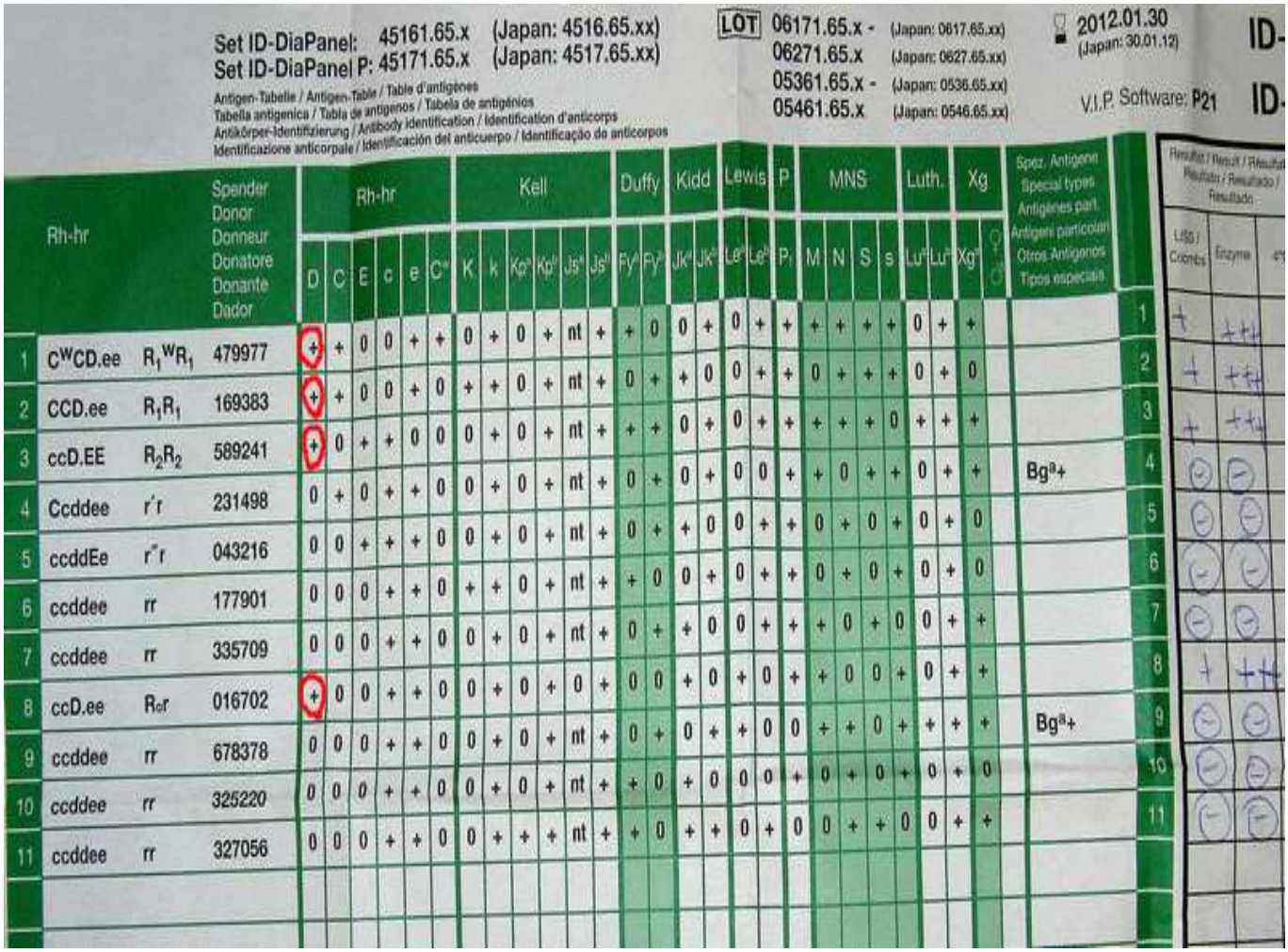
Ici on peut observer que les deux premières hématies sont positives (faiblement), seule l'hématie numéro 3 reste négative. Cette RAI a été réalisée à l'accouchement (39 SA) d'une femme ayant reçu l'injection systématique d'anti-RH1 passifs à 30ème SA. Il est donc fort probable que l'Ac mis en évidence soit l'anti-RH1 passif résiduel. Il faut néanmoins identifier cet Ac pour s'en assurer, bien que selon le panel l'Ac puisse en effet correspondre avec un anti-RH1 (les deux premières hématies sont positives pour l'Ag RH1, pas la 3ème).

4.2.2.2. L'identification :

Elle repose exactement sur le même principe mais à partir d'un panel d'hématies beaucoup plus large (au moins 10 hématies tests), afin de pouvoir identifier exactement l'Ac en cause, qui n'agglutinera que les hématies possédant à leur surface l'Ag correspondant. Les hématies doivent couvrir les Ag suivant : RH1, RH2, RH3, RH4, RH5, RH6, RH8, KEL1, KEL2, , KEL3, KEL4, FY1, FY2, JK1, JK2, MNS1, MNS2, MNS3, MNS4, LE1, LE2, P1, LU1, LU2 [4].

Exemple des gels réalisés avec 11 hématies test et le panel correspondant :

Les puits positifs (faibles) correspondent aux hématies tests n° 1, 2, 3 et 8.



Set ID-DiaPanel: 45161.65.x (Japan: 4516.65.xx)
Set ID-DiaPanel P: 45171.65.x (Japan: 4517.65.xx)

Antigen-Tabelle / Antigen-Table / Table d'antigènes
Tabella antigenica / Tabla de antígenos / Tabela de antígénios
Antikörper-Identifizierung / Antibody identification / Identification d'anticorps
Identificazione anticorpale / Identificación del anticuerpo / Identificação do anticorpos

LOT 06171.65.x - (Japan: 0617.65.xx)
06271.65.x (Japan: 0627.65.xx)
05361.65.x - (Japan: 0536.65.xx)
05461.65.x (Japan: 0546.65.xx)

2012.01.30 (Japan: 30.01.12)

V.I.P. Software: P21

	Rh-hr		Spender Donor Donneur Donatore Donante Dador	Rh-hr						Kell						Duffy		Kidd		Lewis		P	MNS				Luth.		Xg		Spez. Antigene Special types Antigènes part. Antigeni particolari Otros Antígenos Tipos especiales
				D	C	E	c	e	C^w	K	k	Kp^a	Kp^b	Js^a	Js^b	Fy^a	Fy^b	Jk^a	Jk^b	Le^a	Le^b	P1	M	N	S	s	Lu^a	Lu^b	Xg^a	♀ ♂	
1	$C^WCD.ee$	$R_1^WR_1$	479977	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	nt	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+		
2	CCD.ee	R_1R_1	169383	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	nt	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	0	+	0		
3	ccD.EE	R_2R_2	589241	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	nt	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+	+		
4	Ccddee	r'r	231498	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	0	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+		Bg^a+
5	ccddEe	r''r	043216	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0		
6	ccddee	rr	177901	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	nt	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0		
7	ccddee	rr	335709	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	0	+	+		
8	ccD.ee	R_or	016702	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+		
9	ccddee	rr	678378	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	+		Bg^a+
10	ccddee	rr	325220	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	+	+	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0		
11	ccddee	rr	327056	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	nt	+	+	0	+	+	0	+	0	0	+	+	0	0	+	+		

	Resultat / Result / Resultat / Resultado / Resultado	
	LISS / Coombs	Enzyme
1	+	+++
2	+	+++
3	+	+++
4	⊖	⊖
5	⊖	⊖
6	⊖	⊖
7	⊖	⊖
8	+	+++
9	⊖	⊖
10	⊖	⊖
11	⊖	⊖

Les hématies 1, 2, 3 et 8 sont bien celles qui portent l'Ag RH1 d'après le panel. On peut de plus exclure toutes les autres possibilités (pas d'autres Ac masqué par l'anti-RH1). Cependant en cas de problème d'identification, et afin d'affirmer une (ou des) spécificité(s), et d'éliminer toutes les autres, ont peut utiliser :

1) Un traitement enzymatique des hématies [4] :

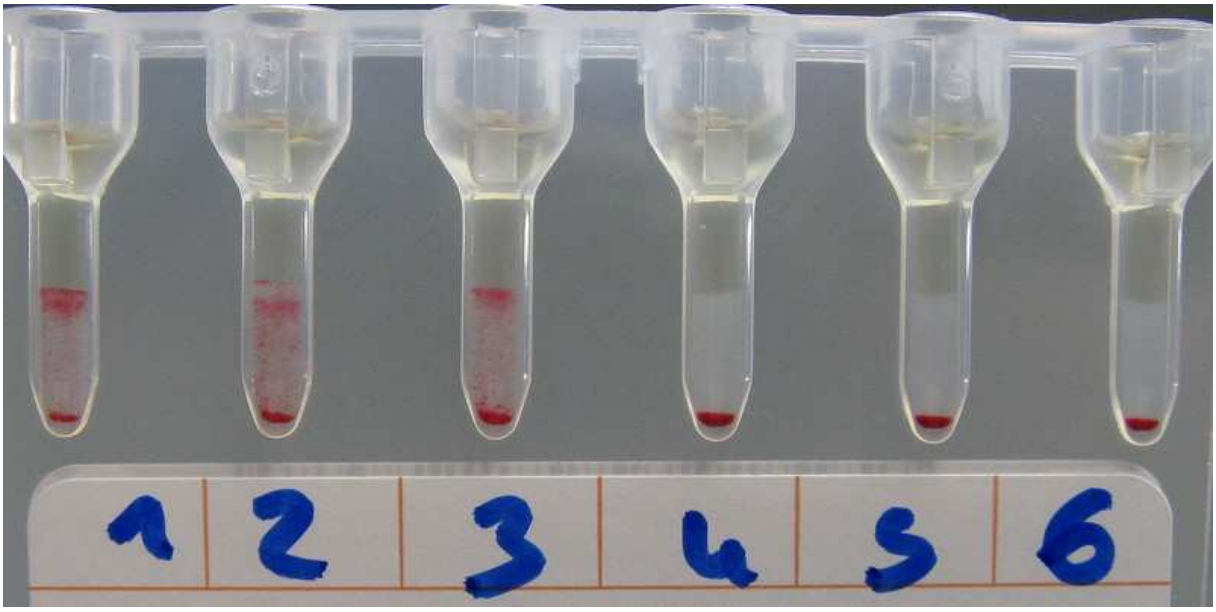
<u>On peut utiliser différentes enzymes :</u>

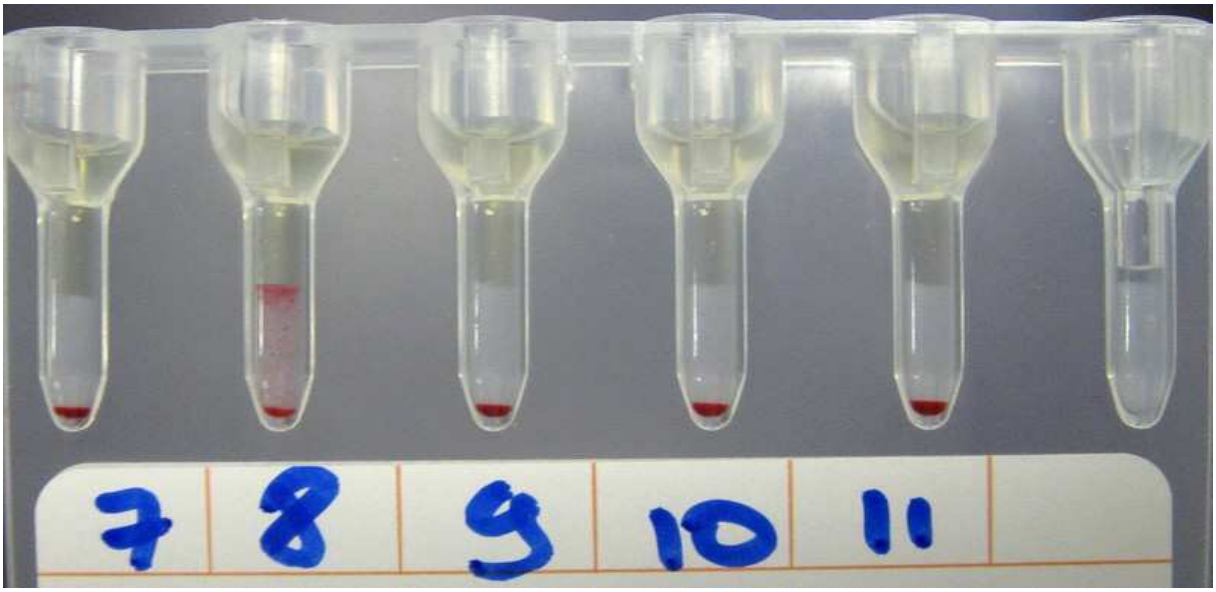
- Papaïne
- Trypsine
- Broméline…

Ce traitement a pour effet de diminuer le potentiel zêta d'une part, et permet également d'assurer un meilleur accès des Ac, aux épitopes des Ag de certains groupes sanguins (RH,

Kidd, Léwis, P1…). Il faut cependant savoir que si ces enzymes augmentent la sensibilité de la détection de certains Ac, elles détruisent à contrario certains Ag d'autres groupes (antigènes FY et MNS en particuliers), et ne permettent donc pas de mettre tous les anticorps en évidence.

Voici les gels obtenus pour la même identification (mêmes hématies) que précédemment mais où les hématies sont traitées par la papaïne :





On voit nettement que si les mêmes hématies sont retrouvées positives (1,2,3 et 8), elles le sont avec une bien plus grande intensité, grâce au traitement par la papaïne qui a mieux permis l'accès à l'Ag RH1 ; les images sont donc plus nettes et plus facilement interprétables.

2) Des panels d'hématies complémentaires :

Il existe de nombreux panels avec des hématies portant des compositions d'Ag différentes. On peut ainsi choisir de tester telle ou telle hématie, où l'Ag d'intérêt sera porté de façon homozygote ou au contraire hétérozygote, assurant des intensités de réaction plus ou moins fortes, utiles pour orienter l'identification. Rappelons qu'une RAI est indispensable avant toute injection d'anti-RH1 passif, afin de connaître le statut pré-injection. La RAI post accouchement (idéalement 1 à 3 mois après) est également indispensable bien que quasiment jamais réalisée. En effet la RAI permet de déceler des anticorps de développement tardifs qui, s'ils sont présents, conditionneront une prise en charge transfusionnelle future de la mère.

5.Moyens et Impacts clinico/biologiques de la prévention anti-RH1 :

5.1.Les moyens biologiques de la prévention :

5.1.1. Le Test de Kleihaeur (TK) : l'examen « clef » de la prévention :

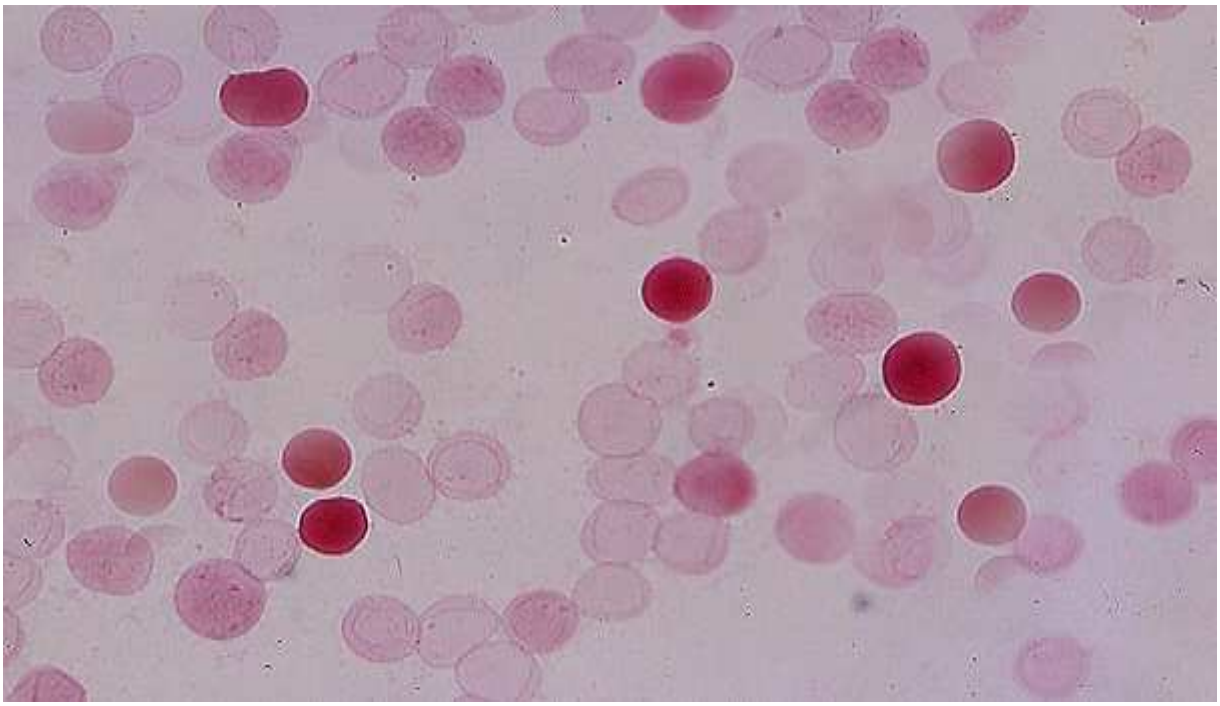
5.1.1.1.Définition :

Le Test de Kleihauer-Betke (TK) a été initialement mis au point en 1957 par Kleihauer, dans le but de pouvoir objectiver par un test de réalisation simple et rapide, une HFM [24,25].

5.1.1.2.Principe :

Le principe de ce test consiste en la réalisation à partir d'un échantillon de sang maternel, prélevé sur tube EDTA (ou mieux citraté), d'un traitement acide des hématies pour mettre en évidence le caractère « acide résistant » de l'hémoglobine fœtale (HbF) par rapport à l'hémoglobine adulte. Seules les hématies fœtales dont l'HbF n'est pas soluble en milieu acide, contiennent encore leur hémoglobine. Ces hématies fœtales, après coloration par l'éosine, apparaissent rouges au microscope au milieu d'un tapis rose-pâle d'hématies « fantômes », correspondant aux hématies de la mère vidées de leur contenu en hémoglobine.

Exemple de TK positif :



5.1.1.3.Interprétation et quantification de l'HFM [26,27,28] :

La lecture du frottis se fait au microscope, par comptage à l'objectif 40 et comparativement à deux témoins (Témoins positif et négatifs). L'opérateur parcourt 20 champs, ce qui correspond à environ 4000 hématies. Il rapporte ensuite ce nombre d'hématies fœtales (n) comptabilisées, à 10000 hématies pour estimer le volume d'HFM selon la formule suivante [29] :

HFM (ml) = TK xVm x (Htm/Htf) = TK x 4511.

Avec : TK en centième

Vm = volémie maternelle moyenne = 5800ml

Htm = hématocrite moyen maternel = 0,35

Htf = hématocrite moyen fœtal = 0,45

Le plus souvent c'est la formule simplifiée qui est utilisée : HFM (ml) = TK x 5O.

Avec : TK en pourcentage

On considère donc que 1 GRF pour 10000 hématies, représente un volume d'HFM de 0,5 ml.

5.1.1.4.Adaptation de la dose d'anti-RH1 passif selon le TK [15] :

A partir de 5 GRF, augmenter la dose de 100µg/20 GRF comme le recommande le CNGOF :

KLEIHAUER (HF / 10.000 HA)	Dose de 100 µg*		Dose de 200 µg*		Dose de 300 µg		Voie d'administration
	Doses	µg	Doses	µg	Doses	µg	
0-4	1	100	1	200	1	300	IV directe
5-24	2	200	1	200	1	300	
25-44	3	300	2	400	1	300	
45-64	4	400	2	400	2	600	PERFUSION sur 4 heures Dilué dans 250 ml de NaCl à 9 pour mille
65-84	5	500	3	600	2	600	
85-104	6	600	3	600	2	600	
105-124	7	700	4	800	3	900	
125-144	8	800	4	800	3	900	
145-164	9	900	5	1000	3	900	
165-184	10	1000	5	1000	4	1200	
185-204	11	1100	6	1200	4	1200	
205-224	12	1200	6	1200	4	1200	
225-244	13	1300	7	1400	5	1500	
245-264	14	1400	7	1400	5	1500	
265-284	15	1500	8	1600	5	1500	
285-304	16	1600	8	1600	6	1800	

* La dose la plus basse actuellement commercialisée en France est de 200 mg. Dans les cas où une dose de 100 mg serait suffisante, il est recommandé de ne pas fractionner les doses.
HF : hématies foetales ; HA : hématies adultes

5.1.1.5.Indications du test de Kleihauer :

- Mise en évidence et quantification d'une HFM lors de situations à risque (hors premier trimestre) et à l'accouchement, afin d'adapter la dose de l'injection ciblée d'anti-RH1 passif.
- Associée à la RAI en post injection ciblée, permet de vérifier l'efficacité de cette injection (absence de GRF).
- Evaluer le volume d'hémorragie fœtale.

5.1.1.6.Limites du test de Kleihauer [28,30,31]:

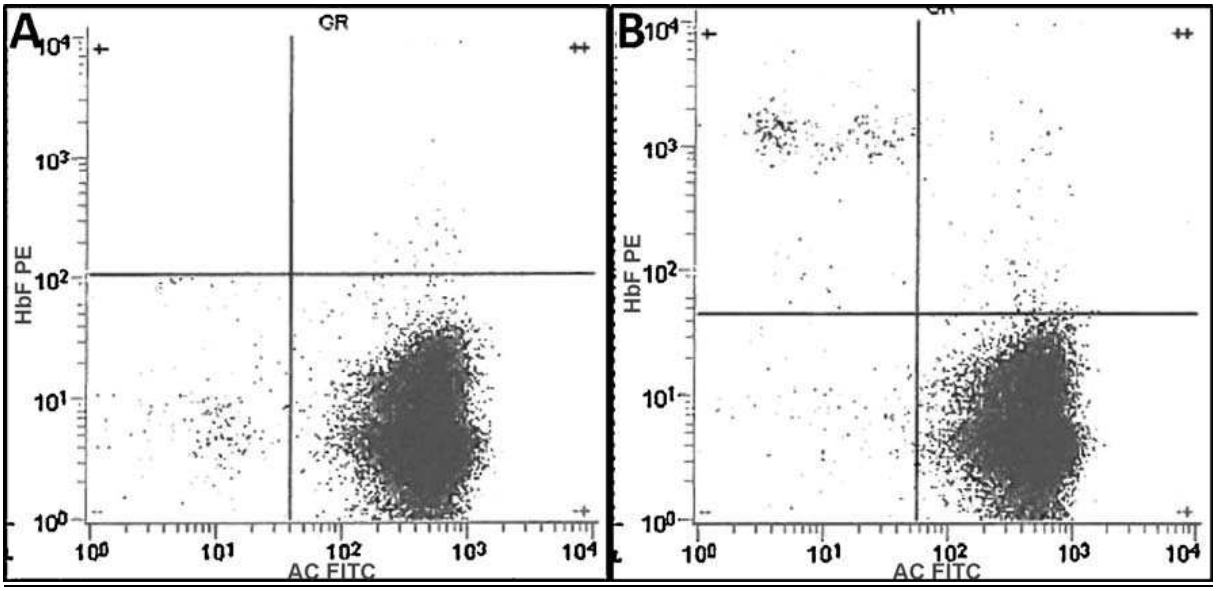
- Technique manuelle : CV inter et intra observateur important (31% et 8,1%) [30], nécessitant des opérateurs expérimentés
- Faux positifs : persistance d'HbF : thalassémies, drépanocytose…

Réaliser alors un TK Or/Argent : contact entre l'échantillon et des IgG anti-RH1 puis des anti-IgG humaines marquées à l'or colloïdal et développement argentique avant coloration finale. Les GRF RH1 apparaissent semés de grains brillants en lumière polarisée.

- Faux négatifs : HFM < 0,5 ml (seuil de sensibilité), incompatibilités ABO (destruction rapide des GRF)
- Sous-estimation : Dénaturation des GRF

5.1.1.7.La cytométrie en flux [27,32,33] :

Le test de Kleihauer peut aujourd'hui être complété par la cytométrie en flux. C'est en effet une autre méthode de quantification des hématies fœtales circulant dans le sang maternel. Plusieurs études ont effectivement confirmé la bonne corrélation entre les résultats de la cytométrie en flux (Ac monoclonal dirigé contre l'Ag RH1) et le TK dans les cas d'HFM > 0,5 ml soit 1 GRF/10000 Hématies. La CEF est une technique automatisée, donc plus reproductible, et reste applicable en cas de persistance de l'HbF.



Cytométrie de flux avec double marquage hémoglobine foetale/anhydrase carbonique (HbF/Ac). A. Absence d'hématie foetale. B. Hématies foetales (HbF+/Ac-) = 2 %. [34]

Par contre des limites persistent :

- HFM < 0,5 ml
- Incompatibilité ABO
- Dénaturation des GRF

Aujourd'hui la technique qui reste la plus accessible en première intension reste donc le test de Kleihauer manuel qui, malgré ses défauts, est la seule technique de routine capable de visualiser une HFM et de la quantifier, afin de pouvoir adapter la dose d'Ig anti-RH1.

5.1.2.La RAI :

La RAI intervient également comme outil de prévention. Elle permet en effet, de s'assurer de l'absence d'allo anti-RH1 au cours de la semaine précédent l'administration d'anti-RH1 passifs. La RAI permet également, associée au TK, de s'assurer de l'efficacité de cette administration (négativation du TK et persistance d'anti-RH1 passifs en excès).

5.1.3.La microtitration [19] :

Depuis l'instauration en 2005 de l'injection systématique à la 28ème SA de 300µg d'Ig anti-RH1 dans le cadre du programme de prévention de l'AIFM, l'interprétation des résultats de RAI postérieures à l'injection (8ème et 9ème mois) est devenu beaucoup plus difficile. Il est en effet devenu indispensable de pouvoir distinguer, dans le sérum des femmes enceintes, les véritables allo-Ac anti-RH1 de ces IgG passives résiduelles dues à l'injection (surtout si la RAI pré-injection n'a pas été réalisée). Rappelons d'ailleurs qu'il est obligatoire de pratiquer une identification à la suite de tout dépistage positif, même s'il existe une notion certaine d'injection d'anti-RH1 passifs avec uniquement les 2 premières hématies du panel retrouvées positives (cas évocateur d'un Anti-RH1). En effet un véritable Allo-Ac (anti-RH1 ou autre) peut tout à fait être masqué par l'anti-RH1 passif d'où l'intérêt, là encore, de la microtitration.

5.1.3.1.Définition [35] :

La microtitration est une technique de titration très sensible des IgG anti-RH1. Elle repose sur un test indirect à l'antiglobuline en support solide (filtration) qui permet de définir, en fonction de la date de l'injection d'anti-RH1 passive et d'un étalon standard traité dans les

mêmes conditions, si les IgG anti-RH1 retrouvées sont uniquement passives, ou bien si l'on est en présence d'un réel début d'allo-immunisation anti-RH1.

5.1.3.2. Informations indispensables à la réalisation :

- Date d'injection des anti-RH1 passifs.
- Dose injectée pour le calcul de la concentration résiduelle normale attendue.

En effet, sachant que la demi-vie des IgG1 du Rhophylac est de 21 jours il reste:

- 50 % à 3 semaines
- 25 % à 6 semaines
- 12,5 % à 12 semaines

D'où une dose attendue de [36] : C (ng/mL) = n x15/e0,03 t

Avec : n = nombre de doses de 100 mg injectées

t = délai en jours depuis l'injection

S'il s'agit d'une prévention systématique à 28 SA, le taux théorique résiduel sérique sera respectivement de 30, 15, et 3,75 ng/ml à 3, 6 et 12 semaines, taux décelables par les procédés utilisés pour la RAI [37].

5.1.3.3.Mode opératoire :

Le sérum de la patiente est titré en parallèle d'un standard de concentration connue, issu d'un étalon anti-RH1 national (code produit 51260, fourni par le CNRGS), d'une concentration de 1,04 mg/ml, lyophilisé et conservé à 4°C. Une dilution de ce standard au 1/37ème permet d'obtenir une concentration finale à 28 ng/mL, soit la concentration en anti-RH1 attendue 48 heures après injection de 200 mg d'anti-RH1 passif. Six dilutions géométriques de raison 2 des sérums sont traitées en parallèle avec six dilutions géométriques de raison 2 du standard. Les intensités d'agglutinations sont cotées (de - à ++++) et comparées aux intensités d'agglutination obtenues avec celles de l'étalon standard. La dernière dilution positive est comparée à la dilution du standard qui a la même intensité.

Exemples de calcul de la concentration en anti-RH1 dans plusieurs échantillons [35] :

Dilutions	1/4	1/8	1/16	A	x	B	=	C
Étalon (28 ng/mL)								
Concentration (ng/mL)	7	3,5	1,75	Inverse de la dernière dilution réactive de l'échantillon		Concentration de la dilution étalon avec la même intensité de réaction		Concentration en anti-RH1 de l'échantillon
Résultats	++++	+++	+					
Échantillons								
1	+	-	-	4	x	1,75	=	7 ng/mL
2	++++	++++	+++	16	x	3,5	=	56 ng/mL
3	++++	++++	++++	>16	x	7	=	>112 ng/mL
4	+++	+	-	8	x	1,75	=	14 ng/mL

5.1.3.4. Interprétation [35] :

- Si [C] trouvée < [C] attendue ou très proche : la positivité de la RAI est due aux Ig résiduelle de l'injection d'anti-RH1 passifs.
- Si [C] trouvée >> [C] attendue : début d'Allo-immunisation probable, à confirmer par un contrôle du taux d'IgG à 3 semaines (contrôle de l'évolution avec l'échantillon précédent) :
  - Si le taux est stable : possible retard à la disparition des anti-RH1 passifs.
  - Si le taux augmente : Allo-Immunisation avérée.

5.1.3.5. Conclusion :

La microtitration est une technique simple et rapide, qui lors d'une RAI positive à anti-RH1 avec notion d'injection préalable d'anti-RH1 passifs, permet de s'assurer qu'il n'y a pas un début d'allo-immunisation anti-RH1 qui serait masqué, et qui évite de répéter les RAI de contrôle.

5.1.4. Génotypage fœtal :

5.1.4.1.Définition :

Depuis 1990, on sait que de l'ADN fœtal circule dans le plasma maternel à un taux variable (1 à 12 % d'ADN d'origine fœtale sous forme acellulaire [5]), mais suffisant pour être amplifié par PCR en temps réel. Le génotypage fœtal permet ainsi de mettre en évidence la présence ou non du gène *RHD* fœtal, à partir d'une simple prise de sang chez la mère. L'origine fœtale de l'ADN amplifié, repose sur la détection de la séquence SRY du chromosome Y si le fœtus est un garçon, et sur l'analyse de plusieurs séquences (dont au moins une doit être absente du génome maternel) si le fœtus est une fille [38]. De plus, en cas d'amplification de l'ADN maternel, celui-ci donnerait un signal PCR beaucoup plus précoce (en terme de cycles).

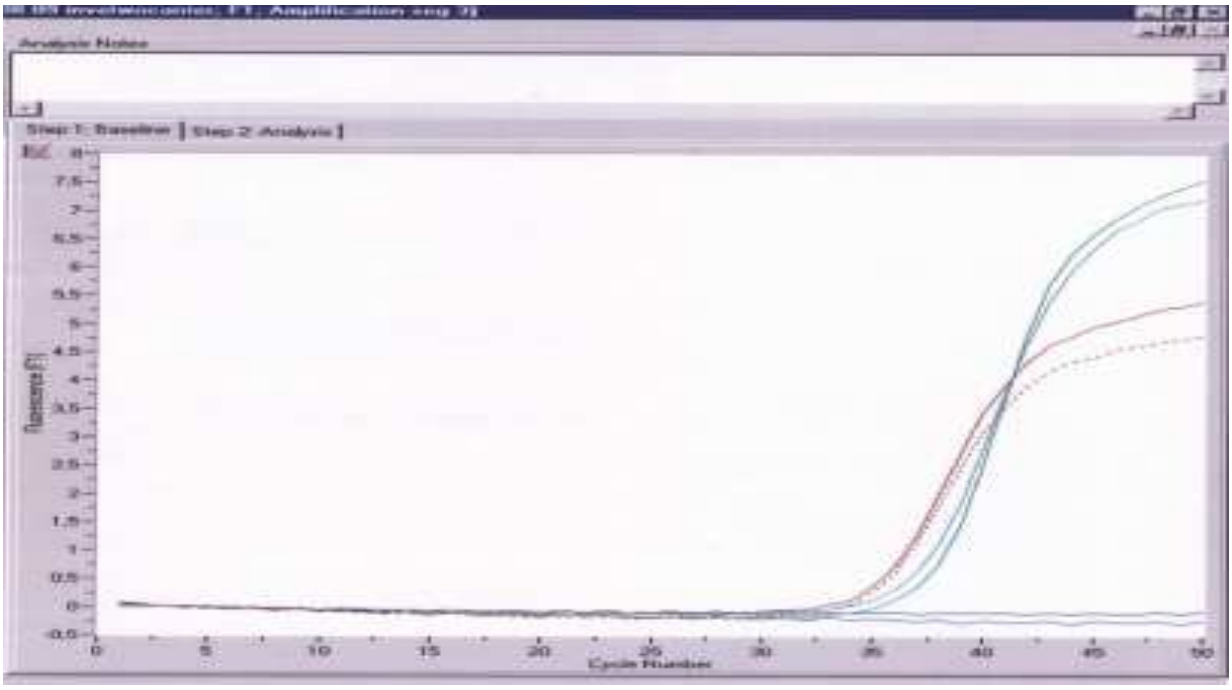
5.1.4.2.Présentation de la technique :

Le génotypage fœtal, pour l'instant limité au gène *RHD*, est un examen non invasif (prise de sang maternelle sur EDTA) et peut être réalisé dès 12 SA. Pour ce faire, différentes étapes sont nécessaires :

- Purification et concentration de l'ADN du plasma maternel
- Amplification par PCR des séquences spécifiques du gène *RHD* :
    - Exon 5 : exclusion d'un maximum de variants du gène *RHD* silencieux.
    - Exon 7 : plus spécifique mais moins sensible que l'exon 10.
    - Exon 10 : plus sensible mais moins spécifique que l'exon 7

Les 3 amplifications distinctes permettant d'augmenter la sensibilité du test et de détecter un maximum de variants du système RH. En parallèle et dans chaque série, sont amplifiés un témoin négatif, un blanc (eau) et un témoin positif. De plus dans chaque échantillon et contrôle, est inséré de l'ADN de maïs. Cet ADN « étranger » permet de garantir la qualité et le rendement de l'extraction, pour affirmer en cas d'échantillons négatifs pour tous les exons, que la réaction de PCR s'est bien déroulée (témoin d'amplification). Il est important de préciser qu'il a été démontré que l'ADN fœtal libre est totalement éliminé de la circulation maternelle moins de 24 heures après l'accouchement (demi vie de 4 à 30 mn). Les grossesses antérieures n'interfèrent donc pas [6].

Exemple de courbes PCR « temps-réel » obtenues (réelle quantification) :



5.1.4.3.Interprétation :

Nous l'avons vu dans la présentation du système Rhésus, 98 % des sujets caucasiens RH-1 ont une délétion du gène *RHD* et ne possèdent aucun exon. Par contre, les 2% de patients RH-1 restant possèdent eux, soit un gène *RHD* muté, soit un gène *RHD* hybride.

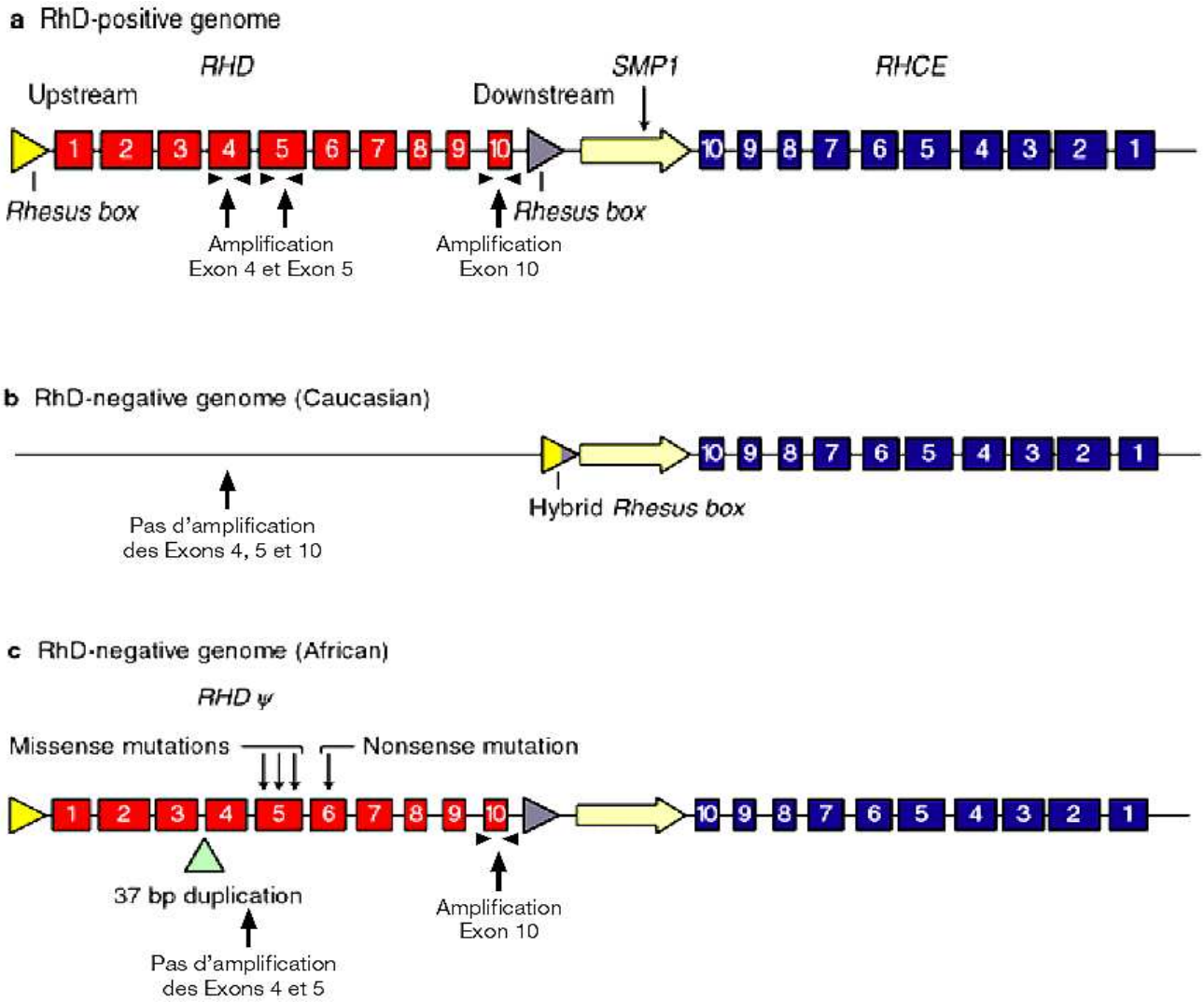
Les résultats PCR de ces patients sont récapitulés dans le tableau suivant :

	Caucasiens RH1 négatifs (15 %)	Noirs africains RH1 négatifs (3 %)	Exon 7	Exon 10
Gène *RHD* délété	> 98 %	10-25 %	-	-
Gène *RHD* muté non fonctionnel	< 1 %	60-70 %	+	+
Gène hybride *D-CE-D*	< 1 %	10-20 %	-	+

- Les foetus possédant le gène *RHD* fonctionnel donneront un résultat PCR positif pour tous les exons et seront donc considérés comme RH1. La prévention anti-RH1 sera alors maintenue.

- Les fœtus avec le gène *RHD* délété auront eux un résultat PCR négatif pour tous les exons, garant de leur phénotype RH-1. La prévention n'aura alors plus lieu d'être (après confirmation).
- Les fœtus avec le gène *RHD* mutés présenteront des résultats « faux positifs » pour les exons 7 et 10 (mais 5 négatif), ce qui conduira à les considérer faussement RH1, et donc à poursuivre la prévention anti-RH1 par excès. Cette situation ne représente que 1% des cas chez les caucasiens, et n'a pas d'incidence sur le développement fœtal.
- Les fœtus avec un gène *RHD* hybride (*D-CE-D*) présenteront des résultats PCR discordants et donc douteux : positifs pour les exon 10 et 5, et négatifs pour l'exon 7. Ici aussi par sécurité ils seront considérés comme RH1, et la prévention sera poursuivie par excès.

<u>Organisation génomique du système RH, d'après Rigal et Al. [10] :</u>



Synthèse des possibilités (caucasiens) d'après A. Mailloux, Y. Brossard, N. Da Silva. CNRHP, Hôpital St Antoine, CNRHP 17/11/2009 [39]:

Exons	7	10	5	Traceur (Maïs)
RH-1	-	-	-	+
RH1	+	+	+	+
RH1 partiel (D-CE-D…)	+	-	+	+
	-	+	+	+
	-	+	+	+
RHDΨ ou partiel	+	+	-	+
DHar	-	-	+	+
Ininterprétable	+	-	-	+
	-	+	-	+
	+/-	+/-	+/-	-

Tout résultat identifié RH-1, partiel, ou ininterprétable devra obligatoirement être confirmé sur un deuxième prélèvement, pour prévenir tout risque de faux-négatif.

5.1.4.4.Indications :

En France, nous l'avons vu, 15 % de la population caucasienne est RH-1, ce qui représente chaque année 150000 grossesses de femmes RH:-1, dont 90000 portent un fœtus de rhésus positif. Le test reste cependant aujourd'hui, encore limité aux femmes RH-1 avec allo-immunisation anti-RH1 avérée, dans le but de déterminer le rhésus du fœtus :

- Si le fœtus est RH1, le dosage et le titrage de l'Ac devront être régulièrement effectués car il y a un risque avéré d'anémie fœtale.
- Si le fœtus est RH-1, le risque d'anémie est nul (après confirmation), et quelque soit la sévérité de l'allo-immunisation, le titrage et le dosage pondéral sont inutiles.

Une généralisation de la pratique de ce test à toutes les femmes enceintes RH-1 fait actuellement l'objet d'étude (étude Geniferh).

5.1.4.5.Etude Geniferh :

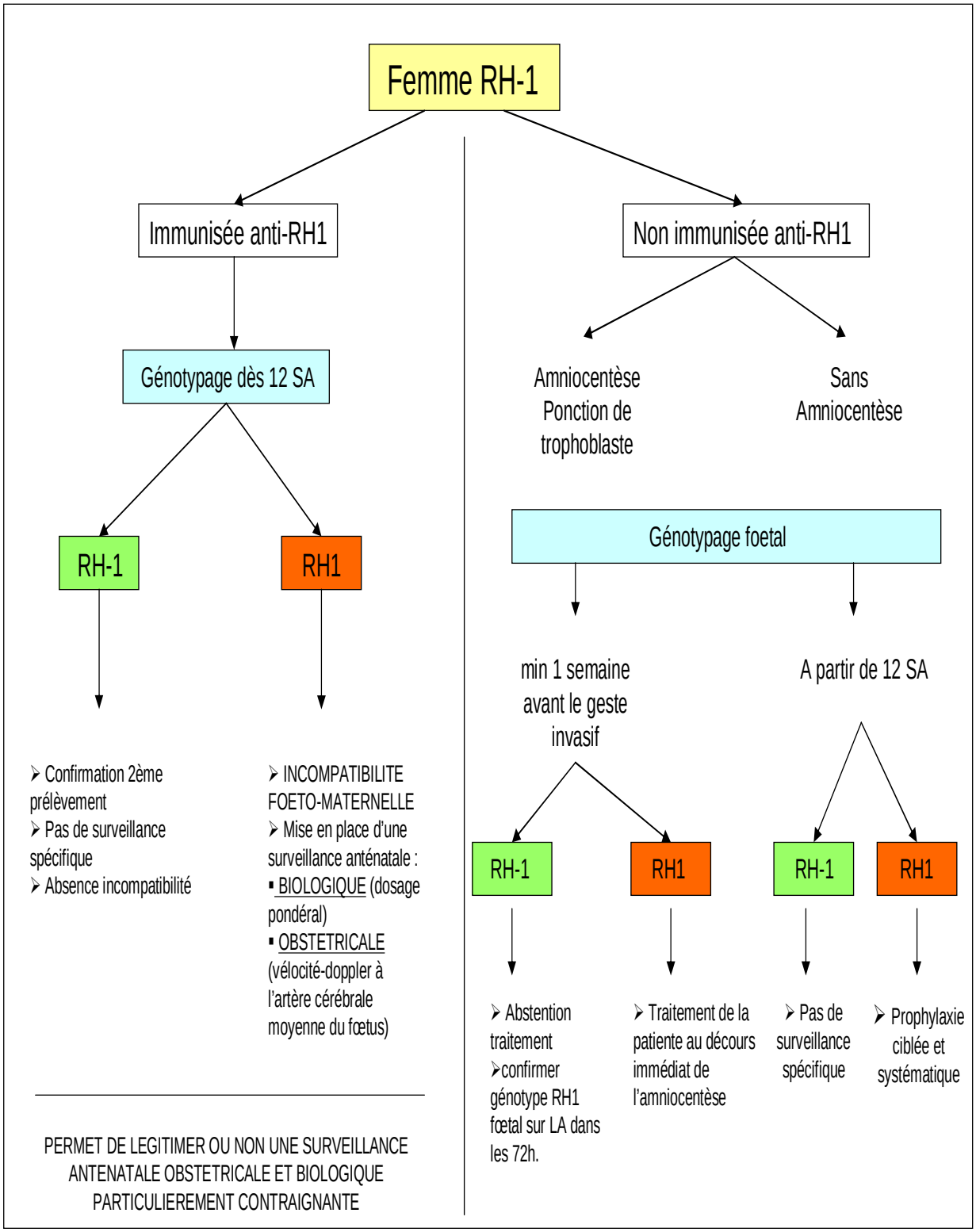
Le principal objectif de l'étude Geniferh est d'évaluer le rapport coût-efficacité (4000 patientes) de la réalisation systématique du génotypage RH1 fœtal non invasif, sur l'application de l'immunoprophylaxie RH1 et la pratique habituelle de suivi des femmes enceintes RH1 négatif des maternités en France (RPC 2005). Les objectifs secondaires de l'étude sont de vérifier la faisabilité de la stratégie de génotypage RH1 fœtal systématique, et d'analyser les génotypages « indéterminés » et les discordances génotypes/phénotypes.

5.1.4.6.Conclusion :

<u>Voici un tableau récapitulatif des cas les plus fréquents (chez les caucasiens) :</u>

EXON 7	EXON 10	EXON 5	ORIGINE DE L'ADN AMPLIFIE	GENOTYPAGE FOETAL
+	+	+	Maternelle	ININTERPRETABLE
+	+	+	Fœtale	*RHD* POSITIF
EXON 7	EXON 10	EXON 5	VERIFICATION EXTRACTION	GENOTYPAGE FOETAL
-	-	-	ADN traceur négatif	RE-EXTRACTION
-	-	-	ADN Traceur positif	*RHD* NEGATIF à vérifier Sur un second prélèvement

Arbre décisionnel, résumant les différentes situations où le génotypage peut être utile, ainsi que la prise en charge thérapeutique qui découle des résultats :



D'après : A. Mailloux, A.Cortey CNRHP, Hôpital St Antoine

5.2.Les impacts :

5.2.1.Impact biologique :

Le programme de prévention impose son lot d'examens biologiques :

- RAI (dépistage/identification)
- TK

Ces examens de biologie médicale se doivent donc d'être les plus fiables possibles, et le rendu des résultats doit toujours être accompagné d'une interprétation biologique, afin d'orienter le clinicien.

5.2.2.Impact clinique :

Les cliniciens doivent faire face à la prescription d'examens biologiques (RAI, TK….), et de médicaments dérivés du sang (Anti-RH1 passifs). Il en découle que le programme de prévention anti-RH1 n'est pas forcément « bien accepté » par l'ensemble des praticiens (GO notamment), ce qui se traduit par des différences de pratique et donc de prise en charge des patientes, ce que nous aborderons en détail dans notre deuxième partie.

5.2.3.Impact éthique :

Le programme de prévention expose à l'administration de produits dérivés du sang (anti-RH1 passifs), notamment suite à l'introduction de l'injection systématique, ce qui pose une question éthique. En effet, toute les femmes RH-1 ne portant pas un fœtus RH1, on expose cette part non négligeable d'entre-elles à un risque biologique potentiel (prions…) non justifié.

5.2.3.1. Les anti-RH1 passifs :

5.2.3.1.1. Définition :

Rhophylac® et Rhesonativ® sont les noms des spécialités d'immunoglobulines humaines anti-RH1 à disposition des spécialistes en France.

5.2.3.1.2. Modalités d'obtention :

Les anti-RH1 passifs sont obtenus par immunisation de volontaire sains masculins nord-américains RH:-1, contre rémunération. Il s'agit donc d'un médicament d'origine humaine, géré en France par le Laboratoire Français du Fractionnement et des Biotechnologies (LFB).

5.2.3.1.3. Spécialités disponibles :

Il existe quatre spécialités disponibles à la nomenclature :

- RHOPHYLAC 200 microgrammes/2 ml, solution injectable en seringue pré-remplie B/1 (CIP : 3639702)
- RHOPHYLAC 300 microgrammes/2 ml, solution injectable en seringue pré-remplie B/1 (CIP : 3639719)
- RHESONATIV 625 UI/ml, solution injectable, ampoule de 1 ml B/1 (CIP : 399 836 4)
- RHESONATIV 625 UI/ml, solution injectable, ampoule de 2 ml B/1 (CIP : 399 837 0) et B/10 (CIP : 399 838 7)

5.2.3.1.4. Indications thérapeutiques (IT) :

Les anti-RH1 passifs sont des médicaments destinés à être administrés aux personnes RH-1 dans les situations suivantes :

✓ Prévention de l'allo-immunisation foeto-maternelle RH1 chez les femmes RH-1 :
- Grossesse / accouchement d'un enfant RH1.
- Fausse couche / menace de fausse couche / grossesse ectopique ou môle hydatiforme.
- Hémorragie transplacentaire secondaire à une hémorragie pré-partum, amniocentèse, biopsie de villosité choriale ou manoeuvres obstétricales, telles que version céphalique externe, ou traumatisme abdominal.

Rappelons que dans cette indication, une RAI pré-injection (au maximum dans la semaine précédente) est indispensable.

- ✓ Traitement des sujets RH-1 après transfusions incompatibles de produits contenant des hématies RH1 (habituellement : 100 UI pour 1ml de concentré de GR).

5.2.3.1.5. Contrôle de l'efficacité transfusionnelle :

L'efficacité transfusionnelle doit être contrôlée en cas d'injection ciblée et à l'accouchement. Ce contrôle consiste en la réalisation du couple d'examens : RAI + TK.

5.2.3.1.6. Remboursement :

Le remboursement des injections est pris en charge à 100% dans le cadre des IT.

5.2.3.1.7. Modalités d'administration :

Selon les situations d'administration, la dose doit être adaptée en fonction des résultats du test de Kleihauer. De plus, avant toute injection, une RAI doit être réalisée afin de connaître le statut (immunisé ou non) de la patiente avant injection. La voie d'administration peut être intraveineuse, intramusculaire, ou une perfusion lente, selon le produit utilisé et l'indication thérapeutique.

5.2.3.1.8. Traçabilité :

La traçabilité des injections est obligatoire (pharmacie), et le numéro de lot doit figurer au niveau du dossier patient (et du carnet de grossesse) [15].

5.2.4.Impact financier :

Comparaison de coûts de la prévention systématique de l'allo-immunisation Rhésus, avec et sans génotypage [40] :

	Grande-Bretagne	France
Nombre de femmes Rh négatif	105 000	120 000
Coût des immunoglobulines	+ 7,6 à 8,5 millions €	+ 10,2 millions €
Coût de l'administration	+ 1,6 million €	+ 348 000 €
Économie par réduction des immunisations	– 600 000 €	– 685 000 €*
Coût total annuel	8,6 à 9,5 millions €	9,9 millions €
Coût par vie sauvée	22 350 €	21 500 €*
Coût par QALY **	67 000 à 75 000 €	67 100 €*

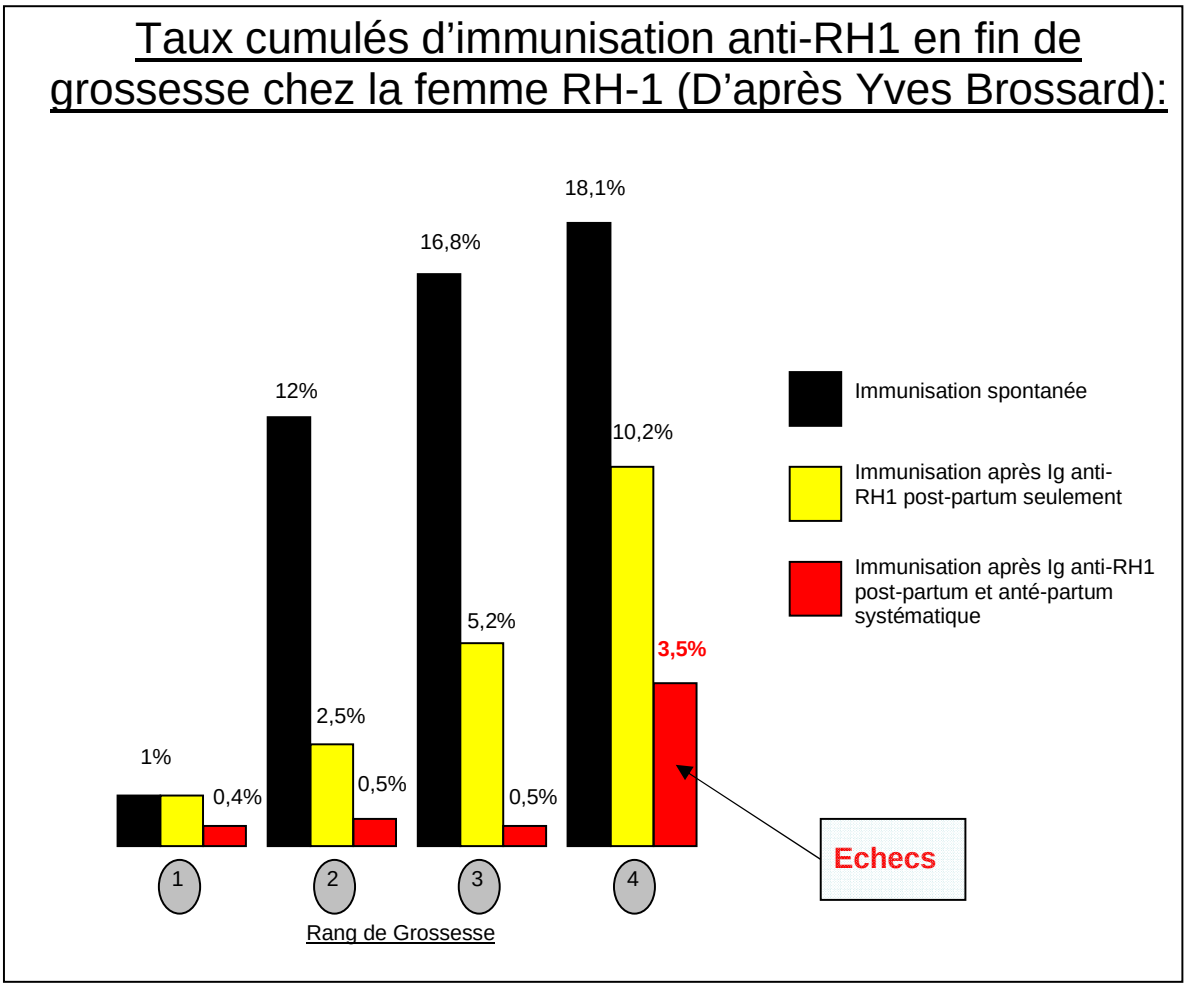
* : Coûts estimés sur la base de ceux de Grande-Bretagne. En France, une seule injection serait réalisée et non deux.
** : *Quality Adjusted Life Year.*

D'après : J Gynécol Obset Biol reprod 2006 ; 35 suppl. au n°1

Notons que pour arriver à un équilibre entre ces 2 politiques (sans prise en compte des arguments éthiques), il faudrait un coût du génotypage de l'ordre de 30 euros.

5.2.5.Les échappements :

Malgré tous les efforts de prévention, réalisés dans le cadre de l'allo-immunisation, des échecs de cette prévention persistent. Ils sont principalement dus à une mauvaise application de cette prévention. Cependant il existe des cas avérés d'AIFM pour lesquels aucune « erreur » dans le cadre de la prévention n'a pu être identifiée. Ainsi, par exemple, Y. Brossard a mis en évidence une augmentation des cas spontanés d'allo-immunisation anti-RH1 à partir du 4ème rang de grossesse [41] :



M.H Poissonnier: Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction (2007)

6. Prise en charge de l'AIFM avérée :

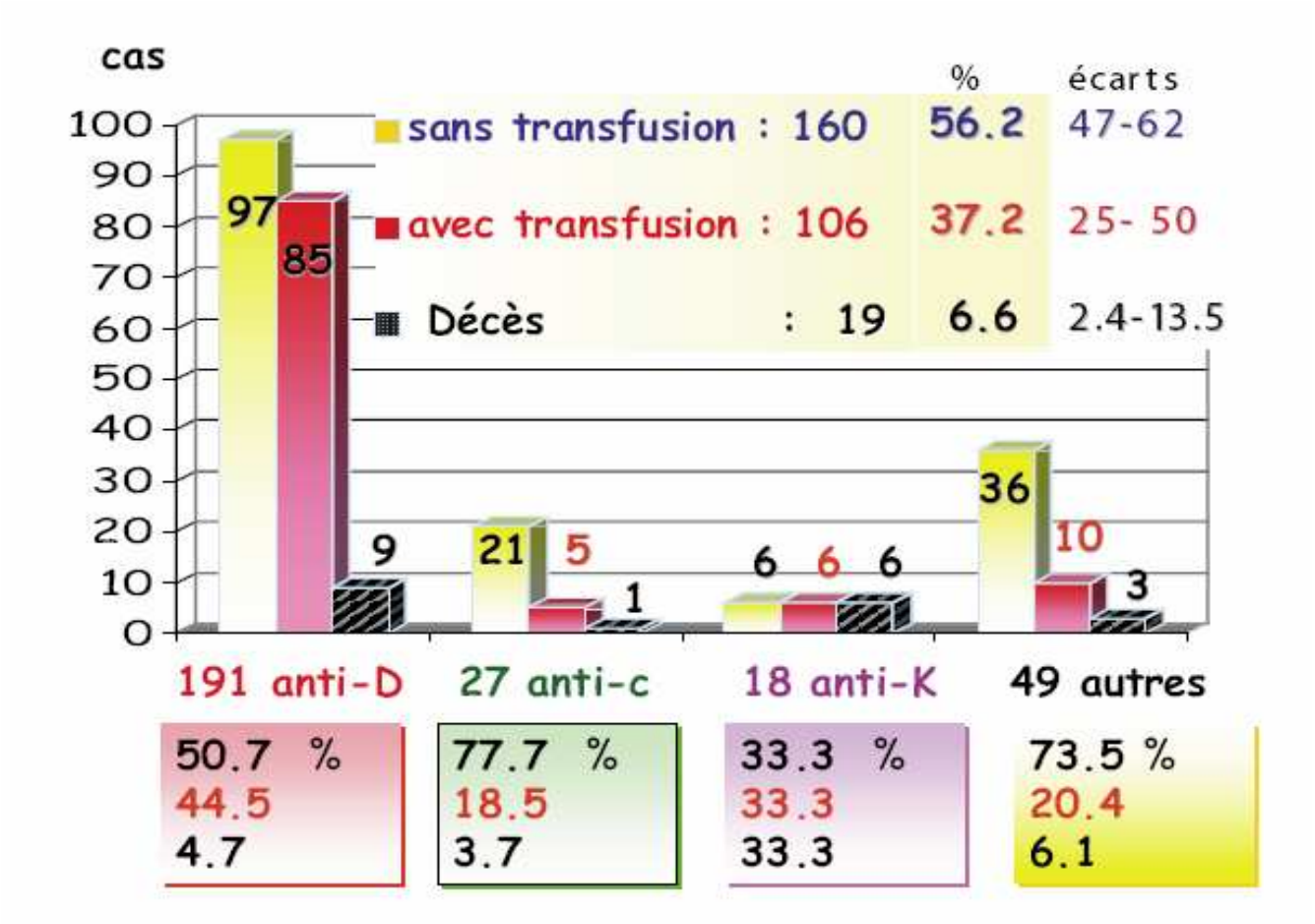
Lorsque un Allo-ac est retrouvé lors d'une grossesse, le suivi de la femme enceinte change. Il suit un calendrier défini, articulé autour de la nature de l'Ac et de l'évolution de sa cinétique.

6.1.Les Ac dangereux :

La prise en charge de la femme enceinte dépend de la nature de l'Ac identifié. Les anticorps potentiellement les plus dangereux sont par ordre de fréquence :

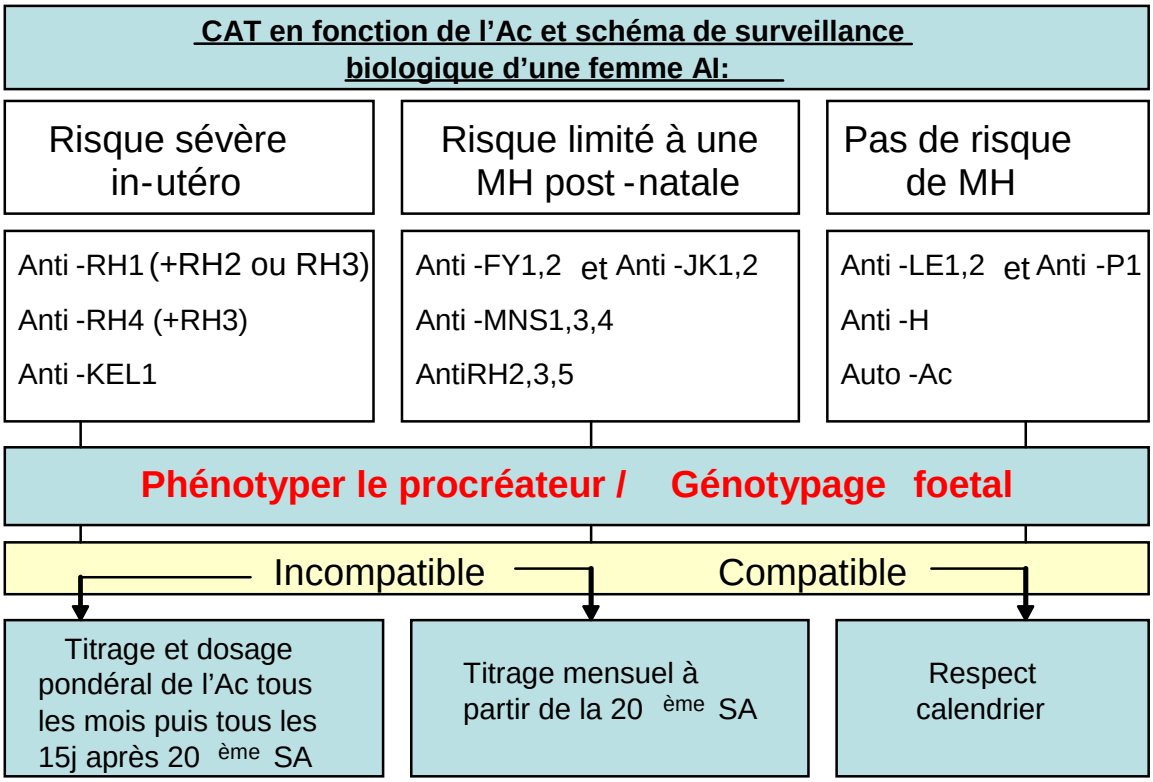
- L'Anti-RH1 (D)
- L'Anti-RH4 (c)
- L'Anti-KEL1 (K)

<u>Illustration : 285 Ac (Lyon 200-2007) [10] :</u>



6.2.Le calendrier de suivi :

En fonction de l'allo-Ac identifié, la prise en charge de la patiente qui en découle ne sera pas la même. En effet la dangerosité potentielle de l'Ac influe sur le suivi, qui sera plus ou moins rapproché. Voici un tableau récapitulatif de la conduite à tenir en fonction de l'Ac retrouvé :



Ce schéma de prise en charge est à moduler avec le titre de l'Ac, le suivi pouvant être beaucoup plus rapproché.

Si on prend l'exemple de l'anti-RH1, Ac le plus fréquemment en cause dans les cas graves d'AIFM (Risque sévère in-utéro), voici le schéma de surveillance à réaliser :

b) Dans un premier temps :

- Phénotypage du père (l'identité du géniteur doit être formelle !)
- Génotypage fœtal si possible

c) Dans un second temps :

Si la mère et l'enfant s'avèrent compatibles, on se contentera de suivre normalement le calendrier de la grossesse. Mais en cas d'incompatibilité foeto-maternelle avérée on réalisera :

- Titrage et dosage pondéral (si titre > 1/8 mensuel, puis tous les 15j à partir de 20 SA).

d) Si le taux de l'Ac dépasse 1µg/ml (250 U.CHP) :

- Le titrage et le dosage pondéral doivent être encore plus rapprochés.
- Le transfert de la mère en maternité niveau 3 devra être envisagé pour l'accouchement (césarienne éventuelle, mise à disposition de sang compatible, équipes spécialisées à même de réaliser des transfusions in-utéro si nécessaire…)

6.3.Les moyens biologiques de suivi de l'AIFM [10,42,43] :

6.3.1. Tests d'évaluation du risque :

Dès lors qu'un Allo-Ac a été identifié, il est nécessaire de réaliser divers examens biologiques afin de connaître à la fois l'évolution de son taux et son incidence potentielle sur la mère et le fœtus. Parallèlement il faudra suivre le bon état de santé du fœtus par d'autres examens, notamment radiologiques.

6.3.1.1.La titration :

Le titrage consiste en un Test Indirect à l'Antiglobuline polyvalente (TIA) réalisé en tube sur des dilutions géométriques du sérum. C'est un test de dépistage qui permet, par réalisation de dilutions géométriques de raison 2, de définir comparativement à un témoin positif (CNRHP) un titre d'Ac (le titre correspond à l'inverse de la dernière dilution positive). C'est un examen peu reproductible qui dépend de nombreuses variables (constante d'affinité de l'Ac, concentration de l'Ac, concentration de l'Ag…) et qui, de plus, n'est qu'un reflet de la quantité d'Ac capable de se fixer in-vitro sur les hématies tests (et non pas de la quantité totale d'Ac). Pour limiter cette variabilité de résultats, il est recommandé d'effectuer le suivi du titre de l'Ac dans le même laboratoire, et de toujours réaliser le dosage avec reprise en parallèle de l'échantillon maternel précédent. Mais même dans ces conditions, le titrage manque de corrélation avec la sévérité l'AIFM. C'est pourquoi il est nécessaire, afin de mieux appréhender le risque hémolytique, de l'associer au dosage pondéral (dès un titre de 1/8ème pour RH1 et de ¼ pour RH4, ou devant toute élévation brutale du titre).

6.3.1.2.Le dosage pondéral :

Le dosage pondéral vient en complément du titrage de l'Ac. Il permet de déterminer le taux de l'Ac (en µg/ml) et est très peu influencé par la constante d'affinité de l'Ac. Il repose sur une hémaglutination avec des GR bromélinés, réalisée en 2 temps et comparativement à un étalon de concentration connue :

- 1er temps : Utilisation de GR faiblement bromélinés :

Le résultat correspond à la fraction broméline résistante de l'anti-RH1 (Ac de forte affinité), ce qui exclut les IgG3 (Ac de faible affinité).

- 2ème temps : Utilisation de GR fortement bromélinés :

Le résultat correspond à l'ensemble des différentes classes d'IgG anti-RH1.

Interprétation :

Si T1≈ T2 : IgG1 majoritaires : Risque hémolytique élevé et prolongé (demie-vie longue)

Si T1< T2 : contingent IgG3 plus élevé, et donc risque moins sévère (demie-vie courte)

L'association du titrage et du dosage pondéral est donc complémentaire [44], l'activité fonctionnelle d'un Ac reposant sur sa quantité (évaluée par le dosage pondéral) et son affinité (reflet du titrage). Il est en effet important de considérer qu'à concentration égale, un anticorps ayant un titre élevé (forte affinité) entraînera un risque hémolytique majeur in utero, alors qu'un anticorps ayant un titre faible (faible affinité) sera moins agressif. A titre d'exemple, le seuil de dangerosité de l'Ac anti-RH1 est fixé à un titre de 32, pour un dosage pondéral de 1µg/ml = 250 U.CHP/ml = 50 U.I. Selon le calendrier évoqué précédemment, la fréquence de réalisation de ces examens est d'une fois par mois à partir de la découverte de l'Ac, et d'une fois tous les 15 jours minimum à partir de la 20ème SA ou en cas d'immunisation sévère (dans ce cas le suivi peut être encore plus rapproché).

Limites :

- Test non réalisable avant la 12 SA
- Il n'existe pas de dosage pondéral pour tous les Ac (disponible uniquement pour : anti-RH1, RH2,RH3, RH4, RH5).

Tableau des taux critiques en titre des Ac [9] :

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

6.3.2. Les autres moyens de suivi :

En complément des examens biologiques, d'autres examens doivent êtres réalisés, notamment radiologiques :

6.3.2.1.Pic systolique de vélocité à l'artère cérébrale moyenne (PSV-ACM) :

Toujours dans le but de diagnostiquer l'anémie fœtale, une technique non invasive par doppler cérébral s'est développée : la PSV-ACM. Elle permet de prouver l'anémie, par l'analyse doppler du flux artériel de l'ACM (meilleure cible pour prouver l'anémie), en objectivant la diminution de la viscosité sanguine et l'augmentation du débit cardiaque.

6.3.2.1.1. Description de la méthode :

C'est une méthode non invasive qui consiste en un repérage du polygone de Willis par doppler avec orientation de la sonde, de manière à obtenir un alignement idéal de l'axe du faisceau Doppler avec celui de l'ACM du fœtus. Après mise en place de la fenêtre du Doppler au milieu du tiers proximal de l'ACM, plusieurs mesures de PSV sont réalisées, pour en obtenir une de bonne qualité. Le choix de l'ACM comme artère cible repose sur son accès relativement simple, couplé à une moindre variabilité des résultats inter-équipe sur cette artère [45].

6.3.2.1.2. Interprétation des résultats :

L'interprétation des mesures de PSV-ACM s'effectue en comparaison avec les valeurs normales (fonctions de l'âge gestationnel) établies par Mari et Deter (courbes Mari) [45]. Le résultat final est rendu en Multiple de la Médiane (MoM) qui est un ratio entre la valeur de PSV-ACM retrouvée et la valeur moyenne normale de PSV-ACM pour l'âge gestationnel donné, selon la littérature [45]. Des études récentes [46], ont démontré la bonne corrélation entre ce ratio exprimé en MoM et le taux d'hémoglobine fœtale, lui-même exprimé en MoM (toujours en fonction de l'âge gestationnel).

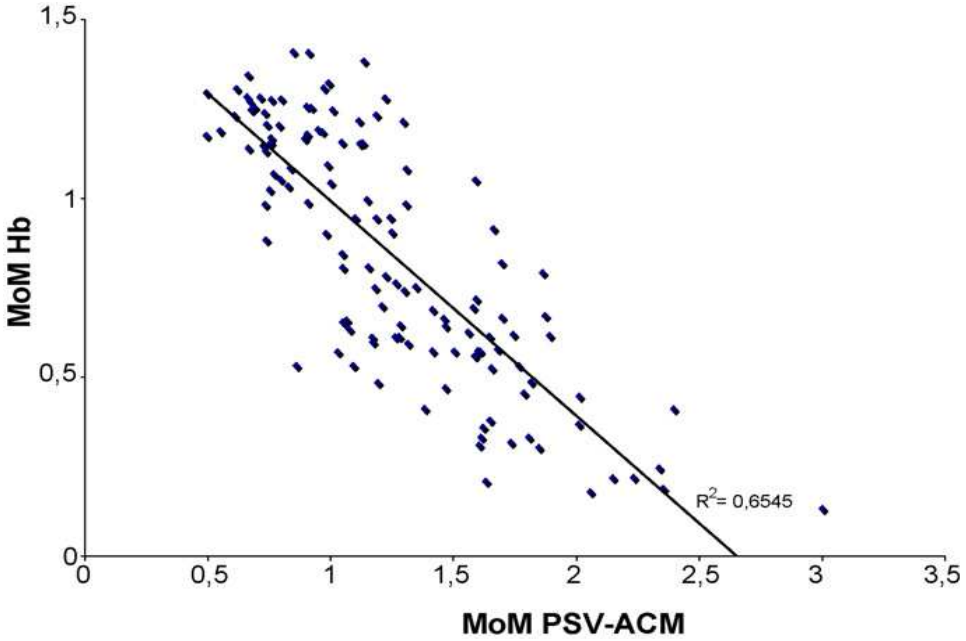


Figure : Corrélation entre le PSV-ACM et le taux d'hémoglobine foetale, tous deux exprimés en MoM ($R2$ = 0,6545 ; $p < 0,001$), d'après Carbonne et al. [46].

On notera le caractère immédiat de la correction du PSV-ACM après transfusion, ce qui suggère qu'une part importante de la vitesse sanguine cérébrale, est déterminée par la viscosité du sang [47]. Cette méthode semble très fiable pour un suivi entre la 16ème et la 35ème SA [48,49], mais impose une répétition des mesures, à la fréquence minimale de une tous les 7 jours, pour en augmenter la sensibilité. La valeur seuil de PSV-ACM actuellement retenue est de 1,5 MoM. En retenant cette valeur seuil de PSV-ACM, on obtient une excellente Valeur Prédictive Négative (VPN), proche de 100 %. Par contre la spécificité et la Valeur Prédictive Positive (VPP) restent médiocres [46]. Voici une étude de Carbonne et Al, réalisée sur 335 mesures de PSV-ACM (au seuil de 1,5 MoM), méthode choisie comme valeur prédictive d'une anémie foetale sévère (hémoglobine inférieure à 0,55 MoM) :

	Pourcentage [IC 95%]
Sensibilité	77,8 [82,3—90,2]
Spécificité	86,7 [82,3—90,2]
VPN	**97,8 [95,0—99,1]**
VPP	33,9 [22,6—47,1]

La conclusion de cette étude est que la PSV-ACM, est une excellente technique (VPN proche de 100 %) pour écarter l'hypothèse d'une anémie fœtale sévère, sans geste invasif (le geste même de ponction de sang fœtale exposant à un risque de décès du foetus). D'autres études ont par ailleurs démontré l'efficacité nettement supérieure de cette technique, comparativement à l'échographie [50] ou à l'amniocentèse (pour mesure de l'indice optique sur liquide amniotique quant à la mise en évidence d'une anémie sévère) [51].

6.3.2.2.L'échographie foetale :

L'échographie fœtale fait partie avec le PSV-ACM et l'association titrage/dosage pondéral, du suivi de grossesse, lors d'allo-immunisation. Elle permet de rechercher des signes d'anasarque foeto-placentaire consécutifs à une anémie (ascite, épanchement thoracique, œdème sous-cutané) et renseigne sur la vitalité fœtale. Cependant elle peut se révéler faussement rassurante même en cas de forme grave [52]

6.3.2.3.Autres techniques non invasives :

L'étude de la mobilité fœtale spontanée (score de Manning) ainsi que la surveillance du rythme cardiaque fœtal sont de bons indices pronostics de souffrances foetale. En cas d'anémie le rythme devient peu oscillant, puis sinusoïdal en cas d'anémie sévère.

6.3.3. Phénotypage du père :

Si la paternité est certaine (mais comment en être sûr ?), le phénotype du procréateur peut permettre de confirmer l'incompatibilité foeto-maternelle et d'assurer la prise en charge adéquate, ou au contraire de rassurer en écartant l'hypothèse d'un risque d'anémie fœtale, rendant inutile toute prophylaxie [15].

6.4.Possibilités thérapeutiques [53,54] :

6.4.1. Pour le fœtus :

6.4.1.1.La Transfusion In-Utéro (TIU) :

L'objectif de la TIU est de prolonger la durée de la grossesse normale en améliorant l'oxygénation tissulaire fœtale. La TIU nécessite un personnel formé et expérimenté (obstétriciens, échographistes, biologistes…), car c'est un geste lourd, sous guidage échographique [55], dont le rapport bénéfice/risque doit être bien mesuré. Le seuil transfusionnel souvent retenu est de 7g/dl au deuxième trimestre et de 9g/dl au troisième.

<u>La TIU expose à de nombreux risques :</u>

- Risque de mortalité fœtale de 1à 3 %
- Risque d'intensification de l'allo-immunisation par HFM
- Risques infectieux

<u>Caractéristiques des CGR transfusés</u> :

- Sans immuns (ne contenant pas d'hémolysines).
- De moins de 5 jours.
- Compatibilisés avec le sérum de la mère (consiste à tester le sérum de la mère avec les GR de la tubulure du CGR à transfuser pour garantir la compatibilité).

- Phénotypés étendus (RH, KELL, Duffy, Kidd, MNS3, MNS4).
- Irradiés (transformation recommandée en cas de transfusion intra-utérine, d'exsanguino-transfusion ou de transfusion massive chez le prématuré, pour prévenir une GVH, par irradiation à une dose de rayonnements ionisants de 25 à 45 Gy).
- CMV négatif (provenant de donneurs chez lesquels la recherche d'Ac anti-CMV est négative au moment du don).
- Réduction de volume (élimination aseptique d'une partie du milieu de suspension d'un CGR déleucocyté par centrifugation, pour obtenir un hématocrite de 70 à 85%).

Le volume à transfuser est défini par la formule suivante [54] :

$$V\ (ml) = \frac{([Hb]\ \text{désirée} - [HB]\ \text{fœtale}) \times VSFP}{([Hb]\ \text{du produit} - [HB]\ \text{désirée})}$$

Avec VSFP = Volume Sanguin Foeto-Placentaire : 90 à 120 mL/kg de poids fœtal.
Ce volume est ajusté en cours de transfusion en fonction des résultats intermédiaires des dosages de l'hémoglobine fœtale. L'objectif visé est une concentration en hémoglobine de 16 à 17 g/dl.

Les différents types de transfusions in-utéro possibles :

a) La transfusion péritonéale.

Elle est de moins en moins pratiquée aujourd'hui (sauf si < 20 SA) [53], au profit de la transfusion et de l'exsanguino-transfusion in-utéro par guidage échographique. C'est une technique bien maîtrisée, mais qui peut conduire à un retard de résorption sanguine, et ainsi à un certain délai avant la compensation attendue de l'anémie.

b) La transfusion in-utéro :

Elle offre les avantages d'être relativement simple à pratiquer, et rapide à mettre en place.
Par contre ses inconvénients sont :

- une correction seulement partielle de l'anémie, mais immédiate
- une non-épuration des GRF (RH1 positifs par exemple)
- des risques de surcharges hydriques

c) L'exsanguino-transfusion in-utéro :

C'est la technique la plus efficace. La veine ombilicale est ponctionnée grâce à un guidage échographique, et, une fois l'aiguille en place, cette veine ne doit plus bouger, ce qui implique une sédation du fœtus (la persistance de mouvements fœtaux pouvant conduire à l'échec). Sa durée moyenne est de 30 à 60 min.

Ses avantages sont :

- Une absence de risque de surcharge.
- Une épuration des GRF (partielle).
- Un hématocrite obtenu supérieur aux autres techniques, quelque soit le chiffre initial.

Son inconvénient majeur est sa longue durée, ce qui augmente les risques inhérents à la technique.

6.4.1.2.Maturation pulmonaire :

En cas d'échec des transfusions in-utéro (inefficacité ou réalisation impossible), la décision d'extraction du fœtus par césarienne en urgence peut conduire à entamer une maturation pulmonaire du fœtus par injection de corticoïdes.

6.4.1.3.Césarienne :

En cas d'évolution défavorable de l'état du fœtus, une césarienne peut être réalisée pour extraire le fœtus en urgence après maturation pulmonaire.

6.4.2. Pour l'enfant à la naissance :

A partir de la naissance, l'anticorps est responsable non seulement de l'anémie, mais aussi de l'augmentation du taux de bilirubine (conséquence de l'hémolyse et du fait que le placenta ne filtre plus cette bilirubine, alors que le foie est encore immature).

6.4.2.1.Prise en charge de l'anémie :

6.4.2.1.1. La transfusion (recommandations AFSSAPS) :

Il n'est pas recommandé de transfuser des CGR dans le seul but de maintenir une concentration en Hb. L'indication de la transfusion de CGR dépend :

- De l'existence de signes cliniques d'intolérance de l'anémie.
- Du contexte pathologique et des facteurs de risques associés.
- De l'importance de l'écart entre la concentration en Hb et les valeurs de référence pour l'âge postnatal.
- De la rapidité de survenue de l'anémie.
- Des possibilités de régénération médullaire (taux de réticulocytes).

Caractéristiques des produits utilisés :

- De moins de 5 jours.
- De groupe sanguin ABO compatible avec la mère et l'enfant.
- Phénotypés RH/Kell.
- Irradiation, CMV négatif, et réduction de volume, sont à définir selon le terme.

6.4.2.1.2. L'exsanguino-transfusion :

Les buts de l'exsanguino-transfusion sont :

- Epurer les Allo-Ac dirigés contre les Ag du nouveau-né.
- Epurer la bilirubine libre.
- Corriger l'anémie

Le seuil retenu pour la décision d'exsanguino-transfusion est de 340 à 430 µmol de bilirubine totale chez le nouveau-né. Le volume échangé est supérieur ou égal à deux fois le volume sanguin total de l'enfant.

6.4.2.1.3. L'érythropoïétine (EPO) :

L'EPO permet (si le taux résiduel d'Ac est assez faible chez l'enfant) de réduire la fréquence et le volume des transfusions du prématuré si son poids est inférieur à 1 kg, ou en cas de naissance avant 34 SA.

Modalités d'administration :

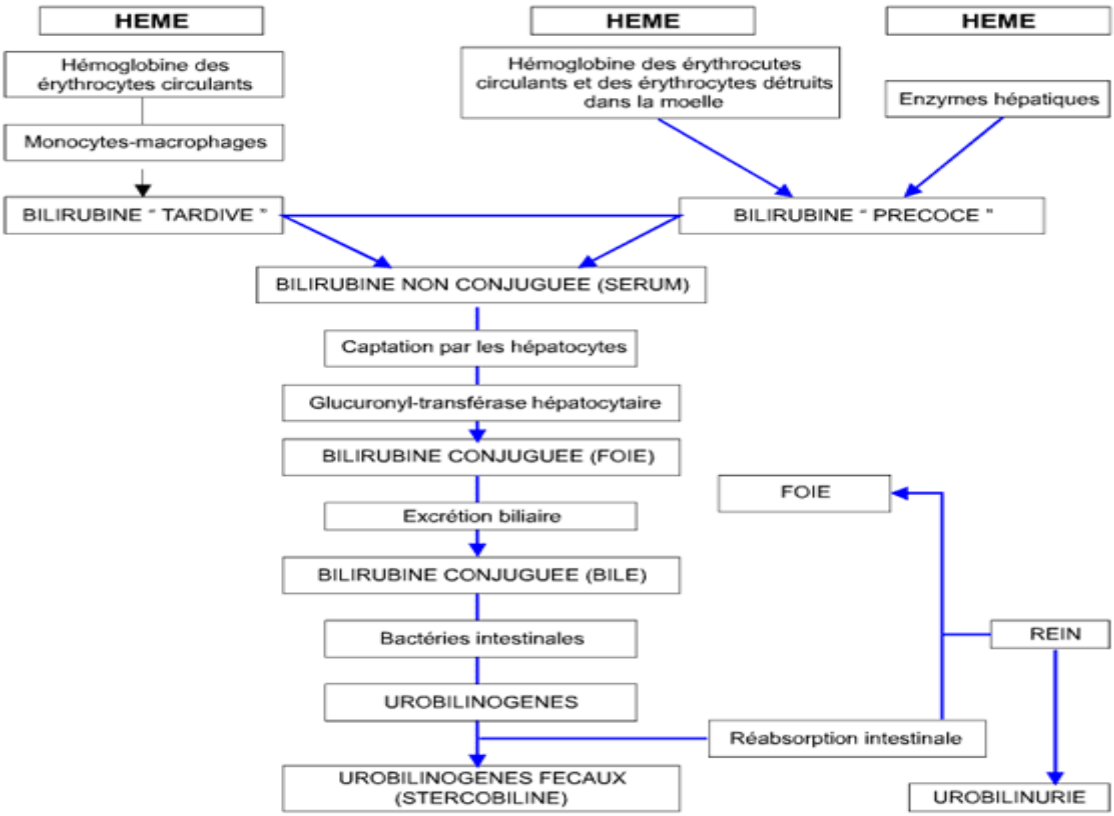
- 1ère dose précoce (3-8ème jour) car délai d'action de 15 jours.

- 750 U/kg/semaine en 3 administrations par voie sous-cutanée.
- Apport entéral précoce de fer, au bout de 15 jours de traitement par EPO, si la tolérance digestive le permet.

L'EPO n'est utilisable que pour maintenir le taux d'hémoglobine obtenu après transfusion, et en l'absence d'un taux trop élevé d'allo-Ac, car elle stimule uniquement la propre production de GR de l'enfant (GRF qui sont la cible de ces allo-Ac), d'où une inefficacité thérapeutique.

6.4.2.2.Prise en charge du taux de bilirubine :

L'ictère physiologique du nouveau-né (30 à 50% des naissances) résulte de l'hémolyse néonatale où une grande quantité de Bilirubine Non Conjuguée (BNC) est libérée, et où le foie encore trop immature ne possède pas une capacité suffisante de conjugaison (immaturité enzymatique de la Glycuronyl-transférase).



D'après : Objectifs nationaux rédigés par les membres de la collégiale des universitaires en Hépato-Gastroentérologie - Version 2006

Cet ictère disparaît spontanément vers le 5ème jour, l'hémolyse n'étant pas entretenue par la présence d'un Ac. Par contre, lors d'une AIFM, l'allo-Ac va entretenir la production de BNC par dégradation des GRF. Tant que l'on est in-utéro, la BNC est filtrée par le placenta et n'est donc pas « à risque » pour le fœtus. Mais dès la naissance, le taux de BNC de l'enfant peut atteindre des taux très élevés, car la bilirubine n'est plus filtrée par le placenta, et le foie de l'enfant, encore immature, n'est pas encore capable d'assurer sa conjugaison et donc son élimination. L'accumulation de BNC devient alors particulièrement toxique pour le système nerveux de l'enfant.

6.4.2.2.1. L'exsanguino-transfusion :

Nous l'avons vu, en plus de traiter l'anémie, l'EST permet après l'accouchement, d'épurer le sang fœtal en bilirubine libre.

6.4.2.2.2. La photothérapie (PT) [57] :

Principe :

La PT utilise comme principe actif, la portion d'énergie radiante qu'émet une lumière dans l'amplitude thermique de longueur d'onde variant entre 400 et 500nm. Celle-ci provoque l'isomérisation de la BNC, ce qui a pour effet de la rendre plus hydrophile et directement éliminable dans la bile ; on parle alors de photobilirubine. La PT agit jusqu'à une profondeur de 2mm sous la surface cutanée. Il existe trois niveaux de photothérapie selon l'irradiance [58] : les dispositifs en berceau ou maternisés (< 1 mW/cm^2), la photothérapie classique (1 à 2 mW/cm^2) et la photothérapie intensive (≥ 3 mW/cm^2).

Matériel utilisé :

L'énergie radiante utilisée en PT, est issue de lampes émettant des lumières fluorescentes, dont l'efficacité varie selon :

- L'âge de l'ampoule.
- La distance lumière/enfant.
- L'angle par rapport au patient.
- Les matériaux placés entre la lumière et l'enfant (éviter couches, bonnets…).
- Le nombre de lumières employées.

- La couleur de la lumière émise : lumière bleue spéciale > lumière bleue > lumière blanche (la lumière bleue est mieux absorbée par une peau ictérique [59]).
- La surface corporelle exposée (l'utilisation d'un miroir, ou de fibres optiques, associés à la photothérapie conventionnelle, permet d'augmenter la surface exposée et donc l'efficacité [58,60]).
- Le temps d'exposition.

L'énergie émise n'est pas interprétable à l'œil nu, en qualité de luminosité, de couleur ou de brillance, mais nécessite l'utilisation d'un photoradiomètre. On notera l'intérêt des collecteurs d'urine dans la gestion du protocole de PT :

- ➢ Dès la naissance ils sont placés à demeure et permettent un contrôle optique de la couleur des urines.
- ➢ Des urines foncées sont en faveur d'une conjugaison :
- Arrêt photothérapie si PT en cours.
- Annulation de la PT si non amorcée.

<u>Déroulement général [61] :</u>

- Lampe placée à une distance < 50 cm du bébé.
- Protection de ses yeux (Masque).
- Séances discontinues de 4 à 8 heures.

<u>Effets secondaires :</u>

- Déshydratation par augmentation des pertes hydriques cutanées [62] et risque d'hyperthermie [63].
- Effets oculaires : port de lunettes non rigides.
- Malaises graves, voire mort subite (multifactoriel) [64].

II. Le suivi de la femme enceinte allo-immunisée en Lorraine :

1. Les recommandations en vigueur :

Les recommandations toujours actuellement utilisées sont celles du CNGOF 2005.
Nous allons en lister brièvement les principales lignes.

1.1. Promoteur des recommandations :

Il s'agit du CNGOF (Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français, 184, rue du Faubourg-Saint-Antoine, 75012 Paris, France).

1.2. Plan des recommandations CNGOF 2005 [7] :

I. INTRODUCTION
II. ÉPIDÉMIOLOGIE DE L'ALLO-IMMUNISATION RH1
III. EFFICACITÉ DES DIFFÉRENTES POLITIQUES DE PRÉVENTION ANTÉNATALE
IV. COUT DE LA PREVENTION
V. SECURITE DE L'ADMINISTRATION D'IG HUMAINE
VI. PERSPECTIVES
VII. RECOMMANDATIONS PRATIQUES

1.3. Détails des recommandations pratiques et niveaux de preuve (Grade ANAES) :

<u>Rappel des Grades ANAES :</u>

Grade A : Preuve scientifique établie
Grade B : Présomption scientifique
Grade C : Faible niveau de preuve

1.3.1. Mesures générales au cours de la grossesse :

- Une double détermination de groupe sanguin RH1 et une RAI doivent être obtenues dès le premier trimestre de la grossesse chez toutes les femmes.
- Si la femme est RH-1, une information doit être délivrée sur l'immunisation anti-RH1 (dépistage, suivi, prévention), et à cette occasion, le groupe RH1 du conjoint est à documenter.
- Si la femme n'est pas immunisée contre l'Ag RH1, un contrôle de RAI doit être réalisé au cours du 6ème mois de grossesse, idéalement entre 26 et 28 semaines d'aménorrhée.
- Lorsqu'une indication d'immunoprophylaxie se présente :
  - Si le conjoint est RH-1 et la paternité certaine, la prophylaxie peut être évitée.
  - Si le conjoint est RH1 ou inconnu : la prophylaxie anti-RH1 doit être proposée et une information sera alors donnée à la patiente et son consentement devra systématiquement être obtenu avant toute administration d'immunoglobulines anti-RH1.
- Avant toute décision d'administrer des immunoglobulines anti-RH1, on s'assurera de l'absence d'immunisation anti-RH1 par une RAI de moins d'une semaine (dans les situations d'urgence, le résultat ne doit pas être attendu pour réaliser l'injection).
- Lorsque le génotypage foetal RH1 sur sang maternel peut être réalisé, il est recommandé de l'appliquer afin de limiter la prophylaxie Rh aux seules femmes enceintes d'enfant RH1.
- L'efficacité de l'immunoprophylaxie repose sur une posologie d'anti-RH1 et sur l'injection des Ig dans les 72 heures après un événement potentiellement immunisant (grade B). Au-delà, un bénéfice peut être espéré jusqu'à 30 jours.
- Lorsque la galénique des immunoglobulines anti-RH1 autorise la voie IM ou la voie IV, la voie intraveineuse sera toujours préférée pour la prophylaxie post-exposition. La voie intraveineuse est hautement recommandée lorsqu'on s'approche du délai de 72 heures ou en cas d'hémorragie foetomaternelle identifiée.
- Lorsqu'une nouvelle circonstance anténatale indiquant une immunoprophylaxie ciblée survient après une première administration d'anti-RH1, on peut s'abstenir de renouveler la prophylaxie dans un délai qui est fonction de la dose antérieurement reçue (9 semaines pour 200µg, 12 semaines pour 300µg).

- L'abstention s'applique dans tous les cas où il existe un risque modéré de passage d'hématies foetales si et seulement si le TK est négatif lors d'une circonstance à risque important de passage d'hématies fœtales.
- Lors de toute injection d'immunoglobulines, le nom du produit et le numéro de lot doivent être notés dans le dossier patient.

1.3.2. Prophylaxie au premier trimestre de la grossesse :

- Une injection unique de 200 µg d'immunoglobulines anti-RH1 par voie intramusculaire ou intraveineuse est justifiée pour tous les événements répertoriés (Grade B).
- Il n'y a pas de limite inférieure d'âge gestationnel pour la réalisation de la prévention (Grade C).
- Un TK n'est pas nécessaire avant l'injection d'Ig (Grade C).

1.3.3. Prophylaxie au second trimestre de grossesse :

- Les circonstances conduisant à proposer une immunoprophylaxie anti-RH1 sont listées (Grade B).
- Dans des circonstances pouvant entraîner un passage important d'hématies foetales, la posologie sera guidée par un TK.
- Pour toutes les autres circonstances, le TK est inutile et une dose de 200µg suffit.

1.3.4. Prophylaxie au 3ème trimestre de grossesse :

- Toute femme enceinte RH1 négatif, non immunisée contre l'antigène RH1 et dont le foetus est connu ou présumé RH1 positif, se verra proposer une injection d'Ig anti-RH1 de 300µg par voie IM à 28 semaines d'aménorrhée (± 1 semaine) (Grade A).
- Lorsque l'injection de 300µg d'anti-D a été réalisée, il n'est pas nécessaire de répéter par la suite les RAI en vue de dépister une immunisation anti-RH1, et ce jusqu'à l'accouchement Grade C).

- Les RAI ultérieures sont à visée exclusivement transfusionnelle, il est donc recommandé de ne pas réaliser cet examen avant admission pour l'accouchement (Grade C).
- Si la patiente n'a pas reçu d'injection de 300µg d'anti-D à 28 semaines d'aménorrhée (grade C), la RAI du huitième mois doit être maintenue et la prophylaxie ciblée sera effectuée comme au cours du second trimestre.

1.3.5. Recommandations lors de l'accouchement :

- Le phénotype RH1 du conceptus doit être déterminé. Le prélèvement peut être réalisé sur du sang prélevé au cordon ombilical (Grade B).
- Si l'enfant est RH1 positif, un TK sera effectué sur un échantillon de sang maternel prélevé au minimum 30 minutes après la délivrance (Grade C).
- Si l'enfant est RH1 positif, la mère se verra proposer une prophylaxie anti-RH1 dont la posologie et la voie d'administration seront à adapter en fonction du TK (Grade C).
- En cas d'oubli d'administration des immunoglobulines dans les premières 72 heures, l'injection peut tout de même être réalisée jusqu'à 30 jours après l'accouchement (Grade C).
- En cas d'injection systématique d'immunoglobulines anti-RH1 chez la mère à 28 SA, le test de Coombs peut être positif chez le nouveau-né RH1 (près de 10 % des cas). En l'absence de symptomatologie associée (ictère, anémie), aucune exploration complémentaire n'est à prévoir (élution, identification des anticorps fixés) (Grade C).

2. Les gynécologues obstétriciens (GO) : des acteurs au cœur de la prévention :

2.1. Réalisation d'un questionnaire :

2.1.1. Thème du questionnaire :

Le thème de notre questionnaire est le « Suivi de la femme enceinte allo-immunisée en Lorraine. »

2.1.2. Public visé :

Le questionnaire que nous avons réalisé était à destination des GO de Lorraine.

2.1.3. Contenu du questionnaire :

2.1.3.1. Nombre d'items :

Le questionnaire comporte 16 items, dont plusieurs sont fractionnés en sous-questions.

2.1.3.2. Choix des questions et organisation des items :

Le premier item est destiné à définir si le gynécologue obstétricien sondé, exerce depuis plus ou moins de 5 ans, afin d'évaluer une éventuelle influence des recommandations du CNGOF de 2005 dans la pratique de ces professionnels. Le dernier item est quant à lui relatif à la perception que les GO ont eu sur ce questionnaire, concernant son contenu et son format. Les 14 items restants sont directement liés au sujet du questionnaire.

2.1.4. Format du questionnaire :

Afin d'obtenir la meilleure compliance possible des GO dans le remplissage du questionnaire, celui-ci a été réalisé au format WORD, afin qu'il puisse être envoyé, rempli et renvoyé informatiquement, par mail. Pour cela nous avons utilisé la fonction « formulaire » de WORD, qui nous a permis de créer des questions sous forme de QCM, avec case à cocher directement à la souris, ou bien des menus déroulant avec des réponses à sélectionner.

Enfin chaque question était suivie d'une case de commentaire libre afin de recueillir toute réponses non prévues, remarques ou suggestions. Tout ceci dans le but de faciliter le remplissage du questionnaire, et de diminuer le coût et les difficultés, liées à une version papier (enveloppes pré-timbrées pour les retours…)

2.2. Envoi du questionnaire et retours obtenus :

Le questionnaire informatisé a été envoyé par mail à plus de cent Gynécologues-Obstétriciens de Lorraine. Quarante d'entre eux y ont répondu, soit moins d'un sondé sur deux.

2.3. Problèmes rencontrés :

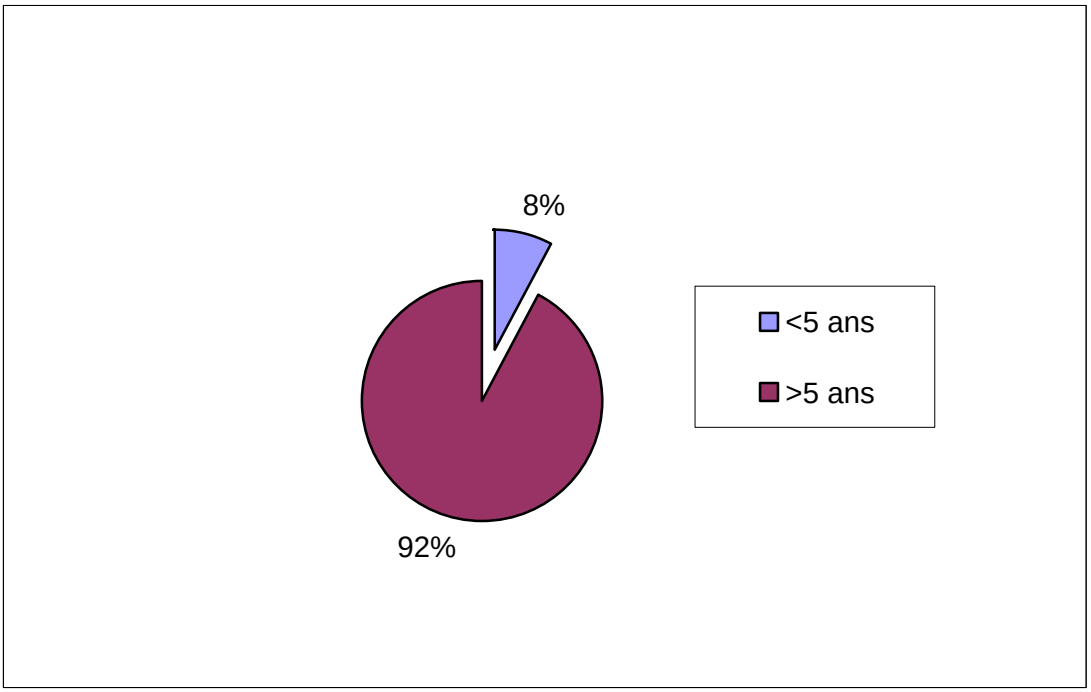
Le taux de réponse de 40% n'a pu être obtenu qu'après un grand nombre de relances, le plus souvent doublées de contacts téléphoniques, ce qui peut traduire un manque d'intérêt d'une partie des sondés pour ce type d'étude. Par contre tous les questionnaires retournés par les GO étaient totalement et correctement complétés, l'intégralité des données reçues a donc été exploitable. On notera que plus les retours ont été rapides, plus les réponses se sont avérées détaillées (en commentaires libres).

Un exemplaire vierge du questionnaire se trouve en annexe (p 119).

3. Analyses des données des questionnaires complétés :

3.1. Item 1 :

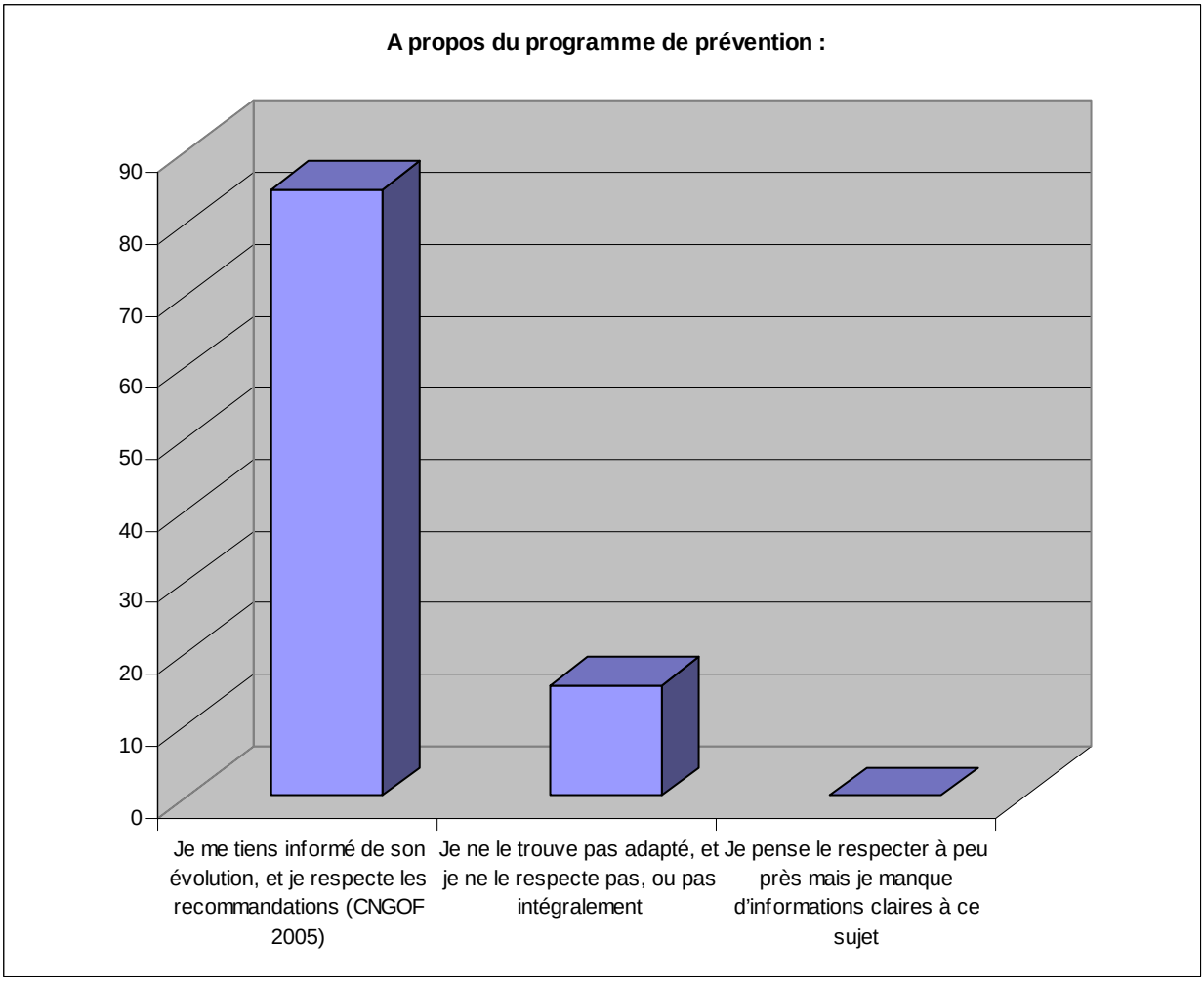
Depuis combien de temps exercez-vous en tant que Gynécologue-Obstétricien ?



Cette première question avait pour unique objectif de mettre en évidence, ou non, des différences notables dans les réponses des GO, selon qu'ils exerçaient déjà leur profession avant les recommandations CNGOF 2005, ou bien depuis la parution de celles-ci. Malheureusement le recrutement des GO (maternités +++) n'a pas permis de récolter suffisamment de données provenant de « jeunes praticiens » pour établir statistiquement des différences. On notera toutefois que les GO exerçant depuis 2005, semblaient (sous réserve de ce faible nombre de réponses) respecter plus scrupuleusement les recommandations CNGOF 2005, que la majorité de leurs aînés.

3.2. Item 2 :

<u>Concernant le programme de prévention de l'allo-immunisation anti-RH1 (Anti-D) :</u>



Cette deuxième question avait pour but de nous donner une vision critique, de la part des GO eux-mêmes, vis à vis des recommandations CNGOF 2005, les dernières en vigueurs. Comment les GO allaient-ils juger le contenu de ces recommandations ? On observe qu'une grande majorité des GO (> 85 %) affirme se tenir au courant des dernières recommandations (CNGOF 2005) et en suivre scrupuleusement le contenu (pas une seule réponse en faveur d'un manque de connaissance de ces recommandations). Nous verrons par la suite, qu'elles sont pourtant loin de faire l'unanimité au sein des GO et qu'une grande hétérogénéité existe dans leur application. Par contre, quand des réserves sont émises (près de 15%), elles sont souvent virulentes et semblent traduire l'existence d'un véritable « malaise » au sein des GO envers l'application intégrale du programme de prévention anti-RH 1.

A titre d’exemple voici quelques commentaires libres correspondant à cet item :

« Ce n'est qu'une histoire de fric, on voit des dames qui ont eu une "prévention" à 28 SA et qui se sont immunisées (c'est rare) mais c'est aussi rare que l'immunisation sans métrorragies. C'est encore un des scandales en France. J'en prescris (du Rophylac) aux dames qui ne peuvent pas comprendre, par contre si la dame peut comprendre que c'est un produit dérivé du sang, que son enfant est peut être RH-1 et qu'elle a très peu de chance de s'immuniser. C'est elle qui choisit. »

« Un scandale de plus entre le vaccin antigrippe, les déclenchements par prostines ou propess alors qu’existe le cytotec (même molécule et qui ne coûte rien), on se demande pourquoi la SS est en déficit. »

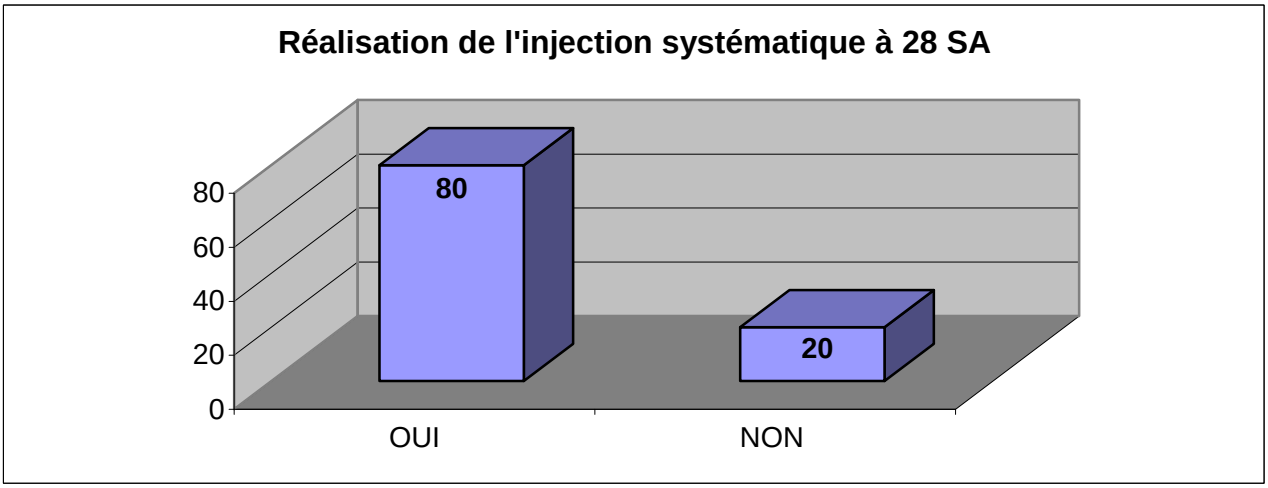
« A force de vouloir tout prévoir, on crée d'autres problèmes. Quand on ne sait pas quoi faire, on ne fait rien, c'est la seule chose qui soit sans danger. »

« Il aurait mieux valu forcer sur la recherche du Rhésus foetal dans le sang maternel (génotypage), plutôt que de faire le Rophylac à un nombre inutile de patientes. »

Au sein de ces commentaires, on retrouve des mots très dûrs dans le jugement de certains GO vis-à-vis des recommandations, dans le cadre de la prévention anti-RH1, tels que « scandale », « problème », « danger », ce qui traduit un désaccord profond avec les conduites à tenir. Il en découle l’existence de différences, dans l’application de ce programme de prévention.

3.3. Item 3 :

Concernant l'injection systématique de Rhophylac à 28 SA :



Cette troisième question aborde la « fameuse » injection systématique à la 28ème SA du programme de prévention anti-RH1. Nous retrouvons ici sensiblement les mêmes pourcentages de réponses qu'à la question précédente, et dans les faits, les GO qui ont répondu ne pas réaliser systématiquement cette injection, sont bien les même que ceux qui ne trouvaient pas adapté le programme de prévention anti-RH1 des recommandations CNGOF 2005. Cependant si une large majorité (80%) d'entre eux affirme réaliser systématiquement cette injection, ce pourcentage élevé est à considérer avec d'extrêmes mesures de précaution à la vue des commentaires libres proposés par certains GO ayant répondu par l'affirmative :

« C'est en fonction du groupe du père présumé : Si le père est RH négatif, je ne fais les anti-D qu'en cas de traumatisme ou saignements… »

« J'explique aux personnes les alternatives et nous décidons ensemble de l'attitude à adopter : soit la recommandation 2005, soit l'ancien système avec injection sur indication. »

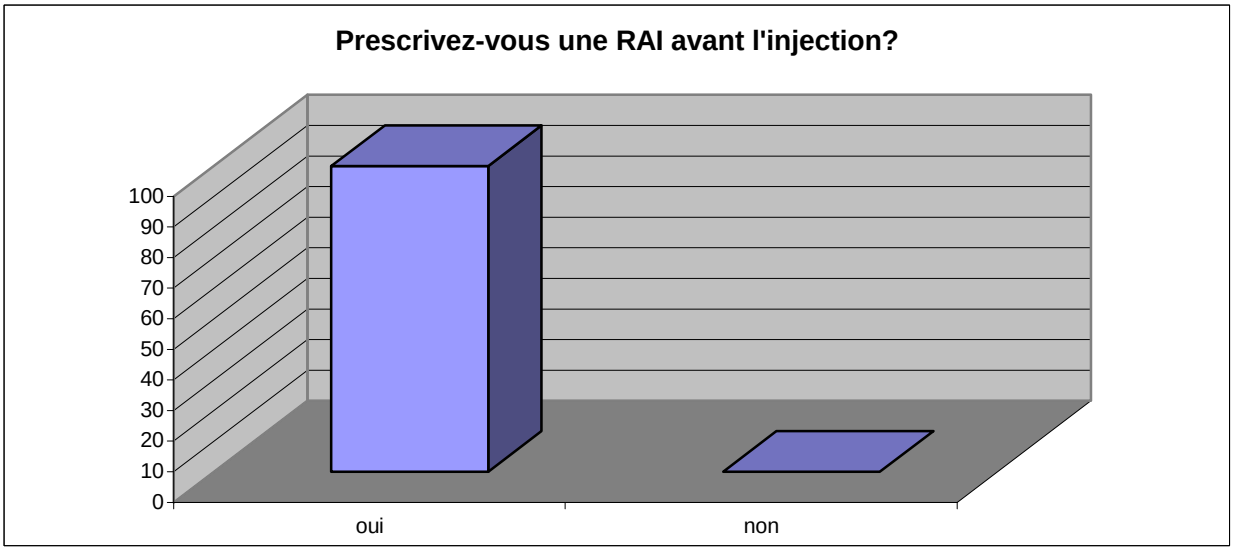
« J'y suis farouchement opposé et cependant je prescris systématiquement (pour me conformer aux recommandations). »

« Je me pose la question de coût de la prévention systématique de toutes les grossesse RH-1 pour le petit nombre d'immunisations. »

« Vous n'abordez pas le problème du RH du conjoint, s'il est négatif, je fais les RAI de surveillance mais je ne propose pas le RHOPHYLAC (problème éthique de l'obtention des doses dans nos pays à risque zéro). »

Toutes ces remarques, encore une fois, expriment pour une part des GO leur opposition à la prévention systématique et donc leur réticence à prescrire cette injection à la 28ème SA. Ceci se traduit par le caractère aléatoire de leur prescription, même quand ils répondent la prescrire systématiquement).

Quand vous la prescrivez, demandez-vous toujours la réalisation d'une Recherche d'Agglutinines Irrégulières (RAI) avant l'injection ?



L'intégralité des participants au questionnaire a répondu effectuer une RAI avant de réaliser l'injection systématique à la 28ème SA. Les GO respectent donc ici les recommandations en vigueur (CNGOF 2005). Mais vérifient-ils sa réalisation ?

C'est bien là que repose le problème. Car si les GO ne sont pas toujours d'accord avec les recommandations, force à été de constater que même lors de consensus, comme sur la question de la réalisation d'une RAI dans la semaine précédent l'injection d'anti-RH1 passif, que celle-ci n'était pourtant pas systématiquement réalisée (dans moins de 50 % des cas dans certains établissements). Comment expliquer ce phénomène ? La solution repose sur la fait que se sont les sages femmes qui prescrivent cette RAI (et d'autres examens), et l'on est loin du caractère systématique.

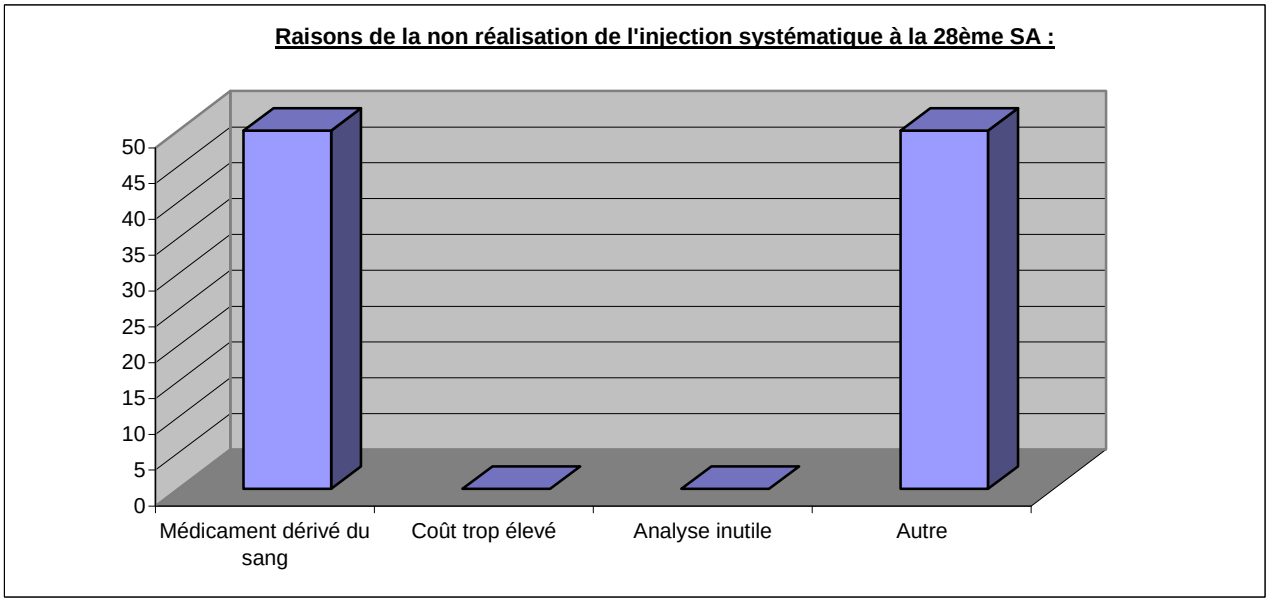
Quand la même question leur est posée : « Prescrivez-vous toujours une RAI avant une injection d'anti-RH1 passif ? » la réponse est souvent sans appel : NON !
La question qui en découle naturellement est pourquoi ? Et là encore les réponses sont étonnantes, en voici quelques exemples :

« La patiente en a déjà fait une il y'a 2 mois et elle était négative, on n'allait pas la repiquer ! »

« Le laboratoire nous a dit que ce n'était pas possible le week-end. »

Il ressort de ces observations qu'il existe de grandes différences entre les recommandations et leur application par les GO d'une part, mais aussi et surtout entre ce que les GO prescriraient en théorie, et ce qui est réellement prescrit par les sages-femmes. Ceci laisse apparaître au grand jour, que les équipes soignantes devraient se réunir régulièrement pour faire le point sur les protocoles de prescription, car les directives sont, avec le temps et les changement d'équipes, soit purement oubliées, soit à minima mal appliquées. Les conséquences de cet état de fait, sont notamment la prescription d'examens de biologie médicale non indiqués (TK lors de l'injection systématique et RAI en post-injection systématique) et la non prescription d'examens indispensables (RAI en pré-injection).

Si vous ne la prescrivez pas, pourquoi?



La principale raison (50%) évoquée par les GO ne pratiquant pas l'injection (ou pas systématiquement) à la 28ème SA, est le danger que cette injection fait courir à leur patiente du fait de l'utilisation d'un produit dérivé du sang.

« On est pris entre le médicolégal et le risque d'injecter des particules d'hépatite X ou de prion Z qu'on découvrira dans 20 ans… »

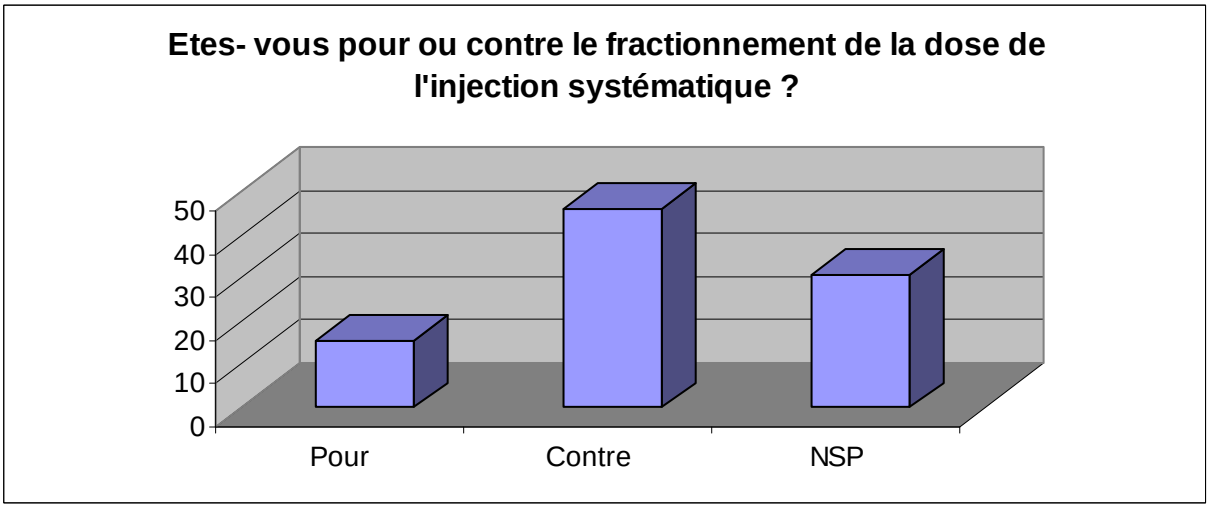
D'autres causes sont également avancées mais n'étaient pas couverte par les propositions du questionnaire. Nous avons donc joint les GO ayant répondu par « autre raison » à cette question et voici un exemple de réponse :

« Cette injection est une nouvelle invention des laboratoires pour gagner de l'argent. »

C'est donc ici le côté éthique de l'injection qui est avancé. Peut-on et doit-on accepter de faire courir un risque, même résiduel (infectieux) ou théorique (prions), à des femmes qui n'ont peut-être pas besoin de cette injection (enfant finalement RH-1) ? Le génotypage fœtal, sans régler l'ensemble du problème, serait ici un réel plus pour les GO, en leur évitant de prescrire de nombreuses injections inutiles.

3.4. Item 4 :

4) Certains pays fractionnent la dose d'Ig anti-RH1 (anti-D) systématique pour assurer une meilleure couverture des hémorragies fœto-maternelles occultes du 3ème Trimestre. Q'en pensez-vous ?



Cette question avait pour but d'obtenir l'opinion des GO sur une alternative à la prescription d'une dose unique d'anti-RH1 passifs à la 28ème SA, à savoir le fractionnement de la dose en deux ou trois doses pour mieux couvrir, notamment, les hémorragies occultes du 3ème trimestre, comme le font certains pays (Royaume-Uni, Australie) [47]. Sur cette question les GO sont plutôt partagés, car si la majorité (50%) est contre, 30% ne se prononcent pas, et surtout 20% se prononcent « POUR » un fractionnement de la dose. Parmi les commentaires libres illustrant la réticence des GO à envisager un fractionnement de la dose de l'injection systématique on pourra noter différents arguments :

« L'étude Rhophylac avait montré une bonne couverture jusqu'à l'accouchement pourquoi prendre le risque d'oublier une 2ème injection ? »

« Cela engendrera plus de coûts, et nécessitera plus de temps pour la gestion, en plus du risque de perte de vue de certaines patientes, pour obtenir pratiquement le même résultat. »

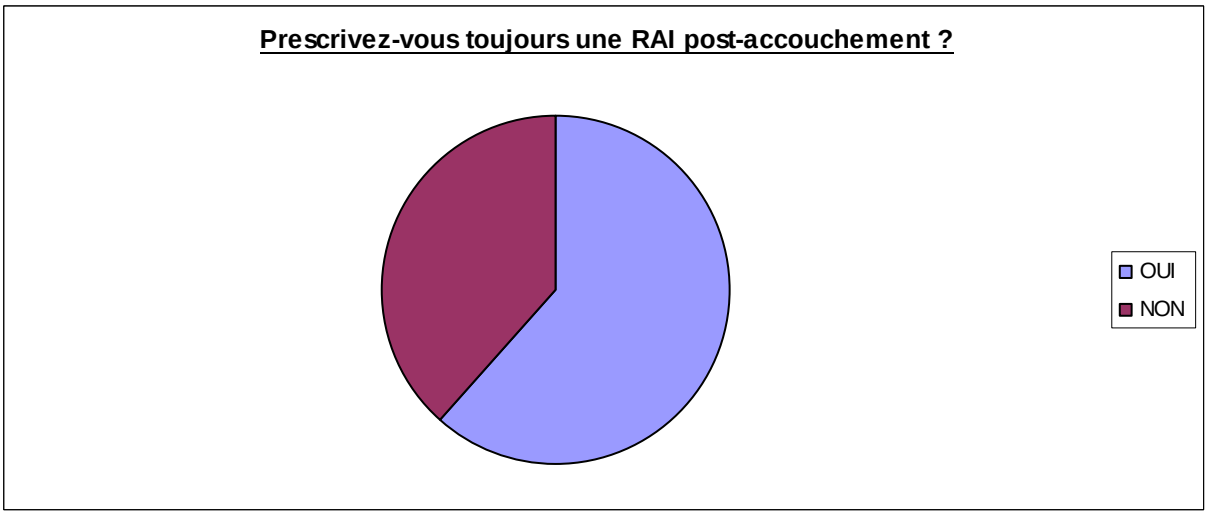
« Je préfère être sûr d'une dose de 300µg qui a bien été faite, que de prévoir 3 doses de 100µg dont 2 ne seront jamais faites ! »

On constate finalement que, pour une majorité de GO, ce fractionnemnt serait une bonne chose, permettant de mieux protéger les femmes au cours de ce 3ème trimestre à haut risque d'HFM. La réserve principalement émise est uniquement basée sur la forme et non pas sur le fond, et porte sur l'organisation logistique à mettre en place pour réaliser des injections multiples (prises de plusieurs rendez-vous necessaires, et majoration, de ce fait du risque d'oublier une injection, et dans ce cas risque d'assurer une « moins bonne prévention » qu'actuellement). Cette inquiétude est légitime même si certains GO la jugent facilement surmontable :

« On voit bien les femmes tous les mois pour la TOXO »

3.5. Item 5 :

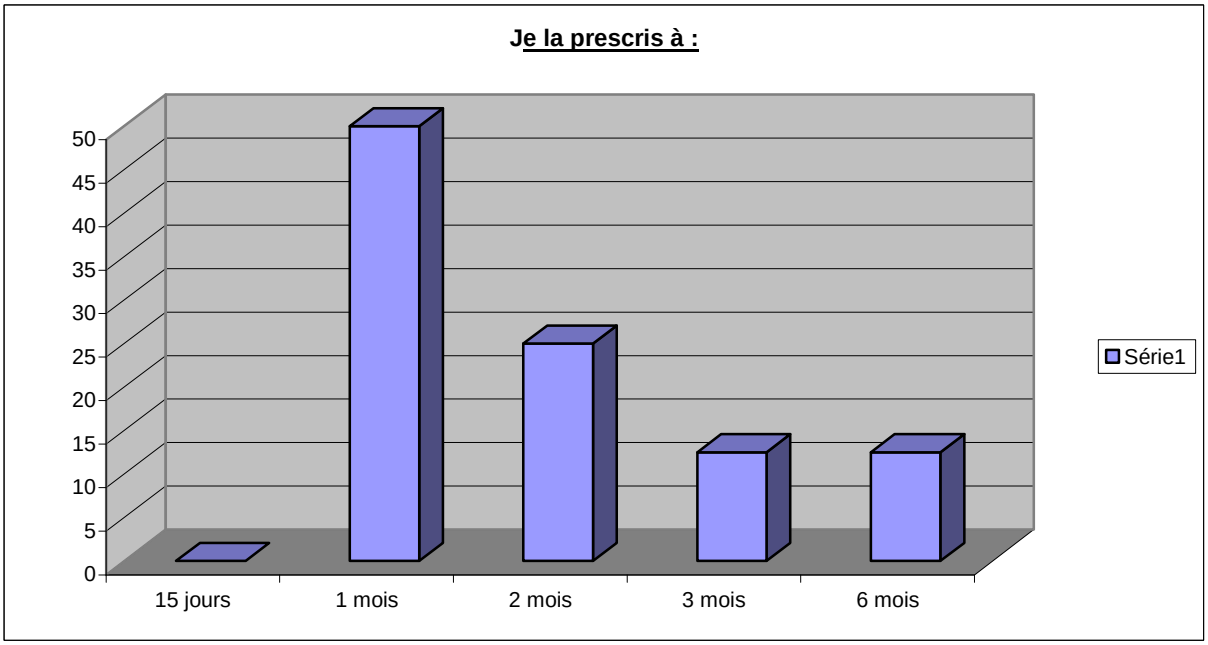
5) Prescrivez-vous toujours une RAI post accouchement ?



La première donnée qui ressort de cette question est que près de 40 % des GO ne prescrivent pas de RAI post accouchement ou pas toujours. De plus, parmi ceux qui répondent avoir la volonté de toujours prescrire cette RAI, de nombreux commentaires soulignent le côté aléatoire de cette prescription, le plus souvent de l'aveu même des GO concernés par pur et simple oubli : « Oui mais parfois j'oublie !! »

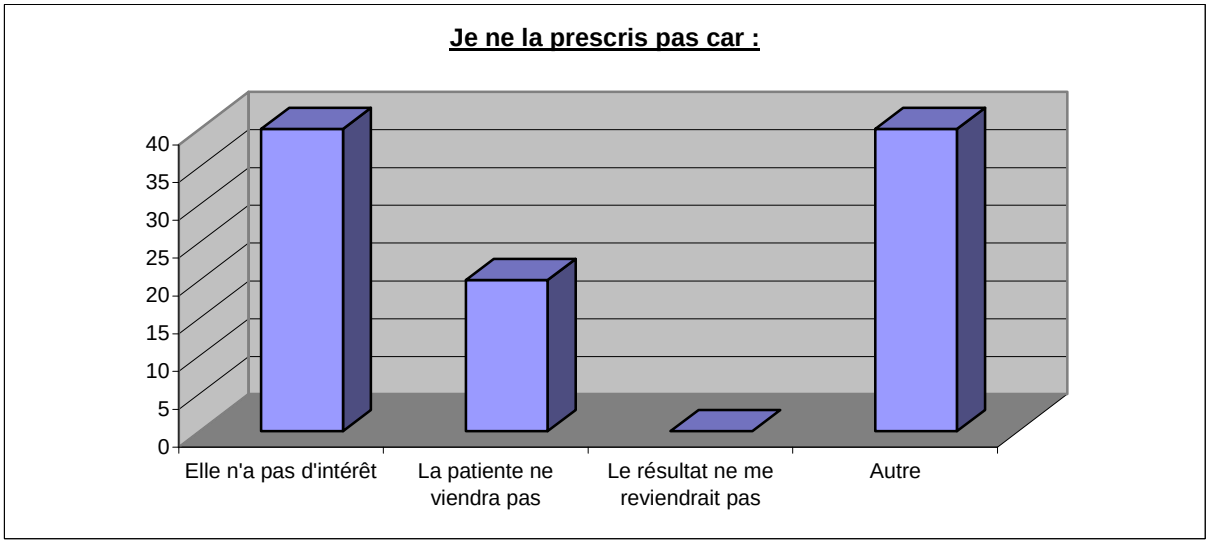
Les résultats de cet item témoignent du manque de perception de l'importance de cette RAI post-accouchement de la part d'un grand nombre de GO.

Si oui, à quelle distance de l'accouchement la prescrivez-vous ?



La majorité des GO prescrivant une RAI post-accouchement, délivre une ordonnance pour une RAI à réaliser entre 1 et 2 mois après l'accouchement (>75%) ce qui est un bon délai, pour optimiser les chances de démasquer un Allo-Ac d'apparition tardive, et que l'on risquerait de ne pas retrouver ultérieurement (fugaces), d'où l'importance de cette RAI pour la mère en cas de transfusion future (sécurité transfusionnelle).

Si non, pourquoi ?



Parmi les raisons invoquées quant à la non prescription de la RAI post-accouchement, il est étonnant de constater que plus de 40% des GO ne prescrivant pas cette RAI répondent qu'elle ne possède aucun intérêt, méconnaissant ainsi toute son utilité ! ! !

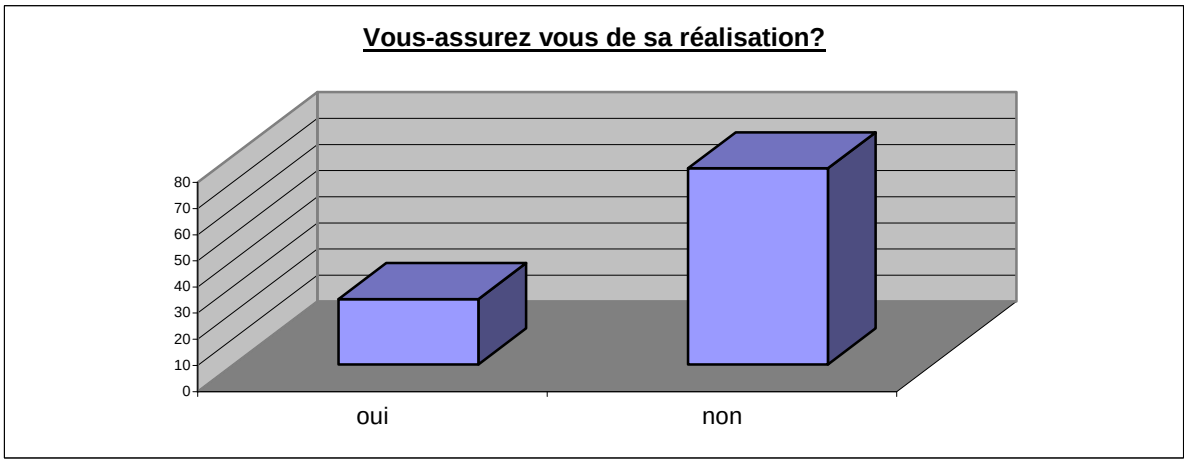
« Elle ne sert à rien puisque l'enfant est né ! »

Les autres raisons se rapportent au fait que pour eux la patiente n'ira pas faire cette RAI ; mais dans ce cas c'est l'information de la patiente (quant'à l'importance de cette RAI pour sa propre santé) qui est peut être mal effectuée ? Enfin une part non négligeable des GO a répondu à cette question par la case « autre », nous les avons joints, et voici un exemple traduisant bien ce qu'ils ont répondu :

« nous faisons sytématiquement des RAI juste avant l'accouchement et si au niveau de la prévention, Kleihauer et anti-D sont faits, je ne recontôle pas les RAI à distance »

Là encore il y a une nette méconnaissance du rôle de cette RAI post-accouchement qui n'a plus un but de protection de l'enfant, mais bien de la maman ! (en plus de celui de présenter l'avantage de vérifier l'injection a bien été faite). Notons enfin qu'il ne semble pas y avoir de problème de transmission des résultats de laboratoire aux prescripteurs (GO) puisqu'aucune réponse ne mentionne le fait que des résultats ne leur parviendraient pas. Ceci étant dit, lcomme la majorité des GO ne semblent pas bien connaître l'indication de cette RAI, peut-être ne prêtent-ils que peu d'attention au retour des résultats de cette analyse…quand elle est prescrite.

Enfin, vous assurez-vous que la patiente effectue bien cette analyse?



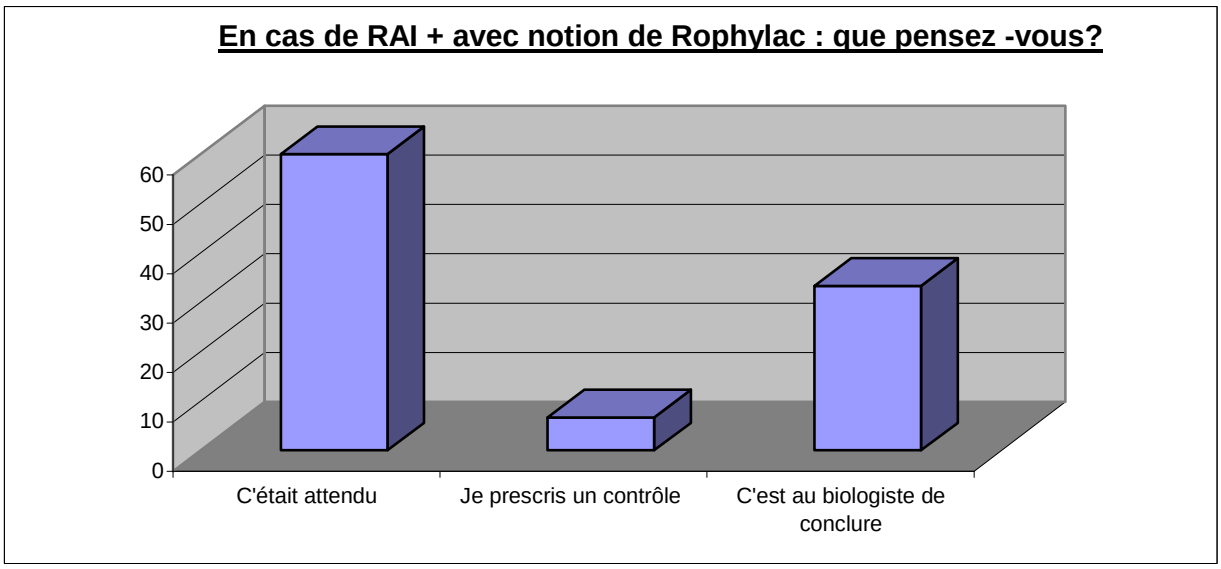
Ici encore nous restons dans la même logique de méconnaissance du rôle fondamental de cette RAI post-accouchement, qui même lorsqu'elle est prescrite, n'est le plus souvent pas effectuée (la jeune maman sera occupée par son enfant et ne pensera pas à cette analyse, si on ne l'informe pas correctement et suffisamment des risques auxquels « ELLE » est exposée).

« On ne revoit pas forcément la patiente pour son examen post-natal. »

« Dans la mesure du possible (si j'ai l'occasion de la revoir : consultation gynécologique, nouvelle grossesse). »

3.6. Item 6 :

<u>En cas de RAI + à anti-RH1 (Anti-D) avec notion de prophylaxie par Rhophylac, comment interprétez vous ce résultat :</u>



Cette question a été posée, car, depuis l'utilisation notamment de l'injection systématique à la 28ème SA, se pose le problème crucial de la difficulté d'interprétation des résultats de RAI positives, avec notion d'administration d'anti-RH1 passifs. On note qu'une part importante (près de 40%) des GO se repose totalement sur l'interprétation biologique du résultat. C'est en soit logique, mais faut t'il encore que les biologistes confrontés à ces résultats soient en mesure de délivrer une interprétation de qualité (compétences suffisantes dans ce domaine ?) quand ils en délivrent une ! Les conclusions biologiques ne risquent t'elles pas d'inquieter

plus que de raison le GO, ou pire, de le rassurer… à tort ? En effet l'autre indication fournie par les réponses à cette question est que les GO pensent majoritairement que cela est toujours normal d'avoir une RAI positive dans cette situation, et que cela est donc uniquement dû à l'injection de Rophylac, d'où l'importance de la présence systématique d'une conclusion biologique claire et précise, afin d'orienter le GO vers la conduite à suivre :

- Ne rien faire, l'anticorps est rééllement passif.
- Prendre en charge la patiente, car présence associée d'un allo-anti-RH1, prouvé par une microtitration.
- Prendre en charge la patiente, car présence d'un autre Allo-Ac, masqué par l'anti-RH1 passif !

Le biologiste a donc ici une grande responsabilité vis-à-vis du rendu de résultat, car il est le seul à pouvoir détecter précocément un allo-ac masqué par l'anti-RH1-passif. A ce titre il est inadmissible de voir que certains laboratoires n'identifient pas systématiquement l'anticorps retrouvé au dépistage, dans le cas ou il existe une notion d'injection récente d'anti-RH1 passif, et que cela semble compatible avec les hématies du panel de dépistage retrouvées positives (les 2 premières hématies sur les 3 du panel sont positives!). Voici un exemple de commentaire libre qui montre bien que les GO sont demandeurs de conseils quant à l'interprétation des résultats de ces RAI positives avec notion de Rophylac :

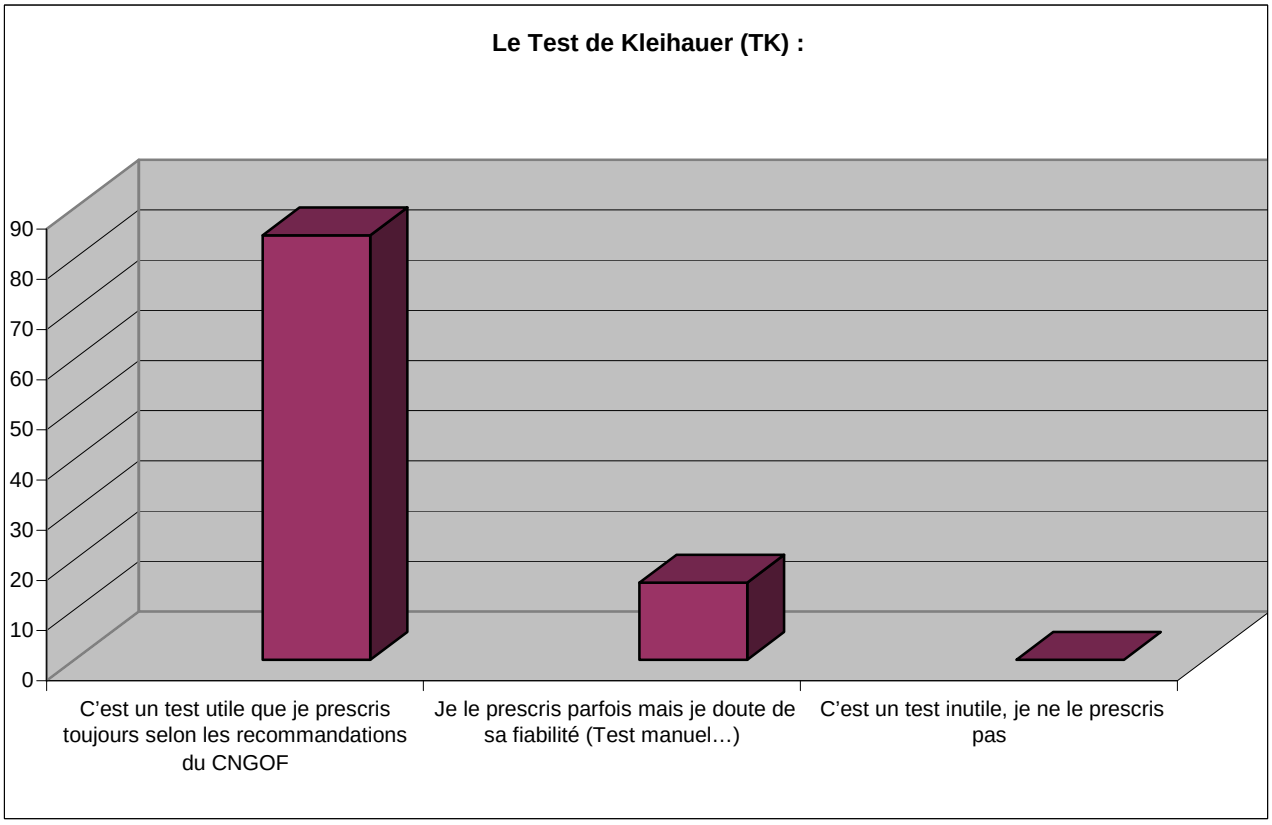
« Tout dépend du délai entre la dernière injection, la posologie, le contexte clinique. Aussi le commentaire du biologiste compte, en l'absence de sa conclusion je le contacte directement et je lui demande plus d'informations : taux résiduel, nécessité d'identification +/- dosage pondéral. »

« J'attends du biologiste de me dire, après lui avoir donné la date et la dose de l'injection, si l'anti-D est passif »

Bien sûr, pour pouvoir conclure correctement, le biologiste aura besoin de connaître de façon certaine la date d'administration de Rophylac et la dose administrée (ce qui est loin d'être toujours le cas), et devra se méfier des affirmations orales voire même écrites! Nous y reviendrons avec des exemples dans la partie discussion.

3.7. Item 7

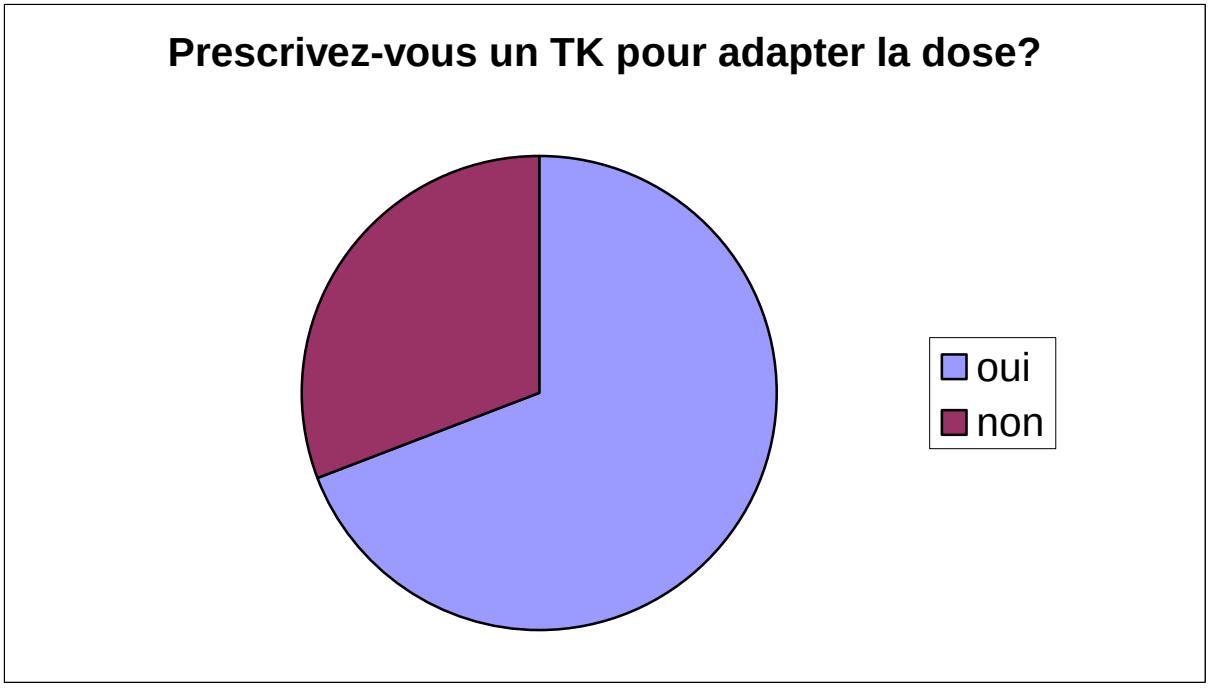
A propos du test de Kleihauer (TK) :



On observe qu'une grande majorité des GO (près de 85%) affirme toujours prescrire la réalisation d'un Test de Kleihauer (TK) selon les recommandations du CNGOF. Par contre ce sont quand même près de 15% d'entre eux qui répondent ne le prescrire qu'occasionnellement, car ils doutent de sa fiabilité, en sa qualité de test manuel. Rappelons que ce test est certes manuel, mais qu'il n'en reste pas moins indispensable, étant le seul à la disposition des professionnels de santé pour adapter la dose d'anti-RH1 à administrer. Si le TK s'automatisait via la cytométrie en flux, peut-être que ce test gagnerait en reconnaissance vis-à-vis des GO.

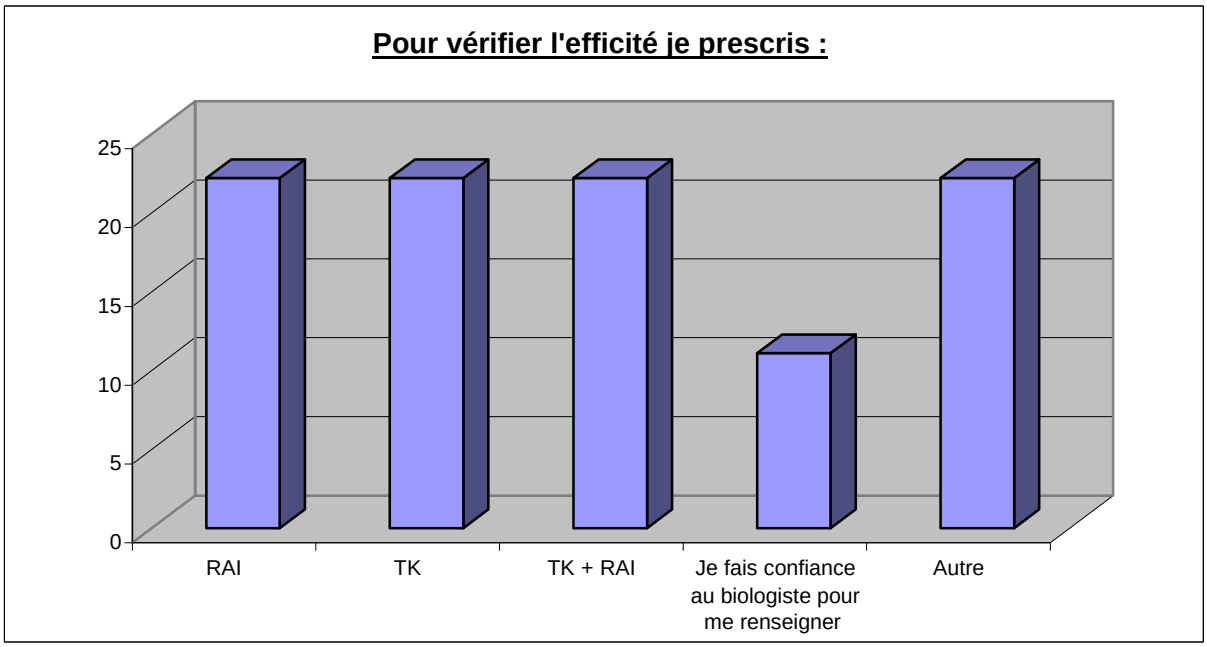
3.8. Item 8

<u>En cas de situation immunisante (hors premier trimestre), prescrivez vous un TK pour adapter la dose de Rhophylac ?</u>



Les réponses à cette question sont encore une fois assez étonnantes. En effet, on observe que plus d'un tiers des GO (34%), affirme ne pas prescrire de TK pour adapter la dose de Rhophylac (hors premier trimestre), comme le recommande pourtant le CNGOF 2005. Pourtant à la question précédente, 85% d'entre-eux répondaient respecter scrupuleusement ces même recommandations quant à la prescription du TK…

Si oui, comment vérifiez-vous biologiquement l'efficacité de l'injection thérapeutique de Rhophylac ?



Cette question avait pour but d'observer si des différences existaient dans les pratiques de prescription des GO quant à la vérification biologique, de l'efficacité de l'injection de Rhophylac. Nous voyons bien que c'est le cas, avec au final, les cinqs schémas de réponses proposés qui remportent sensiblement le même suffrage (environ 20% des réponses). La réponse attendue (TK + RAI) n'est donc retenue que par 20% des GO, les autres ne faisant que le TK, ou que la RAI, ce qui est insuffisant car les deux tests sont complémentaires.

Nous rappelons leurs rôles respectifs :

- Rôle du TK : Vérifier que tous les GR fœtaux sont détruits
- Rôle de la RAI : Vérifier que la dose d'anti-RH1 est en excès

Une part non négligeable de GO a coché la case « autre », en commentaires libres. Ils expliquent tout bonnement (nous les avons joints), ne pas vérifier l'efficité de l'administration de Rhophylac, considérant que la dose administrée était suffisante :

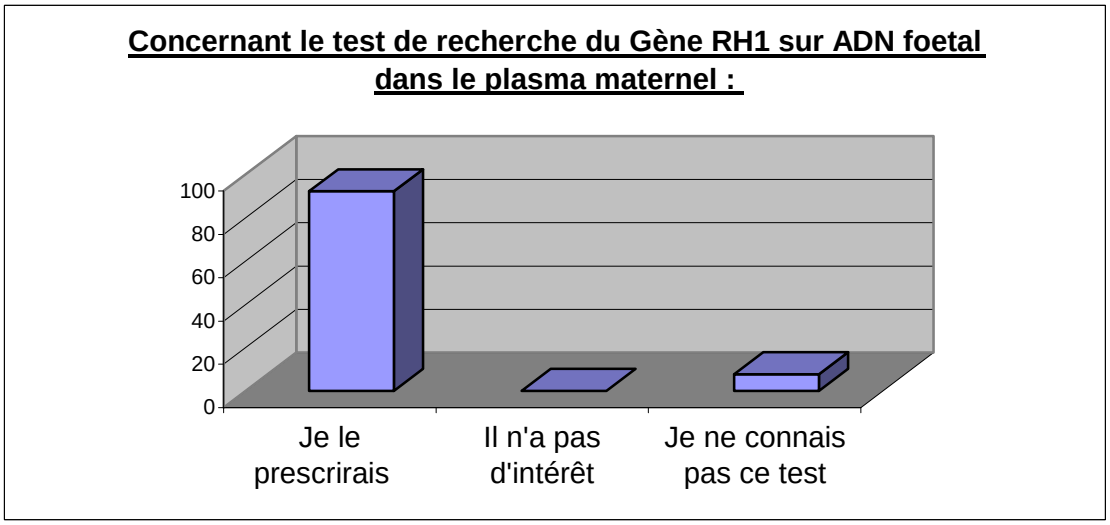
« Je ne vérifie pas l'efficacité, la dose calculée selon le TK est suffisante. »

« Contrôle non fait puisque la dose injectée est fonction du TK. »

Enfin les 20% restant déclarent faire confiance au biologiste pour savoir comment vérifier cette efficacité ; mais prennent-ils toujours contact avec lui (et saura t'il répondre convenablement) avant de prescrire des examens biologiques ? De plus, dans ce cas précis, les GO ne devraient-ils pas suivre les recommandations établies, soit TK + RAI, sans avoir besoin de joindre le laboratoire ?

3.9. Item 9 :

Concernant le test de recherche du gène RH1 sur ADN fœtal dans le plasma maternel :



Le but de cette question était d'obtenir l'opinion des GO, sur le test de recherche du gène RH1 sur ADN fœtal dans le plasma maternel. Comme l'on pouvait s'y attendre, ils sont bien entendu à l'unanimité (sauf ceux qui déclarent ne pas connaître ce test) très demandeur de l'arrivée de ce test à la nomenclature. Ils considèrent que ce test représente une avancée majeure, car fiable et non invasif, et qu'il permettrait de réaliser des économies d'injection d'anti-RH1 passif (produit sanguin dérivé du sang, donc potentiellement contaminant, et de plus, coûteux).

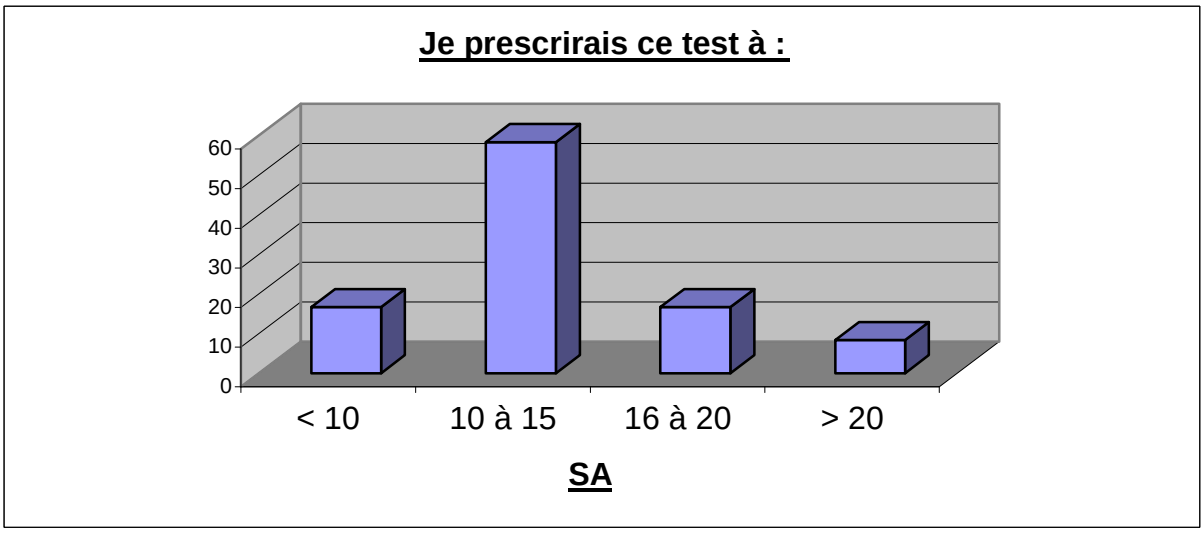
«Le point de vue scientifique est incontestable. »

« Je pense que tôt ou tard on fera de plus en plus de recherche sur l'ADN fœtal dans le sang maternel en début de grossesse : c'est l'avenir ! ! ! »

Notons enfin que, si aucun GO n'a jugé ce test inutile, considérant tous qu'il représente un réel plus dans la prise en charge de la femme enceinte RH-1, l'on remarque que plus de 10% d'entre eux annoncent ne pas connaître ce test.

3.10. Item 10 :

Quand le prescririez-vous, en Semaines d'Aménorrhées (SA)?



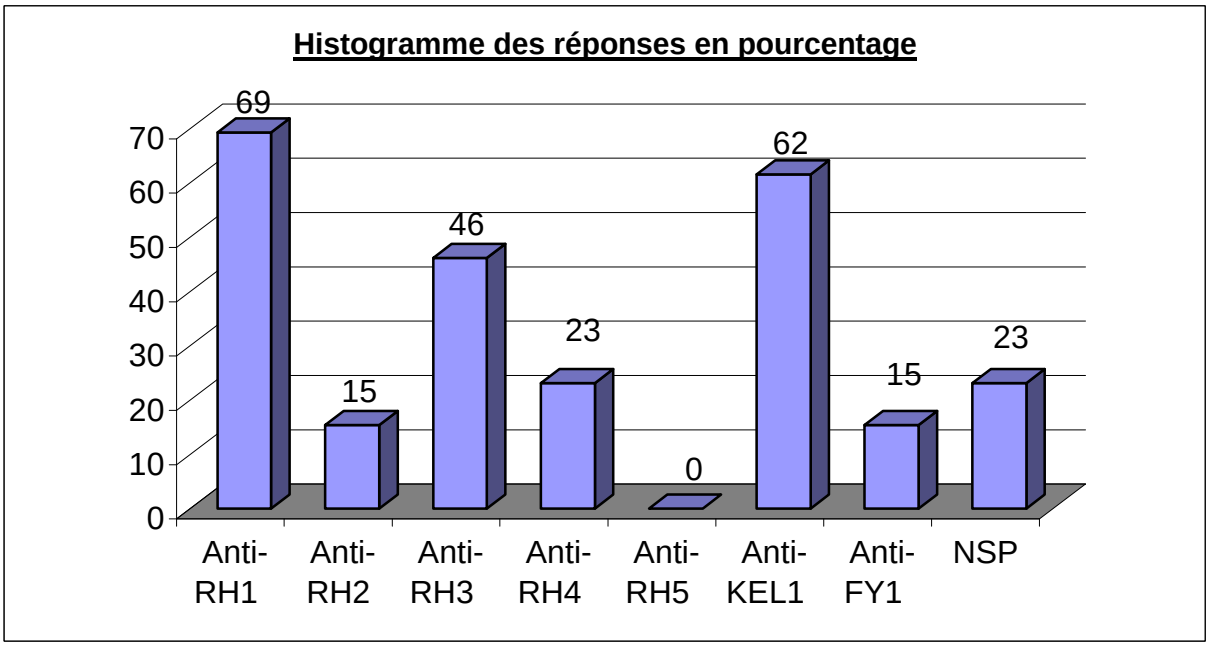
Cette question avait pour but de connaître la date (en SA) à laquelle les GO prescriraient le test de recherche du gène RH1 sur ADN fœtal dans le plasma maternel s'il était à leur disposition. La majorité d'entre eux (70%) situent « leur période idéale » de réalisation de ce test entre la 10ème et la 15ème SA, ce qui est la « bonne période ». Environ 20% aimeraient idéalement avoir le résultat avant la 10ème SA, ce qui est impossible, car rappelons que l'Ag RH1 n'est mature qu'après 10 SA. Enfin, réaliser ce test au-delà de la 15ème SA, hors 2ème prélèvement pour contrôle, serait moins intéressant, car trop tardif pour optimiser la prise en charge (choix pourtant de 30% des GO). Rappelons que ce test devra être confirmé sur un 2ème prélèvement vers 15 SA (idéalement 12 et 15 SA pour les deux prélèvements), ce qui a été rappelé par certains GO bien au courant des modalités de réalisation du test car participant à des études à ce sujet :

« Je fais participer mes patientes à une étude de recherche du gène rhésus sur ADN foetal sur sang maternel à 12 SA et 27 SA, puis groupe sanguin du bébé. »

Cependant, dans cet exemple, la date choisie pour le contrôle est trop lointaine.

3.11. Item 11 :

Veuillez cocher les anticorps qui sont, selon vous, les plus dangereux ?



Cette question a été posée avec la volonté de voir l'impact que peut avoir un compte-rendu, notifiant la présence d'un allo-Ac chez une femme enceinte, auprès de son GO. Les GO connaissent-ils suffisamment ce domaine pour interpréter la sévérité potentielle de l'allo-Ac retrouvé, et ainsi proposer une prise en charge optimale pour leurs patientes ?

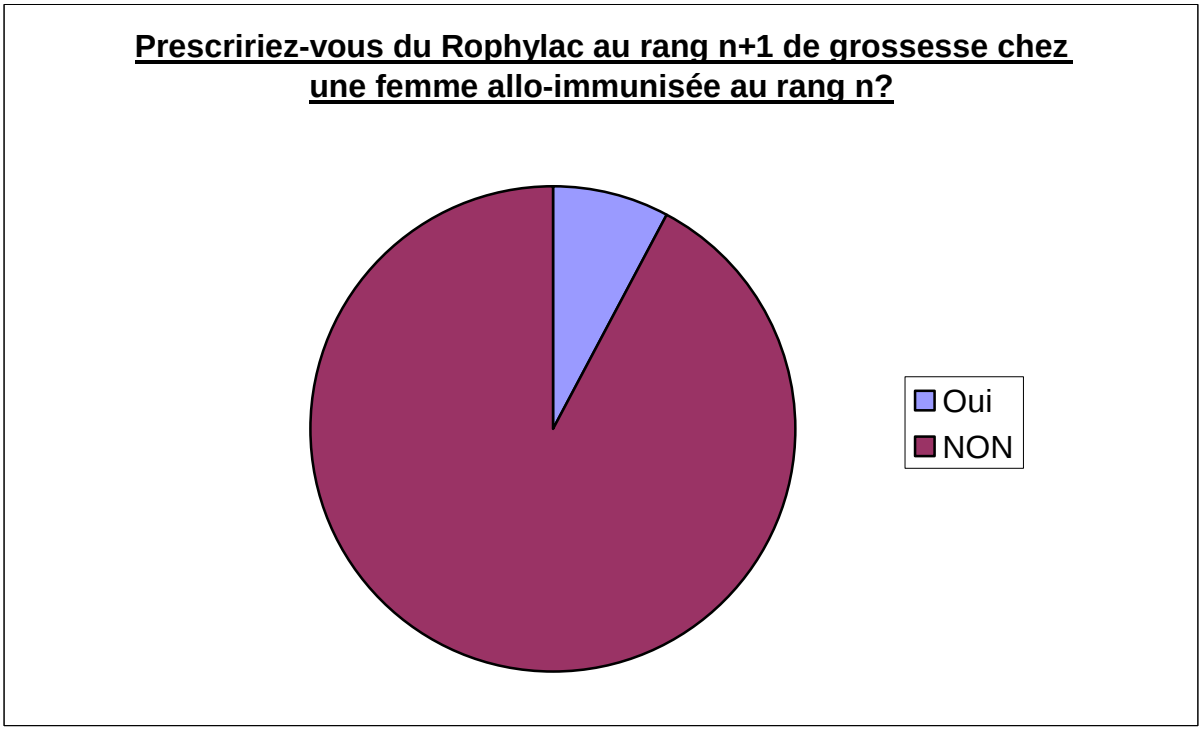
Les résultats sont assez surprenants :

En effet si l'anti-RH1 est décrit comme l'un des Ac les plus dangereux par une majorité de GO, du fait de sa fréquence et de l'existence d'un programme de prévention dédié, il n'en reste pas moins que 31% d'entre eux ne le considèrent pas comme très dangereux ! Même constat concernant l'anti-KEL1, et l'anti-RH4, pourtant redoutables (parfois même dès la première grossesse pour l'anti-KEL1), et qui ne sont pas considérés comme étant très dangereux par plus de 40% des GO pour l'anti-KEL et même plus de 75% des GO pour l'anti-RH4 ! L'anti-RH5 fait quant à lui l'unanimité, car aucun GO ne lui attribue de sévérité ! Ses conséquences sont pourtant dramatiques, mais c'est son extrême rareté (98% de la population est RH4) qui explique sans doute ces résultats (il faudrait donc d'autant plus y être sensibilisé). On peut par contre observer que les Ac anti-RH2 et anti-RH3 sont respectivement

cités comme très dangereux par 15% et 46% des GO, sans doute par confusion, car accompagnant souvent l'anti-RH1, mais sans réelle sévérité propre. Enfin, notons que près d'un GO sur 4 (23%) a répondu ne pas savoir quels étaient les anticorps dangereux. A la vue de ces résultats, le rôle du biologiste paraît donc ici encore fondamental, afin d'orienter le GO par un compte rendu adapté à la sévérité potentielle de l'Ac mis en évidence. La communication entre les différents professionnels de santé se doit d'être optimale, dans le cadre des cas d'allo-immunisation foeto-maternelle, pour ne pas aboutir à des retards de prise en charge, par sous-estimation du danger.

3.12. Item 12 :

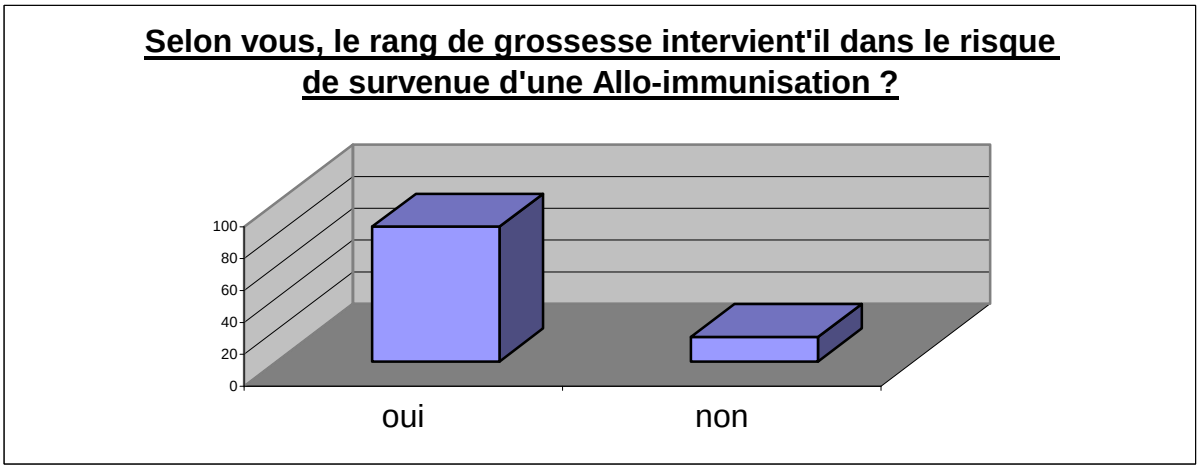
Chez une patiente déjà immunisée Anti-RH1 (Anti-D), lors d'une grossesse suivante prescririez vous encore une injection de Rhophylac ?



Evidemment cette question attendait un « NON » comme réponse. Et c'est près de 85% des GO qui y ont correctement répondu. Cependant 15% d'entre eux déclarent qu'ils prescriraient du Rhophylac à une femme enceinte déjà immunisée contre l'Ag RH1, lors d'une grossesse ultérieure, dans le but de ne pas faire « flamber » l'immunisation. Ceci qui n'a aucun intérêt et exposerait la patiente à une administration inutile et coûteuse de médicament dérivé du sang.

3.13. Item 13 :

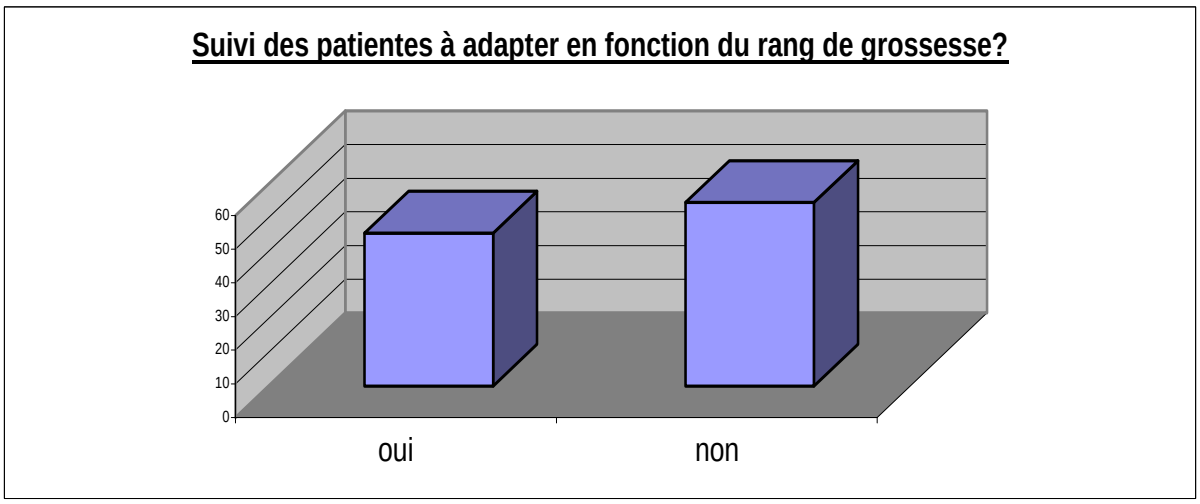
Pensez-vous que le nombre de grossesses influe sur le risque de développer un allo-Ac ?



A cette question, c'est la quasi-totalité des GO (92%) qui a répondu par l'affirmative. Les GO sont donc bien conscients, que la grossesse est une « situation immunitaire particulière » et que le risque de développer un Ac augmente en fonction du rang de grossesse, indépendamment du bon suivi des recommandations en vigueur.

« A chaque grossesse le risque s'accroît. »

Si oui, pensez-vous qu'il serait utile d'adapter le suivi des patientes en fonction du rang de grossesse ?



Cette question, arrive bien entendu en écho de la précédente. Les GO, conscient de l'importance du rang de grossesse dans le risque d'apparition d'un Allo-Ac, allaient-ils du coup être en faveur d'un suivi renforcé chez les patientes multipares? Le moins que l'on puisse dire, c'est que leurs avis semblent partagés sur la question, puisque 45% d'entre eux se prononcent « POUR » cette adaptation et 55% « CONTRE ». En fait, au travers des réponses en commentaires libres, on ressent que c'est l'organisation d'un suivi en fonction du rang de grossesse qui parait compliquée à mettre en œuvre pour nombre de GO, qui préfèrent ainsi suivre toutes leurs patientes de la même façon et avec la même prudence.

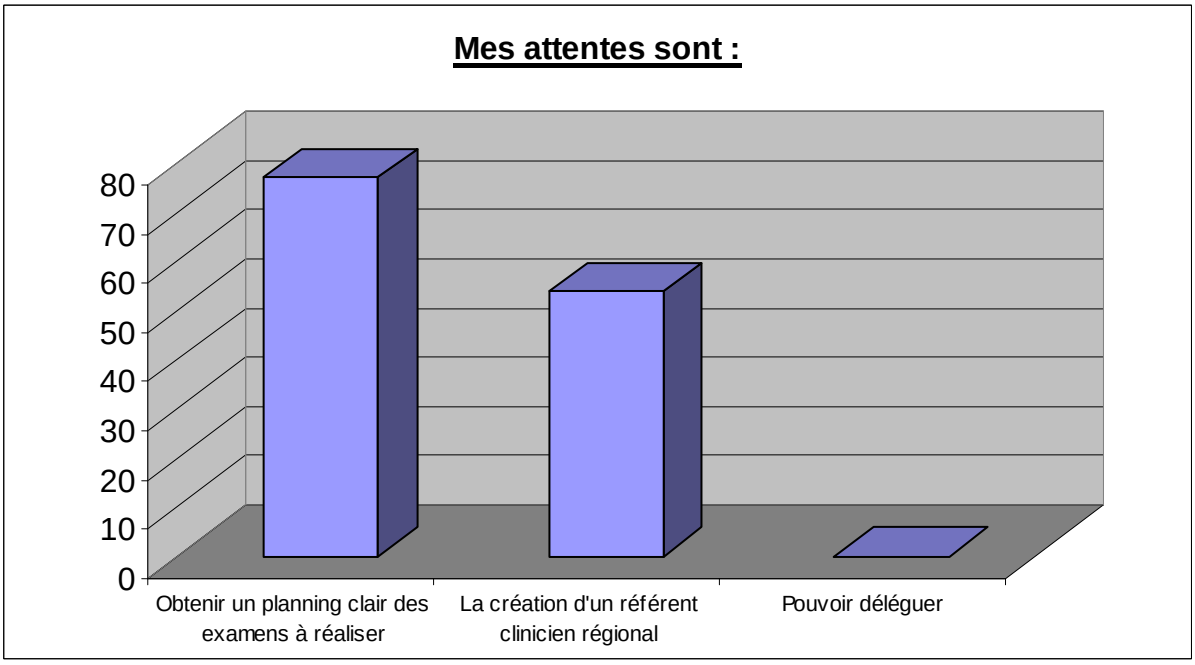
« Prévention à respecter de la même façon quelque soit le degré de parité. »

« Intellectuellement oui, pratiquement non (risque de mauvaise prise en charge). »

« Oui et non car la surveillance doit être armée chez toutes ces femmes immunisées quelque soit le rang de grossesse car le risque peut augmenter à tout moment. »

3.14. Item 14 :

Quelles attentes avez-vous à propos du suivi des femmes allo-immunisées ?



Le but de cette question était de savoir si les GO considéraient les systèmes actuels de prévention et de prise en charge de l'AIFM comme satisfaisants, ou si au contraire, ils aspiraient à certaines améliorations ? L'ensemble (100%) des GO reste particulièrement attaché à continuer à rester au centre de la gestion des AIFM, considérant que cela fait partie de « leur métier », et ne veulent ainsi absolument pas déléguer leur prise en charge (conscients de l'importance médicale de ces dossiers).

« Grossesse pathologique => rien à faire avec une SF ! »

Par contre ce qui ressort massivement des réponses c'est la volonté des GO d'obtenir deux axes d'aide à la prise en charge de ces dossiers difficiles, à savoir :

- La rédaction d'un planning clair des examens à réaliser (pour 80% des GO).
- La création d'un référent clinicien régional (pour 60% des GO).

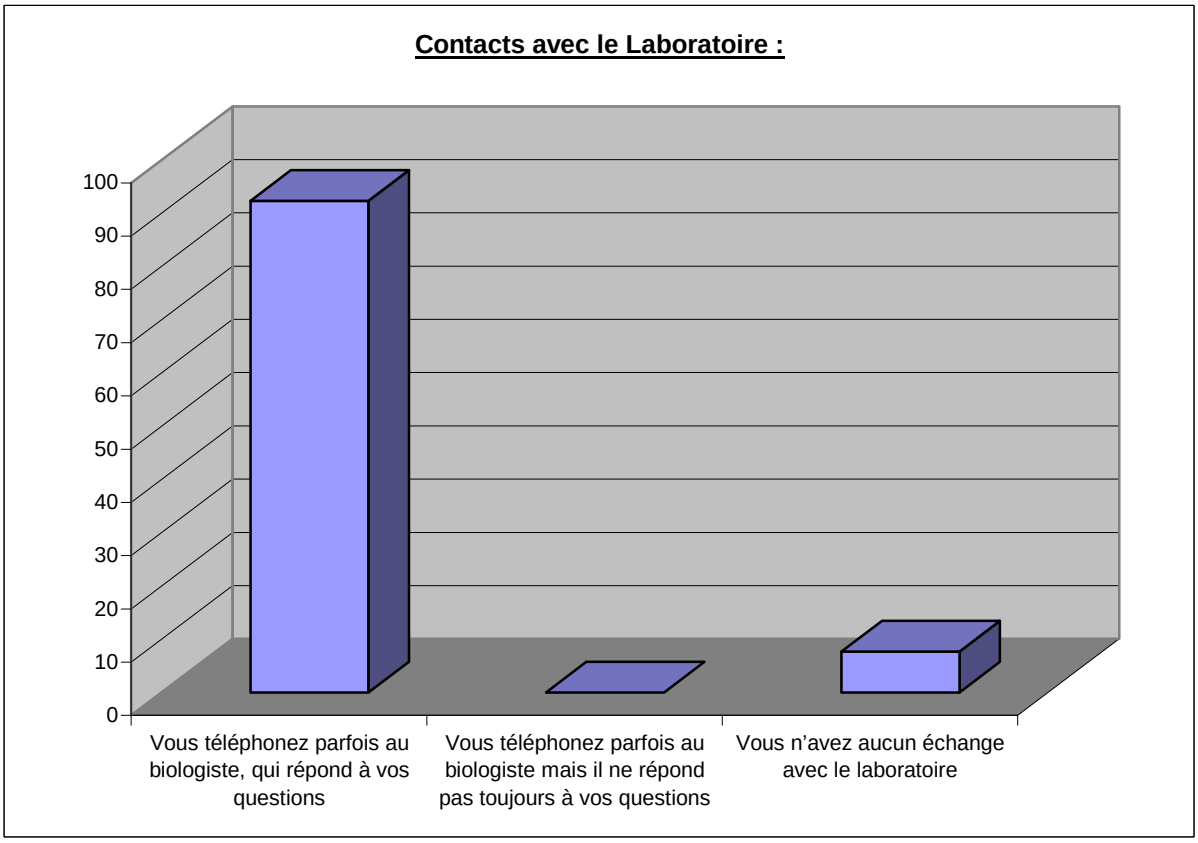
Ces demandes sont fortes, et traduisent l'insuffisance des recommandations CNGOF 2005 sous leur forme actuelle (manque de clarté et non compliance de nombreux GO qui ne les trouvent pas toujours adaptées). Elles ouvrent aussi la voie à la création d'un référent clinicien régional, en lequel, les GO verraient une aide utile à la prise de décision dans un premier temps (estimation du risque) et qui pourrait prendre le relais en cas de complications. A notre sens, ce référent devrait être informé de tous les cas d'allo-immunisation, afin de pouvoir suivre les dossiers, et surtout centraliser les informations qui ont tendance à se disperser voire se perdre, du fait de la multitude d'intervenants (laboratoire, médecin, GO, EFS, maternité…), et intervenir en cas de besoin.

« Un référent régional ne veut pas dire qu'on doit systématiquement abandonner le suivi et l'accouchement si les conditions sont bonnes en fin de grossesse (pas d'augmentation du titrage, dosage pondéral <1 µgr)…. »

« Le plus gros problème réside dans le fait que les laboratoires (publics/privés ne travaillent pas avec le même correspondant) les résultats transitent par les labo (piqueurs) avant de redescendre à celui qui les a prescrits, et si la patiente entre temps a été adressée à une autre équipe il y a un risque de perte de temps et de perte des informations. »

3.15. Item 15 :

A propos des résultats de laboratoire :



Les réponses à cette question montrent que plus de 85% des GO entretiennent de bonnes relations avec les biologistes, et paraissent toujours (100%) satisfaits des réponses qu'ils obtiennent de leur part. On peut noter que 15% des GO sondés avouent par contre n'avoir « aucun échange avec le laboratoire »

L'analyse de ces résultats nous a interpellés sur plusieurs points :

Comment expliquer qu'une part non négligeable de GO n'ait absolument aucun échange avec les laboratoires et donc les biologistes ?

Cela signifierait en effet qu'ils ne seraient jamais confrontés au cours de leur pratique à des situations clinico-biologiques nécessitant une interprétation plus poussée des résultats immuno-hématologiques, que celle présente sur le compte rendu, ce qui est peu probable.

Comment expliquer que 100% des GO s'estiment toujours satisfaits des réponses biologiques fournies par les biologistes quand ils communiquent avec le laboratoire ?

Cela pourrait s'expliquer par une grande compétence biologique acquise dans le domaine de l'Allo-immunisation de la part des biologistes concernés, mais il est là encore peu probable que tous soient des experts en ce domaine, et aient ainsi été confrontés à toutes les situations possibles. On est en droit de se demander si ce n'est pas plutôt dû, là encore, à un manque de communication entre les professionnels, et que les questions ne soient de ce fait tout simplement pas posées ? Il faudrait pour pouvoir parfaitement interpréter ces données, savoir quelles sont les questions posées, et aussi bien sûr quelles seraient les réponses fournies en retour…

3.16. Item 16 :

Concernant ce questionnaire, avez-vous des remarques à formuler :

Dans cette dernière question, nous cherchions à obtenir le ressenti « à chaud » des GO vis-à-vis de notre questionnaire qu'ils venaient de remplir. Les GO qui ont directement répondu en utilisant les propositions existantes ont été peu nombreux.

Nous proposions comme possibilités :

☐ Trop long (1 réponse)
☐ Pas assez détaillé (1 réponse)
☐ J'aurais préféré une version papier (2 réponses)

Ces propositions étaient toutes plutôt négatives, ce qui explique visiblement le peu de réponses les utilisant. En fait c'est en commentaire libre que de nombreux retours nous ont été adressés, et ils étaient globalement positifs, soulignant notamment la facilité de remplissage du questionnaire sous sa version informatique (uniquement deux GO auraient préféré une version papier). Enfin si nous pouvons regretter de ne pas avoir obtenu un plus fort taux de réponse (40%), il est important de noter que plus de 50% des GO ayant répondus, ont notifié leur vif intérêt à être tenu au courant des résultats de ce questionnaire, ce qui témoigne de leur implication dans le domaine de l'allo-immunisation.

III. Analyse d'un cas lorrains d'AIFM :

Afin d'illustrer les divers points que nous venons d'aborder, voici la présentation d'un cas lorrain d'AIFM :

1. Présentation du cas de Mme R :

Mme R est une patiente âgée de 29 ans, 4ème Geste, 4ème Pare (4G4P) de groupe sanguin : A Rhésus D négatif, RH:-1,-2,-3,4,5.

1.1. Antécédents obstétricaux de Mme R :

Lors de ses trois précédentes grossesses, Mme R a accouché à terme de deux garçons et d'une fille, tous trois RH1, respectivement en 2002, 2006, et avril 2008. De mai 2008 à juin 2009, la patiente a suivi une contraception orale, sans période d'omission. Notons l'absence de fausses couches et d'antécédents transfusionnels.

1.2. Déroulement de la 4ème grossesse :

Cette 4ème grossesse débute avec une date des dernières règles du 01/07/09. Dès la première RAI (en date du 15/09/09) un anti-RH1+2 est retrouvé. Le suivi de cet Ac a été effectué en associant titrage et dosage pondéral. Cet Ac a été responsable d'un accouchement par césarienne en urgence, le 05/02/2010, à 31 SA + 3 jours, après exsanguino-transfusion in-utéro, et aura nécessité par la suite, la réalisation de nombreuses séances de photothérapie. Comment cet allo-anti-RH1 a-t-il pu apparaître malgré un strict suivi des recommandations en terme de prévention?

1.3. Circonstances d'apparition de l'anti-RH1 :

Au cours des deux premières grossesses (2002 et 2006), la prévention anti-RH1 a été respectée, avec en 2006 la réalisation d'une injection systématique à 28 SA. Les RAI ont été réalisées suivant le calendrier (sauf les RAI post-accouchement qui n'ont pas été pratiquées) et sont toutes restées négatives. La RAI du premier trimestre lors de la 3ème grossesse (2008) était elle aussi négative, alors que cette même RAI du premier trimestre est retrouvée positive

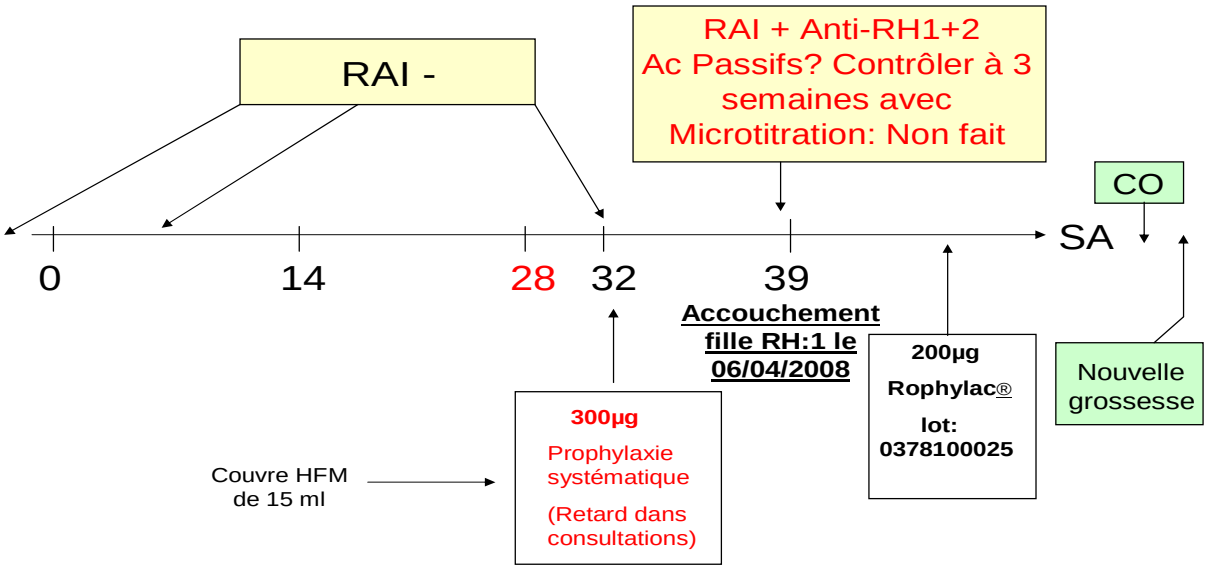
lors de la 4ème grossesse (2010). L'allo anti-RH1 c'est donc développé entre les deux, probablement au cours de la 3ème grossesse. Le déroulement de la grossesse de 2008 est de ce fait particulièrement intéressant, car si la prévention y a été réalisée conformément au programme de prévention, il n'en demeure pas moins quelques zones d'ombres. En effet la patiente a bien reçu une injection systématique de 300µg, mais à 32 SA car elle ne s'est pas présentée à sa consultation à 28 SA (les recommandations indiquent cependant que l'injection peut être pratiquée ente 28 et 32 SA) et sans adaptation de dose par un TK puisque non recommandée (CNGOF 2005). La RAI réalisée avant l'injection était négative, et les RAI du 8ème et 9ème mois n'ont pas été réalisées, car non recommandées en cas d'injection systématique entre 28 et 32 SA. Par contre la RAI précédant l'accouchement a bien eu lieu, et est retrouvée positive à anti-RH1+2. Le laboratoire a conclu à une positivité liée à l'injection systématique d'anti-RH1 passive à la 32ème SA, mais a tout de même demandé un contrôle à 3 semaines pour réaliser une microtitration, et ainsi s'assurer de l'absence d'allo-anti-RH1 associé. Cette microtitration n'a jamais été faite, car aucun prélèvement n'a été envoyé. De plus, la RAI post-accouchement n'ayant ici encore pas été prescrite, aucune confirmation de l'absence d'allo-anti-RH1 associé n'aura été possible. Ceci est d'autant plus troublant que dans le dossier patient, où aucun compte-rendu de laboratoire ne figure car tout était retranscrit manuellement pour « gain de place », figurait la mention :

RAI+, TK - ⟶ RAI –

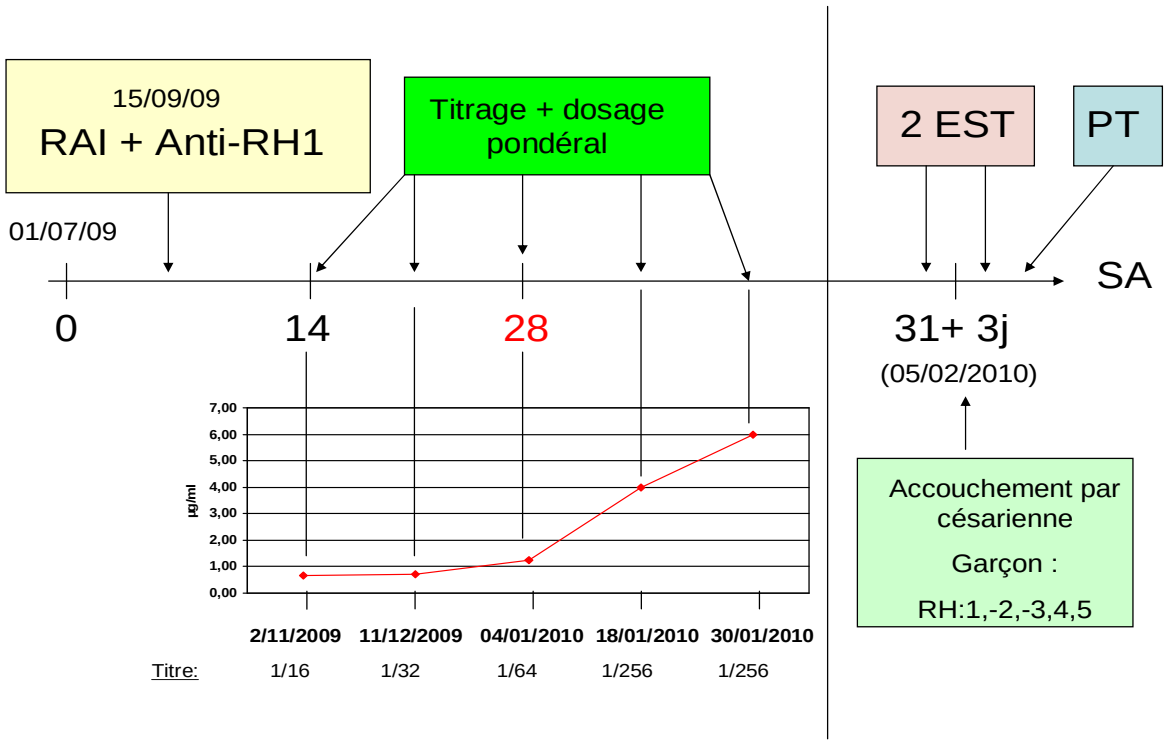
C'est sur cette improbable conclusion que la RAI a ainsi été considérée dans le service comme positive mais à Ac « PASSIFS », de façon certaine, et donc conclue négative, peut-être à tort… En effet il existe une possibilité d'HFM importante (>15ml), non couverte par la dose de 300µg à la 32ème SA, ayant conduit à un allo-anti-RH1 masqué par l'administration de l'anti-RH1 passif. La patiente a donc reçu en post-accouchement une dose de 200µg de Rophylac, comme si elle était non immunisée, ce qui n'était pas certain en l'absence de microtitration. C'est dans ces conditions que l'on se retrouve lors du premier trimestre de la 4ème grossesse de Mme R, avec une RAI « spontanément » positive à anti-RH1+2.

Récapitulatifs des 3ème et 4ème grossesse de Mme R :

3ème Grossesse (2008) Mme R:



4ème Grossesse (2009) Mme R:

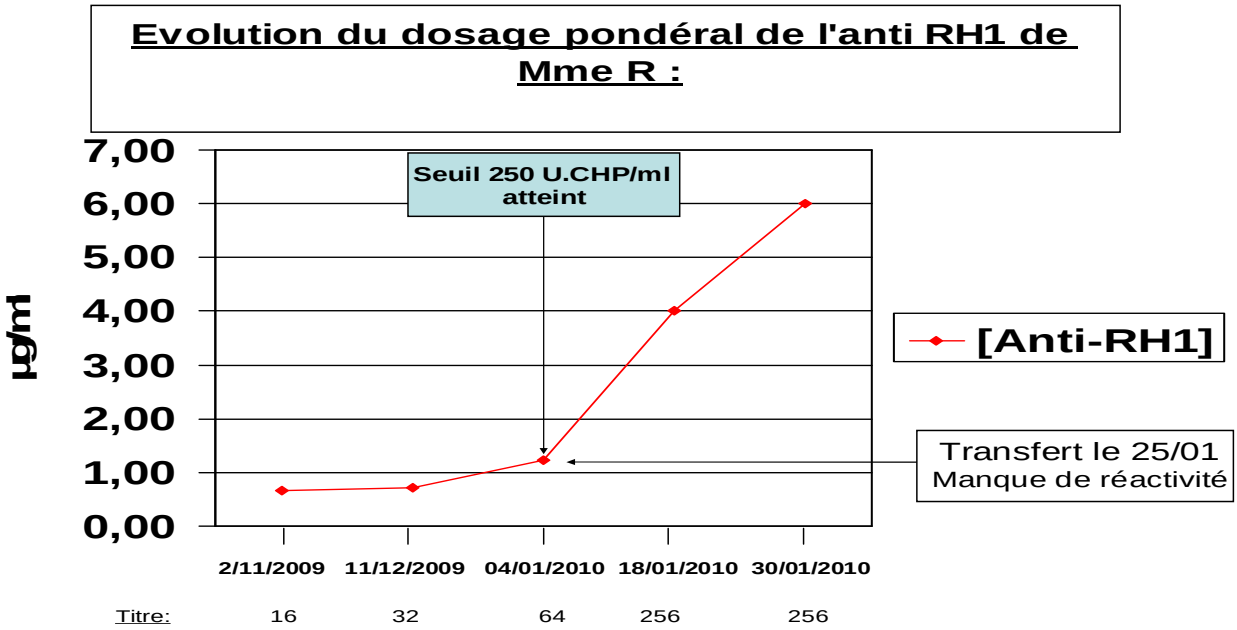


2. Suivi de l'AIFM :

Dans un premier temps, le phénotypage du procréateur a été réalisé : A+, RH: 1,2,3,4,5 KEL:-1, avec forte suspicion d'homozygotie (3 enfants RH1). Le génotypage fœtal RH1 sur sang maternel est réalisé le 09/12/09, et revient positif (RH:1). Le suivi de l'allo anti-RH1 a été réalisé dès sa mise en évidence par l'association suivante : titrage et dosage pondéral.

Résultats immunohématologiques de Mme R:

DATES	RAI	IDENT	TITRE	DOSAGE
2002	-			Natead®
2006	-			Rophylac®
2008	- (+)	(Anti-Rh1+2)		Rophylac® 200µg 06/04/2008
15/09/09	+	Anti-RH1		
08/10/09	+	Anti-RH1		
02/11/09	+	Anti-RH1	8	0,66µg/mL
11/12/09	+	Anti-RH1	16	0,72µg/mL
04/01/2010	+	Anti-RH1	64	1,22µg/mL
18/01/2010	+	Anti-RH1	128	4µg/mL
26/01/2010	+	Anti-RH1	256	
30/01/2010	+	Anti-RH1	256	6µg/mL



Le dosage et le titrage de l'allo anti-RH1 a été réalisé une fois par mois jusqu'au 4/01/2010, où le seuil des 250 U.CHP a été franchi, conduisant à un suivi plus rapproché (tous les 15 jours). Dès ce seuil franchi, le transfert de la patiente vers une maternité de niveau 3 aurait dû être envisagé (équipes spécialisées), ce qui n'a été le cas que le 25/01/2010. Ce manque de réactivité révèle une sous estimation des risques liés aux allo-immunisations par des équipes peu habituées à les prendre en charge. La suspicion d'anémie fœtale sévère n'a donc été posée qu'à 30 SA (25/01/2010) devant les résultats suivants :

- Dosage pondéral anti-RH1 > 250 U.CHP/ml
- Vmax artère cérébrale fœtale > 1,5 MoM (Echo-Doppler)

Devant l'urgence de la situation, la maturation pulmonaire fœtale est débutée avec une 1ère injection de Celestène® 12mg le 25/01/2010 (une autre le 26/01), et la patiente est transférée à la MAT de Nancy en Réanimation néo-nat niveau 3, pour prise en charge avec EST in-utéro (ESTIU) probable. Une ESTIU est en effet réalisée à la MAT de Nancy le 01/02/2010 avec comme consigne post EST : « césarienne en urgence si souffrance fœtale ». Devant l'absence d'amélioration, une césarienne est réalisée le 05/02/2010 à 31 SA + 3 jours : naissance d'un enfant de sexe féminin.

Les examens réalisés à la naissance montrent :

- Groupe : 0+ RH:1,-2,-3,4,5 KEL:-1
- Poids : 1800g
- Pâleur importante, ictère cutanéo-muqueux
- Test de COOMBS positif

Evolution sur le plan hématologique :

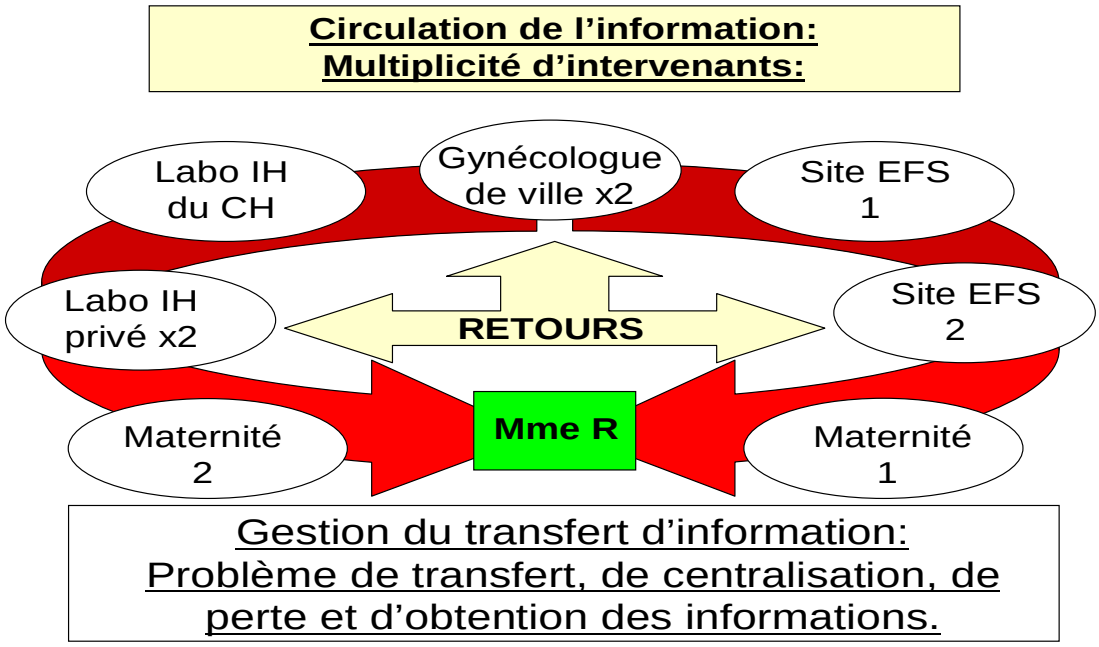
A la naissance, l'enfant a une hémoglobine à 7,2g/dl, et subi un remplissage hémodynamique par plasmion. Une EST est réalisée à J0 (05/02/2010) pour un volume de 320ml. Un contrôle de l'hémoglobine est réalisé en post-EST et retrouve une hémoglobine à 15,3g/dl. Devant la thrombopénie post-EST à 8 G/L, une transfusion plaquettaire est également effectuée. Par la suite l'enfant a encore dû recevoir une transfusion, ainsi que plusieurs cures d'EPO.

Prise en charge de la bilirubinémie :

En post-natal, l'enfant a vu son taux de BNC flamber (car la BNC n'est plus filtrée par le placenta), ce qui a nécessité une dizaine de séances de photothérapie. Les conséquences d'une AIFM, ici à allo-anti-RH1 peuvent donc être extrêmement graves, et parfois conduire au décès de l'enfant. Celà n'a heureusement pas été le cas de l'enfant de Mme R, mais sa prise en charge a tout de même été très lourde, avec des gestes invasifs (ESTIU notamment). Ces patientes à risque, nécessitent une réactivité maximale dès les premiers signes de gravité, afin de les transférer au sein d'établissements (maternités niveau 3) possédant des équipes spécialisées, à même d'optimiser leur prise en charge. De plus ceci permet d'anticiper des besoins transfusionnels aux phénotypes adaptés, pouvant nécessiter une certaine organisation (mobilisation de donneurs) impossible à gérer en urgence par les EFS.

3. Conclusion :

Les dossiers d'AIFM, nous venons de le voir avec l'exemple de Mme R, sont toujours complexes, et mobilisent de nombreux professionnels de santé. Cette multitude d'intervenant impose une communication de tous les instants et une bonne logistique, afin de s'assurer que les flux d'informations sont bien transmis aux différents intervenants. Ceci est indispensable pour que les professionnels puissent prendre les bonnes décisions, et éventuellement déléguer la prise en charge à des équipes spécialisées, en cas de complications.



Conclusion/Discussion :

Si l'AIFM reste un sujet d'actualité, c'est parce que des cas graves persistent malgré les nombreux progrès réalisés ces dernières années. L'allo-immunisation anti-RH1 est encore la plus fréquente, bien qu'un programme de prévention lui soit dédié (injections ciblées et injection systématique à la 28ème SA). Les conséquences de ces AIFM peuvent être très délétères pour l'enfant à naître, mais conditionnent également le « futur transfusionnel » des mères.

C'est pour cela que nous avons entrepris de regarder, après une présentation des recommandations en vigueur, quelles en étaient les applications. Pour ce faire, notre choix s'est naturellement tourné vers les GO, car ils sont au centre du suivi des patientes. C'est à leur niveau que sont faite la majorité des prescriptions d'examens de biologie médicale, que ce soit dans le cadre de la prévention, du suivi ou de la prise en charge des AIFM. Les dernières recommandations en vigueur sont celles du CNGOF et datent de 2005. Force nous a été de constater qu'elles ne répondent pas, ou ne correspondent plus intégralement, aux besoins des GO, dont une grande majorité se déclare en faveur de l'actualisation et de la « clarification » du planning des examens à réaliser. On remarque de ce fait que ces recommandations ne sont pas scrupuleusement suivies, avec des points critiques comme celui de l'injection systématique à la 28ème SA. Cette injection est remise en cause par près d'un quart des GO, qui y voient l'empreinte de laboratoires désireux de faire du profit, alors que l'origine humaine des anti-RH1 passifs peut exposer à des risques résiduels (infectieux, prions…). Les termes de « scandale », « problème », « danger », « volonté de se faire du fric » évoqués pour désigner cette injection dans les commentaires libres de notre questionnaire, montrent à quel point cette injection fait débat, et n'est de ce fait pas "systématiquement" réalisée. Ces points de désaccord entre certains GO et les recommandations CNGOF 2005, sont à l'origine de différences dans leurs pratiques quotidiennes d'exercice, ce qui complique l'analyse de l'efficacité de ces recommandations. Les cas résiduels d'AIFM anti-RH1 sont-ils inéluctables, ou sont-ils la résultante de cette absence de consensus ? Le fait de pouvoir administrer, via l'injection systématique, un médicament dérivé du sang, à des femmes qui ne portent pas toute un enfant RH1 (puisque 15% des fœtus sont RH-1), crée un problème d'ordre éthique pour de nombreux GO. L'arrivée à la nomenclature du test de génotypage de l'ADN fœtal sur plasma maternel, permettra de s'affranchir (ou presque) de ce problème.

Cependant nous avons mis en évidence d'autres points critiques de la prévention. Parmi ceux-ci, une variabilité dans l'utilisation des examens de biologie médicale à la disposition des GO. En effet les examens clefs de la prévention, que sont la RAI et le TK, ne sont pas systématiquement prescrits; et, quand ils le sont, pas toujours dans la bonne indication ou au bon moment. De plus "prescription" n'est pas synonyme de "réalisation". En effet, au cours de notre étude, nous avons pu observer au sein de différents établissements, que les sages-femmes, notamment, n'exécutaient pas systématiquement ce que les GO pensaient (mais souvent uniquement implicitement) avoir prescrit. L'exemple le plus parlant est celui de la prescription d'une RAI en pré-injection d'anti-RH1 passifs, qui n'est réalisée que dans à peine plus de 50% des cas, alors que les GO assurent la prescrire systématiquement. Cette aberration s'explique de plusieurs façons. Premièrement, la notion d'une RAI antérieure négative (même remontant à plusieurs mois, voire à la grossesse précédente) est souvent utilisée comme référence. Deuxièmement, des dérives locales existent : "on ne prescrit pas de RAI le Weekend, puisque le labo ne les fait pas le samedi ni le dimanche"... Le problème majeur posé par l'absence de cette RAI en pré-injection, est la non connaissance du statut immunologique de la patiente avant l'injection, ce qui compliquera notablement l'interprétation des futures RAI positives. La RAI est elle positive à cause de l'injection, où un véritable allo-Ac est-il masqué ? Pour répondre à cette question qui se pose de plus en plus (notamment depuis l'injection systématique à la 28ème SA), un test a été mis en place : la microtitration. Ce test de réalisation simple mais ne figurant toujours pas à la nomenclature, permet après une éventuelle confirmation à 3 semaines, de conclure à la présence ou non d'un allo-anti-RH1 associé. Malheureusement il est encore trop peu réalisé, car les biologistes n'y sont pas partout sensibilisés. Il faut y penser dès que le statut pré-injectionnel n'est pas connu, ou dès que le test de dépistage (RAI) revient positif avec une intensité trop forte par rapport à la date et la dose de l'injection. Ceci soulève de nouveaux points critiques. D'une part l'absolue nécessité pour le biologiste de posséder en plus de la RAI pré-injectionnelle (preuve écrite, et non pas orale), la date et la dose d'anti-RH1 administrée. L'identification systématique de l'Ac doit être réalisée, même si une injection d'anti-RH1 récente est certaine (ce qui est loin d'être fait par tous les laboratoires bien qu'étant une obligation légale).

La communication entre les GO, les sages-femmes, les biologistes et tout autre intervenant est donc égelement un point particulièrement sensible. On note en effet dans notre étude un cruel manque de dialogue entre les différents professionnels, voire une absence de dialogue (15% des GO affirment n'avoir aucun échange avec les laboratoires !). Près de 50% des GO

insistent sur le fait que c'est au biologiste d'expliciter ses résultats et non à eux-mêmes de conclure, et ils ont raison ! La présence d'une conclusion avec une interprétation biologique claire et détaillée doit être présente à la fin de tout compte rendu pour s'assurer de la bonne compréhension des risques liés aux résultats rendus.

Enfin, comme le réclament les GO, la création d'un référent clinicien régional par qui passeraient tous les cas d'AIFM à risques, permettrait d'obtenir un contrôle de la bonne réalisation des examens et d'optimiser la prise en charge des patientes en cas de complications. Les GO restent attachés à la gestion de ces dossiers d'AIFM qui font partie comme ils le disent eux-mêmes, de "leur métier"; mais ils sont les premiers à reconnaître leurs limites dans la gestion des cas les plus à risques. En effet quand on a demandé aux GO de citer les allo-Ac les plus dangereux, 30% n'ont pas cité l'anti-RH1 qui fait pourtant l'objet du programme de prévention, 40% n'ont pas renseigné l'anti-KEL1 pourtant dramatique, et plus de 75% ont déclaré que l'anti-RH4 était anodin !

Il reste donc à définir les modalités de délégation des dossiers (sur quel critères ? quand ? et à qui déléguer ?). Pour optimiser la prise en charge des AIFM il faut en effet être le plus réactif possible dès les premiers signes d'alerte, afin d'assurer un suivi plus rapproché et de prévenir à la fois une maternité (de niveau 3) et l'EFS le plus proche. En effet, s'il doit y avoir des transfusions (éventuellement in-utéro), elles doivent être réalisées par des équipes formées (maternité niveau 3), et avec des produits sanguins labiles (PSL) spécifiquement qualifiés (il peut être nécessaire de convoquer des donneurs particuliers). Rien ne doit, dans l'intérêt de la patiente, être fait dans l'urgence, par des équipes dépassées par les événements. Même la mesure de la PSV-ACM ou l'interprétation des titrage et dosage pondéraux d'un allo-Ac ne peuvent être fiables que si pratiqués et interprétés, toujours par les mêmes équipes, spécialisées.

Pour revenir à la RAI, il est affligeant de voir que moins de 50% des RAI post-accouchement sont prescrites, et que moins de 10% d'entre-elles sont réalisées, à la vue des conséquences transfusionnelles que cela peut avoir. Comment expliquer que près de 40% des GO affirment ne pas la prescrire car elle est "inutile puisque l'enfant est né" ! Il y a ici une réelle méconnaissance du but de cette RAI comme pour de nombreux autres examens de biologie médicale souvent mal prescrits (TK notamment). Des anticorps de développement tardifs comme un anti-JK1, peuvent n'être mis en évidence par les tests de dépistages (RAI) que dans

les mois suivant la grossesse (comme c'est dailleurs le cas après toute transfusion). Ils peuvent par la suite ne jamais être retrouvés (car devenus indétectables) et exposer ainsi la patiente à un risque transfusionnel majeur ! Nous ne pouvons donc, une fois de plus, qu'insister sur l'absolue nécessité de réaliser cette RAI. Notons qu'elle offre de plus la sécurité de s'assurer, un mois après la grossesse, de la bonne réalisation de l'injection post-accouchement d'une dose d'anti-RH1 passifs. Les GO doivent donc non seulement prescrire cette RAI systématiquement, mais aussi s'assurer de sa bonne réalisation (70% admettent ne pas le faire !). Rappelons que le calendrier des RAI propose de s'affranchir des RAI du 8ème et 9ème mois de grossesse si l'injection systématique a été réalisée ente la 28ème et la 32ème SA, selon les recommandation CNGOF 2005, évoquant les difficultés d'interprétation de ces RAI à cause des Ac passifs. Ceci nous semble être une erreur, car le Rophylac ne protège pas contre toutes les allo-immunisations, mais seulement contre l'anti-RH1, les études montrant une protection croisée contre les autres Allo-immunisations par destruction des GRF par l'anti-RH1 passifs étant loin de faire l'unanimité. De plus, pour les femmes enceintes d'un fœtus RH-1, l'injection systématique ne protègera en rien des allo-immunisations autres que RH1, et ces femmes seront donc moins bien suivies que celles RH1, pour qui la RAI du 8ème est obligatoire, et celle du 9ème mois recommandée ! On le voit, il existe des incohérences profondes au sein de recommandations, alors que la RAI du 8ème mois est la dernière sécurité permettant d'anticiper des besoins transfusionnels particuliers avant l'accouchement !

L'arrivée de nouveaux outil comme le génotypage de l'ADN fœtal sur plasma maternel, qui va permettre de s'affranchir de préventions inutiles par anti-RH1 passifs, ne vas pas supprimer les cas résiduels d'AIFM (ni les allo-immunisation anti-RH1, ni les autres). Comment faire alors pour diminuer leur nombre ? Nous l'avons vu il faudrait, pour commencer, uniformiser les pratiques de prévention, de suivi et de prise en charge, autour de recommandations révisées et approuvées par l'ensemble des intervenants.

Quelles sont les pistes à explorer pour prévenir les AIFM ? Comme nous l'avons développé, le fractionnement de la dose de l'injection systématique à la 28ème SA pourrait permettre de mieux couvrir les hémorragies occultes du 3ème trimestre. Si seulement 20% des GO se montrent favorables à cette mesure, c'est essentiellement car ils craignent que mobiliser plusieurs fois (2 ou 3) les patientes, ne conduise à une moins bonne prévention par oubli de doses : "Au moins avec une seule injection, on est sûr que la patiente a reçu 300µg". Le rang de grossesse est également à prendre en compte puisque, nous l'avons vu, le risque de

développer un allo-Ac augmente avec celui-ci. Faudrait-il donc suivre de manière plus rapprochée les femmes multipares ? Il semble, selon Brossard, que le risque de développer un allo-Ac, alors que la prévention a été parfaitement réalisée, apparaisse à partir de la 4ème grossesse et concernerait 5% de ces grossesses pour l'anti-RH1. Les GO se montrent favorables (pour 80%) à un suivi plus rapproché de ces femmes, mais seuls 55% se disent prêts à mettre en œuvre cette surveillance accrue, là encore essentiellement par crainte de problèmes d'organisation.

L'organisation et la communication sont donc bien les deux maîtres-mots de l'AIFM car ils sont à l'origine de la majeure partie des “drames”. En effet ceux-ci sont le plus souvent consécutifs à des oublis de prévention (RAI oubliée, absence d'injection systématique d'anti-RH1, pas d'adaptation de dose selon le TK, car non réalisé...), oublis non constatés révélant une carence organisationnelle, ou bien encore à une faille dans le circuit de l'information, avec un résultat d’examens qui, faute de communication adéquate, soit n'arrivera pas, soit ne sera pas interprété comme il aurait dû l’être...

ANNEXE

Bonjour,

Tout d'abord merci de prendre quelques minutes pour répondre à ce questionnaire (16 Items). Les résultats que vous me renverrez resteront anonymes et seront exploités uniquement dans le cadre de ma thèse sur « Le suivi de la femme enceinte allo-immunisée »

Pour vous faire gagner du temps, ce questionnaire est en format WORD, vous pouvez le remplir en cochant directement les « cases voulues », en utilisant les divers menus déroulants et en remplissant les zones de commentaires libres.

Vous pouvez le remplir en une ou plusieurs fois, il suffit de l'enregistrer !

Enfin, veillez à ENREGISTER ce document, une fois intégralement rempli, pour ne pas perdre les données, avant de me le retourner par mail à cette adresse :
Thom4tm@hotmail.fr

Je vous remercie à nouveau pour votre implication et reste à votre entière disposition pour toutes questions relatives à ce questionnaire, par mail ou téléphone.

P.S : N'hésitez pas à remplir les zones en « commentaires libres » aussi richement que vous le désirez, elles seront source d'informations très utiles.

Cordialement

Thomas VALLOTTON
Interne en biologie médicale (Nancy)
Thom4tm@hotmail.fr
06 15 93 37 06

QUESTIONNAIRE

1) Depuis combien de temps exercez-vous en tant que Gynécologue-Obstétricien ?

☐ Moins de 5 ans
☐ Plus de 5 ans

2) Concernant le programme de prévention de l'allo-immunisation anti-RH1 (Anti-D):

☐ Je me tiens informé de son évolution, et je respecte les recommandations (CNGOF 2005)
☐ Je ne le trouve pas adapté, et je ne le respecte pas, ou pas intégralement
☐ Je pense le respecter à peu près mais je manque d'informations claires à ce sujet

Commentaires libres :

3) Concernant l'injection systématique de Rhophylac à 28 SA :

☐ J'y suis favorable, je la prescris
☐ J'y suis défavorable, je ne la prescris pas

Quand vous la prescrivez, demandez-vous toujours la réalisation d'une Recherche d'Agglutinines Irrégulières (RAI) avant l'injection ?

☐ Oui
☐ Non

Si vous ne la prescrivez, pas pourquoi ?
Cliquer ici pour afficher le menu déroulant

Commentaires libres :

4) Certains pays fractionnent la dose d'Ig anti-RH1 (anti-D) systématique pour assurer une meilleure couverture des hémorragies fœto-maternelles occultes du 3ème Trimestre. Qu'en pensez-vous ?

☐ Pour
☐ Contre
☐ Ne se prononce pas

Commentaires libres :

5) Prescrivez-vous toujours une RAI post accouchement?

☐ Oui
☐ Non

Si oui, à quelle distance de l'accouchement :
Cliquer ici pour afficher le menu déroulant

Si non, pourquoi ?
Cliquer ici pour afficher le menu déroulant

Enfin, vous assurez-vous que la patiente effectue bien cette analyse?

☐ Oui
☐ Non

Commentaires libres :

6) En cas de RAI + à anti-RH1 (Anti-D) avec notion de prophylaxie par Rhophylac, comment interprétez vous ce résultat :

☐ C'était attendu
☐ Je prescris dans tous les cas un contrôle (à 3 semaines) pour voir l'évolution
☐ Je pense que c'est au biologiste de conclure et de me proposer des examens complémentaires si nécessaire

Commentaires libres :

7) A propos du test de Kleihauer (TK) :

☐ C'est un test utile que je prescris toujours selon les recommandations du CNGOF
☐ Je le prescris parfois mais je doute de sa fiabilité (Test manuel…)
☐ C'est un test inutile, je ne le prescris pas

Commentaires libres :

8) En cas de situation immunisante (hors premier trimestre), prescrivez vous un TK pour adapter la dose de Rhophylac ?

☐ Oui
☐ Non

Si oui : Comment vérifier vous biologiquement l'efficacité de l'injection thérapeutique de Rhophylac ?

Cliquer ici pour afficher le menu déroulant

Commentaires libres :

9) Concernant le test de recherche du gène RH1 sur ADN fœtal dans le plasma maternel :

☐ S'il était remboursé je le prescrirais en systématique, ce serait une vraie avancée dans le cadre de la prévention
☐ Je ne vois pas l'intérêt d'un test de plus
☐ Je ne connaissais pas l'existence de ce test

Commentaires libres :

1O) Quand le prescririez-vous (en semaines d'aménorrhées)?

Je le prescrirais à :

Semaines d'aménorrhées (SA).

11) Veuillez cocher les anticorps qui sont, selon vous, les plus dangereux ?

☐ Anti-RH1 (Anti-D)
☐ Anti-RH2 (Anti-C)
☐ Anti-RH3 (Anti-E)
☐ Anti-RH4 (Anti-c)
☐ Anti-RH5 (Anti-e)
☐ Anti-KEL1 (Anti-KEL)
☐ Anti-FY1 (Anti-Duffy A)
☐ Je ne sais pas

Commentaires libres :

12) Chez une patiente déjà immunisée Anti-RH1 (Anti-D), lors d'une grossesse suivante prescririez vous encore une injection de Rhophylac ?

☐ Oui pour diminuer le risque de voir l'immunisation flamber
☐ Non c'est inutile et non recommandé

Commentaires libres :

13) Pensez-vous que le nombre de grossesses influe sur le risque de développer un allo-Ac ?

☐ Oui
☐ Non

Si oui, pensez-vous qu'il serait utile d'adapter le suivi des patientes en fonction du rang de grossesse ?

☐ Oui
☐ Non

Commentaires libres :

14) Quelles attentes avez-vous à propos du suivi des femmes allo-immunisées ?

☐ **Obtenir un planning clair des examens à réaliser**
☐ **La création d'un référent clinicien régional**
☐ **Pouvoir déléguer (Sages femmes…)**

Commentaires libres :

15) A propos des résultats de laboratoire :

☐ Vous téléphonez parfois au laboratoire et le biologiste répond à vos questions
☐ Vous appelez parfois le laboratoire mais il ne répond pas toujours à vos questions
☐ Vous n'avez aucun échange avec le laboratoire

Commentaires libres :

16) Dernière question : concernant ce questionnaire, avez-vous des remarques à formuler :

☐ Trop long
☐ Pas assez détaillé
☐ J'aurais préféré une version papier

Commentaires libres :

Si vous avez d'autres suggestions, attentes ou questions relatives au sujet du « suivi de la femme enceinte allo-immunisée », n'hésitez pas à remplir ce dernier champ :

Commentaires libres :

MERCI !

BIBLIOGRAPHIE :

[1] Branger B, Winer N. Épidémiologie de l'allo-immunisation anti-D pendant la grossesse. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2006; 35:1S87—92.

[2] Cortey A, Brossard Y. Prévention de l'allo-immunisation Rhésus-D. Aspects pratiques. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2006; 35:1S123—30.

[3] J. Chiaroni et al. Groupe sanguins érythrocytaires. EMC France ; 2005

[4] Arrêté du 26 avril 2OO2 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyse de biologie médicale.

[5] Lo et al. Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum : implications for noninvasive prenatal diagnosis. Am J Hum Genet 1998;62(4):768-75.

[6] Lo YMD, Zhang J, Leung TN, Lau TK, Chang AMZ, Hjelm NM. Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma. Am J Hum Genet 1999;64(1):218-24.

[7] S. Gariod. Allo-immunisation anti-Kell et grossesse. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2004 ; 33 : 637-648.

[8] Bowman JM, Pollock JM, Penston LE : Foetomaternal transplacental hemorrahage during pregnancy and after delivery. Vox Sang 51:117-143, 1986.

[9] E. Miquel et al. / Transfusion Clinique et Biologique 12 (2005) 45–55

[10] Dominique Rigal et al. Les allo-immunisations foeto-maternelles anti-erythrocytaires : état de l'art en 2008. Revue francophone des laboratoires 402 (2008) 51-52.

[11] C. d'Ercole. Allo-immunisation foetomaternelle érythrocytaire. EMC (Elsevier Masson SAS), Obstétrique, 5-020-A-20, 2009

[12] Giacoia GP. Severe fetomaternal hemorrhage: a review. Obstet Gynecol Surv (1997) 372-380

[13] Mannessier L, Alie-Daram S, Roubinet F, Brossard Y. Prévention de la maladie hémolytique du foetus et du nouveau-né : il faut agir ! Transfusion Clinique et Biologique (2000) 527-532.

[14] Purwosunu Y, Sekizawa A, Farina A, Okai T, Takabayashi H, Wen P, et al. Enrichment of NRBC in maternal blood: a more feasible method for noninvasive prenatal diagnosis. Prenat Diagn 2006;26:545—7.

[15] CNGOF. Prévention de l'allo-immunisation Rhésus D foetomaternelle. Recommandations pour la pratique clinique. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2006.

[16] GK Klein, et al. Blood transfusion in clinical medecine. Mollison's Eleventh Edition, Blackwell Publisching, 2005

[17] D'Ercole C. L'allo-immunisation foeto-maternelle anti-D. LFB. (Natead®). Juillet 2004.

[18] N. Gillain et Al. Concentration de la bilirubine dans le liquideamniotique et indice de Liley au cours dudeuxieme trimestre de la grossesse. Immuno-analyse et biologie spécialisée (2008) 23, 35—44.

[19] M. Dupont et al. Intérêt de la technique de microtitrage des anticorps anti-RH1 dans le suivi immunohématologique des femmes enceintes. Transfusion Clinique et Biologique 14 (2007) 381–385.

[20] O. Parant. Recommandations pour la pratique clinique. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2006 ; 35 (suppl. au n° 1) : 1S93-1S103. © MASSON, Paris, 2006.

[21] D. Legrand et al. Résultats des examens immunologiques du suivi de grossesse. Etude EFS AM, 2005

[22] Décret n°92-143 du 14 février 1992 relatif aux examens obligatoires prénuptial, pré et postnatal. JO du 18 février 1992.

[23] Arreté du 19 avril 1985 relatif aux examens m6dicaux pre- et post-natals. JO du 30 mai 1985.

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

[25] Betke K, Kleihauer E. Determination of the effectiveness of exchange blood transfusion in the newborn. Arztl Wochensch 1956;11:798—800.

[26] C. d'Ercole. L'Allo-immunisation foeto-maternelle anti-D. LFB (Natead). Juillet 2004.

[27] Pelikan DM, Mesker WE, Scherjon SA, Kanhai HH, Tanke HJ. Improvement of the Kleihauer-Betke Test by automated detection of fetal erythrocytes in maternal blood. Cytometry B Clin Cytom 2003; 54: 1-9.

[28] Kleihauer en pratique LFB. Juillet 2003.

[29] C. Huissoud et Al. Hémorragie foetomaternelle : le point de vue du clinicien. Journal de Gyn´ecologie Obst´etrique et Biologie de la Reproduction (2009) 38, 286—297.

[30] Chitrit Y, Caubel P, Lusina D, et al. Detection and measurement of fetomaternal hemorrhage following diagnostic cordocentesis. Fetal Diagn Ther 1998; 13: 253-256

[31] Kush ML, Muench MV, Harman CR, Baschat AA. Persistant fetal hemoglobin in maternal circulation complicating the diagnosis of fetomaternal hemorrhage. *Obstet Gynecol* 2005; *105*: 872-874.

[32] JD. Hoyer et Al. Flow cytometric measurement of hemoglobin F in RBCs: diagnostic usefulness in the distinction of hereditary persistence of fetal hemoglobin (HPFH) and hemoglobin S-hPFH from other conditions with elevated levels of hemoglobin F. Am J Clin Pathol 2002; 117: 857-863.

[33] Chen JC, Davis BH, Wood B, Warzynski MJ. Multicenter clinical experience with flow cytometric method for fetomaternal hemorrhage detection. Cytometry 2002; 50: 285-290.

[34] P. Bricca et al. Prise en charge des allo-immunisations foeto-maternelles antiérythrocytaires. Transfusion Clinique et Biologique (2011) 18, 269—276.

[35] Brossard Y, Parnet-Mathieu F, Larsen M. Diagnostic et suivi prénatals des allo-immunisations érythrocytaires. Feuill Biol 2002;43(245):11–7.

[36] Brossard Y, Parnet-Mathieu F, Larsen M. Incompatibilités foetomaternelles érythrocytaires. In: Lefrere JJ, et al., editors. Transfusion sanguine : une approche sécuritaire. Ed John Libbey; 2000. p. 300–17.

[37] Mannessier L, Le Pennec PY. Evaluation externe de la qualité : étude de la sensibilité du procédé de filtration en test indirect à l'antiglobuline. Transfus Clin Biol 2005;5:399–400.

[38] K. Finning et Al. A clinical service in the UK to predict fetal Rh (Rhesus) D blood group using free foetal DNA in maternal plasma. Ann N Y Acad Sci 2004; 1022 : 119-23.

[39] A. Mailloux, Y. Brossard, N. Da Silva. CNRHP, Hôpital St Antoine, CNRHP 17/11/2009.

[40] J. Ravinet, B. Carbonne. Analyse économique de la prévention de l'immunisation anti-D. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2006 ; 35 (suppl. au n° 1) :1S104-1S111.

[41] M.H Poissonnier: Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction (2007).

[42] Mannessier L. La surveillance immunohématologique de la femme enceinte et la nouvelle politique de préven tion de l'allo-immunisation anti-RH1. Transfus Clin Biol 2007; 14:112—9.

[43] Poissonnier MH. Immunisation sanguine foeto-maternelle : dépistage, prévention. La Revue du Praticien 2000 ; 50 : 1029-1034.

[44] Goudemand M, Salmon CH. Immuno-hématologie et immunogénétique. Chapitre XI. Paris: Flammarion Médecine-Sciences; 1980.

[45] Mari G, Deter RL, Carpenter RL, et al., Collaborative Group for Doppler Assessment of the Blood Velocity in Anemic Fetuses. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization. N Engl J Med 2000;342:9—14.

[46] B. Carbonne, V. Castaigne-Meary, et al. Intérêt pratique du pic systolique de vélocité à l'artère cérébrale moyenne dans la prise en charge des anémies foetales par allo immunisation érythrocytaire. Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction (2008) 37, 163—169.

[47] Stefos T, Cosmi E, Detti L, Mari G. Correction of fetal anemia on the middle cerebral artery peak systolic velocity. Obstet Gynecol 2002;99:211—5.

[48] Bartha JL, Illanes S, Abdel-Fattah S, Hunter A, Denbow M, Soothill PW. Comparison of different reference values of fetal blood flow velocity in the middle cerebral artery for predicting fetal anemia. Ultrasound Obstet Gynecol 2005;25:335—40.

[49] Mari G. Middle cerebral artery peak systolic velocity for the diagnosis of fetal anemia: the untold story. Ultrasound Obstet Gynecol 2005;25:323—30.

[50] Dukler D, Oepkes D, Seaward G, Windrim R, Ryan G. Noninvasive tests to predict fetal anemia: a study comparing Doppler and ultrasound parameters. Am J Obstet Gynecol 2003;188:1310—4.

[51] Bullock R, Martin WL, Coomarasamy A, Kilby MD. Prediction of fetal anemia in pregnancies with red-cell alloimmunization: comparison of middle cerebral artery peak systolic velocity and amniotic fluid OD450. Ultrasound Obstet Gynecol 2005;25:331—4.

[52] Murphy KW, Venkatraman N, Stevens J. Limitations of ultrasound in the diagnosis of fetomaternal haemorrhage. BJOG 2000;107:1317—9.

[53] B. Carbonne et al. Le point sur le suivi des allo-immunisations érythrocytaires. Gynécologie Obstétrique & Fertilité 38 (2010) 205–213.

[54] Transfusion de globules rouges homologues - Recommandations AFSSAPS 2002

[55] Daffos F, Capella-Pavlovsky M, Forestier F. A new procedure for fetal blood sampling in utero: preliminary results of fifty-three cases. Am J Obstet Gynecol 1983;146:985–7.

[56] L. Mannessier. Suivi immuno-hématologique des femmes enceintes : nouvelles recommandations. Transfusion Clinique et Biologique 16 (2009) 195–200.

[57] C. Boithias et Al. Ictère en maternité et après la sortie. Médecine thérapeutique/Pédiatrie. Volume 8, Numéro 5, 333-8, Septembre-Décembre 2005, Dossier.

[58] JC. Soulié. Dépister, évaluer, traiter l'ictère du nouveau-né en maternité. Médecine & Enfance mai 2003 : 275-80.

[59] Dennery PA, Seidman DS, Stevenson DK. Neonatal hyperbilirubinemia. N Engl J Med 2001 ; 344 : 581-90.

[60] Vreman HJ, Wong RJ, Stevenson DK. Phototherapy : current methods and future directions. Semin Perinatol 2004 ; 28 : 326-33.

[61] Sender A, Caldéra R. Les indications de la photothérapie dans l'ictère néonatal. Ann Pediatr (Paris) 1998 ; 45 : 655-63.

[62] Wananukul S, Praisuwanna P. Transepidermal water loss during conventional phototherapy in nonhemolytic hyperbilirubinemia term infants. J Med Assoc Thai 2001 ; 84(Suppl 1) : S46-S50.

[63] Briand E, Rambaud C, Raison-Boulley AM, Sander A, Dehan M. Mort subite sous phototherapie : attention à l'hyperthermie. Abstract. 7e Journée Parisienne Obstetrico-pédiatrique. Paris. 5 février 1999.

[64] Caldera R, Sander A. Photothérapie et mort subite du nourrisson. Arch Pediatr 1999 ; 6 : 113.

N° d'identification :

TITRE

Prévention, suivi et prise en charge de la femme enceinte allo-immunisée en Lorraine : le point en 2011

Thèse soutenue le 29 février 2012
Par Thomas VALLOTTON

RESUME :

L'allo-immunisation foeto-maternelle (AIFM) a fait l'objet ces dernières années de nombreuses évolutions, tant au niveau de sa prévention (injection systématique d'anti-RH1 à la 28ème SA), de son suivi, que de sa prise en charge. Cependant les recommandations du Conseil National des Gynécologues Obstétriciens Français (CNGOF), datées de 2005, ne font pas l'unanimité au sein des gynécologues-obstétriciens (GO), et ne sont ainsi pas uniformément appliquées. A travers la réalisation puis l'analyse d'un questionnaire destiné aux GO de Lorraine, nous avons fait le point sur l'utilisation des outils, notamment biologiques, à leur disposition pour prévenir, suivre et prendre en charge ces AIFM. Nous avons montré que des examens de biologie médicale comme la recherche d'agglutinines irrégulières (RAI) et le test de Kleihauer (TK), examens clefs, n'étaient pas systématiquement prescrits, ou pas toujours à bon escient. Il ressort également de notre étude une sous-estimation du risque, tant pour le fœtus que pour sa mère, que représente la mise en évidence d'un allo-anticorps. Ceci paraît souvent lié au manque de communication entre les différents intervenants (gynécologues, biologistes, sages-femmes, établissements français du sang (EFS),...) et montre que le biologiste médical se doit d'interpréter explicitement tout résultat, afin d'optimiser la prise en charge qui en découlera. L'arrivée imminente de nouveaux outils comme le génotypage de l'ADN fœtal sur plasma maternel, apportera certaines solutions, mais ne résoudra pas les points critiques mis en évidence, et ne se substituera pas à d'autres attentes des GO : création d'un référent clinicien régional, et actualisation des recommandations sous la forme d'un planning clair des examens à réaliser.

MOTS CLES : Allo-Anticorps, Allo-immunisation foeto-maternelle, anémie, dosage pondéral, génotypage foetal, injection systématique, microtitration, recherche d'agglutinines irrégulières, test de Kleihauer, titrage.

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature	
Dr. Christine ANDRE-BOTTE	EFS LORRAINE-CHAMPAGNE	Expérimentale	X
		Bibliographique	X
		Thème	5

Thèmes 1 – Sciences fondamentales 2 – Hygiène/Environnement
3 – Médicament 4 – Alimentation – Nutrition
5 - Biologie 6 – Pratique professionnelle

FACULTE DE PHARMACIE **UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY 1**

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 29 Février 2012

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE présenté par Thomas VALLOTTON Sujet : Prévention, suivi et prise en charge de la femme enceinte allo-immunisée en Lorraine ; le point en 2011. Jury : Président : Mme le Pr. Chantal FINANCE Directeur : Mme le Dr. Christine ANDRE-BOTTE Juges : Mr le Dr. Alain MITON Mr le Pr. Philippe JONVEAUX	Vu, Nancy, le 20/01/2012 Le Président du Jury — Le Directeur de Thèse **Mme FINANCE.** — **Mme. ANDRE-BOTTE**
Vu et approuvé, Nancy, le 05.02.2012 Doyen de la Faculté de Pharmacie de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1, ***Francine PAULUS***	Vu, Nancy, le 13.02.2012 L'administrateur provisoire de l'UL ***Jean-Pierre FINANCE*** N° d'enregistrement : 3889.