

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB –BLIDA 1

FACULTE DE MEDECINE

DEPARTEMENT DE PHARMACIE



Immunoglobuline Humaine Anti-D Et Allo-Immunsation Fœto-maternelle

Thèse de fin d'étude Présentée
En vue de l'obtention du titre de Docteur en Pharmacie
Session : MARS 2021

Présentée par :

- Mr YAHIAOUI Tahir
- Mr MAHMOUDI Ahmed

Encadrée par :

- Pr MANSEUR Fadila Maitre de conférence A en gynécologie obstétrique,
EHS TIDJANI Haddam - Tipaza -

Remerciements

*En préambule à ce mémoire nous remercions **ALLAH** qui nous a aidé et nous a donné la patience et le courage durant ces longues années d'étude.*

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères à ceux qui aux contribués à l'élaboration de ce mémoire.

Nos remerciements vont également à notre encadreur

***Pr MANSEUR Fadila** « **Maître de conférence A en gynécologie obstétrique** » pour l'orientation, la confiance, la patience, et son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail.*

*Nos vifs remerciements vont également au **Dr BENAZIZ Ouarda***

***La cheffe du département de la pharmacie de Blida**, pour son aide précieuse durant toute cette formation*

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui d'une façon ou d'une autre nous ont aidées à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

*J'ai l'honneur et le plaisir de dédier le fruit de ce travail
A Mes chers parents qui n'ont pas cessé de m'aider et de
m'encourager chaleureusement*

A tous mes frères, mes sœurs, ma femme

A ma fille Nourssine et tous mes nièces et neveux :

Wafa,Lina,Abdennour ,Iyed,Meriem Et Mohamed

Tous mes amis (es) sans exception.

A tous ceux qui ont aidé a la réalisation de ce travail.

Mr YAHIAOUI Tahir

Dédicaces

*Je dédie ce travail a mes parents qui m'ont soutenu et
encouragé durant cette formation*

*A mes frères mes collègues et ceux qui ont partagé avec moi
tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce
travail*

*A toute ma famille, mes proches et ceux qui me donnent de
l'amour et de la vivacité*

Mr MAHMOUDI Ahmed

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	1
TABLE DES ILLUSTRATIONS	4
LISTE DES ABREVIATIONS.....	6
INTRODUCTION	8
1^{ERE} PARTIE : PRESENTATION DE L'ALLO-IMMUNISATION FŒTOMATERNELLE (AIFM).....	10
1. Un détournement de la réponse immunitaire.....	10
2. Physiopathologie de l'AIFM.	10
2.1. Conditions nécessaires au développement de l'AIFM.....	13
2.2. Le système Rhésus.....	13
2.2.1. Approche génétique	13
2.2.2. Protéines constitutives du complexe Rhésus.....	14
2.3. Elimination physiologique et pathologique du globule rouge.....	15
2.3.1. Description des érythrocytes	15
2.3.2. Mécanismes physiologiques et pathologiques de l'hémolyse	15
3. Physiopathologie de la MHFN	18
3.1. Catabolisme de l'hémoglobine au cours de la MHFN.....	18
4. Le microchimérisme fœtal	19
5. Données historiques et épidémiologiques de l'AIFM.....	20
5.1. Aspect historique.....	20
5.2. Données épidémiologiques.....	22
2^{EME} PARTIE : GROSSESSE & ALLO-IMMUNISATION FŒTOMATERNELLE	24
1. Le développement placentaire.....	24
1.1. Présentation du placenta et de ses fonctions.....	24
1.2. Le développement du placenta et des annexes.....	25
1.3. Anatomie du placenta.....	30
2. Immunologie de la grossesse	32
2.1. Rappel immunologique sur les immunoglobulines.....	33
2.2. Le transfert transplacentaire des immunoglobulines.....	34
2.2.1. Le syncytiotrophoblaste	35
2.2.2. Le tissu conjonctif villositaire	36
2.2.3. L'endothélium capillaire fœtal.....	37
3. Surveillance immuno-hématologique de la femme enceinte RhD négative	38
3.1. Le dépistage de l'allo-immunisation érythrocytaire.....	38
3.1.1. L'anamnèse	38
3.1.2. La détermination du phénotype paternel	38
3.1.3. La recherche des agglutinines irrégulières	39

3.2. La détermination du génotype et du phénotype fœtal.....	41
3.2.1. La détermination du génotype fœtal.....	41
3.2.2. La détermination du phénotype fœtal.....	42
3.3. La surveillance de l'évolution de l'allo-immunisation.....	42
3.3.1. L'évaluation du risque hémolytique in utero.....	42
3.3.1.1. L'identification et le titrage des anticorps anti-RhD.....	42
3.3.1.2. Écho-doppler de l'artère cérébrale moyenne.....	43
3.3.1.3. Le test de Kleihauer.....	44
3.3.1.4. La mesure de la bilirubinémie.....	46
3.4. Synthèse du suivi de l'allo-immunisation fœto-maternelle.....	48
3^{EME} PARTIE : PROPHYLAXIE ANTI-RHD & STRATEGIES THERAPEUTIQUES.....	50
1. La prise en charge avant l'accouchement.....	50
1.1. La prophylaxie anti-RhD.....	50
1.1.1. Une avancée considérable.....	50
1.1.2. Un mécanisme d'action encore inconnu.....	50
1.2. La transfusion in utero (TIU).....	54
1.2.1. Principes généraux.....	54
1.2.2. La transfusion intra-péritonéale.....	55
1.2.3. La transfusion intravasculaire.....	56
1.3. Le phénobarbital par voie orale chez la femme enceinte.....	57
2. La prise en charge post natale.....	57
2.1. L'accouchement prématuré.....	57
2.2. La photothérapie intensive.....	57
2.2.1. Premiers pas de la photothérapie.....	57
2.2.2. Physiopathologie et bénéfices thérapeutiques.....	58
2.2.3. Efficacité et longueur d'onde.....	59
2.2.4. Effets secondaires et contre-indications.....	60
2.3. L'exsanguino-transfusion.....	61
2.4. L'érythropoïétine.....	61
3. Association de plusieurs traitements : cas clinique.....	62
4^{EME} PARTIE : LE RHOPHYLAC[®], SEULE IMMUNOGLOBULINE HUMAINE ANTI-RHD.....	64
1. Historique du Rhophylac [®]	64
2. Présentation.....	66
3. Production.....	68
3.1. Contrôle-qualité.....	68
3.2. Procédés de fabrication et sécurité virale.....	68
3.2.1. Cryoprécipitation et centrifugation.....	69
3.2.2. Inactivation virale par traitement solvant/détergent.....	70
3.2.3. Purification par chromatographie échangeuse d'ions.....	70
3.2.4. Elimination virale par nanofiltration.....	71
4. Indications thérapeutiques.....	72
4.1. La prévention de l'AIFM Rhésus D.....	72

4.2. Les transfusions incompatibles.....	72
4.3. Autres indications.....	73
5. Propriétés pharmacologiques et pharmacocinétiques appliquées à l'AIFM.....	73
6. Posologie.....	74
6.1. Prévention de l'allo-immunisation fœto-maternelle RhD.....	74
6.2. Transfusions incompatibles.....	76
6.3. Autres indications.....	76
7. Interactions médicamenteuses, effets indésirables et contre-indications.....	76
7.1. Interactions médicamenteuses et autres formes d'interactions.....	76
7.2. Effets indésirables.....	77
7.3. Contre-indications.....	77
8. La délivrance du Rhophylac®.....	77
8.1. Délivrance à l'hôpital.....	78
5^{EME} PARTIE : analyse critique et recommandations.....	79
1. Analyse critique.....	79
2. Recommandations.....	80
CONCLUSION.....	82
GLOSSAIRE.....	83

TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIGURE I.1 : ECHOGRAPHIE D'UN FŒTUS SOUFFRANT D'ANASARQUE AVEC PRESENCE D'ASCITE	11
FIGURE I.2 : CONSEQUENCES DE L'HEMOLYSE FŒTALE	12
FIGURE I.3 : LE ROLE DU COMPLEXE RHESUS	14
FIGURE I.4 : CARACTERISTIQUES D'UNE HEMATIE NORMALE	15
FIGURE I.5 : PHAGOCYTOSE D'UNE HEMATIE PAR UN MACROPHAGE	16
FIGURE I.6 : LES DIFFERENTES ETAPES DE LA PHAGOCYTOSE DES GLOBULES ROUGES	17
FIGURE I.7 : FORMULE CHIMIQUE DE LA BILIRUBINE LIBRE	18
FIGURE II.1 : DE L'ŒUF A LA MORULA	25
FIGURE II.2 : BLASTOCYTE AU DEBUT DE SON ADHESION A LA PAROI UTERINE (6 A 7 JOURS)	26
FIGURE II.3 : DISQUE EMBRYONNAIRE DIDERMIQUE (HYPOBLASTE ET EPIBLASTE) A 8 JOURS	26
FIGURE II.4 : IMPLANTATION COMPLETE DE L'EMBRYON DANS L'ENDOMETRE	27
FIGURE II.5 : STADE LACUNAIRE AU 9-10 ^{EME} JOUR	28
FIGURE II.6 : FORMATION DES VILLOSITES PRIMAIRES SUITE A L'EROSION DES CAPILLAIRES DE L'ENDOMETRE	28
FIGURE II.7 : VILLOSITE PRIMAIRE AU 11-13 ^{EME} JOUR	28
FIGURE II.8 : VILLOSITE SECONDAIRE AU 16 ^{EME} JOUR AVEC AU CENTRE	29
FIGURE II.9 : VILLOSITE TERTIAIRE AU 21 ^{EME} JOUR	30
FIGURE II.10 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU PLACENTA VERS LE 4 ^{ME} MOIS EN SECTION SAGITTALE	31
FIGURE II.11 : FACE MATERNELLE (A GAUCHE) ET FŒTALE (A DROITE) DU PLACENTA	32
FIGURE II.12 : LA STRUCTURE EN Y DES IMMUNOGLOBULINES	33
FIGURE II.13 : EVOLUTION DE LA CONCENTRATION SANGUINE DES IgG CHEZ LE FŒTUS	34
FIGURE II.14 : STRUCTURE DU TRANSPORTEUR FcRn	35
FIGURE II.15 : LE TRANSPORT PLACENTAIRE DES IMMUNOGLOBULINES G	37
FIGURE II.16 : CALENDRIER DE RECHERCHE DES AGGLUTININES IRREGULIERES	39
FIGURE II.17 : ORGANISATION DES GENES <i>RHD</i> ET <i>RHCE</i> SUR LE CHROMOSOME 1	41
FIGURE II.18 : MESURE DU PIC SYSTOLIQUE DE VELOCITE DANS L'ARTERE CEREbraLE MOYENNE FŒTALE	44
FIGURE II.19 : LE TEST DE KLEIHAUER - BETKE	45
FIGURE II.20 : MISE EN EVIDENCE D'HEMATIES FŒTALES LORS DU TEST DE KLEIHAUER - BETKE	46
FIGURE II.21 : LE DIAGRAMME DE LILEY ORIGINAL (TRAIT EPAIS) ET « PROLONGE » (TRAIT EN POINTILLES)	47
FIGURE II.22 : ALGORITHME DE PRISE EN CHARGE DE LA FEMME ENCEINTE DANS LE CADRE DE L'AIFM	48
FIGURE III.1 : SITUATIONS A RISQUE D'AIFM RHD AU COURS DE LA GROSSESSE	53
FIGURE III.2 : LE METABOLISME NORMAL DE LA BILIRUBINE COMPARE AU METABOLISME DE LA BILIRUBINE LORS DE LA PHOTOTHERAPIE	59
FIGURE III.3 : EVOLUTION DU DOMAINE D'ABSORPTION DE LA BILIRUBINE EN FONCTION DE LA LONGUEUR D'ONDE	60

FIGURE IV.1 : PATIENT CONSENTANT A UN DON DU SANG TOTAL	66
FIGURE IV.2 : PATIENTE CONSENTANT A UNE PLASMAPHERESE	66
FIGURE IV.3 : LE RHOPHYLAC® SE DECLINE SOUS DEUX DOSAGES 200 µG/2ML ET 300 µG/2ML.....	67
FIGURE IV.4 : LES DIFFERENTES ETAPES DE FABRICATION DU RHOPHYLAC®.....	69
FIGURE IV.5 : LES ETAPES DE LA CHROMATOGRAPHIE ECHANGEUSES D'IONS.....	70
FIGURE IV.6 : LA NANOFILTRATION.....	71
FIGURE IV.7 : LES ETAPES D'INACTIVATION/ELIMINATION VIRALE PEUVENT ETRE D'EFFICACITE LIMITEE VIS-A-VIS DES VIRUS NON- ENVELOPPE TELS QUE LE VIRUS DE L'HEPATITE A OU LE PARVOVIRUS B19	71
FIGURE IV.8 : SCHEMA THERAPEUTIQUE DU ROPHYLAC®.....	75

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	Acide d ésoxyribonucléique
AFSSAPS	Agence française de sécurité s anitaire des p roduits de santé
AIFM	Allo- i mmunisation f œto- m aternelle
AMM	A utorisation de m ise sur le m arché
ARNm	A cide r ibonucléique m essenger
β2m	β -2 m icroglobuline
CD47	Cluster of d ifferentiation 47
CPDPN	Centres p luridisciplinaires de d iagnostic p rénatal
CFU-E	Colony forming u nit e rythroid
CIVD	Coagulation i ntravasculaire d isséminée
CMH	Complexe m ajeur d' h istocompatibilité
CMV	Cyto m égalo v irus
CNGOF	Collège n ational des g ynécologues o bstétriciens de F rance
CNRHP	Centre n ational de r éférence en h émobiologie p érinatale
CT	Cytotrophoblaste
EFS	E tablishement f rançais du sang
EPO	E rythropoïétine
ETIU	Exsanguino- t ransfusion <i>in utero</i>
Fab	F ragment a ntigen b inding
Fc	F ragment c ristallisable
FcγR	F ragment c ristallisable γ r eceptor
FcRn	F ragment c ristallisable r eceptor n eonate
FDA	F ood and d rugs a dministration
FISH	F luorescence <i>in situ</i> h ybridization
HbF	H émoglobine f œtale
hCG	H ormone chorionique g onadotrophine
HLA	H uman l eukocyte a ntigen
IAP	I ntegrin-associated p rotein
ICAM-4	I ntercellular a dhesion m olecule 4
Ig	I mmunoglobuline
Inserm	I nstitut n ational de la santé et de la r echerche m édicale
LFB	L aboratoire français de f ractionnement et des b iotechnologies
MEE	M ésoblaste e xtra- e mbyonnaire
MHFN	M aladie h émolytique du f œtus et du n ouveau-né

PAIgG	Platelet associated IgG
PCR	Polymerase chain reaction
PGE2	Prostaglandine E2
PSV-ACM	Pic systolique de vélocité dans l'artère cérébrale moyenne
PTI	Purpura thrombopénique idiopathique
RAI	Recherche d'agglutinines irrégulières
RCP	Résumé des caractéristiques du produit
RhD	Rhésus D
rHuEPO	Recombinant human erythropoïetin
SA	Semaine d'aménorrhée
SIDA	Syndrome d'immunodéficience acquise
SRE	Système réticulo-endothélial
ST	Syncytiotrophoblaste
TGF- β1	Tumor growth factor β1
TIU	Transfusion <i>in utero</i>
UDP	Uridine diphosphate
UGT1A1	UDP-glucuronosyltransferase 1 sous type A1
UI	Unité internationale
VHA	Virus de l'hépatite A
VHB	Virus de l'hépatite B
VHC	Virus de l'hépatite C
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine

INTRODUCTION

Les symptômes de la maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né résultent de la destruction des hématies fœtales par des anticorps maternels. Ce phénomène, fréquemment comparé au rejet d'un greffon par son hôte, s'explique par une incompatibilité fœtomaternelle vis-à-vis d'un antigène présent à la surface des érythrocytes. La forme la plus fréquente et la plus sévère de ces incompatibilités est due à l'antigène Rhésus D.

Ainsi, une femme dont les hématies ne possèdent pas cet antigène, appelée Rhésus D négative, enceinte d'un fœtus dont les globules rouges sont eux porteurs de l'antigène Rhésus, appelé Rhésus D positif, peut produire des anticorps en réponse au passage des hématies fœtales dans la circulation maternelle. Ce passage aboutissant au microchimérisme se produit lors d'hémorragies causées par certains gestes obstétricaux ou par l'accouchement et constitue la première étape de l'allo-immunisation fœto-maternelle.

Décrite dès 1609, la maladie hémolytique périnatale se traduit chez le fœtus par une anémie à l'origine d'œdème généralisé potentiellement responsable de mort *in utero*. Chez le nouveau-né, l'hémolyse peut provoquer un ictère compliqué d'atteintes cérébrales. Avant la seconde guerre mondiale, seule la moitié des nourrissons atteints survivait à ces symptômes. De nos jours, l'incidence est inférieure à 1 cas pour 1000 naissances (et inférieure à 7 cas si on ne considère que les femmes Rhésus D négatives). Cependant, en l'absence de stratégies préventives et thérapeutiques, la mort fœtale interviendrait dans 15% des cas et on estime qu'à l'heure actuelle, une cinquantaine de décès néonataux serait imputable à la maladie hémolytique sur le territoire français pour environ 700 cas d'allo-immunisation érythrocytaire.

La baisse exponentielle de la mortalité s'explique par la mise au point de différentes stratégies thérapeutiques pour restreindre l'anémie fatale au fœtus et diminuer l'hyper bilirubinémie néfaste pour le nouveau-né. Les premiers pas de l'immunoprophylaxie dès 1968 ont permis de faire passer l'incidence sous la barre des 1% et depuis le début des années 2000, la mise à disposition de l'immunoglobuline humaine anti D, première solution injectable d'immunoglobulines anti-Rhésus D a permis d'apporter une réponse sûre et efficace dans la prophylaxie de l'allo-immunisation fœto-maternelle due au Rhésus D.

La première partie de ce travail présente l'allo-immunisation fœto-maternelle, ses mécanismes physiopathologiques ainsi que les aspects historiques et épidémiologiques.

Dans la seconde partie, l'intérêt est porté sur le placenta : comment cet organe destiné à la survie du fœtus laisse-t-il passer des anticorps maternels destructeurs ? Ce chapitre traite également des examens à pratiquer en cas de suspicion d'allo-immunisation fœto-maternelle.

La troisième partie est dévolue aux principaux moyens de lutter contre la maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né que ce soit à titre préventif ou curatif.

Enfin, la quatrième et dernière partie s'articulera autour de l'immunoglobuline humaine anti D : ce médicament dérivé du sang est-il totalement sûr vis-à-vis des agents pathogènes ?, possède-t-il des effets indésirables pour la femme enceinte ou le fœtus ?, quelles sont les modalités de délivrance à l'établissement hospitalier ?

1^{ERE} PARTIE : PRESENTATION DE L'ALLO-IMMUNISATION

FETOMATERNELLE (AIFM)

1. UN DETOURNEMENT DE LA REPONSE IMMUNITAIRE.

Les réponses immunitaires n'ont pas toujours un rôle favorable comme celui qu'on leur connaît dans la protection contre les maladies infectieuses ou les tumeurs. Les anticorps peuvent aussi détruire des organes propres à l'individu (maladies auto-immunes) ou d'organes étrangers (rejet de greffes d'organes). L'allo-immunisation est la conséquence de l'introduction dans un organisme d'alloantigènes érythrocytaires, leucocytaires ou sériques. Cette allo-immunisation peut survenir dans trois circonstances : les grossesses, les transfusions sanguines et les transplantations de peau ou d'organes [1].

Dans le cadre de la grossesse, l'immunisation résulte d'hémorragies fœtomaternelles qui se produisent en situation normale respectivement dans 4%, 12%, 45% et 60% des cas aux décours des 1^{er}, 2nd, 3^{ème} trimestres et de l'accouchement et ce dès la première grossesse. Le volume de ces hémorragies est faible durant les 2 premiers trimestres sauf en cas de traumatisme, d'interruption médicale de grossesse ou toute autre manipulation obstétricale [2].

2. PHYSIOPATHOLOGIE DE L'AIFM.

Lors de la grossesse, le passage d'éléments figurés du sang fœtal dans le sang maternel peut provoquer la production d'anticorps maternels. Ces anticorps sont capables de traverser la barrière placentaire et de venir neutraliser les plaquettes, globules blancs et hématies fœtales. Par ce mécanisme, les anticorps ou immunoglobulines (Ig) peuvent provoquer soit une thrombopénie périnatale, une neutropénie périnatale ou la maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né (MHFN, encore appelée érythroblastose fœtale). Généralement, la quantité d'anticorps anti-D produite est insuffisante pour provoquer un risque fœtal pendant la grossesse en cours. Lors d'une grossesse suivante, la réactivation de l'immunisation peut aboutir à la production massive d'anticorps qui vont provoquer une hémolyse fœtale massive.

Dans ce cas, le fœtus présente *in utero* une anémie sévère à laquelle il réagit en augmentant son débit cardiaque et en multipliant les sites hématopoïétiques hépatiques. Le nombre de réticulocytes et des érythroblastes augmente dans son sang. Ces foyers érythropoïétiques déstructurent le foie fœtal et entraînent des perturbations de la circulation dans la veine ombilicale et la veine porte ainsi qu'une hypoalbuminémie. L'anémie, en s'aggravant, peut provoquer une insuffisance cardiaque et secondairement une extravasation plasmatique. Il en résulte la formation d'une ascite, d'épanchements pleuraux, péricardiques et œdèmes sous-cutanés qui caractérisent l'anasarque (cf. Figure I.1). Le fœtus flotte dans une quantité excessive de liquide amniotique appelé hydramnios. Le placenta œdématisé est moins bien perfusé : l'hypoxie tissulaire prolongée est à l'origine des lésions tissulaires (cytolyse hépatique). En l'absence de traitement, le fœtus décède.



Figure I.1 : Echographie d'un fœtus souffrant d'anasarque avec présence d'ascite [3].

Lorsque la grossesse arrive à son terme, l'enfant naît anémié et en état d'hypoxie. Il est alors exposé à la deuxième conséquence de la maladie, l'hyperbilirubinémie. *In utero*, la bilirubinémie du fœtus n'est jamais très élevée malgré l'importante production de ce métabolite et l'incapacité du foie fœtal à l'éliminer par glucuroconjugaison. Il existe en effet un important gradient entre les protéines fœtales et maternelles qui favorise le passage de cette bilirubine non-conjuguée vers le sang maternel et son catabolisme par le foie maternel.

Après la naissance, la dégradation des hématies sensibilisées par les anticorps maternels reste importante et la bilirubine non-conjuguée produite en quantité excessive peut traverser la barrière hématoencéphalique (BHE) immature du nouveau-né et provoque un ictère nucléaire pouvant entraîner des séquelles neurologiques graves (cf. Figure I.2).

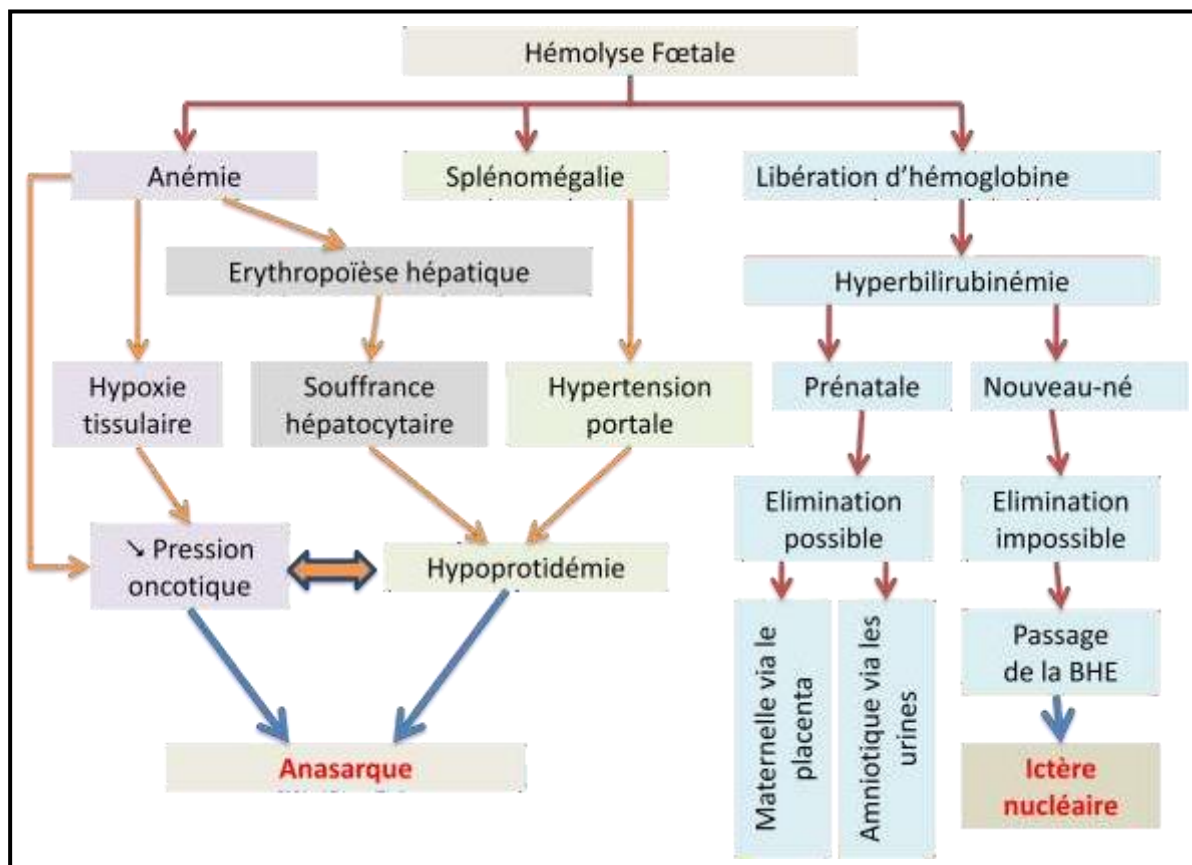


Figure I.2 : Conséquences de l'hémolyse fœtale, à savoir l'**anasarque** causée par la splénomégalie et l'anémie fœtale et l'**ictère nucléaire** causé par le passage de la bilirubine au travers de la barrière hématoencéphalique (BHE) du nouveau-né.

L'atteinte du fœtus est directement corrélée à la classe, la spécificité, le titre et le dosage pondéral des immunoglobulines impliquées. Lors d'immunisations très importantes, une césarienne sera pratiquée avant terme pour soustraire l'enfant à l'action néfaste des anticorps maternels. Dans le cas d'anémie fœtale sévère, il est nécessaire de pratiquer des transfusions voire des exsanguino-transfusions partielles *in utero* jusqu'au moment où la césarienne sera possible [4].

2.1. Conditions nécessaires au développement de l'AIFM.

Le développement de l'allo-immunisation fœtomaternelle nécessite l'association de 6 conditions :

- a) Le fœtus doit être porteur de l'antigène correspondant (évaluation du risque par détermination du phénotype sanguin paternel).
- b) L'antigène responsable doit être immunogène.
- c) Il doit être exprimé à la surface des hématies fœtales.
- d) Il doit être essentiellement distribué à des érythrocytes.
- e) Les anticorps produits lors de l'immunisation doivent être des IgG, seules immunoglobulines transmissibles par voie transplacentaire.
- f) Une immunisation préalable de la mère contre l'antigène responsable est nécessaire (réponse secondaire consécutive à des transfusions et/ou des grossesses antérieures).

Ces conditions sont réalisées pour de nombreux antigènes (D, C, c, e, K, E,...) mais l'allo-immunisation fœtomaternelle causée par l'antigène D (ou antigène RhD) représente environ 90% des cas [5].

2.2. Le système Rhésus.

Découvert en 1940 par Landsteiner et Wiener, le système Rhésus (Rh) est un des systèmes de groupe sanguin les plus immunogènes mais aussi les plus polymorphes chez l'Homme. En effet, au-delà des antigènes majeurs D, C/c et E/e, on dénombre plus de 55 antigènes définis du point de vue sérologique. L'antigène RhD est spécifique des hématies et est pleinement exprimé dès la vie embryonnaire puisqu'il se développe dès la 4^{ème} - 6^{ème} SA [6].

2.2.1. Approche génétique.

Le locus RH est composé de deux gènes homologues *RHD* et *RHCE* (96% d'identité) étroitement liés sur le chromosome 1p34-p36 et qui possèdent une structure génomique similaire. Le locus RH des sujets RhD positifs est composé des deux gènes *RHD* et *RHCE* alors que celui des individus RhD négatifs ne possède, tout du moins dans la population caucasienne que le gène *RHCE*. L'élucidation des bases moléculaires du système

Rh a permis de développer un test d'amplification génique par méthode PCR (Polymerase Chain Reaction) pour déterminer le génotype Rh d'un fœtus à partir, soit d'ADN de cellules amniotiques (méthode invasive), soit d'ADN fœtal libre circulant dans le sang maternel (méthode non-invasive). Une étude prédiagnostique réalisée en France conjointement par le Centre d'hémodiologie périnatale et l'unité Inserm U76 de l'institut national de transfusion sanguine sur 1.000 échantillons plasmatiques issus de femmes RhD négatives a montré que le gène *RHD* fœtal peut être détecté par technique PCR conventionnelle ou en temps réel, dès la 17^{ème} semaine de grossesse avec une concordance génotype/phénotype de 99,5% [7].

2.2.2. Protéines constitutives du complexe Rhésus.

Les protéines D et CE codées par les gènes *RHD* et *RHCE* sont des protéines membranaires exprimées à raison de 100 à 200.000 copies par cellule et uniquement par les cellules hématopoïétiques de la lignée érythroïde (depuis les progéniteurs CFU-E jusqu'aux globules rouges matures). Au sein des membranes érythrocytaires, les protéines D et CE sont associées à d'autres protéines afin de former le complexe membranaire Rh. Ce sont les protéines RhAG (Rhesus associated glycoprotein), CD47 identique à l'IAP (integrin associated protein), la molécule d'adhérence LW ou ICAM-4 (intercellular adhesion molecule 4) et la glycophorine B porteuse des antigènes de groupe sanguin Ss (cf. Figure I.3).

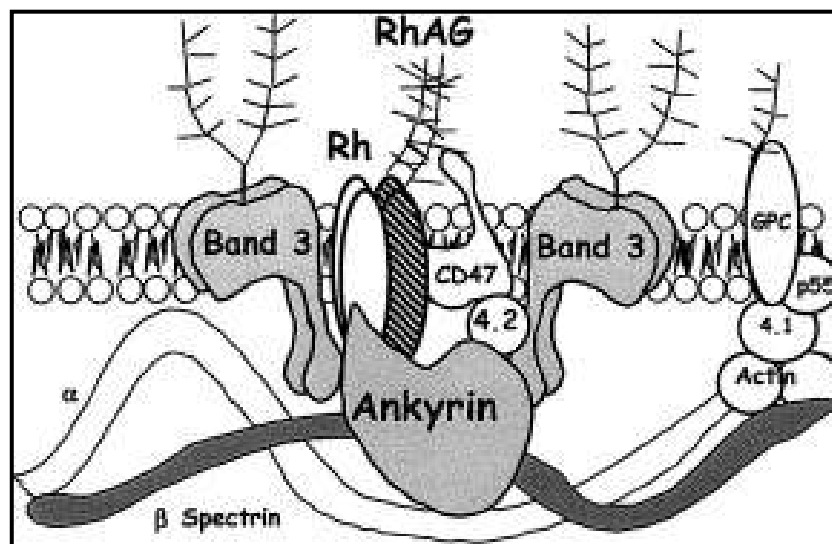


Figure I.3 : Le rôle du complexe Rhésus dans l'accrochage de la membrane érythrocytaire au cytosquelette [8].

Le complexe Rh interagit également avec des protéines adaptatrices (l'ankyrine et la protéine 4.2) pour participer au maintien des propriétés structurales de la membrane des érythrocytes. Récemment, des analyses *in silico* ont fait apparaître que les protéines érythrocytaires Rh et RhAG peuvent fonctionner comme des transporteurs d'ammonium (NH_3 et/ou NH_4^+) et ainsi participer à l'élimination de la charge acide quotidienne générée par le métabolisme [7].

2.3.Élimination physiologique et pathologique du globule rouge.

2.3.1.Description des érythrocytes.

Les hématies se présentent comme des disques biconcaves réguliers de diamètre uniforme compris entre 7,2 et 7,9 μm (cf. Figure I.4). Ce sont des cellules dites anucléées car elles ne possèdent pas de noyau. Elles sont également capables de se déformer pour cheminer dans des capillaires sanguins d'un diamètre inférieur au leur. Leur durée de vie moyenne est de 120 jours avec des valeurs extrêmes allant de 110 à 140 jours. Elles sont synthétisées dans la moelle osseuse à partir de cellules souches. Ces globules rouges renferment de l'hémoglobine, pigment responsable de la couleur rouge du sang, et ont pour principale fonction le transport de l'oxygène aux organes et tissus de l'organisme.

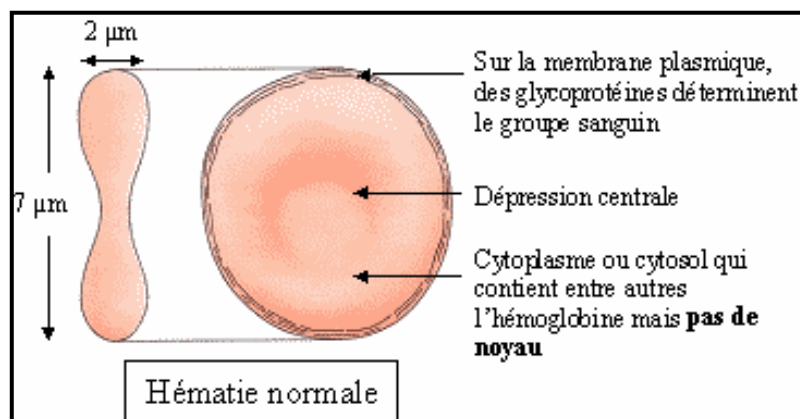


Figure I.4: Caractéristiques d'une hématie normale [9].

2.3.2.Mécanismes physiologiques et pathologiques de l'hémolyse.

Il faut distinguer la **destruction physiologique** de l'hématie par vieillissement cellulaire de l'**élimination pathologique** par hémolyse prématurée.

L'hémolyse physiologique s'effectue dans le système réticulo-endothélial (SRE). Il en est de même pour la plupart des anémies hémolytiques, à l'exception des atteintes membranaires majeures (agression toxique ou immunologique). Dans ce dernier cas, le siège de l'hémolyse peut être également intravasculaire. Physiologiquement, l'organe principal de destruction érythrocytaire est la moelle osseuse puisque près de 50% des hématies y sont détruites par le système des phagocytes mononucléés. Le reste des globules rouges est détruit par le foie et la rate. L'hémolyse splénique a fait l'objet d'études approfondies. Seules les hématies ayant une déformabilité encore suffisante peuvent traverser, sans être détruites, son fin réseau capillaire dont le diamètre n'excède pas 3 μm . Le vieillissement érythrocytaire s'accompagne d'anomalies du métabolisme énergétique et de la membrane cellulaire favorisant la détection et la destruction des hématies altérées par les phagocytes mononucléés du SRE. Ainsi, les globules rouges apoptotiques vont exprimer à leur surface des résidus de phosphatidylsérine qui vont permettre leur reconnaissance par les macrophages et leur dégradation (cf. Figure I.5).

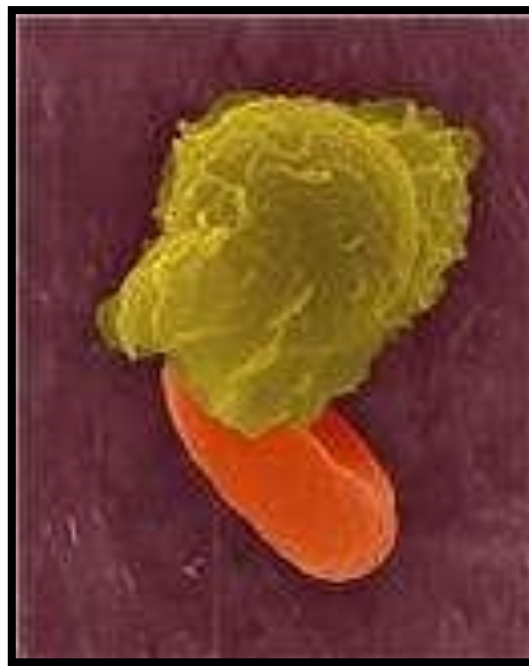


Figure I.5 : Phagocytose d'une hématie par un macrophage
(Image prise par un microscope électronique à balayage (Grossissement x 2000)
avec l'aimable autorisation de Dennis Kunkel Microscopy, Inc. [10].

L'hémolyse prématurée relève de plusieurs mécanismes plus ou moins intriqués:

- » **La diminution du rapport érythrocytaire surface/volume** liée à une perte de la déformabilité de l'hématie augmente sa fragilité osmotique. De plus, certains

mécanismes favorisant l'entrée de sodium et d'eau dans la cellule vont provoquer une augmentation du volume érythrocytaire.

» **Les altérations structurales du squelette membranaire** vont modifier la fluidité de la bicouche lipidique et l'élasticité membranaire et, ainsi, rigidifier l'hématie. Au cours des anémies hémolytiques, la fixation érythrocytaire d'Ig et/ou de complément activé va faciliter la reconnaissance de l'hématie par les macrophages.

» **L'augmentation de la viscosité intracellulaire** principalement décrite lors de la drépanocytose est liée à la polymérisation de la désoxyhémoglobine S et favorise la captation des drépanocytes par les macrophages du SRE.

» **Le rôle de la rate** qui détruit prématurément les hématies de forme anormale et/ou qui se déforment mal à l'occasion de leur passage splénique. En cas d'hypersplénisme, la rate peut développer une activité macrophagique exacerbée à l'égard des hématies, des leucocytes et des plaquettes qui la traversent [11].

Lors de l'allo-immunisation fœtomaternelle, la phagocytose des hématies qui ont fixé des IgG suit plusieurs étapes (cf. Figure I.6): la séquestration de l'érythrocyte par le macrophage suivi de l'engloutissement par les extensions des pseudopodes puis l'internalisation et la fusion lysosomale [12].

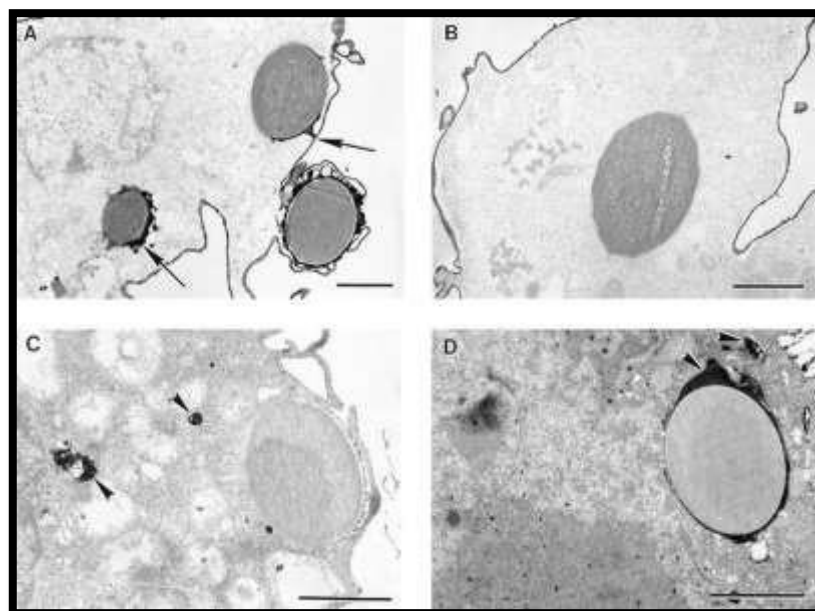


Figure I.6 : Les différentes étapes de la phagocytose des globules rouges : le macrophage émet des pseudopodes qui vont entourer l'hématie (A) avant de l'internaliser (B). La présence d'une activité « phosphatase acide » témoigne de la fusion lysosomale (C et D) [13].

3. PHYSIOPATHOLOGIE DE LA MHFN.

3.1. Catabolisme de l'hémoglobine au cours de la MHFN.

Dans sa forme la plus sévère, la maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né peut provoquer, après l'accouchement, une encéphalopathie secondaire à une hyperbilirubinémie. Celle-ci reflète le degré de destruction des hématies néonatales qui libèrent de la bilirubine (cf. Figure I.7), produit de dégradation de l'hème. La bilirubine, sous sa forme libre, est ensuite transportée par l'albumine jusqu'au foie où elle va subir une réaction de conjugaison à l'acide glucuronique grâce à l'intervention d'une enzyme : la bilirubine-UDP-glucuronosyltransférase (UGT1A1).

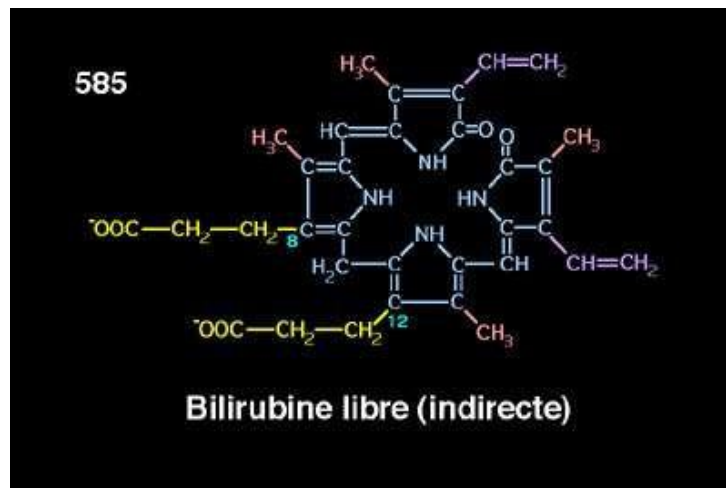


Figure I.7 : Formule chimique de la bilirubine libre [14].

Sous sa forme conjuguée, la bilirubine est hautement soluble et est excrétée dans la bile où elle est éliminée par la flore intestinale sous forme d'un pigment, la stercobiline, responsable de la couleur des selles. Cependant, lors d'un excès de bilirubine libre, l'enzyme UGT1A1 est saturée ce qui provoque une augmentation de la concentration de la forme libre de la bilirubine. Celle-ci va s'accumuler au niveau de la peau et des muqueuses où elle est responsable d'ictère (ou jaunisse) accompagné de prurit ainsi que dans certaines zones du cerveau du nouveau-né à cause de l'immaturation de la barrière hémato-encéphalique [15].

4. LE MICROCHIMÉRISME FŒTAL.

De nombreux travaux ont montré que le placenta ne constitue pas une barrière imperméable : des molécules de petite taille (nicotine, éthanol, ...) mais aussi de taille plus importante (immunoglobulines dont le poids moléculaire est de l'ordre de 150 kDa) sont capables de passer de la circulation maternelle à la circulation fœtale mais le transfert dans le sens inverse a également été mis en évidence. Le microchimérisme fœtal se définit par la persistance en faible quantité dans l'organisme maternel, de cellules (ou d'ADN) du fœtus. Celles-ci peuvent perdurer pendant de nombreuses années après la grossesse, surtout s'il concerne des cellules souches mésenchymateuses. Ce transfert a été mis en évidence dès la 6^{ème} semaine d'aménorrhée (SA) et se poursuit jusqu'au terme de la grossesse. Le microchimérisme fœtal constitue donc l'élément déclencheur de la réaction d'allo-immunisation.

Des publications récentes ont démontré la capacité de ces cellules fœtales à se diriger de façon spécifique vers les tissus maternels lésés afin de participer au processus de réparation tissulaire maternelle comme l'angiogénèse [16].

D'autres articles tendent à prouver un rôle pathogène à ces cellules d'origine fœtale en les impliquant dans la survenue de certaines maladies qu'elles soient auto-immunes (sclérodémie systémique, thyroïdite d'Hashimoto, cirrhose biliaire primitive,...) ou non (hépatite C chronique, cancer du col de l'utérus, désordres thyroïdiens,...). Le lien entre microchimérisme et maladies auto-immunes de la femme est basé sur la nature de la réponse immunitaire observée chez la parturiente qui n'est pas sans rappeler la réaction « greffon contre l'hôte ». Le pouvoir carcinogène de ces cellules-souches s'explique par leur grande capacité à se différencier et à se multiplier et ainsi constituer des tumeurs. Dans toutes ces études, la présence de cellules fœtales est caractérisée par la détection de l'ADN du chromosome Y par des techniques de biologie moléculaire : l'hybridation par fluorescence *in situ* (fluorescence *in situ* hybridization ou FISH) ou l'amplification génique par PCR. Cependant, le rôle pathogène des cellules microchimériques n'est pas clairement établi et les avis restent partagés [17].

Le transfert cellulaire peut également se dérouler de la mère vers le fœtus puisque des cellules maternelles isolées dans le sang du cordon peuvent persister jusqu'à l'âge adulte. De même, ces cellules maternelles participent à la réparation tissulaire et sont impliquées dans la survenue de maladies cutanées auto-immunes de l'enfant [16].

5. DONNEES HISTORIQUES ET EPIDEMIOLOGIQUES DE L'AIFM.

5.1.Aspect historique.

La première description de la maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né en France date du début du XVII^{ème} siècle. Dès 1609, une sage-femme, Louise Bourgeois, assiste à l'accouchement de jumeaux : le premier, décédé à la naissance, présente des symptômes associés à une maladie hémolytique de type anasarque. Le second jumeau, dénué de symptôme à la naissance, décède quelques jours plus tard consécutivement à l'apparition d'une jaunisse et de signes neurologiques [18].

Trois siècles plus tard, en 1932, Diamond conclut que les deux cas décrits par Bourgeois se réfèrent à une seule et même pathologie : une hémolyse sévère avec érythropoïèse extramédullaire et production d'érythrocytes nucléés immatures. Cependant, l'hypothèse de l'origine immunologique de cette pathologie est posée par Darrow dès 1938. Cette femme médecin qui a, elle-même, perdu un enfant des suites d'un ictère décrit le mécanisme physiopathologique de cette hémolyse : le passage transplacentaire de quelques érythrocytes fœtaux dans la circulation sanguine maternelle provoque la synthèse d'anticorps maternels qui vont traverser le placenta pour détruire les hématies du fœtus. Elle avance à tort que l'antigène reconnu par ces anticorps maternels est l'hémoglobine fœtale [19]. Cette hypothèse sera infirmée l'année suivante par les travaux de Levine et Stetson qui observent chez une patiente des anticorps capable d'agglutiner les hématies du nouveau-né et du père mais incapable d'agglutiner ceux de la mère : des antigènes présents à la fois chez le nouveau-né et le père, donc hérités du père, déclenchent une allo-immunisation lorsqu'ils rentrent en contact avec le sang maternel.

Les travaux de Landsteiner et Wiener en 1940 débouchent sur la découverte du système sanguin Rhésus après avoir constaté une agglutination des hématies humaines par du sérum de lapin préalablement immunisé par des hématies de singe Rhésus (*Macacus rhesus*). Le facteur humain permettant cette agglutination prend le nom de facteur Rhésus. Les sujets dont les globules rouges s'agglutinent sont alors définis comme RhD positifs. C'est ce facteur RhD qui est l'antigène reconnu par les anticorps maternels et non l'hémoglobine fœtale comme l'avait initialement proposé Darrow.

En 1941, l'équipe de Levine fait le rapprochement entre la maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né et la présence d'anticorps anti-RhD maternels durant la grossesse. Ceux-ci sont plus souvent observés chez les mères défaillantes en isoagglutinines A et B (anticorps naturels appartenant à la classe des immunoglobulines M impliqués dans la reconnaissance des groupes sanguins ABO), c'est-à-dire du groupe sanguin AB. L'incompatibilité du système ABO dont il faut tenir compte lors de transfusions sanguines, intervient donc pour diminuer le risque d'allo-immunisation. Puis, au gré des avancées technologiques avec notamment les techniques de marquage radioimmunologiques, il est montré que les hématies RhD positives en contact avec du sérum hyperimmun ont une clairance plus rapide et qu'elles sont davantage présentes au niveau de la rate, organe jouant un rôle dans l'élimination des hématies (travaux de Jandl et al. en 1957).

En 1957, Kleihauer propose un test permettant de différencier les hématies fœtales et maternelles présent dans un même échantillon, test basé sur les différences d'éluion entre l'hémoglobine fœtale et l'hémoglobine adulte. Ce principe mis au point, Finn a pu conceptualiser dès 1960 un essai clinique afin d'évaluer la prophylaxie anti-RhD chez les femmes enceintes. En effet, il pense à mimer la protection naturelle conférée par le système sanguin ABO au moyen d'un anticorps capable de détruire les hématies fœtales présentes dans la circulation sanguine maternelle. Dans ce cas, la clairance des érythrocytes fait intervenir des immunoglobulines des classes M (Ig complets) et G (Ig incomplets) [20].

En 1963, trois essais concluent que les IgG apportent une meilleure protection de l'allo-immunisation avec une clairance plus rapide et plus efficace. Dès le début des essais cliniques, les laboratoires se trouvent confrontés à un problème d'ordre éthique: comment mettre au point un médicament destinés aux femmes enceintes en étant certain de ne pas nuire au fœtus ? Dans un premier temps, les essais cliniques ont été réalisés sur des hommes volontaires sains RhD négatifs auxquels on administrait des hématies RhD positives. Après avoir acquis certaines connaissances, les essais ont été étendus aux femmes non-enceintes RhD négatives. Pour se rapprocher du modèle physiologique, on leur injecte des globules rouges fœtaux issus de sang de cordon ombilical. Ainsi, il a été démontré que les anticorps anti-RhD ont une plus grande affinité vis-à-vis des hématies fœtales comparativement aux hématies adultes.

Les premiers essais effectués sur des femmes enceintes datent de 1965 par Clarke et Sheppard. Cependant, les immunoglobulines (IgG) sont injectées en *post-partum*. Il faudra attendre 1968 pour assister au premier essai clinique qui témoigne de l'efficacité de

prophylaxie anti-RhD lorsque les injections sont opérées en *ante-partum*. Puis, les travaux de Bowman et al. en 1977 montrent que la cause la plus fréquente d'échec lors de la prophylaxie anti-Rh est l'allo-immunisation des femmes enceintes avant la délivrance. Ils proposent donc une administration d'une première dose d'IgG anti-RhD lors de la 28^{ème} semaine d'aménorrhée et d'une seconde dose lors de la délivrance quand le nouveau-né est RhD positif. En 1992, Schneider et Behrens proposent d'appliquer ce schéma thérapeutique aux femmes enceintes présentant un des facteurs de risque suivants : risque de fausse couche spontanée, grossesse extra-utérine, choriocarcinome, amniocentèse et prélèvements de villosités chorales [19].

5.2.Données épidémiologiques.

Avant 1945, la moitié des fœtus atteints de maladie hémolytique mourraient des suites de la jaunisse : ictère nucléaire (atteinte des noyaux gris centraux de l'encéphale causée par la bilirubine en excès lors d'hémolyse) et anasarque. La découverte de l'étiologie immunologique a provoqué des avancées rapides dans la recherche de traitement. Notamment, les travaux de Wallerstein en 1946 sur les transfusions de sang fœtal ont permis d'éradiquer les décès liés à l'ictère nucléaire et de réduire la mortalité périnatale de la maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né à 25%. Puis l'apparition de nouvelles technologies dans le suivi de la grossesse et de l'accouchement telles que les accouchements provoqués des prématurés, la recherche du groupe sanguin fœtal et la transfusion intravasculaire fœtale ont abaissé ce taux à 2-3% [14].

Branger & Winer ont proposé un modèle afin d'évaluer le nombre de parturientes exposées au risque d'allo-immunisation en France au cours d'une année. Ce modèle s'appuie sur plusieurs facteurs : le nombre de grossesses, la répartition du groupe Rhésus D négatif au sein de la population française, le nombre de situations à risque d'allo-immunisation ainsi que du protocole choisi dans la prévention.

En 2004, il a été dénombré 794.400 naissances sur le territoire français (DOM-TOM inclus) qui correspondent à 1.100.000-1.200.000 grossesses « conçues » en prenant en compte les grossesses multiples, les fausses couches, les interruptions de grossesse (qu'elles soient volontaires ou médicales), les grossesses extra-utérines et les morts fœtales *in utero*. D'un point de vue sérologique, on évalue à 15% la fréquence du groupe Rhésus D négatif dans la population française (dite « caucasienne »). On considère donc qu'il y a chaque année, en

France, 160 à 180.000 femmes exposées au risque d'allo-immunisation. Cependant, il faut savoir que la répartition du groupe Rhésus D négatif varie en fonction de l'origine ethnique : ce pourcentage varie de 35% dans la population basque à 0,3% dans la population asiatique [21]. La maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né par incompatibilité fœtomaternelle constitue la principale cause d'anémie hémolytique sévère. En l'absence de prise en charge, elle peut ainsi provoquer la mort fœtale dans 15% des cas. L'incidence de cette maladie en France est proche de 1 cas pour 1 000 naissances (0,09 pour 100 patientes par an) ; rapportées aux seules patientes RhD négatif, elle est de 0,66% [22].

Ces données françaises correspondent aux pourcentages retrouvés outre-Atlantique puisqu'aux Etats-Unis, l'alloimmunisation foeto-maternelle due au rhésus D est responsable d'en moyenne 6,7 cas de maladie hémolytique du nouveau-né pour 1000 naissances vivantes. Considérant les nouveaux-nés ayant un taux détectable d'anticorps maternels anti-D dans leur sérum, environ la moitié sont asymptomatiques ou légèrement atteints et ne requièrent aucun traitement. Néanmoins, 20% de ces nouveaux-nés présentent des complications sévères in utero dont la moitié nécessite la mise en place de transfusion intrautérine afin de traiter des hémolyses sévères survenant avant la 34^{ème} semaine de grossesse [23].

2^{EME} PARTIE : GROSSESSE &

ALLO-IMMUNISATION FŒTOMATERNELLE.

1. LE DEVELOPPEMENT PLACENTAIRE.

1.1.Présentation du placenta et de ses fonctions.

Le placenta humain est un organe transitoire dont le rôle fondamental est de permettre les échanges gazeux et nutritionnels entre la mère et le fœtus. Il est génétiquement programmé pour une durée de vie de 9 mois d'où son caractère transitoire. Le placenta est composé d'une partie maternelle (essentiellement constituée par la déciduale issue de l'endomètre) et d'une partie fœtale qui comprend le trophoblaste et les membranes entourant le fœtus. Le trophoblaste représente la couche cellulaire de l'embryon en contact direct avec les tissus maternels et donc le principal lieu des échanges entre mère et fœtus. Cette dualité confère au placenta un intérêt d'ordre immunologique puisque le complexe fœto-placentaire peut être considéré comme une allogreffe naturelle résistante au rejet.

Outre son rôle d'échange, le placenta possède également une fonction de glande endocrine puisqu'il produit de la progestérone pour assurer le maintien de la grossesse, des œstrogènes pour stimuler la croissance de l'utérus et des seins de la mère, de la hCG (hormone gonadotrophine chorionique) dont la détection est utilisée dans les test de grossesses et de la somatomammotrophine chorionique (ou hormone lactogène placentaire) qui dévie en partie le métabolisme maternel au profit du fœtus.

Enfin, le placenta intervient lors du passage d'anticorps maternels : des anticorps maternels de type IgG peuvent être captés par endocytose au niveau du syncytium et transportés vers le sang fœtal. Ce processus fait intervenir des structures spécifiques de cette classe d'immunoglobulines. Les autres classes d'immunoglobulines ne traversent pas le placenta : les IgM sont synthétisées par le fœtus et des taux faibles mais significatifs sont retrouvés dans le sang du cordon. Quant aux IgA, IgD et IgE, elles ne sont présentes que sous forme de traces dans la circulation du nouveau-né [24].

1.2. Le développement du placenta et des annexes.

La fécondation, union des gamètes mâle et femelle, constitue le point de départ du développement de l'œuf humain mais aussi celui du placenta et de ses annexes, qui sont indispensables à la survie et au développement de l'œuf.

Pendant les premiers jours qui suivent la fécondation, l'œuf subit une série de divisions sans croissance cellulaire où le zygote va se diviser en de nombreuses cellules-filles appelées blastomères. Après 4 jours, l'œuf ou blastocyste se compose de 16 à 32 blastomères qui lui confèrent l'aspect d'une petite mûre et prend le nom de morula (*cf.* Figure II.1).

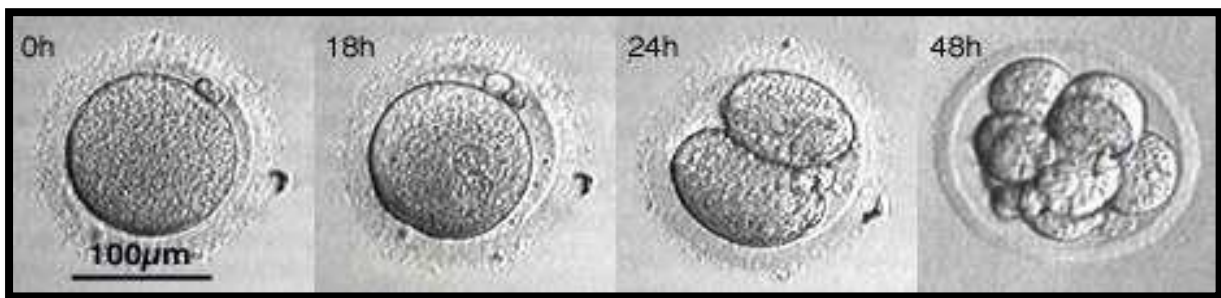
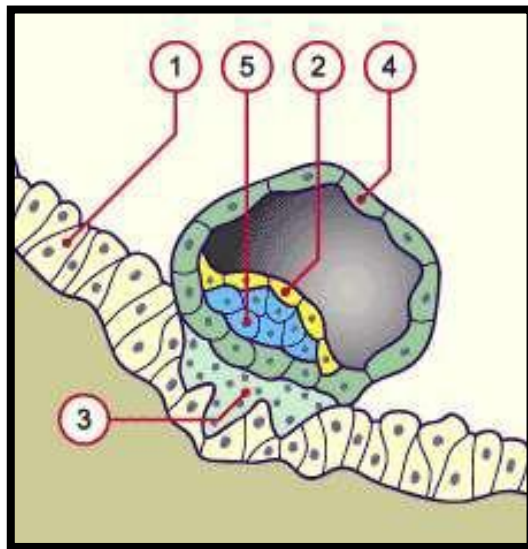


Figure II.1 : De l'œuf à la morula (0h: Ovocyte de deuxième ordre (1 globule polaire) en voie de fécondation, 18h: zygote fécondé, 24h: embryon au stade de deux cellules et 48h: segmentation et constitution de la morula par les blastomères) [25].

A ce stade, les blastomères vont se différencier et se spécialiser en 2 masses cellulaires internes (encore appelée embryoblaste) et externes (ou trophoblaste) qui sont respectivement les précurseurs de l'embryon et du placenta. Aux alentours du 5^{ème} jour, les cellules du trophoblaste vont proliférer et entrer en contact avec l'endomètre maternel pour former une masse protoplasmique multinucléée sans limites cellulaires : le syncytiotrophoblaste.

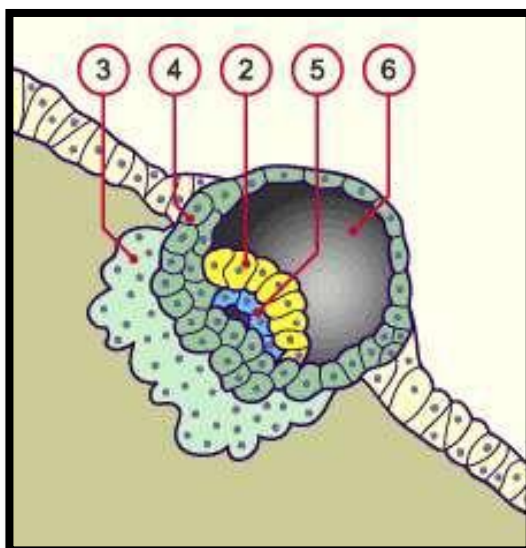
Le développement du placenta commence lorsque le blastocyste transforme l'endomètre maternel en un dispositif nutritif hautement vascularisé : la caduque. Les glandes endométriales voisines se développent également et, localement, la paroi utérine devient œdémateuse. En cas d'implantation, vers le 7^{ème} ou 8^{ème} jour, les cellules du trophoblaste secrètent des hormones (hCG, somatomammotrophine, œstrogènes et progestérone) pour nourrir le tissu endométrial et maintenir le corps jaune, glande endocrine temporaire et cyclique qui sécrète de la progestérone pendant les 12 premières semaines du développement embryonnaire. Par la suite, c'est le placenta qui sécrètera de grandes quantités de progestérone. Au cours de l'implantation, le trophoblaste se différencie en 2 couches : le syncytiotrophoblaste (ST) et le cytotrophoblaste (CT).

Les cellules du ST s'infiltrant entre les cellules épithéliales de la muqueuse utérine en induisant leur apoptose et créent une brèche par laquelle le blastocyste pénètre dans l'endomètre. Le CT, quant à lui, consiste en une couche irrégulière de précurseurs cellulaires ovoïdes mononucléés, situées immédiatement sous le syncytiotrophoblaste (*cf.* Figures II.2 et II.3).



1. Epithélium de l'endomètre
2. Hypoblaste
3. Syncytiotrophoblaste
4. Cytotrophoblaste
5. Epiblaste

Figure II.2: Blastocyste au début de son adhésion à la paroi utérine (6 à 7 jours). Les cellules trophoblastiques du pôle embryonnaire se différencient et prolifèrent pour former le ST invasif. L'autre pôle est quant à lui formé par les cellules du CT [25].



2. Hypoblaste
3. Syncytiotrophoblaste
4. Cytotrophoblaste
5. Epiblaste
6. Blastocèle

Figure II.3: Disque embryonnaire didermique (hypoblaste et épiblaste) à 8 jours. On note l'apparition de la cavité amniotique au-dessus de l'épiblaste. Le ST poursuit son activité lytique invasive au sein du tissu maternel [25].

Au milieu de la 2^{ème} semaine, des vacuoles extracytoplasmiques apparaissent dans le syncytiotrophoblaste. Elles vont confluer pour former des lacunes (cf. Figure II.4).

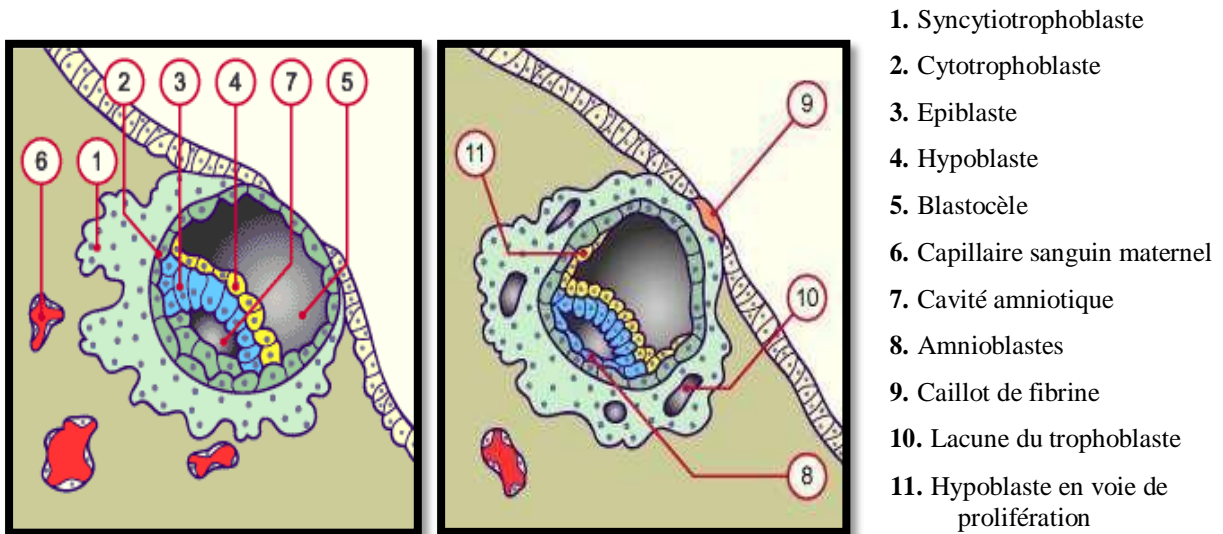


Figure II.4: Implantation complète de l'embryon dans l'endomètre avec obturation du point d'implantation par un caillot de fibrine **au cours des 8ème (à gauche) et 9ème jour (à droite)**. La cavité amniotique s'agrandit et une couche de cellules (amnioblastes) la sépare désormais du CT. Les cellules hypoblastiques commencent également à proliférer [25].

Dès le 9^{ème} jour, le ST devient lacunaire et ces lacunes se remplissent de sang maternel par érosion des capillaires de l'endomètre. Celle-ci est rendue possible par l'activité lytique du ST : c'est le début de la circulation utéro-lacunaire (cf. Figures II.5 et II.6).

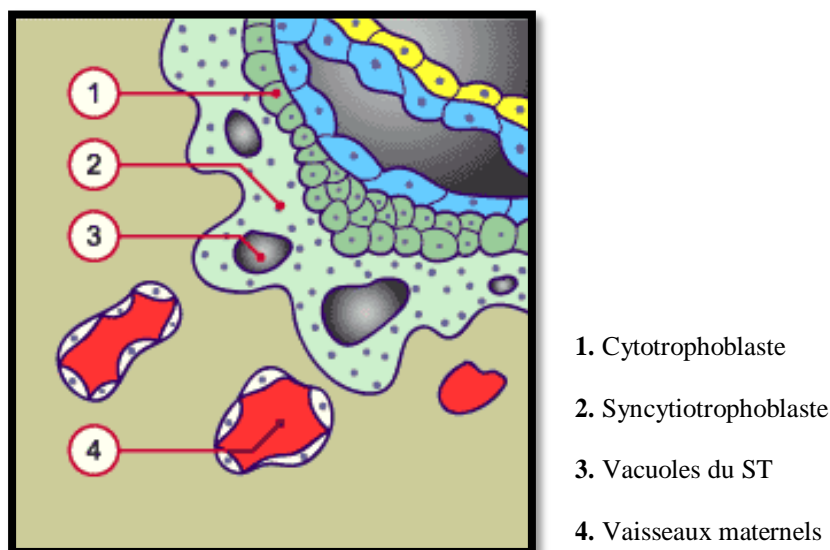
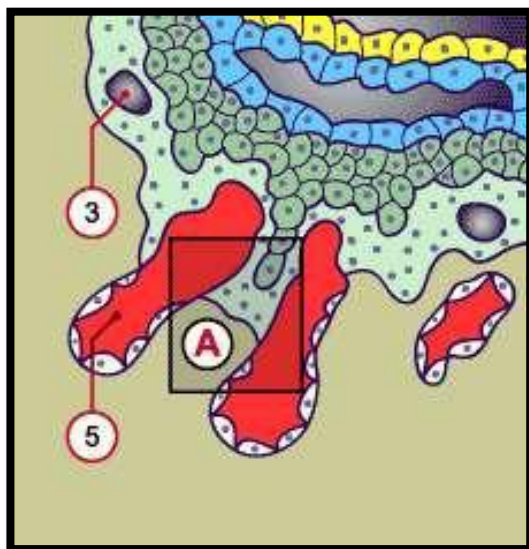


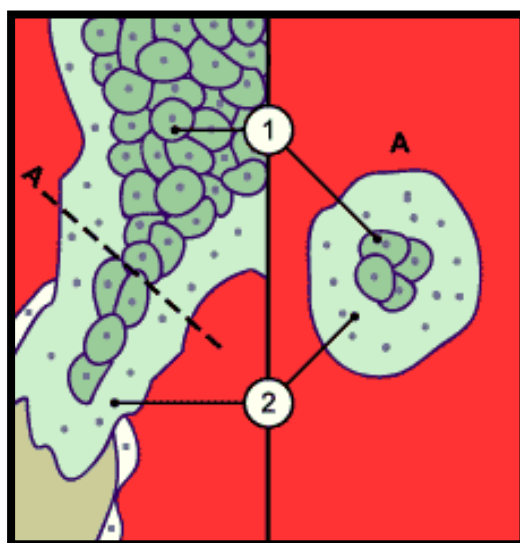
Figure II.5: Stade lacunaire au 9-10^{ème} jour. Initialement, ce sont des vacuoles qui se forment dans le trophoblaste [25].



- 3. Lacunes (vacuoles du ST)
- 5. Capillaires érodés de l'endomètre

Figure II.6 : Formation des villosités primaires suite à l'érosion des capillaires de l'endomètre.
Ces capillaires communiquent avec les vacuoles du ST pour former les sinusoides maternels [25].

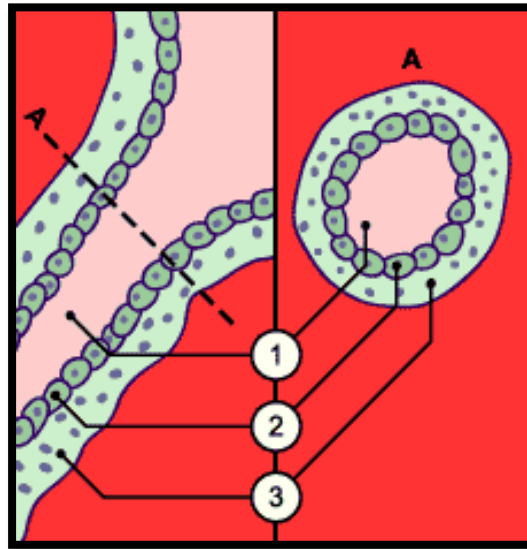
Entre les 11^{ème} et 13^{ème} jours, le ST émet dans toutes les directions de l'espace des travées radiaires qui pénètrent dans l'endomètre et entraînent avec elles des cordons de cellules du cytotrophoblaste qui constituent l'axe des villosités primaires (*cf.* Figure II.7).



- 1. Cytotrophoblaste
- 2. Syncytiotrophoblaste

Figure II.7 : Villosité primaire au 11-13^{ème} jour avec le CT s'insinuant dans les travées de ST formant les villosités trophoblastiques primaires [25].

Dès le 16^{ème} jour, le mésoblaste extra-embryonnaire (MEE) associé au cytotrophoblaste, pénètre dans l'axe de ces villosités primaires, transformant celles-ci en villosités secondaires disposées tout autour de l'œuf. Ces protrusions s'étendent jusque dans les lacunes remplies de sang maternel, entraînant avec elles le syncytiotrophoblaste (*cf.* Figure II.8).



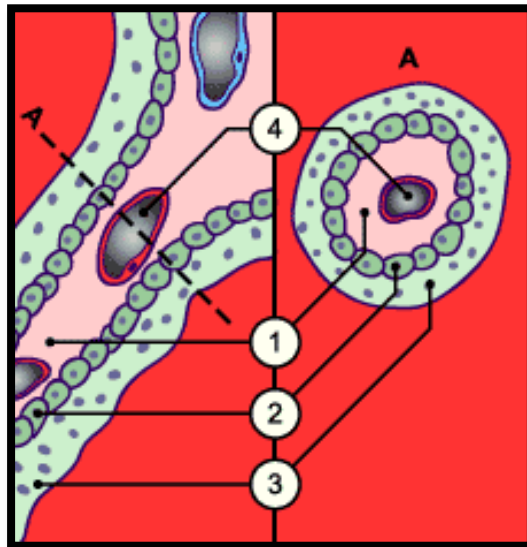
1. Mésoblaste extra-embryonnaire
2. Cytotrophoblaste
3. Syncytiotrophoblaste

Figure II.8 : Villosité secondaire au 16ème jour avec au centre le mésoblaste extra-embryonnaire bordé par le CT et en périphérie le ST [25].

A la fin de la 3^{ème} semaine, le mésoblaste villositaire se différencie en tissu conjonctif et vaisseaux sanguins, fournissant ainsi des vaisseaux sanguins connectés avec ceux de l'embryon. Les villosités contenant des vaisseaux sanguins différenciés sont appelées villosités tertiaires.

Après la formation de ces dernières, le cytotrophoblaste continue à proliférer à l'extrémité de chaque villosité sous forme de cordons cellulaires : les colonnes cytotrophoblastiques qui traversent le syncytiotrophoblaste. Celles-ci s'anastomosent et se rejoignent à l'extrémité du ST entourant l'œuf d'une coque cytotrophoblastique. Ce développement du CT transforme les lacunes en chambres intervillieuses, c'est-à-dire en un espace intervillosaire constitué par une cavité bordée de ST en continuité directe avec la circulation maternelle (*cf.* Figure II.9).

Des études récentes suggèrent que jusque vers la 10^{ème} semaine, les chambres intervillieuses contiendraient un liquide clair fait non pas de sang complet, mais d'un mélange de plasma filtré et de sécrétions utérines.



1. Mésoblaste extra-embryonnaire
2. Cytotrophoblaste
3. Syncytiotrophoblaste
4. Capillaires fœtaux

Figure II.9 : Villosité tertiaire au 21ème jour avec au centre le mésoblaste extra-embryonnaire auquel s'ajoutent les vaisseaux sanguins embryonnaires. Le MEE reste encore bordé par le CT à ce stade. On voit en périphérie le ST [25].

Au 4^{ème} mois, des remaniements de structures interviennent : le cytotrophoblaste cesse de proliférer puis disparaît des villosités pour ne subsister que sous la forme de quelques amas cellulaires isolés sous le syncytiotrophoblaste. En périphérie, la coque cytotrophoblastique s'amenuise et fait place à du tissu conjonctif. Les restes cytotrophoblastiques confluent alors pour constituer les septa intercotylédonaire qui délimitent les « cotylédons maternels » (apparents sur la face maternelle du placenta lors de la délivrance).

1.3. Anatomie du placenta.

Si on étudie sa forme extérieure, on s'aperçoit que le placenta humain forme une zone de contact circulaire entre le chorion et la muqueuse utérine. C'est donc un placenta **discoïde**.

Au cours de la première semaine de développement, l'embryon se nourrit par simple diffusion mais sa croissance rapide va rendre indispensable la mise en place d'un nouveau système d'échange plus performant : la circulation utéro-placentaire. Ce système va permettre l'échange par diffusion de gaz et de métabolites vitaux pour le fœtus. Cependant, il n'existe aucun contact placentaire direct entre les circulations sanguines maternelle et fœtale. Seule, la circulation placentaire choriale est reliée à la circulation fœtale allantoïdienne, on parle alors de placenta **chorio-allantoïdien**.

Afin d'augmenter au maximum la surface de contact entre les deux circulations sanguines, le placenta est constituée d'interdigitations (septa). La section séparant deux septa est appelée

cotylédons. Ces septa divisent incomplètement le placenta, on parle alors de placenta **pseudo-cotylédoné**. La figure II.10 montre les structures constitutives essentielles d'un placenta âgé de 4 mois environ, à savoir le cordon ombilical, l'amnios, la plaque chorale, l'arborisation déjà complexe des villosités, la plaque basale et enfin la structure des cotylédons.

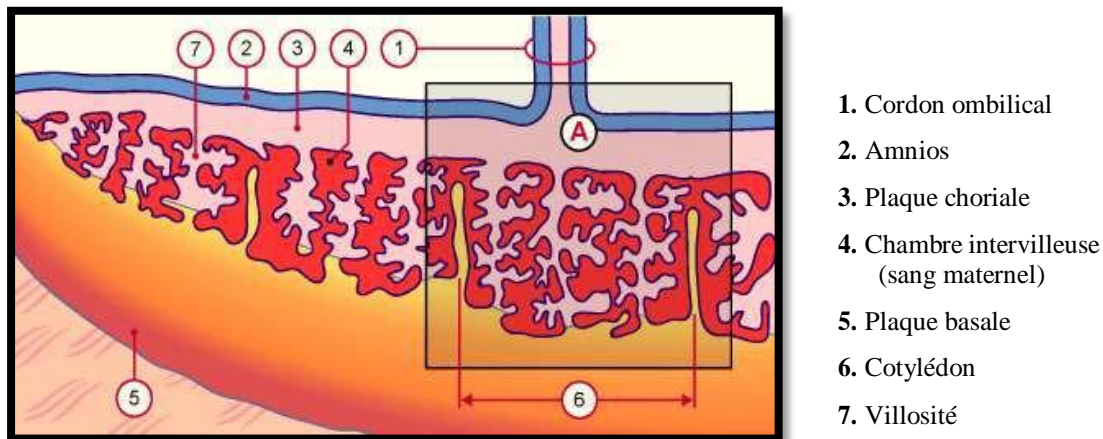


Figure II.10: Représentation schématique du placenta vers le 4e mois en section sagittale [24].

Les mécanismes d'échanges fœtomaternels dépendent directement de l'épaisseur des couches tissulaires séparant l'embryon de la mère. Cette barrière tissulaire sera d'autant plus mince que le trophoblaste (chorion fœtal) pénétrera de manière invasive dans la muqueuse utérine. Lorsque les villosités délimitées par un syncytium flottent dans le sang maternel, le placenta est dit hémochorial : ni l'endothélium, ni l'épithélium maternel ne participent à la barrière placentaire et la partie fœtale de la barrière placentaire se compose de l'endothélium vasculaire, du tissu conjonctif villositaire (ou stroma) et du trophoblaste.

En résumé, le placenta humain peut être défini comme chorio-allantoïdien, discoïde de par son aspect, hémochorial, pseudo-cotylédoné et **décidual**. En effet, une partie de la muqueuse utérine, appelée décidue, est expulsée en même temps que le placenta lors de la délivrance.

Le placenta à terme est un disque d'environ 20cm de diamètre et 3cm d'épaisseur. Il pèse 500g, soit approximativement 1/6^{ème} du poids fœtal. La face fœtale est lisse, tapissée par l'amnios à travers lequel on voit les vaisseaux ombilicaux. Le cordon ombilical s'y insère, au centre. La face maternelle est tomenteuse, divisée en cotylédons par de profonds sillons correspondant aux septa (cf. Figure II.11) [26].

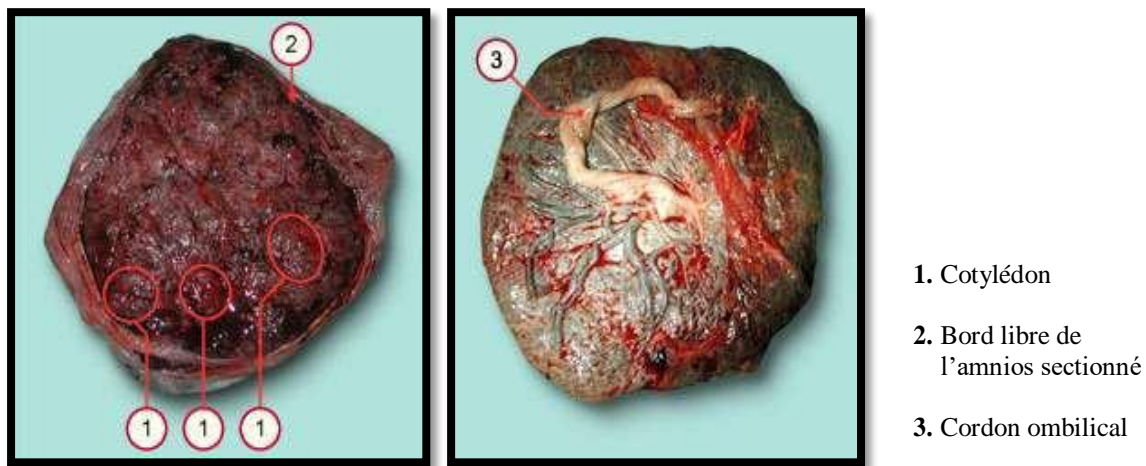


Figure II.11: Face maternelle (à gauche) et fœtale (à droite) du placenta [25].

2. IMMUNOLOGIE DE LA GROSSESSE.

Bien que la maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né fût décrite dès 1609, son étiologie reste encore mal connue et demeure liée à la capacité des IgG à traverser le placenta. Ces immunoglobulines traversent le placenta pour protéger le fœtus des bactéries, des parasites et des virus. Au cours de la grossesse, la mère développe une « tolérance immunologique » vis-à-vis de l'unité fœto-placentaire. Cette absence de rejet du « greffon » par le système immunitaire maternel s'explique par l'absence des protéines du système HLA-A et HLA-B à la surface des cellules de l'unité fœto-placentaire [27].

Le système immunitaire du nouveau-né est peu efficace car relativement immature et est suppléé par le rôle protecteur des anticorps maternels. Ce phénomène a été observé pour la première fois dès 1846 lors d'une épidémie de rougeole dans les îles Féroé : seules les femmes enceintes qui avaient déclaré la rougeole ont donné naissance à des nouveau-nés qui n'ont pas été infectés par le virus. Puis, en 1879, il a été établi que la vaccination anti-variolique des femmes enceintes protégeait les nourrissons de cette infection [28].

Dans le cas de l'allo-immunisation fœtomaternelle, la présence d'hématies fœtales présentant l'antigène RhD à leur surface dans la circulation maternelle va provoquer une réponse immune primaire à l'origine d'une augmentation exponentielle de la sécrétion d'immunoglobulines de type M (IgM). Mais ceux-ci sont incapables de traverser le placenta. Cette réaction immune primaire va également provoquer une production accrue de lymphocytes B qui vont synthétiser une quantité importante d'immunoglobulines de type G (IgG). A la différence des IgM, les IgG ont la capacité de traverser activement le placenta.

C'est un processus qui se développe lentement : les anticorps ne sont pas détectables avant 4 semaines et le deviennent habituellement à 8-9 semaines et parfois seulement 6 mois après le premier contact avec les antigènes étrangers.

La réponse secondaire a lieu lors d'une nouvelle exposition antigénique : elle est alors rapide et fait intervenir principalement les IgG. Ceux-ci sont détectés dans les 48 heures et atteignent leur niveau maximal vers le 6^{ème} jour. Des expositions itératives augmentent à chaque fois la rapidité et la production d'anticorps. Une fois dans la circulation fœtale, ces anticorps se fixent sur les antigènes de membrane correspondants (l'antigène RhD) et la destruction des érythrocytes se fait principalement dans le système réticulo-endothélial (en particulier au niveau de la rate). Même au cours d'une première grossesse, ce phénomène peut survenir, du fait de la répétition des hémorragies fœtomaternelles [29,30].

2.1.Rappel immunologique sur les immunoglobulines.

Acteurs majeurs de l'immunité humorale, les immunoglobulines sont secrétées par les plasmocytes (stade final de la différenciation des lymphocytes B) en réaction à l'introduction dans l'organisme d'un antigène. Ce sont des glycoprotéines comprenant quatre chaînes : deux chaînes lourdes et deux chaînes réunies entre elles par des ponts disulfures. Au sein d'une Ig, les deux chaînes lourdes sont identiques, de même pour les deux chaînes légères. Chaque chaîne légère est constituée d'un domaine constant et d'un domaine variable; les chaînes lourdes sont composées d'un fragment variable et de 3 ou 4 fragments constants selon l'isotype. Ces Ig possèdent une structure en Y : les deux branches de l'Y constituent le segment Fab (fragment antigen binding) responsable de la reconnaissance de l'antigène alors que le pied de l'Y, appelé segment Fc (fragment cristallisable) porte la spécificité de classe de l'anticorps et est le support des fonctions effectrices spécifiques (*cf.* Figure II.12).

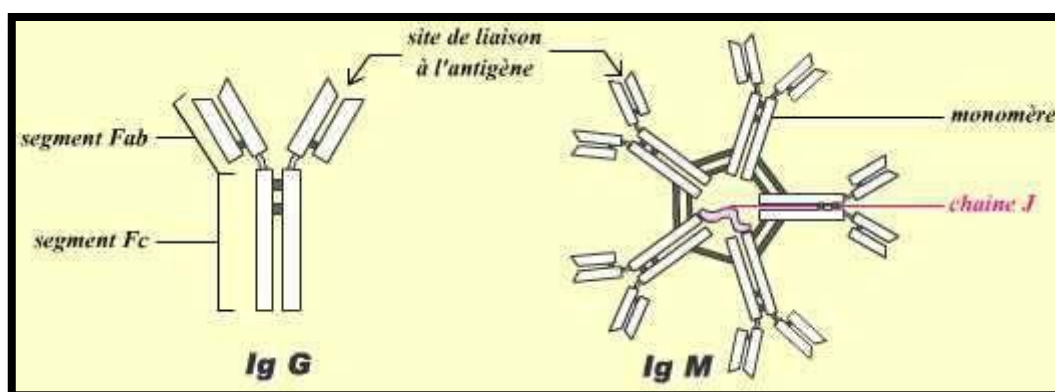


Figure II.12: La structure en Y des immunoglobulines constituée des segments Fab et Fc [31].

Les immunoglobulines sont divisées en classes ou isotypes selon la structure des domaines constants des chaînes lourdes : les chaînes γ , α , μ , ϵ et δ correspondent respectivement aux IgG, IgA, IgM, IgE et IgD. Il existe également des sous-classes d'immunoglobulines, reflétant des différences plus fines entre chaînes lourdes. L'Homme possède ainsi quatre sous-classes d'IgG (IgG1, IgG2, IgG3 et IgG4). Les IgG représentent la grande majorité (70 à 75%) des immunoglobulines du sérum et des tissus non-muqueux. Elles jouent un rôle important dans la protection de l'organisme face aux nombreux agents pathogènes : bactéries, virus et toxines. De plus, les IgG sont les seuls isotypes capables d'être activement transférés de la mère au fœtus afin de lui conférer une immunité passive provisoire [32]. Parmi les isotypes d'IgG, les IgG1 sont préférentiellement transportées à travers le placenta suivies par les IgG4, puis par les IgG3 et enfin les IgG2 qui sont moins détectées dans le sang fœtal [33].

2.2. Le transfert transplacentaire des immunoglobulines.

Le passage des IgG de la mère au fœtus demeure un phénomène peu important jusqu'à la 24^{ème} SA. Puis le taux de transfert de ces Ig augmente de façon exponentielle jusqu'au terme de la grossesse où la concentration sérique fœtale en IgG (environ 15 g/dl) devient légèrement supérieur à celui de la mère (environ 13 g/dl). Cette évolution est représentée sur la figure II.13. Après la naissance, les IgG sont lentement métabolisés par le fœtus avec une demi-vie proche de 4 semaines qui diminuera, plus tard, à 3 semaines [27, 34].

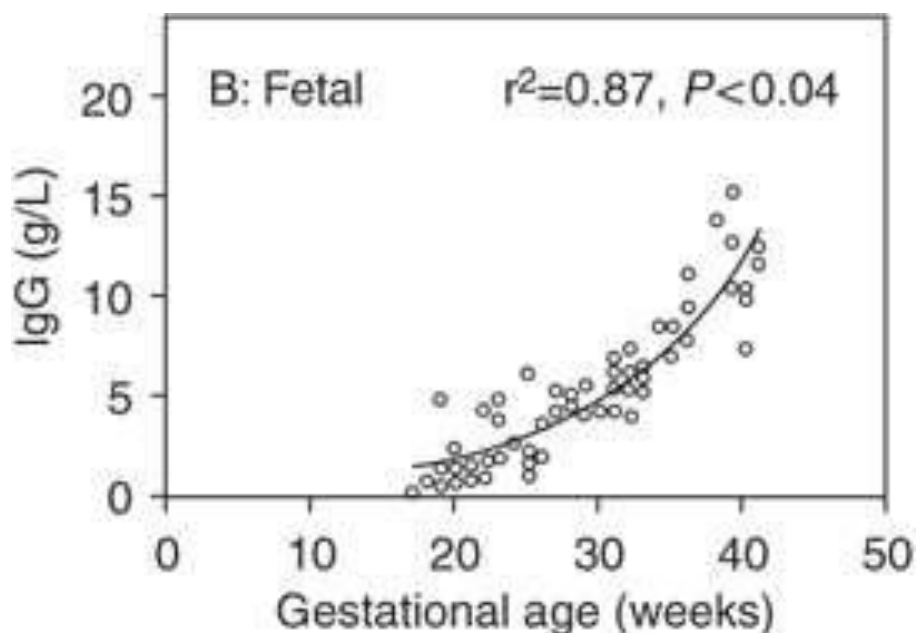


Figure II.13 : Evolution de la concentration sanguine des IgG chez le fœtus [35].

Avant de rejoindre la circulation fœtale, les IgG maternels doivent traverser plusieurs couches de tissus constituant la barrière placentaire : le syncytiotrophoblaste qui recouvre le tissu conjonctif villositaire à l'intérieur duquel se trouve l'endothélium vasculaire des capillaires fœtaux. De plus, ces couches de tissus sont séparées par leur lame basale et dans certaines régions par du tissu nourricier de soutien.

2.2.1. Le syncytiotrophoblaste.

Pour franchir le syncytiotrophoblaste, les IgG vont se lier à un transporteur appelé FcRn (récepteur néonatal du fragment Fc). L'analyse cristallographique a permis de caractériser cet hétérodimère constitué d'une chaîne lourde dérivée de celle des molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) de classe I et d'une chaîne légère, de la sous-unité β 2-microglobuline (β 2m) (cf. Figure II.14).

Ce récepteur est exprimé dans le corps jaune du rat et de la souris et est indispensable pour le passage des IgG de la mère au fœtus chez la souris. Le gène codant pour la chaîne α du FcRn murin se trouve sur une région chromosomique correspondant au chromosome 19 humain. De ces observations sur le modèle animal découle l'implication du FcRn dans le passage des IgG à travers le placenta humain puisque le FcRn humain a été isolé et détecté à partir de membranes placentaires.

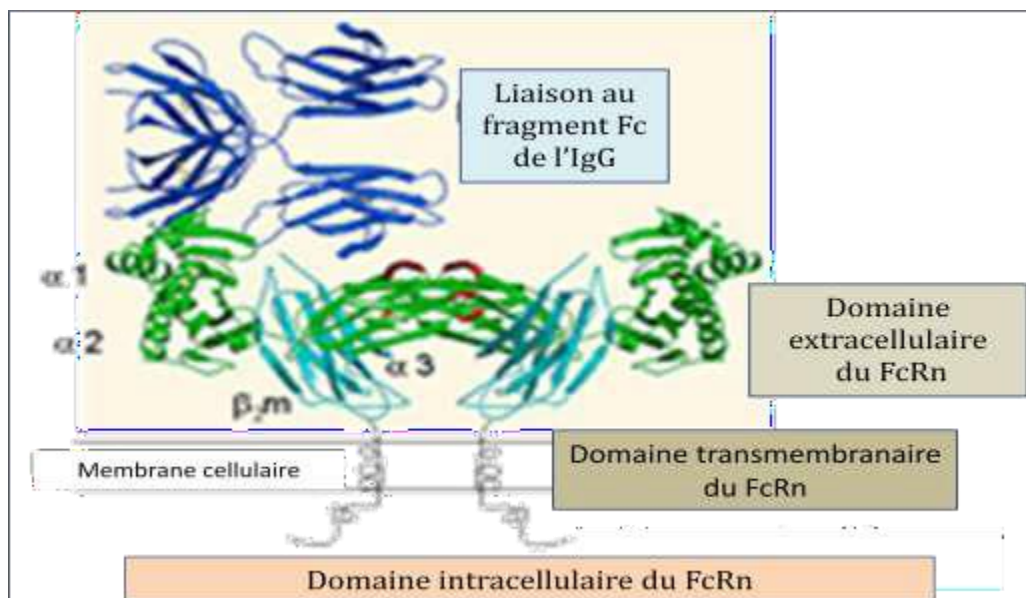


Figure II.14 : Structure du transporteur FcRn. Son domaine extracellulaire qui comporte le site de liaison à l'IgG, est constitué des chaînes α 1, α 2, α 3 et de la sous-unité β 2-microglobuline (β 2m) [36].

2.2.2. Le tissu conjonctif villositaire.

Pour connaître la localisation de ce transporteur au sein du placenta, des techniques d'hybridation *in situ* et d'immunohistochimie ont été utilisées. Ainsi, on retrouve l'ARNm du FcRn, la chaîne α ainsi que la sous-unité β 2-microglobuline du FcRn dans le syncytiotrophoblaste tant à la fin du premier trimestre que dans le placenta à terme. Si on procède à une mutation sur le fragment Fc des IgG de telle façon que l'affinité pour le FcRn est diminuée, la transmission des IgG de la circulation maternelle à la circulation fœtale est amoindrie en utilisant un système de placenta perfusé ce qui prouve la nécessité du transporteur FcRn. De plus, ce transporteur va également protéger l'IgG des réactions de catabolisme et permettre leur recyclage à la surface des cellules et leur retour dans la circulation sanguine (*cf.* Figure II.15). Ceci explique pourquoi les IgG sont les immunoglobulines ayant la plus longue durée de vie.

Il existe 3 sous-types de récepteurs Fc γ dans le placenta humain : seul le sous-type III est exprimé dans le syncytiotrophoblaste alors que les Fc γ R I et II sont retrouvés dans les cellules de Hofbauer (macrophages placentaires). Cependant, le FcRn n'a pas d'affinité pour les IgG à pH neutre et donc au pH du sang maternel. Par contre, des études menées sur le rat ont montré que la liaison nécessite un pH modérément acide comme dans l'endoderme du corps jaune où le FcRn est retrouvé à l'intérieur de vésicules cytoplasmiques proches des endosomes précoces au pH acide. Le pH optimal doit être d'environ 6,5 pour que l'IgG se lie à son transporteur placentaire. Un tel pH n'est possible qu'à l'intérieur des endosomes précoces présents dans le syncytiotrophoblaste. Le mécanisme d'entrée de ces IgG au sein de ces endosomes demeure encore inconnu. La libération de l'IgG intervient au contact d'une membrane plasmique exposée au liquide intercellulaire de pH neutre. Les IgG n'ont plus qu'à traverser la lame basale sous la membrane basale du syncytiotrophoblaste. Puis deux possibilités pour atteindre la circulation fœtale : soit la membrane basale du ST est au contact direct de l'endothélium capillaire fœtal, soit ces deux tissus sont séparés par le stroma villositaire, tissu conjonctif nourricier et de soutien [37].

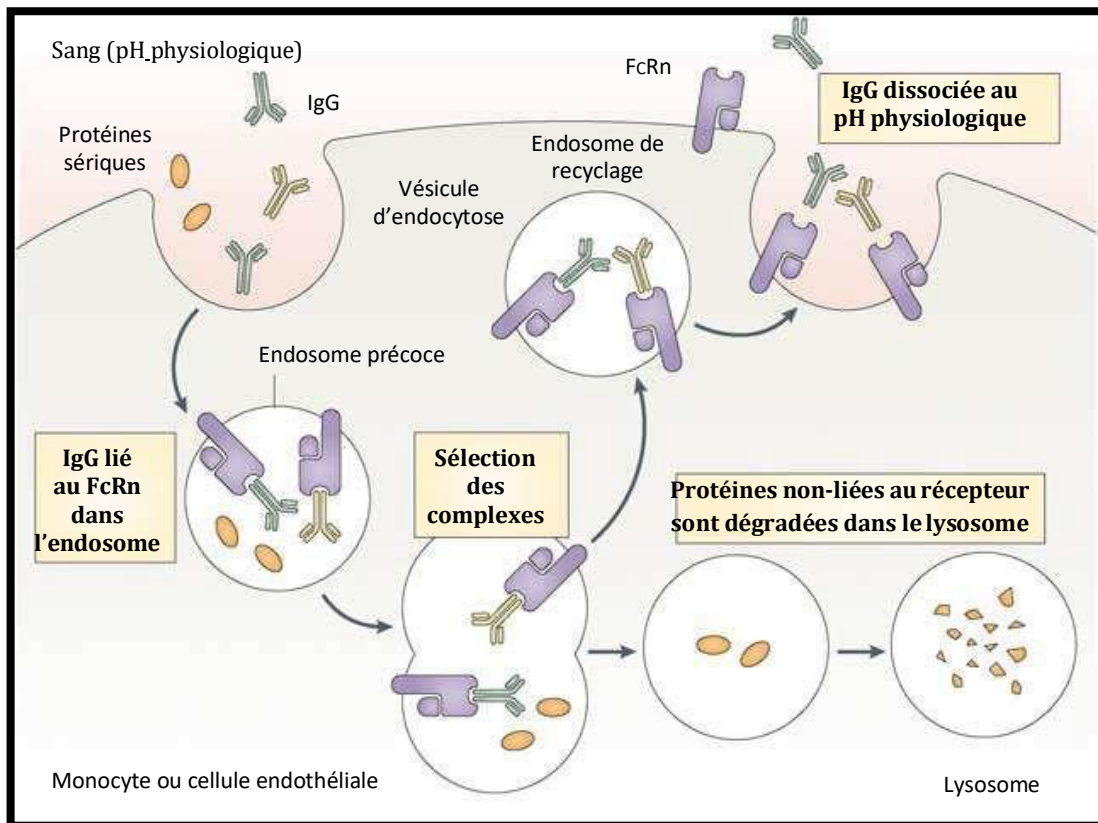


Figure II.15 : Le transport placentaire des immunoglobulines G. Les IgG traversent le placenta grâce à au FcRn présent les endosomes précoces. Le complexe FcRn-IgG peut être recyclé pour que les IgG retournent dans la circulation sanguine [33].

A la différence de l'Homme, le FcRn des rongeurs et des ruminants est également exprimé dans la monocouche de cellules épithéliales du duodénum où il permet le transfert des IgG contenus dans le colostrum lors des 24 premières heures de vie. Pour se faire, l'interaction FcRn/Fc nécessite un pH légèrement acide comme celui du bol alimentaire fraîchement sorti de l'estomac [37].

2.2.3.L'endothélium capillaire fœtal.

Les mécanismes du transfert des IgG ne sont pas encore totalement expliqués. Certes, il a été montré que les IgG traversent l'endothélium fœtal en utilisant la voie transcellulaire. Les cellules de cet endothélium lient les immuns complexes pour éviter leur transmission au fœtus. Le FcRn n'est pas retrouvé dans l'endothélium capillaire des villosités terminales mais il est présent au niveau de l'endothélium de la veine ombilicale. Le seul récepteur qui soit constamment détecté dans l'endothélium capillaire est l'isoforme b de FcγRII. Des techniques d'hybridation in situ ont prouvé la présence de son ARNm

uniquement après la 20^{ème} SA jusqu'au terme, c'est-à-dire lors du maxima de la période de transfert des IgG. Le FcγRIIb possède un gradient d'expression puisqu'il est fortement exprimé dans l'endothélium capillaire et qu'il diminue pour devenir nul dans l'endothélium de la veine ombilicale.

Mais deux zones d'ombre persistent : le transporteur FcγRIIb n'a pas d'affinité pour les IgG monomériques et il a une affinité plus forte pour les immuns complexes d'IgG3 comparé à ceux d'IgG4, préférence qui n'est pas retrouvée dans la transmission de ses sous-classes au fœtus. Il apparaît donc que l'isoforme b de FcγRII intervient plus pour éviter le passage des immuns complexes dans la circulation fœtale [37].

3. SURVEILLANCE IMMUNO-HEMATOLOGIQUE DE LA FEMME ENCEINTE RHD NEGATIVE.

Les textes réglementaires imposent la détermination des groupes sanguins et des phénotypes rhésus maternels chez toute femme enceinte primipare ou multipare de phénotype inconnu dès la première consultation. Une confirmation du groupe sanguin ABO et du facteur rhésus sera réalisée quelques semaines plus tard à l'aide d'un second prélèvement.

3.1. Le dépistage de l'allo-immunisation érythrocytaire.

3.1.1. L'anamnèse.

Dans un premier temps, c'est la connaissance des antécédents obstétricaux de la patiente qui peut apporter les premiers éléments de réponse. Après une première grossesse compliquée d'anasarque ou de mort fœtale, le risque que le prochain enfant de Rhésus positif meurt est de 90% en l'absence de traitement. De même, lorsque l'immunisation est constatée pendant une première grossesse, le risque d'hydrops est de 8 à 10% [5].

3.1.2. La détermination du phénotype paternel.

En cas de grossesse chez une femme rhésus négative, il est recommandé de documenter le phénotype du géniteur dès le début de la grossesse pour savoir s'il possède l'antigène RhD et si l'expression de ce dernier est hétérozygote ou homozygote.

Si le géniteur est également rhésus négatif, tout risque d'allo-immunisation est à exclure et on peut envisager une éventuelle abstention d'immunoprophylaxie anténatale. Une décision d'abstention s'appuie d'une part sur la présentation d'un document de laboratoire valide du conjoint et d'autre part sur un entretien singulier entre la patiente et le professionnel chargé du suivi de grossesse, abordant la certitude de la paternité. Cet entretien doit être consigné dans le dossier [38].

Au contraire, en cas de père rhésus positif, il y a 50% de risque que le fœtus hérite de l'antigène paternel et que l'allo-immunisation fœtomaternelle vienne compliquer la grossesse [29].

3.1.3. La recherche des agglutinines irrégulières.

Le dépistage précoce de l'allo-immunisation érythrocytaire au cours de la grossesse repose sur la détermination du statut immunologique de la mère par la recherche d'agglutinines irrégulières (RAI).

Cet examen immuno-hématologique est pratiqué chez toutes les femmes enceintes dès la première visite prénatale selon le calendrier décrit dans la figure II.16.

Recherche Systématique	Date des RAI
Femme Rh(D) positif primipare sans antécédent transfusionnel	Avant la fin du 3 ^{ème} mois
Femme Rh(D) positif primipare avec antécédent transfusionnel	Avant la fin du 3 ^{ème} mois
	Au cours du 6 ^{ème} mois
	Au cours du 8 ^{ème} mois
	Au cours du 9 ^{ème} mois
Femme Rh(D) négatif	Avant la fin du 3 ^{ème} mois
	Au cours du 6 ^{ème} mois
	Au cours du 8 ^{ème} mois
	Au cours du 9 ^{ème} mois
	Avant l'injection d'immunoglobuline
	Dans les 8 semaines suivant l'accouchement
Chez toutes les femmes	En cas de besoin transfusionnel

Figure II.16 : Calendrier de recherche des agglutinines irrégulières selon le statut Rh des femmes enceintes primipares ou multipares [39].

Ce test a pour but de s'assurer que la future mère n'a pas déjà développé une allo-immunisation anti-RhD. Deux techniques sont actuellement disponibles : **le titrage en Coombs indirect** et **le dosage pondéral**.

Le titrage en Coombs indirect ou titrage par technique indirecte à l'antiglobuline consiste à mettre en présence des dilutions en progression géométrique du sérum à étudier et des hématies dans des conditions physiologiques de température et de force ionique. Les hématies sont ensuite lavées et centrifugées dans une solution d'anti-IgG humaine (antiglobuline). Après resuspension des hématies, on observe si celles-ci sont agglutinées. Le titre correspond alors à la plus forte dilution de sérum capable d'entraîner une agglutination. Le titre d'un anticorps dépend de la concentration de l'anticorps et de son affinité physiologique pour l'antigène. Cet examen qui doit être pratiqué dès la douzième semaine d'aménorrhée est peu reproductible d'un laboratoire à l'autre, c'est pourquoi l'évolution du titre doit être estimée dans des conditions très rigoureuses, par rapport à un standard anti-Rh de titre et de concentration connus, en parallèle avec l'échantillon de sang maternel précédent. En fonction des antécédents obstétricaux de la patiente, la dilution « seuil » varie entre $1/16^e$ et $1/32^e$.

Le dosage pondéral permet de déterminer la concentration (en mg/mL) de l'IgG anti-RhD. La méthode la plus utilisée est celle du dosage comparatif des complexes immuns, en faisant intervenir une gamme-étalon de concentration connue en anticorps. Il est à réaliser dès la douzième semaine d'aménorrhée afin de permettre une approche de la concentration réelle en IgG anti-RhD dans le sérum maternel. Cette technique d'agglutination est automatisée donc reproductible, où la constante d'affinité intervient peu. Le seuil dangereux est de 0,7 µg/ml. La fréquence des recherches est fonction du taux initial et à intervalle maximal de 1 à 4 semaines.

L'association de ces deux tests permet, à la condition qu'ils soient effectués par le même laboratoire, une meilleure appréciation du risque d'hémolyse *in utero*, car l'activité fonctionnelle d'un anticorps dépend de sa concentration et de son affinité. Elle permet également de limiter les gestes invasifs, de mieux préciser le moment où il faudra les pratiquer et de détecter les réactivations (qui se produisent une fois sur deux environ, mais de façon imprévisible). Quelque soit sa spécificité, tout anticorps IgG de dilution supérieure ou égale à $1/16^e$ ou de concentration supérieure ou égale à 0,7 µg/ml peut entraîner une anémie fœtale [39].

3.2. La détermination du génotype et du phénotype fœtal.

3.2.1. La détermination du génotype fœtal.

Jusqu'à récemment, la seule méthode pour déterminer le génotype RhD du fœtus reposait sur des techniques invasives (amniocentèse et prélèvement de villosités chorales) afin d'obtenir les cellules fœtales utilisées pour des analyses génétiques. De plus, ces techniques comportent un risque non-négligeable de fausse-couche (environ 1% des cas) ainsi qu'un risque d'immunisation lié au geste en lui-même (risque d'hémorragie fœto-maternelle). Depuis peu, une technique non-invasive de détermination prénatale du statut RhD fœtal a été mise à jour. Elle s'appuie sur le fait que 3 à 6% de l'ADN libre du plasma maternel est d'origine fœtal. Celui-ci va être amplifié grâce à la technologie de la PCR en temps réel associée à une spectrométrie de masse afin de détecter la présence d'exons codant pour le gène *RHD* situé sur le chromosome 1 (cf. Figure II.17).

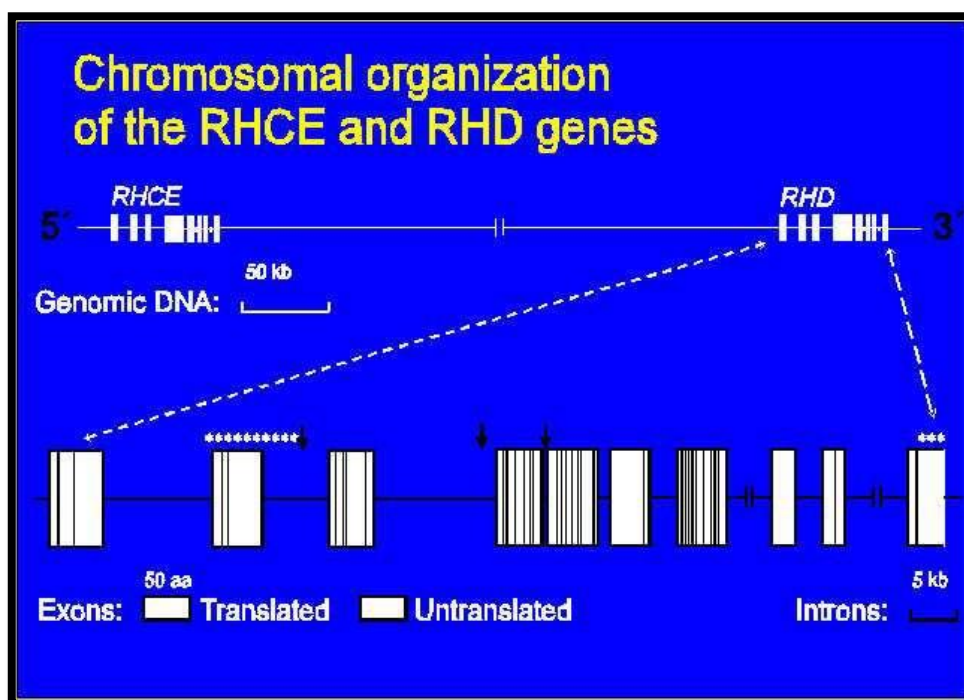


Figure II.17 : Organisation des gènes *RHD* et *RHCE* sur le chromosome 1 [40]. Des méthodes non-invasives sont développées afin de détecter efficacement plusieurs exons du gène *RHD* et ainsi diminuer le risque de faux-positifs [41].

Dans la population caucasienne, une délétion complète du gène *RHD* est cause la plus commune du manque d'expression de l'antigène RhD. Ainsi, la détection de séquences du gène *RHD* dans le plasma d'une patiente enceinte RhD négatif (qui ne possède pas le gène *RHD*) indique la présence d'un fœtus RhD positif. Cependant, l'absence du gène *RHD* n'est

pas pour autant synonyme d'individus RhD négatifs car il existe un certain nombre de variants du gène *RHD* responsables de faux-positifs. En effet, dans la population afro-américaine, environ 22% des femmes RhD négatives portent le variant *RHD-CE-D*. Un autre variant est le pseudogène *RHD ψ* non-fonctionnel car il n'est pas traduit en protéine RhD. Ainsi, afin de minimiser les faux-positifs, chaque kit permet de détecter plusieurs exons du gène *RHD* [41], [42].

Une fois automatisée et standardisée, cette avancée technologique va permettre de diminuer le coût lié à la prophylaxie anti-RhD. Une étude récente montre qu'en Grande-Bretagne, 40% des femmes enceintes RhD négatives attendent un bébé également RhD négatif. Ces femmes reçoivent donc une immunoprophylaxie anti-RhD alors qu'il n'y aurait pas lieu de leur donner, sans compter le gaspillage économique dans les pays développés, la pénurie dans les pays sous-développés auxquels il faut ajouter le risque de contamination virale liée à la manipulation de produits dérivés du sang [43].

3.2.2. La détermination du phénotype fœtal.

Lorsque le père est RhD positif et que des signes d'atteinte fœtale sont détectés, il est possible de recourir à la détermination du phénotype érythrocytaire fœtal. Celle-ci peut être réalisée précocement sur prélèvement de biopsie de trophoblaste avec un risque d'hémorragie fœto-maternelle de 50% ou plus tardivement à partir du sang fœtal. En raison du caractère fortement invasif du prélèvement, la détermination isolée du phénotype érythrocytaire à partir du sang fœtal est réservée aux fortes suspicions d'anémie fœtale qui nécessitent, dans le même temps, une transfusion *in utero* [39].

3.3. La surveillance de l'évolution de l'allo-immunisation.

3.3.1. L'évaluation du risque hémolytique in utero.

La principale complication de l'allo-immunisation RhD est la survenue d'une anémie fœtale elle-même potentiellement responsable d'anasarque et de décès *in utero*.

3.3.1.1. L'IDENTIFICATION ET LE TITRAGE DES ANTICORPS ANTI-RHD

En cas de RAI positive avec des anticorps capables de provoquer la destruction des hématies fœtales, la RAI avec identification et titrage (et dosage pondéral pour les anticorps anti-Rhésus) doit être effectuée à périodes rapprochées de 3 à 4 semaines. Du

fait de la rapidité d'installation d'une anémie fœtale, le titrage des anticorps anti-RhD sera réalisé toutes les 2 semaines à partir de la 20^{ème} SA [22].

3.3.1.2.ÉCHO-DOPPLER DE L'ARTERE CEREBRALE MOYENNE.

Le principe de l'échocardiographie-doppler repose sur l'usage des ultrasons. L'appareil d'échocardiographie se comporte comme un émetteur et un récepteur d'ultrasons. Il émet durant un court laps de temps et "écoute" ensuite les sons réfléchis.

L'effet doppler peut être utilisé dans le domaine des ultrasons. Quand un faisceau traverse un flux sanguin, la fréquence du signal revenant à l'émetteur peut être augmentée ou diminuée, en fonction de la direction et de la vitesse de ce flux par rapport à l'incidence du faisceau ultrasonique. Un mouvement liquidien vers la sonde élèvera la fréquence de retour, tandis qu'un mouvement s'en éloignant en diminuera la fréquence. L'amplitude du changement de fréquence est proportionnelle à la vitesse du flux sanguin ainsi qu'à l'angle entre le faisceau ultrasonique et le vaisseau analysé. Ainsi, l'on peut déterminer la vitesse ou vélocité et le sens d'un flux sanguin dans une région précise de l'artère cérébrale moyenne.

En obstétrique, les praticiens ont recours au Doppler à codage couleur. Il permet une visualisation directe des flux sanguins intravasculaires, qui se superposent à l'image en échographie bidimensionnelle. Par convention, les flux positifs ou flux qui s'approchent du transducteur sont codés en rouge, les flux qui s'en éloignent sont codés en bleu ; les flux très rapides ou turbulents, apparaissent "en mosaïque" c'est à dire constitués de multiples pixels juxtaposés de toutes les couleurs. Ainsi, toute anomalie sera immédiatement mise en évidence et pourra être ensuite analysée plus finement par d'autres techniques de doppler (doppler à codage continu ou le doppler pulsé conventionnel).

Lors de l'allo-immunisation fœtomaternelle, cette technique est utilisée pour apprécier l'état de l'anémie fœtale. En effet, il a été constaté une augmentation du pic de vélocité systolique de l'artère cérébrale moyenne chez les fœtus atteints d'anémie et une corrélation entre ce pic de vélocité et la concentration élevée de bilirubine dans le liquide amniotique (cf. Figure II.18). En effet, toute anémie fœtale diminue la viscosité sanguine et augmente le débit cardiaque. Cet examen est exclusivement pratiqué sur l'artère cérébrale moyenne (encore appelée artère sylvienne) parce que celle-ci répond rapidement à l'hypoxémie du fait de la forte dépendance du tissu cérébral pour l'oxygène [44].

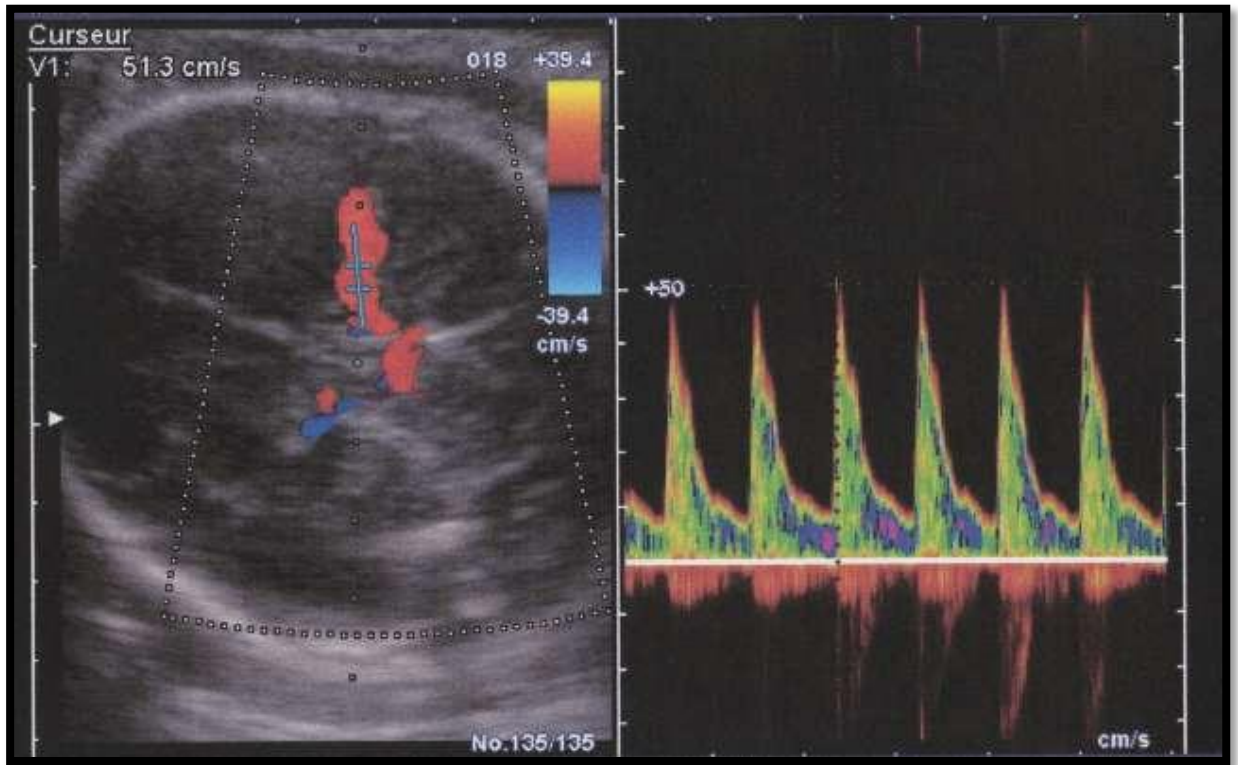


Figure II.18 : Mesure du pic systolique de vitesse dans l'artère cérébrale moyenne fœtale par Echographie-Doppler. Pour que la mesure de la vélocitométrie soit optimale, l'image échographique doit être obtenue selon un axe de tir Doppler bien dans l'axe du vaisseau, la mesure prise dans le tiers proximal - tiers moyen de l'artère sans utiliser la molette de correction d'angle, en absence de pression sur la tête fœtale et en dehors de mouvements fœtaux [3].

Il s'agit d'une méthode d'investigation non invasive, non traumatique et indolore. Elle peut être répétée et ne connaît aucune contre-indication et n'a pas d'effets secondaires connus : c'est pourquoi cet examen peut être pratiqué chez la femme enceinte. L'utilisation du Doppler fœtal à la recherche du pic systolique de l'artère cérébrale moyenne a permis à certaines équipes de réduire d'environ 70% les tests invasifs (notamment les amniocentèses nécessaires à la réalisation du diagramme de Liley) dans la prise en charge des allo-immunisations [45],[46].

3.3.1.3. LE TEST DE KLEIHauer-BETKE.

Le test de Kleihauer-Betke consiste à quantifier le nombre d'hématies fœtales passées dans le sang maternel. Cette technique cytochimique sur frottis sanguin s'appuie sur le caractère acido-résistant de l'hémoglobine fœtale (Hb F) que l'on ne retrouve pas avec l'hémoglobine adulte (cf. Figure II.19).

Ce test permet de quantifier rapidement l'hémolyse fœtomaternelle sachant que le rapport « 1 hématie fœtale pour 10 000 adultes » correspond à environ 0,5 ml de sang fœtal. Il a été constaté que la limite normale du taux maternel d'Hb F (soit 0,9 % correspondant à 45 ml de sang fœtal) est dépassée chez 25 % des femmes enceintes. Cette augmentation démarre à la 8^{ème} SA et peut atteindre 7 % (soit 350 ml de sang fœtal).

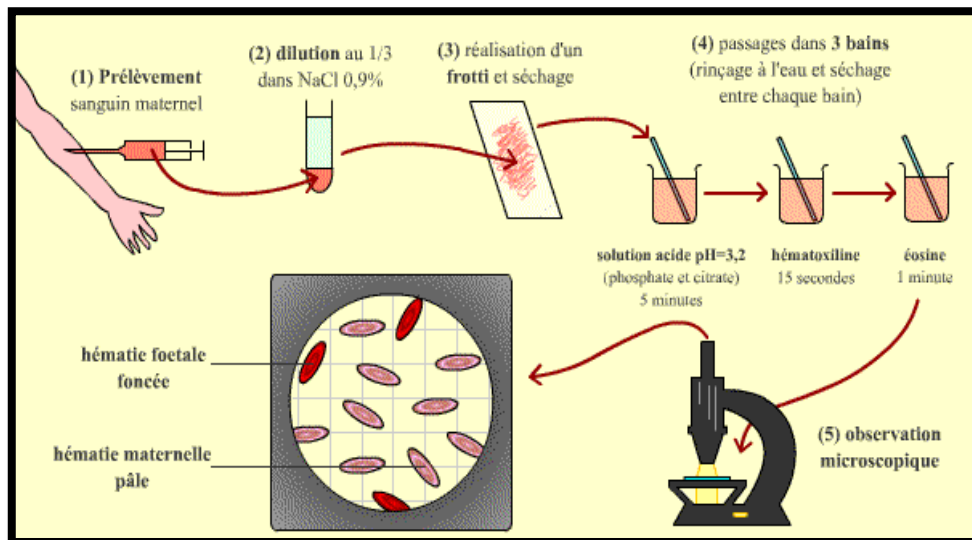


Figure II.19 : Le test de Kleihauer permet d'apprécier la quantité de globules rouges fœtaux présents dans le sang maternel. Après dilution, le sang maternel est passé dans trois bains successifs. Le bain acide est à un pH (3,2) qui permet une destruction de l'hémoglobine maternelle, mais pas l'hémoglobine fœtale. Les autres bains permettent une coloration des globules, en rouge si l'hémoglobine intacte est présente. Au microscope, les globules maternels sont donc décolorés, au contraire des globules fœtaux ; il ne reste plus qu'à les compter [47].

Les hématies sont fixées à l'alcool puis traitées par un tampon acide (les hématies adultes sont solubles à ce pH, alors que les hématies fœtales ne le sont pas). L'examen au microscope, pratiqué sur 50 champs de 200 hématies (cf. Figure II.20), est rendu difficile par les cas d'hémoglobinopathies (drépanocytose et β -thalassémie) et certains cas de persistance d'hémoglobine fœtale contenue dans de hématies adultes (Swiss-type) décrit chez 1 à 2% des adultes non-porteurs d'hémoglobinopathie.

Ce test est à pratiquer chez toute femme RhD négatif porteuse d'un fœtus RhD positif à partir du 2^{ème} trimestre de la grossesse en situation de risque d'hémolyse fœtomaternelle et lors de l'accouchement d'un nouveau-né RhD positif afin d'adapter le nombre de doses à injecter [38].

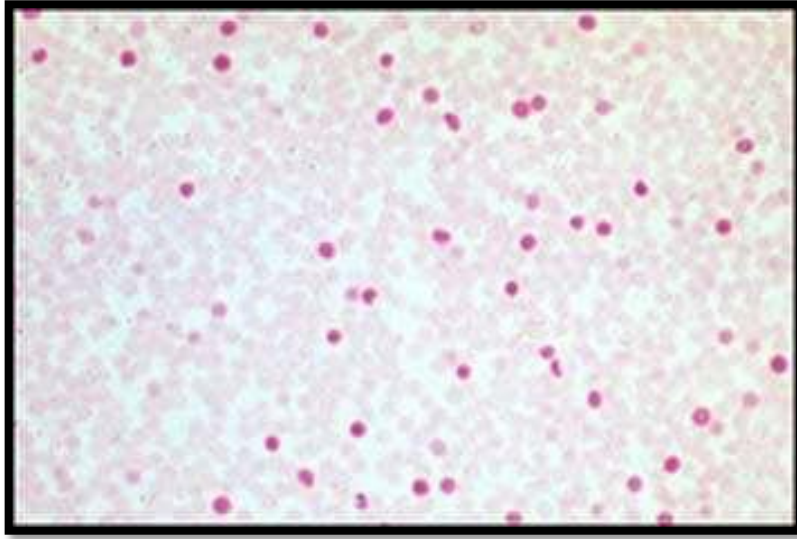


Figure II.20 : Mise en évidence d'hématies fœtales (cellules rouges foncées) dans la circulation maternelle avec la présence d'hématies adultes (cellules rose pâles) lors du test de Kleihauer [48].

3.3.1.4. LA MESURE DE LA BILIRUBINAMNIE.

Bien que cette technique fût longtemps la procédure de référence dans toute étude sur la prise en charge anténatale de l'allo-immunisation fœtomaternelle, le diagramme de Liley nécessite le prélèvement de liquide amniotique par amniocentèse, geste hautement invasif qui risque de réactiver l'allo-immunisation. Désormais, elle n'est plus utilisée en routine car elle a été supplantée par la mesure du pic de vitesse de l'artère cérébrale moyenne [47].

La présence de bilirubine dans le liquide amniotique se traduit par une augmentation de la densité optique à 450 nm appelée indice de Liley publié dès 1961. Cet indice qui témoigne de l'intensité du processus hémolytique (en reportant en ordonnée logarithmique la valeur de l'indice) est évalué en fonction de l'âge gestationnel (en reportant en abscisse linéaire les SA). Une contamination sanguine ou méconiale peut diminuer la fiabilité du test. Initialement interprétable à partir de la 27^{ème} SA, le diagramme de Liley peut, grâce aux progrès de l'échographie, être réalisé dès la 14^{ème} SA (on parle de diagramme de Liley « prolongé » cf. Figure II.21) [4].

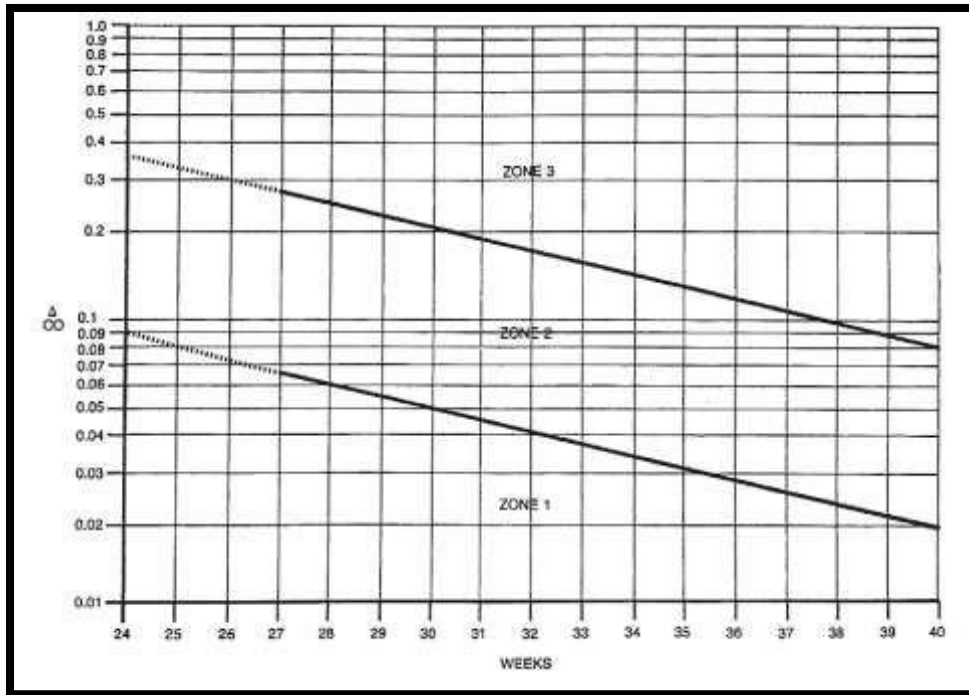


Figure II.21 : Le diagramme de Liley original (trait épais) et « prolongé » (trait en pointillés) [4].

Ce diagramme démontre que, normalement, la bilirubine présente dans le liquide amniotique diminue avec l'âge gestationnel et est divisé en 3 zones:

- la zone 1, inférieure, correspond aux valeurs habituellement observées pour les fœtus RhD négatifs ou faiblement atteints. Un résultat situé dans cette zone indique donc une absence voire une hémolyse légère. Il est alors recommandé de procéder à des amniocentèses toutes les 4 semaines.
- La zone 2, intermédiaire, elle-même subdivisée en 2 zones correspond à des valeurs retrouvées chez des fœtus faiblement ou gravement atteints. Les amniocentèses seront répétées toutes les semaines.
- Enfin, la zone 3, supérieure, correspond aux valeurs observées pour les fœtus gravement atteints et témoigne d'une hémolyse sévère qui nécessite une intervention immédiate (transfusion ou déclenchement de l'accouchement).

3.4.Synthèse du suivi de l'allo-immunisation foëto-maternelle.

La surveillance de l'allo-immunisation de la parturiente RhD négative peut être résumée selon l'algorithme représenté ci-après (cf. Figure II.22). Néanmoins, chaque patiente possède ses propres spécificités et ce schéma de suivi reste très général.

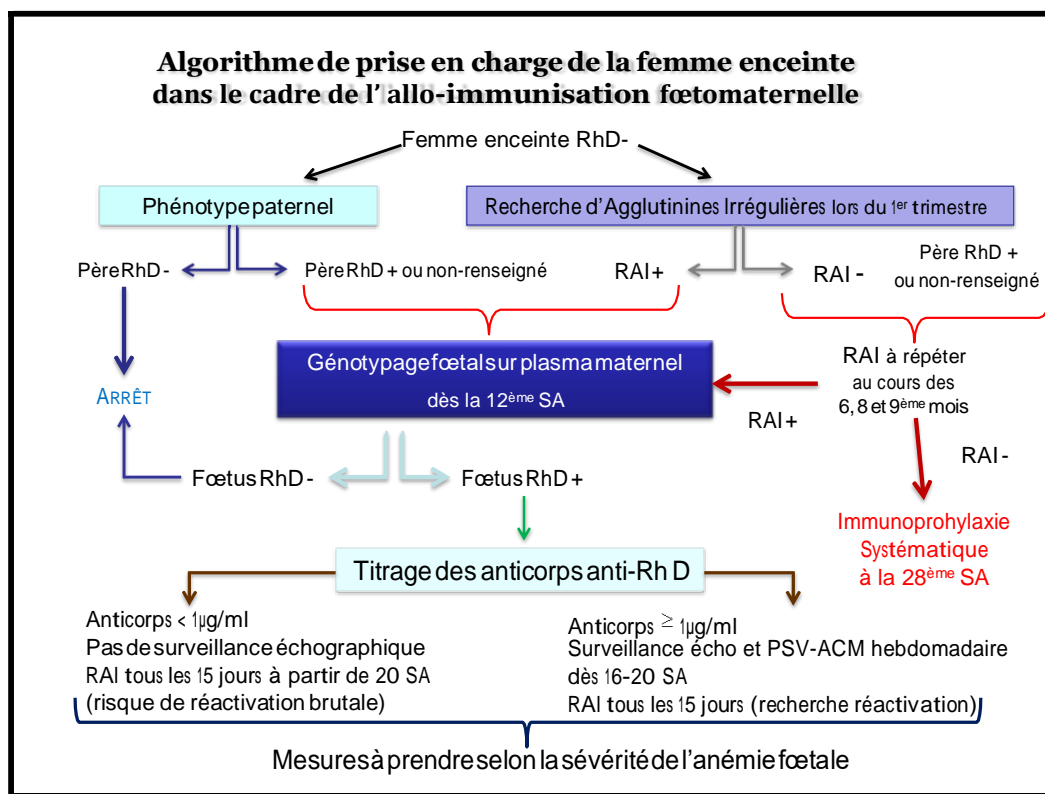


Figure II.22 : Algorithme de prise en charge de la femme enceinte dans le cadre de l'allo-immunisation foëtomaternelle.

Dans cet algorithme, il est nécessaire de distinguer, d'une part, la prévention de l'allo-immunisation foëtomaternelle chez la femme enceinte RhD négative (id est, dont les RAI restent négatives) et, d'autre part, le suivi de la patiente immunisée dont les RAI se sont positivées. En effet, seul le premier cas définit l'indication d'une immunoprofylaxie par Rhophylac® qui aura lieu au début du troisième trimestre de grossesse.

En cas d'allo-immunisation foëtomaternelle anti-RhD avérée, le suivi comporte d'abord le génotypage fœtal sur plasma maternel réalisable dès la 12^{ème} SA. Afin d'établir le statut RhD du fœtus. Si les hématies fœtales sont porteuses de l'antigène RhD, la surveillance se poursuivra par le titrage des anticorps anti-RhD. En cas de titrage supérieur ou égal à 1µg/ml,

une surveillance hebdomadaire de l'anémie fœtale et de l'anasarque par échographie et par mesure du pic systolique de vitesse dans l'artère cérébrale moyenne (PSV-ACM) par échographie-doppler sera instaurée et les RAI seront renouvelées toutes les 2 semaines afin de rechercher une éventuelle réactivation.

3^{EME} PARTIE : PROPHYLAXIE ANTI-RHD &

STRATEGIES THERAPEUTIQUES.

1. LA PRISE EN CHARGE AVANT L'ACCOUCHEMENT.

1.1.La prophylaxie anti-RhD.

1.1.1.Une avancée considérable.

Depuis le dépôt de son brevet en 1968, l'immunoprophylaxie anti-RhD a permis de réduire considérablement la fréquence de l'allo-immunisation fœtomaternelle : son incidence a été réduite à moins de 1%. En effet, la maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né affectait 1 nouveau-né pour 170 naissances vivantes en 1969 alors qu'en 1988, le ratio était de 1 nourrisson pour 500 naissances vivantes. La mortalité a également diminué sur cette même période de 1 décès pour 2 000 naissances en 1953 à 1 décès pour 65 000 naissances en 1989 [49].

1.1.2.Un mécanisme d'action encore inconnu.

Malgré quatre décennies de travaux sur la prophylaxie anti-RhD, le mécanisme d'action demeure encore inconnu. Pourtant, certains concepts ont été mis en avant et parmi ceux-ci : la clairance des hématies porteuses de l'antigène RhD. Cette opération a habituellement lieu dans la rate, organe de l'élimination par filtration des cellules sanguines sénescents et des microorganismes étrangers. Comme les macrophages spléniques ne possèdent pas de récepteurs pour les antigènes des groupes sanguins, les érythrocytes ne sont pas reconnus et vont pouvoir circuler normalement jusqu'à ce qu'ils deviennent sénescents et/ou apoptotiques.

Ainsi, au bout de 120 jours en moyenne, les hématies vont soit exprimer à leur surface des résidus de phosphatidylsérine reconnus par les récepteurs des macrophages, soit se lier à des IgG dont le récepteur FcγR est reconnu par ces mêmes macrophages et être ainsi épurées de la circulation sanguine par phagocytose avant leur reconnaissance par le système immunitaire. Ce dernier mécanisme est donc accéléré par l'administration intraveineuse d'IgG et constitue

donc une explication immunologique du mécanisme d'action par accélération de la clairance des hématies [50].

Cependant, la clairance antigénique ne peut pas à elle seule expliquer le mécanisme d'action de la prophylaxie anti-RhD. De nombreuses observations sur des modèles expérimentaux ont mis en évidence un phénomène appelé « ImmunoSuppression Médiée par Anticorps » (ou AMIS pour antibody mediated immunosuppression) [51].

D'autres hypothèses ont été émises : le masquage de l'épitope due à l'encombrement stérique, l'inhibition due au transporteur Fc γ RIIB ou les anticorps anti-idiotypiques. Cependant, aucun de ces concepts ne parvient à expliquer la principale particularité de la prévention anti-RhD, à savoir : l'inhibition de la réaction immune primaire. Il a été montré qu'une prophylaxie anti-RhD réussie provoque un effet immunosuppresseur si puissant qu'une exposition ultérieure peut aboutir à une réaction immune primaire mais n'aboutit jamais à une réaction immune secondaire : le système immunitaire ne garde pas en mémoire la présentation de l'antigène RhD. L'intervention de cytokines, molécules régulatrices de la réaction immunitaire, notamment TGF- β 1 (Tumor growth factor β 1) et PGE2 (Prostaglandine E2) a été montrée par Branch et al. TGF- β 1 est une cytokine connue pour être un puissant inhibiteur des réactions immunitaires, capable de bloquer la réaction immune primaire. PGE2 participe à la régulation de la production d'anticorps et au switch entre les classes d'anticorps mais c'est également une cytokine inhibitrice de la réaction immune primaire. 48 heures après administration intraveineuse d'IgG anti-RhD, les taux sanguins maternels de TGF- β 1 et PGE2 augmentent et leur augmentation est corrélée au nombre d'hématies fœtales porteuses de l'antigène RhD présentes dans la circulation maternelle [52].

1.1.3.Effets indésirables de la prophylaxie anti-RhD.

L'administration de la prophylaxie anti-RhD est responsable de réactions mineures chez 7 % des patients. Des cas de fièvres accompagnées ou non de frissons, de maux de tête, d'arthralgies, de myalgies, de prurits, de vertiges et de troubles digestifs de type nausées, vomissements ont été rapportés. Des réactions anaphylactiques plus rares ont également été décrites suite à l'injection d'IgG.

Une conséquence attendue de l'administration de cette γ -globuline est l'hémolyse accompagnée de la diminution du taux d'hémoglobine : ce phénomène est dû à la liaison des IgG anti-RhD à la surface des hématies et la clairance de celles-ci par la rate. Entre 1996 et 1999, 15 cas d'hémoglobinémie et d'hémoglobinurie sévères ont été documentés à la FDA

(Food and Drug Administration). En 2005, 6 nouveaux cas de coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) dont 5 mortels ont été notifiés suite à l'administration d'IgG anti-RhD. Ces hémolyses sévères accompagnées d'hémoglobinurie provoquent une insuffisance rénale d'autant plus grave si la fonction rénale est déjà altérée.

En 2007, Abdelmalek et al. ont notifié l'unique cas de défaillance hépatique aigue nécessitant une transplantation chez un patient atteint d'hépatite B chronique et de cirrhose ; les premiers symptômes de cette réaction intervenant moins de 15 minutes après l'injection d'anti-RhD. Ils admettent également qu'il est difficile d'imputer cette décompensation hépatique au seul traitement sans souligner le rôle d'une probable réactivation de l'hépatite virale. C'est pourquoi ils recommandent la plus grande prudence lors de l'utilisation des IgG anti-RhD chez un patient souffrant d'atteintes chroniques du foie.

Cependant, il faut préciser que tous les cas précédents ont été décrits chez des patients souffrant de purpura thrombocytopénique immun et traités par injection de γ -globuline anti-RhD de marque Win Rho® [53].

1.1.4. Les nouvelles recommandations du CNGOF.

Jusqu'en 2006, la prévention en France se limitait à des injections d'IgG anti-RhD en post-partum (une injection dans les 72 heures suivant l'accouchement) pour les cas d'allo-immunisation avérés au cours de la grossesse. Cette prophylaxie était administrée uniquement dans les situations à risque d'hémorragies fœtomaternelles chez les femmes Rhésus D négatif suspectes de porter un enfant de groupe Rhésus D positif.

Cependant, le taux résiduel d'immunisations à cet antigène, quoique fortement réduit, demeure supérieur à celui d'autres pays où la prévention systématique au cours du 3^{ème} trimestre est en vigueur depuis plusieurs années. Ces immunisations résiduelles s'expliquent dans 2/3 des cas par une prophylaxie inadéquate ou oubliée et pour 1/3 par des hémorragies fœtomaternelles inapparentes du 3^{ème} trimestre échappant à la prévention ciblée.

Ainsi, de nouvelles recommandations ont été proposées en France par le Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français (CNGOF) pour parer à ces immunisations résiduelles : une prévention anténatale systématique par injection intramusculaire d'Ig anti-RhD chez toute femme enceinte RhD négative non-immunisée anti-RhD à la 28^{ème} SA [54]. Cette injection anténatale requiert obligatoirement, au préalable, la réalisation d'une RAI datant de moins d'une semaine.

Une RAI post-injection est indiquée dans le cadre des préventions anténatales ciblées et des préventions post-natales. Celle-ci ne permet pas de savoir si la dose injectée est suffisante mais est utile pour savoir si la prévention a bien été effectuée. En effet, la réaction antigène-anticorps est réversible à l'équilibre : il y a autant de molécules d'anticorps qui se fixent aux hématies fœtales que d'anticorps qui se détachent de celles-ci. De nombreuses publications relatent la mise en évidence d'Ig anti-RhD en situation d'insuffisance posologique (appelés anticorps anti-RhD passifs) [39].

En résumé, on distingue deux types d'immuno-prophylaxie anti-RhD :

- ✓ **la prophylaxie ciblée** qui prévient les immunisations anti-RhD liées à des gestes obstétricaux réalisés au cours de la grossesse (cf. Figure III.1) ;
- ✓ **la prophylaxie systématique** effectuée à la 28^{ème} SA chez toute femme enceinte RhD négative et dont les RAI restent négatives et dont le statut RhD du géniteur est positif ou inconnu.

1 ^{er} trimestre	2 nd et 3 ^{ème} trimestres	
Risque modéré de passage d'hématies fœtales	Risque modéré de passage d'hématies fœtales	Risque important de passage d'hématies fœtales
<ul style="list-style-type: none"> ◆ Toute fausse couche spontanée (FCS) ou menace de FCS du 1^{er} trimestre ◆ Toute interruption de grossesse (IVG, IMG) quels que soient le terme et la méthode utilisée Grossesse molaire Grossesse extra-utérine Métrorragies Choriocentèse (biopsie de villosités choriales), amniocentèse Réduction embryonnaire Traumatisme abdominal ◆ Cerclage cervical 	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Métrorragies ◆ Cerclage de col utérin ◆ Menace d'accouchement prématuré nécessitant un traitement 	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Interruption médicale de grossesse ◆ Fausse couche spontanée tardive Mort fœtale in utero Versions par manœuvres externes ◆ Traumatisme abdominal ou pelvien (quel que soit le terme de la grossesse) ◆ Intervention chirurgicale abdominale ou pelvienne (quel que soit le terme de la grossesse) ◆ Amniocentèse, cordocentèse, placentocentèse ◆ Accouchement quel que soit la voie

Figure III.1 : Situations à risque d'hémorragies fœtomaternelles et donc d'allo-immunisation RhD au cours de la grossesse et dont il faut tenir compte lors de la prophylaxie ciblée [55].

1.1.5. Vers l'émergence d'anticorps monoclonaux ou recombinants ?

L'émergence du prion, agent responsable de la maladie de Creutzfeld-Jacob, a incité les chercheurs à s'intéresser à de nouvelles alternatives de production. Ainsi, une nouvelle génération d'anticorps anti-RhD monoclonaux (mAc) ou recombinants (rAc) est apparue. Ils dérivent tous de lignées cellulaires B (les lignées BRAD-5 et BRAD-3) et de gènes d'immunoglobulines humaines car les modèles expérimentaux murins ne reconnaissent pas l'antigène RhD. Les lignées BRAD-5 et BRAD-3 produisent respectivement des IgG3 et IgG1 avec une activité *in vitro* prouvée sur les cellules portant le FcγR [56].

De nombreux systèmes d'expression ont été utilisés incluant les lignées de cellules B humaines, les cellules d'ovaires de hamster chinois, des hétérohybridomes souris-humain et les myélomes de rat. Cependant, les études chez l'Homme impliquant cette nouvelle génération d'anticorps mAc et rAc n'ont pas montré une efficacité supérieure au Rhophylac[®], anticorps polyclonal utilisé jusqu'alors. Certains de ces « anticorps mutants » ont une biodisponibilité insuffisante, d'autres provoquent un effet contraire à celui recherché de type réaction hémolytique néfaste. Pourtant, aucune étude *in vitro* n'avait présagé de tels effets. La raison avancée pour expliquer ce décalage est que les IgG anti-RhD produits par des cellules animales diffèrent dans leur composition en oligosaccharides et interagissent avec d'autres ligands que celui attendu [12,57].

Il faut également prendre en compte que ces « IgG anti-RhD mutants » seront destinés à être administrés à des femmes enceintes et il ne faudrait pas que leurs remaniements structuraux leur confèrent une immunogénicité ou leur empêchent de traverser le placenta [58].

1.2. La transfusion *in utero* (TIU).

1.2.1. Principes généraux.

Le premier principe à respecter est l'immobilité fœtale : elle peut être obtenue par anesthésie générale materno-fœtale ou par anesthésie sélective du fœtus. Une analyse sanguine fœtale doit être réalisée préalablement à la transfusion afin de confirmer l'origine fœtale du sang et de renseigner les paramètres hématologiques (groupe sanguin Rhésus, formule érythrocytaire et leucocytaire) et biochimiques (dosage d'anticorps, bilirubinémie,...)

du fœtus. Les volumes transfusionnels doivent être aussi faibles que possible : ils sont corrélés à la gravité de la pathologie fœtale.

Les produits sanguins transfusés doivent être de groupe O Rhésus négatif. Ce sont généralement des concentrés globulaires déleucocytés irradiés frais. Cependant, des transfusions intraveineuses fœtales directes d'immunoglobulines anti-RhD ont également été effectuées dans le cadre de la prophylaxie de la maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né avec des intervalles de trois semaines.

La concentration doit être la plus élevée possible pour pouvoir transfuser des volumes les plus faibles possibles. L'innocuité vis-à-vis des virus responsables des hépatites B et C, du SIDA et du cytomégalo virus (CMV) est également vérifiée. Enfin, ces produits sanguins sont déleucocytés, déplasmatisés et irradiés afin d'éviter une éventuelle réaction du greffon contre l'hôte, dont le risque de survenue augmente en cas de transfusions répétées jusqu'au terme de la grossesse.

Deux techniques de transfusions sont couramment utilisées : la transfusion intrapéritonéale fœtale et l'injection intravasculaire fœtale par ponction directe du cordon à l'aiguille sous guidage échographique [59].

1.2.2. La transfusion intra-péritonéale.

Utilisée dès 1969, cette technique de transfusion *in utero* consiste en une injection d'hématies dans la cavité intra-péritonéale fœtale après repérage par radiographie du contenu utérin. Ces hématies sont réabsorbées dans la circulation sanguine fœtale et vont corriger l'anémie afin de prolonger la grossesse. La zone d'injection était initialement localisée par rapport à un grillage quadrillé radiographié en superposition au squelette fœtal.

L'apport de l'échographie a permis de moderniser et de faciliter le repérage de l'abdomen fœtal. La sonde échographique est placée de manière à obtenir une coupe transversale du fœtus passant légèrement en dessous de la région ombilicale et permet de surveiller l'introduction de l'aiguille dans l'abdomen fœtal à distance des autres organes. Le mandrin de l'aiguille est retiré et remplacé par un cathéter puis c'est l'aiguille qui est, à son tour, retirée.

Cette technique échographique bénéficie de l'innocuité des ultrasons, permet le contrôle parfait de la zone de pénétration dans l'abdomen fœtal ainsi que le contrôle continu de l'activité cardiaque fœtale pendant l'intervention. Elle sera utilisée jusqu'à la 17^{ème} SA ; passé de délai, on lui préférera les techniques de transfusion intravasculaire [58].

1.2.3. La transfusion intravasculaire.

Proposée sous contrôle fœtoscopique par Rodeck et al. en 1981, elle constitue une avancée importante et est généralement effectuée dans la veine ombilicale. En 1983, Daffos et al. permettent des progrès en proposant l'abord des vaisseaux ombilicaux sous contrôle échographique [60].

Selon les recommandations de l'AFSSAPS (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé) en date du mois d'août 2002, la transfusion intravasculaire nécessite un personnel expérimenté mais apparaît plus performante que la transfusion intrapéritonéale. Son but est de prolonger la durée de grossesse en améliorant l'oxygénation tissulaire fœtale. Ses indications dépendent de la concentration en hémoglobine, de sa cinétique d'évolution (en cas de transfusions itératives), de la concentration d'anticorps présents dans le sang fœtal, de l'importance de l'érythroblastose et de la réticulocytose fœtale [61].

La transfusion fœtale par abord funiculaire sous guidage échographique est la technique de référence actuelle et peut être réalisée à partir de la 17^{ème} SA. A des termes plus précoces, elle devient techniquement délicate et on lui préférera la transfusion intrapéritonéale. Lors de termes plus avancés, la décision de provoquer la naissance peut être une alternative. Cependant, le risque de complications fœtales liées à la réalisation du geste transfusionnel n'est pas négligeable surtout, qu'à des stades trop précoces, la transfusion intravasculaire doit être répétée cinq à six fois au cours d'une même grossesse.

Lorsque cette technique est couplée à une ponction de sang fœtal, elle prend le nom d'exsanguino-transfusion *in utero* (ETIU). Possible dès la 18^{ème} SA, celle-ci permet de corriger l'anémie fœtale, de conserver le volume sanguin en évitant la surcharge et d'épurer le sang fœtal des hématies RhD positives. Dans un premier temps, une ponction de sang fœtal est effectuée afin de confirmer l'anémie en mesurant le taux d'hémoglobine fœtale en extemporané. Il est ainsi possible de connaître précisément l'état hématologique du fœtus avant, pendant et après la transfusion en vue d'adapter les volumes transfusés aux besoins exacts du fœtus et compenser immédiatement l'anémie fœtale. Les quantités de sang à transfuser sont estimées à l'aide d'abaques ou de formules faisant intervenir l'âge gestationnel, le poids fœtal estimé, le taux d'hémoglobine initial, le taux hémoglobine recherché et l'hématocrite du sang contenu dans la poche du culot globulaire [3,59].

1.3. Le phénobarbital par voie orale chez la femme enceinte.

Parmi les différentes stratégies thérapeutiques, l'administration orale de phénobarbital à la parturiente sur une courte durée avant l'accouchement permet de diminuer le recours à l'exsanguino-transfusion chez les nouveau-nés atteints d'érythroblastose fœtale et ainsi, d'éviter les complications liées à cette technique invasive.

En effet, le phénobarbital, habituellement employé pour ses propriétés anticonvulsivantes et sédatives, est un inducteur enzymatique. Il est capable de stimuler les enzymes hépatiques et notamment UGT1A1, l'enzyme responsable de la réaction de conjugaison de la bilirubine, produit en large excès dans la circulation fœtale en cas d'alloimmunisation fœtomaternelle. Une fois stimulée, cette enzyme va former de la bilirubine-diglycuronate, forme conjuguée de la bilirubine éliminée par les voies biliaires et urinaires. Cette réaction se fait au profit de la bilirubine libre qui, en traversant la barrière hémato-encéphalique du fœtus, est à l'origine de complications neurologiques par accumulation dans les noyaux gris centraux de l'encéphale [15].

2. LA PRISE EN CHARGE POST NATALE.

Différents traitements ont vu le jour afin de restreindre les séquelles neurologiques et la mortalité liée à la maladie hémolytique du nouveau-né.

2.1. L'accouchement prématuré.

La décision de déclencher l'accouchement ne peut être prise qu'en fin de grossesse, à partir de la 32^{ème} SA et en fonction de l'importance de l'atteinte. Le nouveau-né devra ensuite pris en charge par un service de néonatalogie spécialisé pour le cas échéant y subir des séances de photothérapie intensive et des exsanguino-transfusions.

2.2. La photothérapie intensive.

2.2.1. Premiers pas de la photothérapie.

Cette technique fut découverte de manière fortuite, en Angleterre, dans les années cinquante au sein du Rochford General Hospital. Jean Ward, l'infirmière responsable de l'unité de soins des prématurés, eu l'idée d'exposer les nouveaux-nés ictériques

uniquement vêtus de leur couche au grand air et au soleil sur un balcon. Cette initiative se faisait de manière discontinue par tranches alternées de 15 minutes et sans qu'aucun médecin ne soit tenu informé. Peu après l'exposition, les médecins s'aperçurent que seules les régions « protégées » par la couche avaient conservées leur coloration jaune et Jean Ward dû confesser son initiative. L'Angleterre n'étant pas réputée pour ses heures d'ensoleillement, des chercheurs ont développé un système d'éclairage artificiel [62].

2.2.2. Physiopathologie et bénéfices thérapeutiques.

L'ictère néonatal est un phénomène très répandu puisque des études statistiques ont montré qu'environ 60% des nouveau-nés sont atteints de jaunisse dans leur première semaine de vie. Outre l'allo-immunisation, l'hyperbilirubinémie est également rencontrée lors de troubles hémolytiques hérités, lors de phénomènes d'extravasation (ecchymoses, hématomes cérébraux) et lors de troubles génétiques de la conjugaison comme lors du syndrome de Gilbert.

La jaunisse néonatale est causée par une augmentation de la concentration sérique en bilirubine non-conjuguée du fait de la dégradation des érythrocytes associée à la saturation d'une enzyme hépatique (la bilirubine-UDP-glucuronosyltransférase ou UGT1A1) qui empêche une élimination rapide de la bilirubine.

La photothérapie consiste à placer le nouveau-né sous une source d'énergie lumineuse dépourvue de rayonnements infrarouges et ultra-violets. Son mécanisme d'action s'appuie sur le fait que la lumière absorbée provoque des modifications de structure de la bilirubine présente en excès au niveau de la peau et responsable de la coloration jaune des téguments (jaunisse) des nouveau-nés. Ainsi, cette bilirubine est soumise à deux types de réactions : une photoisomérisation et une photodégradation. La photoisomérisation provoque la formation de stéréoisomères jaunes de la bilirubine alors que la photodégradation aboutit à des dérivés incolores de plus faible poids moléculaires. Les composés ainsi obtenus sont moins lipophiles que la bilirubine et peuvent être facilement excrétés par voie urinaire et biliaire sans avoir recours à la glucurono-conjugaison hépatique (*cf.* Figure III.2) [63].

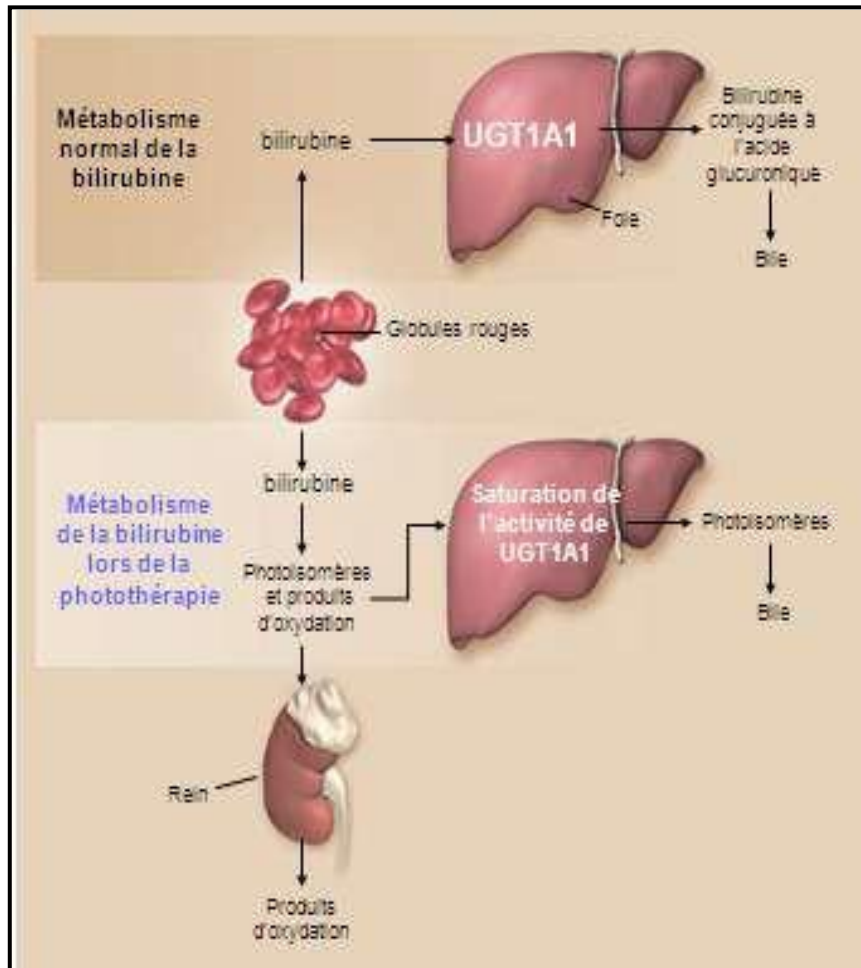


Figure III.2 : Le métabolisme normal de la bilirubine comparé au métabolisme de la bilirubine lors de la photothérapie. La bilirubine lipophile produit lors de la lyse des érythrocytes est captée par le foie afin d'être solubilisée et éliminée par la bile. Lorsque cette voie de catabolisme est déficiente, la photothérapie permet la production de dérivés solubles qui seront éliminés par la bile et le rein [63].

2.2.3. Efficacité et longueur d'onde.

Le domaine d'absorption de la bilirubine se situe dans la zone bleue du spectre de la lumière pour des longueurs d'onde proches de 460 nm (*cf.* Figure III.3). A cette longueur d'onde, le rayonnement est capable de traverser la peau et d'être absorbé par la bilirubine afin d'avoir un effet photothérapeutique. Ainsi, les lampes émettant des rayonnements dont la longueur d'onde est comprise entre 460 et 490 nm sont les plus efficaces dans le traitement de l'ictère néonatal.

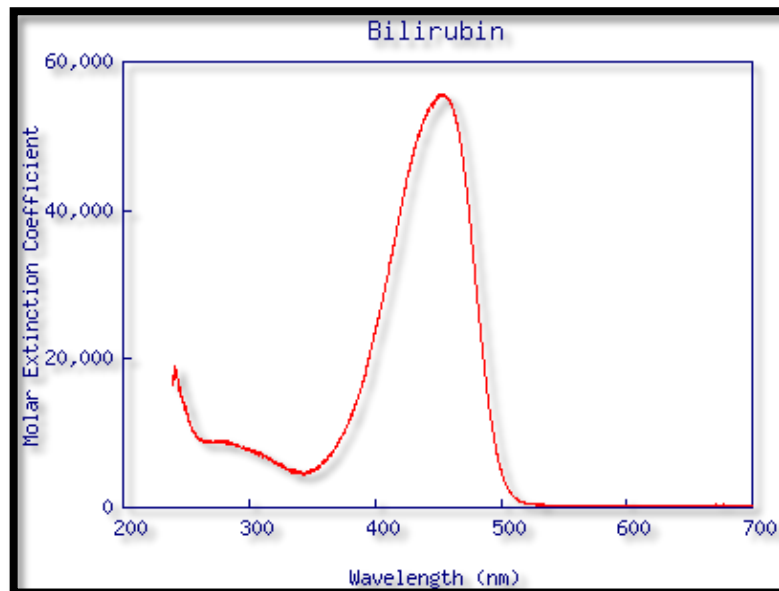


Figure III.3: Evolution du domaine d'absorption de la bilirubine en fonction de la longueur d'onde. Le domaine d'absorption est maximal pour des longueurs d'onde proches de 460 nm, d'où l'efficacité accrue des lampes émettant des rayonnements proches de ces valeurs [64].

La photothérapie standard utilise un rayonnement d'environ $10 \mu\text{W}\cdot\text{nm}/\text{cm}^2$. Lors de l'ictère hémolytique par incompatibilité fœto-maternelle, les nouveau-nés sont traités par la photothérapie intensive (de l'ordre de 30 à $40 \mu\text{W}\cdot\text{nm}/\text{cm}^2$) dont les rayonnements peuvent être émis sur l'ensemble de la surface cutanée par irradiation indirecte de l'autre face grâce au hamac translucide à surface réfléchissante [66].

2.2.4. Effets secondaires et contre-indications.

Le rayonnement utilisé lors des séances de photothérapie est toxique pour la rétine des nouveau-nés. De ce fait, leurs yeux doivent toujours être protégés par des caches opaques. De même, en cas de cholestase néonatale due à une augmentation de la concentration sérique de bilirubine conjuguée, la photothérapie peut provoquer le « Bronze Baby Syndrome ». Les nouveau-nés atteints par ce syndrome présentent une coloration brune de la peau, du sérum et des urines, coloration qui disparaît avec l'arrêt de la photothérapie et la prise en charge de la cholestase. D'autres effets indésirables ont été décrits en cas de cholestase : de rares éruptions purpuriques et bulleuses.

La protoporphyrine congénitale et l'utilisation concomitante de médicaments photosensibilisants contre-indiquent l'utilisation de la photothérapie.

2.3.L'exsanguino-transfusion.

Cette technique a été mise au point dans les années cinquante et fut la pierre angulaire du traitement de l'ictère nucléaire du nouveau-né jusqu'en 1963, date de la première transfusion *in utero* par Liley. L'exsanguinotransfusion permet de remplacer 85 à 95% de la masse sanguine du nouveau-né grâce à une transfusion d'échange double de volume utilisant des concentrés globulaires irradiés et déleucocytés, injectés par un cathéter situé sur la veine ombilicale.

Les bénéfices attendus sont l'épuration de la bilirubine non-conjuguée circulante et tissulaire, l'épuration des anticorps maternels, l'élimination des hématies néonatales recouvertes d'anticorps maternels et susceptibles d'être hémolysées ainsi que l'apport de globules rouges adultes non-immunisés. Tous ces éléments concourent à l'arrêt de l'hémolyse, au rétablissement des paramètres volémiques et permettent ainsi de soustraire l'enfant aux complications de la maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né que sont l'ictère nucléaire et les séquelles neurologiques associées.

L'exsanguino-transfusion constitue le dernier recours dans les formes sévères de jaunisses néonatales. Les progrès de la photométrie ont permis une réduction importante d'exsanguino-transfusions réalisées. En effet, une étude montre qu'en l'absence de photothérapie, 36% des nouveau-nés de poids de naissance inférieur à 1500 g nécessitent une exsanguino-transfusion. Depuis que la photothérapie est instaurée, ce pourcentage a chuté à 0,24%.

L'exsanguino-transfusion n'est désormais utilisée qu'en deuxième intention car elle demeure invasive et ne reste réservée qu'aux cas de maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né après échec de la photothérapie intensive en cas de bilirubinémie supérieure à 340 $\mu\text{mol/l}$ dans les douze premières heures post-natales [68]. Bien que la cathétérisation veineuse ombilicale soit une procédure commune dans la prise en charge des nouveau-nés malades, ce geste peut mener à de sérieuses complications (thromboses, hémorragies, arythmies, effusions péricardiques, hypertension portale et infections). L'incidence de sepsis survenant lors de cathétérisation veineuse ombilicale varie de 6 à 24% [69].

2.4.L'érythropoïétine.

Lors de la maladie hémolytique du nouveau-né, les enfants présentent dans leurs premières semaines de vie une anémie qui nécessite une surveillance hématologique hebdomadaire au cours du premier mois. Le mécanisme de cette anémie postnatale est

expliqué par la poursuite de l'action hémolytique des anticorps d'origine maternelle surtout si leur quantité n'a pas été réduite par exsanguino-transfusion.

L'érythropoïétine (ou EPO) endogène est une glycoprotéine synthétisée chez le fœtus par le foie et chez l'adulte par le rein. Elle agit en augmentant le nombre de réticulocytes et la synthèse d'hémoglobine. L'EPO est donc un facteur de croissance hématopoïétique qui agit à différents stades de la maturation des érythrocytes dans la moelle osseuse et dans le sang circulant. L'EPO utilisée en thérapeutique est produite par génie génétique : c'est l'érythropoïétine humaine recombinante (rHuEPO). Ses indications sont : le traitement des anémies survenant chez les sujets insuffisants rénaux chroniques, celui de l'anémie due à une hémorragie importante ou celui de l'anémie secondaire à une chimiothérapie. L'EPO est également préconisée en prévention de l'anémie du nouveau-né prématuré. Dès 1989, Koenig et al. évoquent les premiers la possibilité d'utiliser l'EPO dans cette indication. Depuis, plusieurs études ont été réalisées à ce sujet. Il en résulte que l'utilisation de ce facteur de croissance hématopoïétique peut être envisagée afin d'éviter le recours aux transfusions [65].

D'ailleurs, en 1999, une publication hongroise rapporte l'utilisation d'érythropoïétine humaine recombinante (200 UI/kg en injection sous-cutanée tous les deux jours durant deux semaines) associée à une photothérapie intensive et à l'administration orale de D-pénicillamine (300 mg/kg par jour répartis en trois doses durant trois jours) chez un nourrisson dont les parents, témoins de Jéhovah, refusaient l'administration de produits dérivés du sang [69]. Kayemba-Kay's et al. font également état d'un cas d'anémie néonatale secondaire à une incompatibilité rhésus traité par EPO. Ici, le schéma thérapeutique utilisé était de 250 UI/kg trois fois par semaine pour une durée totale de six semaines et le résultat fut encourageant (sortie du service à J12).

Le facteur limitant l'usage de l'érythropoïétine est son coût qui pourrait être compensé par la réduction du séjour hospitalier ainsi que les frais occasionnés par les transfusions en hôpital de jour [71].

3. ASSOCIATION DE PLUSIEURS TRAITEMENTS : CAS CLINIQUE.

De nombreuses publications montrent des associations entre ces différentes prises en charge pour des cas d'allo-immunisation sévère compromettant le pronostic vital du fœtus. Parmi celles-ci, Palfi et collaborateurs relatent le cas d'une femme de 27 ans admise lors de sa

8^{ème} SA pour le suivi de grossesse avec historique d'allo-immunisation sévère ayant provoqué des avortements spontanés lors de 3 de ses 4 grossesses précédentes. Dans l'unité de soins, le traitement de référence est la transfusion intra-utérine mais celui-ci est infaisable avant la 20^{ème} SA. Devant la volonté de la patiente à mener cette grossesse à terme, les médecins vont organiser une stratégie thérapeutique incluant : des échanges de plasma pour remplacer le sang fœtal par un plasma d'albumine à 4% à raison de 3 séances par semaine entre la 12^{ème} et la 28^{ème} SA ainsi qu'une injection hebdomadaire de hautes doses d'IgG en intra-vasculaire pendant cette même période. Cette stratégie a permis de poursuivre la grossesse jusqu'à la 28^{ème} SA où des signes d'anémie fœtale sont apparus et ont déclenché la mise en œuvre d'un accouchement par césarienne. Puis, des exsanguino-transfusions ont été réalisées en *post-partum* à J2 et J5 ainsi que des séances de photothérapie de J1 à J8 sans qu'aucune séquelle ne soit constatée sur le nouveau-né [72].

4^{EME} PARTIE : LE RHOPHYLAC[®],

SEULE IMMUNOGLOBULINE HUMAINE ANTI-RHD.

1. HISTORIQUE DU RHOPHYLAC[®].

1.1. Spécialité suisse.

Les prémices de la prophylaxie anti-RhD datent du congrès de la Société Internationale de Transfusion Sanguine qui eut lieu en 1966. C'est au cours d'une table ronde sur le thème de la prévention de la maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né qu'un programme de collecte de plasmas anti-RhD à haut titre d'immunoglobulines fut mis au point conjointement par CSL Limited[®] et la Croix Rouge Australienne. L'administration aux femmes enceintes commença dès l'année suivante.

C'est à la même période qu'en Suisse, la ZLB (anciennement : service de transfusion sanguine de la Croix Rouge Suisse) basée à Zurich débuta la collecte de plasmas de patientes immunisées RhD positives. Ces plasmas étaient envoyés au service de transfusion sanguine de la Croix Rouge Allemande à Baden-Baden pour y être manufacturés.

Au cours des quinze années suivantes, de nombreuses améliorations furent apportées pour obtenir un produit à 6% d'IgA administrable aussi bien par voie intramusculaire que par voie intraveineuse dès 1982. Cette expérience collective est le point de départ qui a permis la conceptualisation et le développement du Rhophylac[®].

A partir de 1991, une équipe de chercheurs de CSL-Behring[®] menée par Martin Stucki s'est attachée à obtenir un produit anti-RhD d'une pureté exceptionnelle afin de créer une thérapeutique améliorée pour le traitement de la maladie hémolytique du nouveau-né.

Leurs objectifs étaient de trouver :

- une solution contenant la plus haute concentration d'IgG anti-RhD avec les plus faibles concentrations d'IgA et de protéines non-voulues ;
- une formulation liquide permettant aussi bien une administration intramusculaire qu'une perfusion intraveineuse ;

- une formulation sans latex, produit hautement allergisant et sans thiomersal (dérivé du mercure utilisé comme agent antibactérien dans certains vaccins mis en cause comme étant à l'origine de syndrome autistique).

Ces objectifs de qualité et de pureté furent atteints en remplaçant le processus conventionnel de fractionnement par une nouvelle technique radicale basée sur les différences de charges à la surface des constituants plasmatiques. Elle permet ainsi d'isoler les IgG anti-RhD et d'éliminer les composants indésirables du plasma. Ce nouveau processus de fractionnement appelé ChromaPlus s'appuie sur 3 étapes : le traitement solvant/détergent ; la chromatographie échangeuse d'ions et la nanofiltration.

En 1994, Stucki présenta les résultats de ses travaux lors d'une conférence internationale et dès 1996, le Rhophylac[®], première solution injectable d'IgG anti-RhD au monde indiquée dans la prévention de l'allo-immunisation fœtomaternelle, était commercialisé en Suisse par la société CSL-Behring[®]. Ensuite, le Rhophylac[®] fut commercialisé dès 2001 en Allemagne et en 2004 aux USA [72].

En France, l'autorisation de mise sur le marché a été accordée au LFB[®] (Laboratoire français du Fractionnement et des Biotechnologies) le 15 juin 2004 et la commission de transparence de la Haute Autorité de Santé a donné son agrément pour l'inscription à la liste des médicaments remboursables par la Sécurité Sociale et les collectivités le 27 octobre 2004 [73].

1.2. Spécificité française.

Depuis 1994, le LFB possède l'exclusivité du fractionnement du plasma issu des dons bénévoles collectés sur le territoire national par l'EFS (Etablissement Français du Sang). Comme la législation française n'autorise que la mise sur le marché de médicaments dérivés du plasma provenant de dons du sang volontaires et non-indemnisés, les laboratoires se fournissent en grande partie dans les pays capables de fournir du plasma à partir de dons bénévoles et gratuits.

Il n'existe que deux sources d'approvisionnements en plasma : **le don de sang total** (il faut 4 à 5 dons de sang total, à raison d'environ 450 ml par don, soit entre 1800 et 2250 ml pour obtenir un litre de plasma) et **la plasmaphérèse**. Celle-ci consiste à prélever le plasma du donneur tout en lui réinjectant ses cellules sanguines. Cette technique permet de collecter davantage de plasma (750 ml environ) mais elle est très astreignante : le prélèvement dure

environ 1h30 et s'effectue dans un centre de collecte spécifique. Certains pays (Allemagne, Autriche, Suède,...) pratiquent une indemnisation à titre de compensation à hauteur de 20 à 25 € par don.



Figure IV.1 : Patient consentant à un don du sang total [74].



Figure IV.2 : Patiente consentant à une plasmaphérèse [75].

2. PRESENTATION.

Selon le Résumé des caractéristiques du Produit (RCP), le Rhophylac[®] appartient à la classe pharmacothérapeutique des immunosérum et des immunoglobulines. Il contient des anticorps spécifiques de type IgG dirigés contre l'antigène RhD des érythrocytes humains.

Ce médicament se présente sous forme de solution injectable conditionnée en seringue préremplie de 2 mL et se décline en deux dosages de 200 µg et 300 µg. Ces solutions peuvent

être administrées par injection intramusculaire ou intraveineuse en cas de troubles de l'hémostase contre-indiquant la voie intramusculaire.

Ces deux conditionnements contiennent respectivement 1000 UI et 1500 UI d'IgG humaines anti-RhD mais également d'autres protéines plasmatiques humaines : de l'albumine humaine servant d'agent stabilisant et des IgA en concentration inférieure à 5 µg/mL [55].

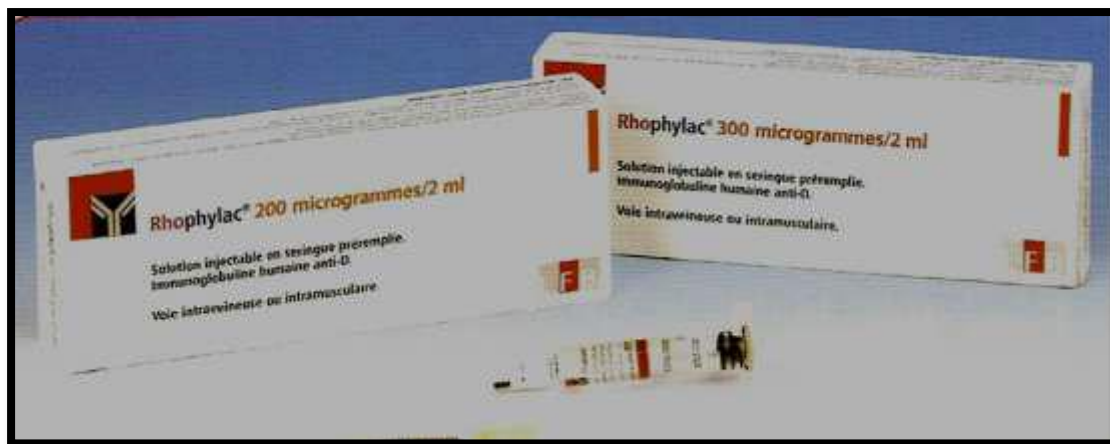


Figure IV.3 : Le Rhophylac®, solution injectable en seringue préremplie, se décline sous deux dosages 200 µg/2mL et 300 µg/2mL [55].

Le Rhophylac® est un médicament dérivé du plasma et, à ce titre, nécessite une traçabilité particulière sous la responsabilité conjointe du pharmacien et du professionnel de santé qui procède à l'administration. En pratique, cette traçabilité est rendue possible par des étiquettes détachables de traçabilité (au nombre de trois) présentes sur le conditionnement et qui portent les informations suivantes :

- ✓ la dénomination du médicament ;
- ✓ le nom du laboratoire qui le fabrique ;
- ✓ le numéro de lot ;
- ✓ le code barre ;
- ✓ la référence de l'AMM du Rhophylac (ou code CIP).

Une des étiquettes détachables est apposée sur le conditionnement extérieur (la boîte cartonnée) et les deux autres sur le conditionnement primaire (blister refermant la seringue pré-remplie) [76].

3. PRODUCTION.

3.1. Contrôle-qualité.

Le Rhophylac[®] est produit à partir de plasmas humains de donneurs immunisés. C'est donc un produit dérivé du sang et, à ce titre, sa production nécessite plusieurs étapes de purification et d'élimination et/ou d'inactivation des agents infectieux potentiellement présents.

Dans un premier temps, les donneurs sont rigoureusement sélectionnés : ils subissent un entretien médical au cours duquel ils sont informés du type de don auxquels ils participent. Cet entretien est couplé à un examen clinique afin d'exclure les donneurs à risque. En effet, dans les années 80, l'apparition de cas de transmissions du Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH) rend nécessaire la mise en place de techniques de plus en plus sensibles de détection du VIH mais aussi du Virus de l'Hépatite C (VHC). Ainsi, chaque don de plasma est soumis au dépistage de marqueurs viraux (l'antigène Hbs associé à l'hépatite B et les anticorps anti-VIH 1+2 et anti-VHC). Un dépistage complémentaire par amplification des acides nucléiques des virus enveloppés (VIH, Virus de l'Hépatite B (VHB), VHC) et non-enveloppés (Virus de l'Hépatite A (VHA) et Parvovirus B19, agent responsable de la cinquième maladie, érythème infectieux survenant généralement pendant l'enfance appelé mégalérythème ou syndrome des joues giflées [77] et de garantir ainsi une sécurisation optimale de la matière première.

A ce jour, aucun cas de transmission du VIH n'a été rapporté mais deux cas de transmission du VHC ont été décrits à la fin des années 70 (un cas dans l'ex-Allemagne de l'Est et un en Irlande) à une époque où les procédés d'inactivation virale n'existaient pas. Puis, dans les années 90, c'est l'apparition du prion, agent responsable de la maladie de Creutzfeld-Jacob, qui oblige la mise en place de nouvelles normes de sécurité [78].

3.2. Procédés de fabrication et sécurité virale.

Fabriqué par combinaison de différentes étapes de chromatographie échangeuses d'ions à partir de pools de plasma humain prélevé chez des donneurs et donneuses hyperimmunisés, le Rhophylac[®] est un produit stable, d'un haut degré de pureté et à faible teneur en IgA (*cf.* Figure IV.4).

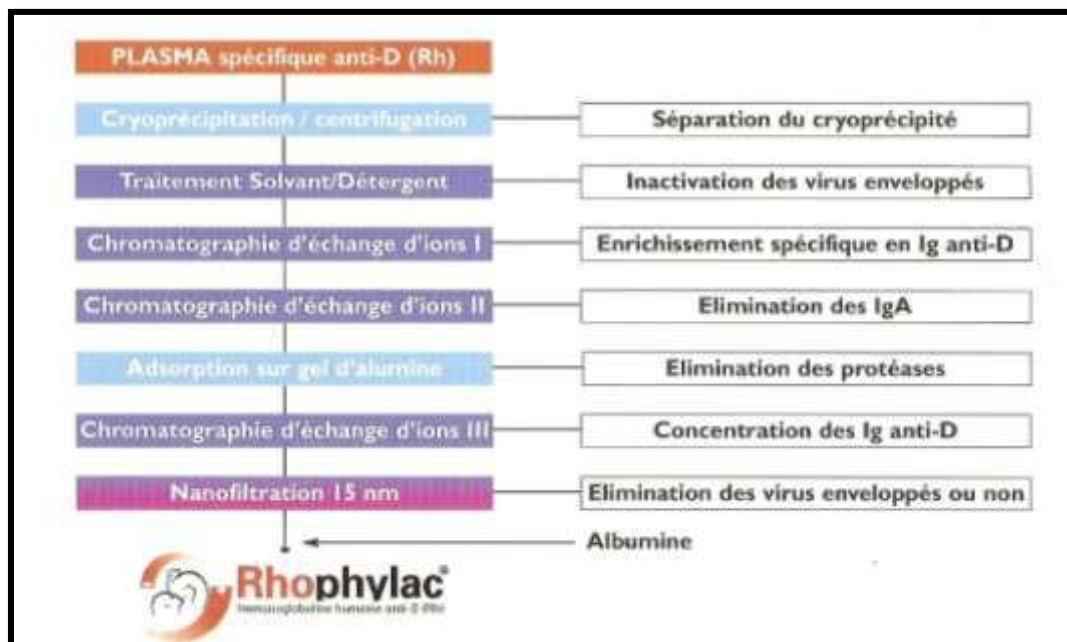


Figure IV.4 : Les différentes étapes de fabrication du Rhophylac® [28].

Les anticorps appartiennent principalement aux sous-classes IgG1 et IgG3 présentes en proportions beaucoup plus importantes que dans le plasma humain non-traité. La teneur de la fraction IgG anti-RhD purifiée est ajustée à 200µg/2ml ou 300µg/2ml suivant le conditionnement recherché. Le produit est ensuite stabilisé par l'addition d'albumine humaine et de glycine, puis, après filtration stérilisante, conditionné dans des seringues préremplies en verre donc prêtes à l'emploi. Ce procédé de fabrication par chromatographie permet d'optimiser l'utilisation de la matière première.

3.2.1. Cryoprécipitation et centrifugation.

Pendant que les échantillons de plasma sont analysés, les unités de plasma correspondantes sont entreposées à l'état congelé par une température avoisinant -40°C . A cette température, les unités de plasma se conservent pendant une année ; une fois cette date dépassée, ils devront être détruits. Toutes les unités de plasma sont soigneusement répertoriées en vue d'établir leur conformité avec les référentiels de qualité et de sécurité. Seules, les unités de plasma ayant passé tous les tests de laboratoires avec succès vont poursuivre le processus de fabrication.

Ensuite, les plasmas hyperimmunisés vont subir l'étape de cryoprécipitation : une lente décongélation à froid (température de 4°C) suivie d'une centrifugation qui permet la

séparation du surnageant. Cette étape constitue le départ du fractionnement du plasma sanguin et aboutit à l'obtention du cryoprécipité qui contient les IgG anti-RhD [79].

3.2.2. Inactivation virale par traitement solvant/détergent.

Ce procédé est basé sur la nature lipidique des enveloppes de certains virus enveloppés (VIH, VHB et VHC). Les actions combinées du tri (n-butyl) phosphate et d'un détergent provoquent la destruction de l'enveloppe de ces virus et, par conséquent, leur inactivation. Cette étape doit concilier l'efficacité de l'action antivirale sans dénaturer l'activité biologique des immunoglobulines.

3.2.3. Purification par chromatographie échangeuse d'ions.

Les IgG anti-RhD sont fractionnés à partir du pool de plasmas humains par chromatographie échangeuse d'ions. Ce procédé s'appuie sur les propriétés chimiques propres à chaque protéine et utilise un système à deux phases : une phase stationnaire et une phase mobile. Dans la colonne de chromatographie, la phase stationnaire est une résine échangeuse d'ions qui peut retenir les particules chargées contenues dans la phase mobile. Les protéines possèdent des groupements fonctionnels chargés leur permettant de se lier à la phase stationnaire. Le pH de la phase mobile peut également influencer la liaison des protéines car la charge globale d'une protéine varie selon le pH du milieu où elle se trouve (*cf.* Figure IV.5).

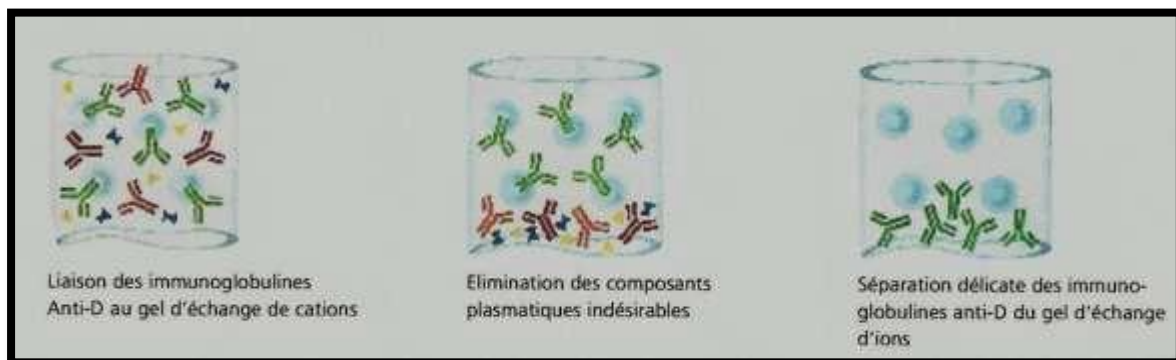


Figure IV.5 : Les étapes de la chromatographie échangeuses d'ions [80].

Ainsi, les conditions chromatographiques sont choisies afin de retenir les IgG anti-RhD dans la colonne alors que la phase mobile se compose des autres protéines plasmatiques, du solvant et du détergent utilisés pour l'inactivation virale. Cette étape permet d'éliminer plus de 98%

des protéines plasmatiques et de récupérer par élution les IgG anti-RhD. Des étapes de purification supplémentaires permettent de réduire les IgA et les protéases et contribuent à l'élimination des virus éventuellement présents.

3.2.4.Élimination virale par nanofiltration.

La nanofiltration est une technique d'élimination virale qui utilise des membranes dont les pores ne laissent passer aucune particule dont le diamètre excède 15 nm (cf. Figure IV.6).

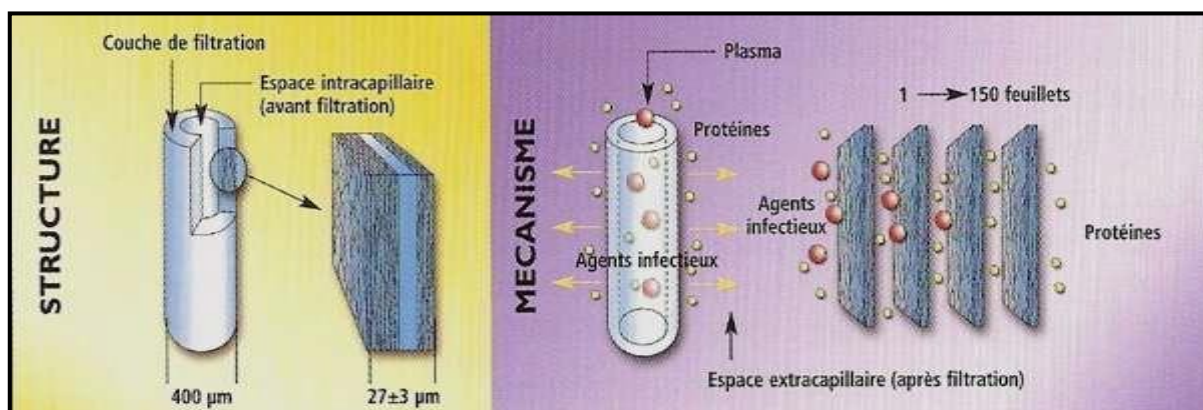


Figure IV.6 : La nanofiltration utilise des fibres creuses qui permettent d'éliminer les virus selon leur taille [28].

Ce diamètre a été arbitrairement choisi pour la rétention particulière. En effet, un pore de 15 nm permet de séparer les virus enveloppés et non-enveloppés qui restent prisonniers à l'intérieur de la fibre creuse tandis que les protéines plasmatiques sont éluées (cf. Figure IV.7).

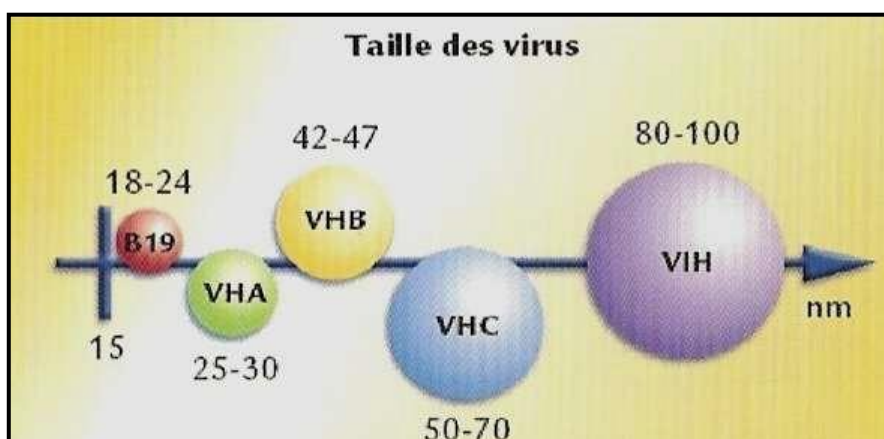


Figure IV.7 : Les étapes d'inactivation/élimination virale peuvent être d'efficacité limitée vis-à-vis des virus non-enveloppés tels que le virus de l'hépatite A ou le parvovirus B19 [28].

4. INDICATIONS THERAPEUTIQUES.

Selon l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) délivrée en juin 2004, le Rhophylac® possède deux indications : la prévention de l'allo-immunisation fœtomaternelle RhD chez les femmes RhD négatives et le traitement des sujets RhD négatifs après transfusions incompatibles de sang RhD positif ou d'autres produits contenant des hématies RhD positives [81].

4.1. La prévention de l'AIFM anti-Rhésus D.

Dans cette indication, le Rhophylac® est employé dans deux situations distinctes :

- ✓ **l'immunoprophylaxie ciblée** afin d'éviter les immunisations anti-RhD liées à certaines situations (fausse couche, menace de fausse couche, grossesse ectopique ou môle hydatiforme, hémorragie transplacentaire secondaire à une hémorragie du *pré-partum* ou traumatisme abdominal) ou certains gestes obstétricaux (amniocentèse, biopsie de villosité choriale, version céphalique externe,...) réalisées au cours de la grossesse de femmes enceintes RhD négatives ;
- ✓ **l'immunoprophylaxie systématique** effectuée à la 28^{ème} SA chez toute femme enceinte RhD négative dont les RAI restent négatives et dont le statut RhD du géniteur est positif ou non-renseigné.

4.2. Les transfusions incompatibles.

L'hémolyse intravasculaire aigüe est une complication rare (1 cas pour 300 000 unités de sang transfusé) mais extrêmement grave (voire létale) de la transfusion. Dans le cadre d'une incompatibilité liée au facteur *rhésus* D, cette hémolyse est due à un conflit immunologique entre l'antigène RhD présent à la surface des hématies transfusées et les anticorps plasmatiques du receveur.

Cette complication se caractérise par un collapsus vasculaire survenant dans les six premières heures post-transfusionnelles. Le tableau est très polymorphe : le patient présente une hypotension artérielle avec tachycardie qui peut être associée à des douleurs lombaires, des frissons et de la fièvre. D'autres complications redoutables telles que la coagulation

intravasculaire disséminée (CIVD), une insuffisance rénale aigüe ou une insuffisance respiratoire aigüe peuvent également survenir.

Cette incompatibilité transfusionnelle est généralement due au non-respect des procédures standardisées : erreur d'identification des prélèvements sanguins, erreur d'attribution des unités de sang ou absence de vérification avant de réaliser la transfusion [82, 83].

4.3. Autres indications.

A l'instar de son équivalent canadien (WinRho[®] SDF commercialisé par le laboratoire Cangene), des études ont montré l'intérêt des IgG anti-RhD dans deux autres indications : une maladie auto-immune, le purpura thrombopénique idiopathique (PTI) et une infection virale, la dengue. Bien que ces deux pathologies soient très éloignées de par leur mécanisme d'action, leur répartition géographique ou leur traitement, on retrouve pour le PTI comme pour la forme hémorragique de la dengue, des signes cliniques (ecchymoses, pétéchies, épistaxis, gingivorragies, hématurie, saignements digestifs) et biologiques (thrombopénie) similaires.

La thrombopénie rencontrée dans ces deux pathologies est due à l'augmentation de la destruction des plaquettes opsonisées par les PAIgG (Platelet Associated IgG), phénomène localisé au niveau du SRE et majoritairement au niveau des macrophages spléniques. Les plaquettes sont éliminées parce que les PAIgG sont reconnues par les FcγR présents dans le SRE. Les IgG anti-D qui ont une affinité supérieure pour les FcγR viennent se fixer sur les hématies RhD positives du patient et viennent prendre la place des PAIgG. Ce sont donc les hématies du patient qui sont sacrifiées à la place de ses plaquettes. Ainsi, l'administration des IgG anti-D permet de contrebalancer la thrombopénie en réduisant le nombre de plaquettes détruites par le SRE [84,85].

5. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES ET PHARMACOCINETIQUES APPLIQUEES A L'AIFM.

Les nouvelles recommandations du CNGOF ont fixé les modalités de la prophylaxie anténatale systématique chez la femme enceinte RhD négative. Celle-ci consiste en une

injection de Rhophylac® 300 µg à la 28^{ème} SA. En effet, on dénombre chaque année 750 cas d'AIFM responsables de 50 à 100 décès qui peuvent avoir plusieurs causes :

- l'absence de prévention,
- une posologie inadaptée,
- l'échec d'une prévention apparemment adaptée,
- les hémorragies silencieuses du 3^{ème} trimestre responsable d'un quart des cas persistants d'allo-immunisations.

Ainsi, l'administration de la prophylaxie anti-RhD systématique s'effectue à l'entrée du dernier trimestre de la grossesse pour diminuer l'incidence de ces hémorragies silencieuses. L'application de cette recommandation permettrait une réduction de l'immunisation de 60 à 80% par rapport à une prévention ciblée et de ramener à 7 le nombre de décès imputable à l'AIFM [77]. Du point de vue pharmacocinétique, des titres mesurables d'anticorps sont obtenus environ 4 heures après une injection intramusculaire. Les pics sériques sont généralement atteints 5 jours plus tard. Après injection intraveineuse, des taux d'anticorps mesurables sont immédiatement obtenus. Chez des femmes enceintes ayant un taux normal d'IgG, la demi-vie moyenne dans la circulation a été de 17 jours. Les IgG et les complexes d'IgG sont dégradés par les cellules du SRE.

6. POSOLOGIE.

Les schémas posologiques suivants, basés sur les études cliniques de Rhophylac®, sont recommandés, mais il convient de respecter les directives professionnelles en vigueur pour l'utilisation des IgG anti-RhD dans les différents états membre de l'UE.

6.1.Prévention de l'allo-immunisation fœto-maternelle RhD.

Dans le cadre de la prévention de l'AIFM chez les femmes RhD négatives, la dose recommandée est une dose unique de 300 microgrammes (1500 UI), administrée par voie intraveineuse ou intramusculaire à 28-30 semaines de grossesse.

Lorsque le Rhophylac® est administré en *post partum* par voie intraveineuse, une dose de 200 microgrammes (1000 UI) est suffisante. Lors d'une administration intramusculaire, une dose de 200 microgrammes (1000 UI) à 300 microgrammes (1500 UI) est recommandée.

Rhophylac® doit être administré le plus tôt possible dans les 72 heures qui suivent l'accouchement. La dose administrée en *post partum* doit également être administrée si une prophylaxie *ante partum* a été administrée. Si une hémorragie foeto-maternelle importante (supérieure à 4ml) est soupçonnée, par exemple lors d'une anémie fœtale ou lors d'une mort fœtale in utero (0,7 - 0,8% des femmes), son intensité peut être estimée par une méthode adéquate telle que le test de Kleihauer-Betke. Dans ce cas, des doses complémentaires d'immunoglobulines anti-D à raison de 20 microgrammes (100 UI) par ml d'hématies fœtales doivent être administrées.

Lors d'interventions et d'incidents survenant jusqu'à la 14^{ème} semaine de grossesse, il faut administrer dès que possible, sans dépasser 72 heures après l'évènement à risque, au moins 200 microgrammes (1000 UI) par voie intraveineuse ou intramusculaire. Lors d'interventions et d'incidents survenant après la 14^{ème} semaine de grossesse, il faut administrer dès que possible, sans dépasser 72 heures après l'évènement potentiellement immunisant, au moins 200 microgrammes (1000 UI) par voie intraveineuse ou intramusculaire.

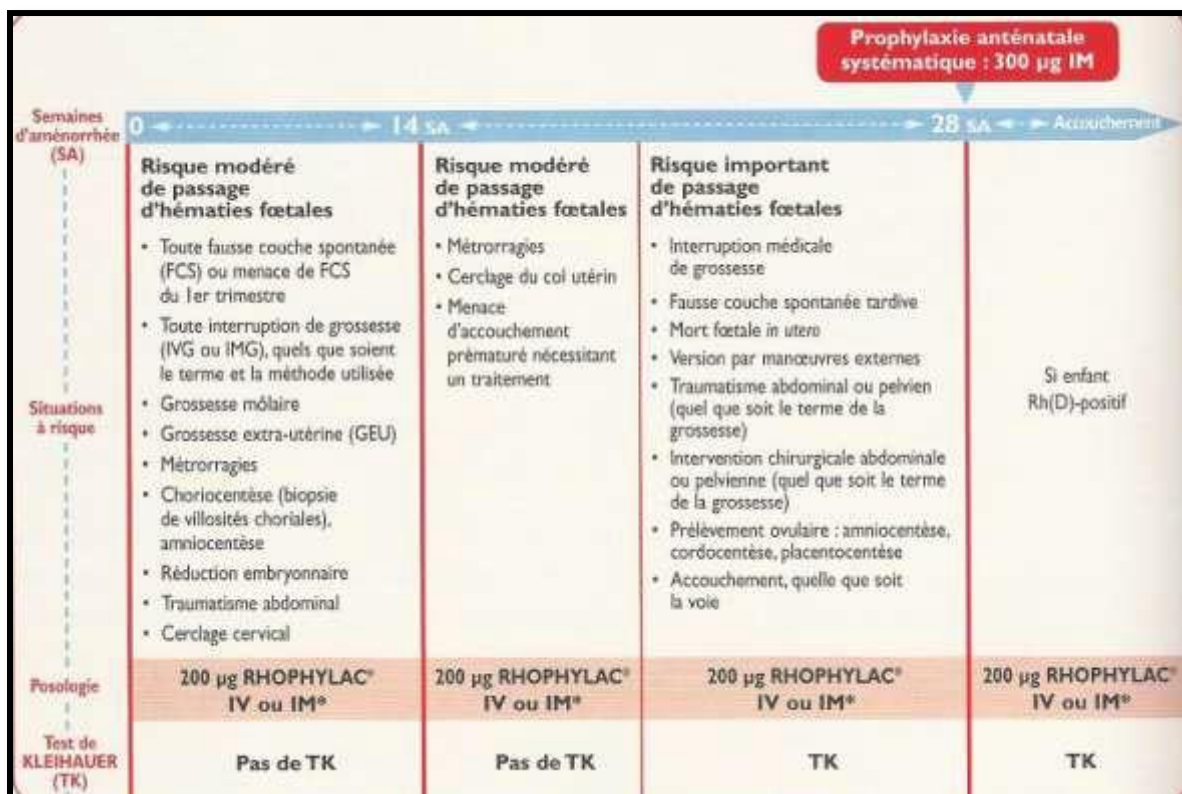


Figure IV.8 : Schéma thérapeutique du Rophylac® [76].

6.2. Transfusions incompatibles.

Dans le cadre du traitement des sujets RhD négatifs après transfusions incompatibles de sang RhD positif, la dose recommandée est de 20 microgrammes (100 UI) d'IgG anti-RhD pour 2 ml de sang RhD positif transfusé ou par ml de concentré érythrocytaire. L'injection intraveineuse est recommandée. En cas d'injection intramusculaire, si les doses sont importantes, elles doivent être administrées sur une période de plusieurs jours. Une dose maximale de 3000 microgrammes (15000 UI) est suffisante dans le cas d'importantes transfusions incompatibles, indépendamment du fait que le volume de transfusion soit supérieur à 300 ml de sang RhD positif.

6.3. Autres indications.

Dans la prise en charge du PTI ainsi que dans le traitement des formes hémorragiques de la dengue, les IgG anti-RhD sont prescrits à la posologie de 50 µg/kg. Selon le cas clinique présenté par Sieunarine et al, cette injection est hebdomadaire et peut être renouvelée chaque semaine jusqu'au terme de la grossesse pour la femme enceinte souffrant de PTI résistant [84,85].

7. INTERACTIONS MÉDICAMENTEUSES, EFFETS INDESIRABLES ET CONTRE-INDICATIONS.

7.1. Interactions médicamenteuses et autres formes d'interactions.

Les interactions du Rhophylac® avec d'autres traitements n'ont pas été étudiées. Les informations fournies dans ce paragraphe sont tirées de la littérature et des directives actuelles. L'immunisation active avec des vaccins à virus vivant atténué (notamment le vaccin de la rougeole, des oreillons, de la rubéole ou de la varicelle) doit être reportée de 3 mois après la dernière administration de l'IgG anti-RhD car l'efficacité du vaccin peut être altérée. Si l'IgG anti-RhD doit être administrée dans les 2 à 4 semaines qui suivent la vaccination par un vaccin à virus vivant atténué, l'efficacité de cette vaccination peut être altérée.

L'injection d'Ig est suivie d'une augmentation transitoire de la concentration des différents anticorps transférés passivement dans le sang du patient, pouvant être responsable de la positivation de tests sérologiques pour les anticorps anti-érythrocytaires (test de Coombs) chez le nouveau-né. Le Rhophylac[®] peut renfermer des anticorps dirigés contre d'autres antigènes Rh (Anticorps anti-Rh(C)), qui peuvent être détectés par des tests sérologiques sensibles après l'administration du produit.

7.2.Effets indésirables.

L'administration intramusculaire d'Ig anti-RhD peut provoquer l'apparition d'une douleur et d'une sensibilité localisées au point d'injection. Une hyperthermie, un malaise, des céphalées, des réactions cutanées et des frissons peuvent occasionnellement se produire. De rares cas de nausées, de vomissements, d'hypotension artérielle, de tachycardie et de réactions de type allergique ou anaphylactique incluant dyspnée et choc ont été rapportés, même en l'absence d'hypersensibilité du patient lors d'une administration précédente. Aucun effet sur l'aptitude à conduire des véhicules et utiliser des machines n'a été constaté.

Concernant la grossesse et l'allaitement, aucun événement indésirable imputable au médicament n'a été rapporté chez les enfants lors d'une étude incluant 432 patientes RhD négatives ayant reçu une injection de Rhophylac[®] avant l'accouchement.

7.3.Contre-indications.

La seule contre-indication du Rhophylac[®] est l'hypersensibilité à l'un de ces composants à savoir : IgG, IgA, albumine humaine, glycine, chlorure de sodium et eau pour préparations injectables. La voie intramusculaire est contre-indiquée chez les sujets présentant une thrombocytopénie sévère ou d'autres troubles de l'hémostase. La voie intraveineuse sera alors préférée.

8. LA DELIVRANCE DU RHOPHYLAC®.

8.1.Délivrance à l'hôpital :

Sa délivrance obéit à certaines règles :

Elle ne se fera que sur présentation d'un dossier comprenant :

- Une demande signée du médecin traitant Un certificat attestant l'accouchement
- La carte du groupage de la mère et du nouveau-né
- Le résultat du test de COOMBS direct chez le nouveaux-né (*)
- Le résultat récent d'une Recherche d'Agglutines Irrégulières chez la mère.

Ce dossier doit être présenté au service distributeur (Pharmacie hospitalière) par un personnel médical ou paramédical habilité. (*) Si le test de COOMBS ne peut être réalisé, se référer à la CAT 2 [86]

5^{EME} PARTIE : ANALYSE CRITIQUE ET RECOMMANDATIONS

1. ANALYSE CRITIQUE.

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 28^{ème} SA). Les conséquences de ces AIFM peuvent être très délétères pour l'enfant à naître, mais conditionnent également le « futur transfusionnel » des mères..

On remarque de ce fait que les recommandations du CNGOF 2005 ne sont pas scrupuleusement suivies, avec des points critiques.

1/ l'injection systématique à la 28^{ème} SA :

Cette injection est remise en cause par certains Gynécologues obstétriciens, 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...). Ces points de désaccord entre certains Gynécologues obstétriciens et les recommandations CNGOF, 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, crée un problème d'ordre éthique pour de nombreux Gynécologues obstétriciens.

2/ une variabilité dans l'utilisation des examens de biologie médicale à la disposition

Des Gynécologues obstétriciens :

Les examens clefs de la prévention, que sont la RAI et le Test de Kleihauer, 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".

Le problème majeur posé par l'absence de 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 ?

3/ le personnel de santé (gynécologue obstétricien, médecin généraliste, sage femme) a des connaissances insuffisantes sur la prévention et la prise en charge des AIFM.

4/ un manque de connaissances des patientes sur les situations à risque d'allo-immunisation fœto-

maternelle et ses conséquences (ce manque est dû à différents éléments dont notamment une information orale non accompagnée d'un support écrit, mais également un désintérêt des femmes pour ce sujet du fait qu'elles ne connaissent pas l'importance des risques.

2. RECOMMANDATIONS.

1/ la création d'un référent clinicien 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.

2/ 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 et le centre de transfusion sanguine le plus proche. En effet, s'il doit y avoir des transfusions (éventuellement in-utéro), elles doivent être réalisées par des équipes formées, 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 du titrage et dosage pondéraux d'un allo-Ac ne peuvent être fiables que si pratiqués et interprétés, toujours par les mêmes équipes, spécialisées.

3/ Exiger aux médecins traitants des fiches de demandes de RAI dûment remplies.

4/ informatiser des dossiers médicaux pour faciliter leur conservation et leur exploitation.

5/ il est recommandé d'informer de manière claire et adaptée toute femme enceinte rhésus D négatif à propos de l'allo-immunisation fœto-maternelle et sa prévention et de s'assurer de leur bonne compréhension (l'information orale doit être accompagnée d'un support écrit).

6/ il est indispensable que les patientes aient connaissance des différentes situations à risque d'allo-immunisation afin qu'elles puissent consulter quand elles y sont confrontées.

7/ L'importance de faire une Formation Médicale Continue périodique afin d'approfondir les connaissances ou les actualiser.

8/ nouvelles missions devront être proposées aux pharmaciens d'officine, ceux-ci pourraient prendre une part active au dépistage des cas à risque de maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né. Ainsi, devant l'annonce d'une grossesse chez une femme de groupe sanguin Rh négatif, le pharmacien pourrait recommander à la future maman de se renseigner sur le groupe sanguin du géniteur. Dans le cas où celui-ci serait RhD positif, l'officiel pourrait lui conseiller d'en informer son médecin traitant ou son gynécologue-obstétricien et lui rappeler les risques encourus pour le fœtus.

9/ l'unité de protection maternelle et infantile dans les établissements public de santé de proximité doit jouer son rôle dans le dépistage des cas à risque de maladie hémolytique.

10/ le renforcement de la coordination entre le secteur privé et public pour une meilleure prise en charge des AIFM.

CONCLUSION

Le passage d'hématies fœtales porteuses de l'antigène RhD dans la circulation maternelle d'une femme RhD négative provoque la synthèse d'anticorps maternels de type IgG dirigés contre cet antigène RhD. Cette allo-immunisation fœtomaternelle se traduit cliniquement chez le fœtus par une anémie et une splénomégalie responsables d'anasarque fœtale. Chez le nouveau-né, l'anémie associée à une hyperbilirubinémie va provoquer la survenue d'ictère néonatal voire d'ictère nucléaire avec atteintes neurologiques si la bilirubine excédentaire traverse la barrière hémato-encéphalique. Ce tableau clinique est celui de la maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né.

Les avancées technologiques relatives à l'allo-immunisation fœtomaternelle ont permis de faire chuter le taux de mortalité lié à la maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né de 50% en 1945 au-dessous du seuil de 1% soixante ans plus tard. Parmi ces avancées, le Rhophylac[®] disponible en France depuis 2004 apparaît comme le moyen le plus sûr, le plus efficace et le moins onéreux pour éradiquer les décès néonataux causés par l'allo-immunisation fœtomaternelle.

Ces immunoglobulines IgG anti-RhD administrées de façon systématique aux futures mamans RhD négatives dès la 28^{ème} semaine d'aménorrhée vont épurer la circulation maternelle des hématies fœtales RhD positives et empêcher la mise en place de la réaction immune secondaire et de ses conséquences létales pour l'enfant à naître. L'efficacité du Rhophylac[®] pourrait lui permettre, en outre, d'obtenir d'autres indications dans la prise en charge de la forme hémorragique de la dengue et dans le traitement du purpura thrombopénique idiopathique comme cela existe déjà pour le WinRho[®], équivalent canadien du Rhophylac[®].

GLOSSAIRE

Allo-immunisation fœtomaternelle

Ensemble de manifestations pathologiques ayant pour cause l'immunisation de la mère à un antigène présent dans les éléments figurés du fœtus. L'allo-immunisation vis-à-vis de l'antigène D (facteur Rhésus) a constitué jusqu'à l'instauration de la prévention systématique, le fait majeur dans ce domaine.

Amniocentèse

Prélèvement de liquide amniotique dans l'abdomen maternel afin d'analyser les cellules fœtales desquamées présente dans le liquide amniotique et le liquide lui-même qui peuvent révéler d'éventuelles anomalies fœtales (trisomies, spina bifida, mucoviscidose, incompatibilité sanguine fœtomaternelle, ...).

Anasarque

Œdème généralisé du tissu cellulaire sous-cutané avec épanchement dans les cavités séreuses (plèvre, péricarde, péritoine) encore appelé *hydrops fetalis*.

Angiogenèse

Mécanisme de croissance de nouveaux vaisseaux sanguins (néovascularisation) à partir de vaisseaux préexistants. C'est un processus physiologique normal que l'on retrouve notamment lors du développement embryonnaire mais c'est aussi un processus pathologique primordial dans la croissance des tumeurs malignes et le développement des métastases.

Apoptose

Mort programmée de la cellule gouvernée par divers facteurs ; les uns agissant de façon positive, les autres exerçant un effet inhibiteur. La combinaison de ces activités allant dans le sens d'une mise en route du processus de disparition de la cellule (par exemple, l'élimination de cellules devenues cancéreuses ou envahies de parasites endocellulaires) ou, au contraire, celui de sa protection (par exemple, la prolifération de cellules cancéreuses ou atteintes de virus).

Bilirubine

Pigment jaune-brun provenant de la dégradation de l'hémoglobine (et de quelques autres pigments respiratoires) et constituant le principal colorant de la bile.

Blastomère

Cellule résultant de la division de l'œuf fécondé. Les recherches génétiques ont révélé que la prélèvement d'un blastomère, porteur du patrimoine génétique de l'individu, ne compromet pas le développement de l'œuf.

Choriocarcinome

Tumeur maligne rare qui se développe dans l'utérus à partir du placenta, après une grossesse, ou, chez l'homme, dans le testicule. (synonyme : chorioépithéliome)

Chromatographie

Méthode générale d'analyse qui permet de séparer, identifier et doser plusieurs produits, parfois de structure très voisine. Le principe de la méthode consiste à tirer parti des différences des constantes d'équilibre entre deux phases solide, liquide ou gazeuse, de chacun des composés à doser, lors de leur partage entre une phase mobile et une phase stationnaire.

Clairance

Volume virtuel d'un liquide biologique (plasma le plus souvent) débarrassé d'une molécule déterminée par unité de temps au niveau d'un organe ou d'un tissu.

Cotylédons placentaires

Unités fonctionnelles du placenta situés sur la face utérine de celui-ci. Ils ne sont pas physiologiquement en contact avec la poche des eaux. Ils sont généralement bien individualisés et forment sur la face externe une galette bien identifiable. Ces cotylédons sont fragiles et souvent lésés au moment de la délivrance du placenta.

On trouve parfois des cotylédons aberrants, qui peuvent occasionner à l'accouchement des saignements importants en raison de leur position et de leur forme atypique.

Cytotrophoblaste

Ensemble de cellules bien individualisées issues de la différenciation du trophoblaste et séparant le syncytiotrophoblaste du bouton embryonnaire.

Endomètre

Muqueuse tapissant la face interne de l'utérus. L'endomètre subit des modifications tout au long de la vie de la femme. Au cours du cycle menstruel, sous l'influence de la sécrétion hormonale, il s'épaissit pour préparer une éventuelle nidation de l'œuf et assurer sa nutrition.

En l'absence de fécondation, la couche superficielle se décolle et est éliminée, formant les règles. Après la ménopause, l'endomètre s'atrophie et le cycle menstruel est interrompu. L'endomètre peut être le siège d'une inflammation (endométrite), de polypes ou d'un cancer.

Endosome

Vésicule intracellulaire de grande taille résultant de la fusion de petites vésicules formées par endocytose.

Grossesse ectopique

Grossesse se développant en dehors de la cavité utérine. (synonyme : grossesse extra-utérine). Une grossesse ectopique survient dans environ 2% des cas. Dans 96% des cas, l'œuf s'implante dans la trompe de Fallope (grossesse tubaire). Les autres localisations, plus rares, sont tubo-ovariennes, ovariennes ou péritonéales (dans la cavité abdominale). Les facteurs de risque associés sont les IST (Infections Sexuellement Transmissibles), le stérilet, le tabagisme, l'âge maternel, la chirurgie de la stérilité et la procréation médicalement assistée.

Hydrops (ou hydropisie)

Epanchement de sérosité dans une cavité naturelle du corps ou entre les éléments du tissu conjonctif.

Microchimérisme fœtal

Persistance en faible quantité dans l'organisme maternel, de cellules (ou d'ADN) du fœtus. Celles-ci peuvent perdurer pendant de nombreuses années après la grossesse, surtout s'il concerne des cellules souches mésenchymateuses.

Môle hydatiforme

Tumeur, le plus souvent bénigne, formée par une dégénérescence des villosités choriales du placenta pendant la grossesse.

La môle hydatiforme est une maladie du trophoblaste, couche externe de l'œuf implanté dans la muqueuse utérine, à l'origine du chorion (membrane extérieure) puis du placenta. Elle se développe après la fécondation ; l'anomalie chromosomique qui la provoque est d'origine masculine. La grossesse, alors dite molaire, n'est jamais menée à son terme.

La dégénérescence du trophoblaste entraîne une sécrétion élevée d'hormone chorionique gonadotrophique (hCG), responsable de l'apparition de troubles de la grossesse

(vomissements, hémorragies). Le taux de cette hormone est mesuré par dosage sanguin. A l'examen, l'utérus paraît trop développé pour l'âge théorique de la grossesse.

Morula

Amas d'une trentaine de cellules (les blastomères) se formant 96 heures après la fécondation. Son nom lui vient de sa ressemblance avec la mûre qui apparaît comme un amas de cellules sphériques.

Parvovirus B19

Virus à ADN de la famille des *Parvoviridae* transmis par voie parentérale (transfusion sanguine, échange de seringues, tatouages, greffes d'organes) et responsable d'anémies érythroblastopéniques, du mégalérythème épidémique et de diverses manifestations (syndrome respiratoire bénin, etc.).

Photothérapie

Méthode de traitement utilisant l'action de la lumière sur la peau (synonyme : actinothérapie). La source de lumière utilisée peut être la lumière solaire (héliothérapie) ou la lumière artificielle.

Plasmaphérèse

Technique transfusionnelle permettant de prélever du plasma chez un donneur de sang par l'intermédiaire d'une machine qui en sépare le plasma, le reste étant réinjecté au donneur.

Plasmocyte

Cellule médullaire d'origine lymphocytaire productrice d'immunoglobulines.

Prion

Agent infectieux responsable de maladies par dégénérescence du système nerveux appelées encéphalopathies spongiformes ou démences transmissibles (maladie de Creutzfeldt-Jakob, kuru).

Un prion est une forme aberrante d'une protéine normale, que l'on retrouve dans les substances pathologiques infiltrant les tissus nerveux.

Rhésus

Singe (*macacus rhesus*) dont les hématies contiennent un facteur d'agglutination (agglutinogène) ; celui-ci se retrouve chez l'Homme, dans la proportion de 85% des Européens (dits Rhésus +). En cas de mélange de sangs humains à rhésus de signes différents

(+ ou -), des accidents peuvent survenir (ictères graves, voire mort), en particulier lors de transfusions sanguines ou en cas d'incompatibilité rhésus fœtomaternelle, d'où l'intérêt de la connaissance de ce facteur, dont la recherche est réalisée systématiquement lors de la détermination des groupes sanguins.

Spectrométrie de masse

Procédé analytique fondé sur l'ionisation des molécules organiques et la dissipation de l'énergie accumulée au cours de cette ionisation par fragmentation de la molécule. La séparation de ces fragments ionisés est effectuée à l'aide d'un analyseur, encore appelé filtre :de masse. Les enregistrements cumulés de chaque fragment permettent d'obtenir un spectre de masse qui, dans des conditions opératoires bien définies est, pour une même molécule, toujours identique. La spectrométrie de masse est utilisée aussi bien à des fins qualitatives pour identifier un composé, établir sa masse moléculaire, sa formule brute ou sa structure moléculaire, qu'à des fins quantitatives.

Syncytiotrophoblaste

Résultat de la différenciation du trophoblaste, le syncytiotrophoblaste est la « cellule » endocrine du placenta capable de sécréter un grand nombre d'hormones stéroïdes et polypeptidiques, de facteurs de croissance, de cytokines et de neuropeptides impliqués dans la croissance fœto-placentaire.

Thiomersal

Sel de sodium d'un dérivé organomercuriel de l'acide thiosalicylique encore appelé mercurothiolate sodique à propriété antiseptique et conservatrice, notamment utilisé dans la fabrication de vaccins.

Trophoblaste

Couche continue formée par les cellules périphériques de l'œuf ou zygote dont la différenciation va engendrer la formation du syncytiotrophoblaste et celle du cytotrophoblaste.

Version céphalique externe

Manipulation de l'abdomen de la mère pour tourner le fœtus en présentation de siège ou en position transverse en présentation céphalique et augmenter les chances de réaliser un accouchement par voie vaginale. Son taux de réussite varie de 25 à 80 % et sa pratique permettrait de réduire le taux de césariennes en cas de présentation par le siège de 87,5 à 37%.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] **Bach J.F. & Chatenoud L.**, *Immunologie : De la Biologie à la Clinique*, 2002, 4^{ème} édition, Flammarion.
- [2] **Mannessier L., Alie-Daram S., Roubinet F., Valat A.S., Depoortere M.H., Fournie A. & Puech F.**, La prévention de la maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né : il faut agir, *Journal de Gynécologie Obstétrique et de Biologie de la Reproduction*, 2000, 29 : 441-444.
- [3] **Carbonne B., Castaigne V., Cynober V., Levy R., Cortey A., Mailloux A., Larsen M. & Brossard Y.**, Le point sur le suivi des allo-immunisations érythrocytaires, *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 2010, 38 : 205-213.
- [4] **Gillain N., Minon J-M., Schaaps J-P. & Retz C.**, Concentration de la bilirubine dans le liquide amniotique et indice de Liley au cours du deuxième trimestre de la grossesse, *Immuno-analyse et biologie spécialisée*, 2008, 23 : 35-44.
- [5] **Hohlfeld P. & Marty F.**, *Le livre de l'interne : Obstétrique*, 2004, 3^{ème} édition, Flammarion Médecine-Sciences.
- [6] **Lefrère JJ. & Rouger P.**, *Transfusion sanguine : une approche sécuritaire*, 2000, Editions John Libbey Eurotext, Paris.
- [7] **Le Van Kim C. & Colin Y.**, Les antigènes de groupe sanguin Rh : du diagnostic anténatal de la maladie hémolytique du nouveau-né à la fonction de transport d'ammonium, *Hématologie*, Septembre-Octobre 2004 ; 10(5) : 372-383.
- [8] **Nicolas V, Le Van Kim C, Gane P, Birkenmeier C, Cartron JP, Colin Y, Mouro-Chanteloup I.**, Rh-RhAG/ankyrin-R, a new interaction site between the membrane bilayer and the red cell skeleton, is impaired by Rh(null)-associated mutation, *The Journal of Biological Chemistry*, 2003 ; 278 : 25526-33.
- [9] <http://www.medicopedia.net/term/11421.1.xhtml>, dictionnaire médical en ligne consulté le 14 avril 2008.
- [10] http://www.denniskunkel.com/product_info.php?products_id=982, site renfermant plus de 4200 images scientifiques et photographies prises par microscope électronique, consulté le 13 septembre 2010.
- [11] **Wajcman H., Lantz B. & Girot R.**, *Les maladies du globule rouge*, 1992, Editions INSERM, Médecine-Sciences Flammarion.
- [12] **Chapman G.E., Ballinger J.R., Norton M.J., Parry-Jones D.R., Beharry N.A.,**

Cousins C., Dash C.H. & Peters A.M., The clearance kinetics of autologous RhD-positive erythrocytes coated *ex vivo* with novel recombinant and monoclonal anti-D antibodies, *Clinical and Experimental Immunology*, 2007, 150 : 30-41.

[13] **Lowry M.B., Duchemin A-M., Robinson J.M. & Anderson C.L.**, Functional separation of pseudopod extension and particle internalization during Fc γ Receptor-mediated phagocytosis, *The Journal of Experimental Medicine*, 1998, January, 19; 187(2): 161-176.

[14] <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/CNbioch/POLY.Chp.10.4.html>

[15] **Trevett T.N., Dorman K., Lamvu G. & Moise K.J.**, Antenatal maternal administration of phenobarbital for the prevention of exchange transfusion in neonates with hemolytic disease of the fetus and the newborn, *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2005, 192 : 478-82.

[16] **Parant O.**, *Microchimérisme fœtal : état des connaissances et perspectives*, XXèmes Journées Pyrénéennes de Gynécologie, Tarbes 6 & 7 octobre 2006.

[17] **Johnson K.L. & Bianchi D.W.**, Fetal cells in maternal tissue following pregnancy : what are the consequences?, *Human Reproduction Update*, 2004; 10(6):497-502.

[18] **Longo L.D.**, Classic pages in obstetrics and gynecology, *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, December 1995 : 1893-94.

[19] **Bowman J.**, Thirty-five years of Rh prophylaxis, *Transfusion*, 2003, 43 : 1661-1666.

[20] **Wegmann A. & Glück R.**, The history of rhesus prophylaxis with anti-D, *European Journal of Pediatrics*, 1996, 155 : 835-838.

[21] **Branger B. & Winer N.**, Epidémiologie de l'allo-immunisation anti-D pendant la grossesse, *Journal de Gynécologie Obstétrique & de Biologie de la reproduction*, 2006; 35 (suppl.au n°1) : 1S87-1S92.

[22] **Minon J-M., Gérard C., Dricot J-F., Neve C., Senterre J-M., Schaaps J-P. & Foidart J-M.**, Nouvelles stratégies dans la prise en charge de l'allo-immunisation fœto-maternelle anti-RhD (Rhésus), *La Revue Médicale de Liège*, 2006 ; 61(11) :756-762.

[23] **Eder A.F.**, Update of HDFN: new information on long-standing controversies, *Immunohematology*, 2006; 22(4) : 188-195.

[24] **Roitt I. & Rabson A.**, *Immunologie médicale : l'essentiel*, 2002, Editions Maloine.

[25] <http://www.embryology.ch> , cours d'embryologie en ligne développé par les Universités de Fribourg, Berne et Lausanne (Suisse) sous l'égide du Campus Virtuel Suisse, consulté en mars 2008.

[26] **De Tourris H., Magnin G. & Pierre F.**, Gynécologie et Obstétrique, manuel illustré., 7^{ème} édition, juin 2000, Editions Masson.

- [27] **Hanson L.A. & Silfverdal S.A.**, The mother's immune system is a balanced threat to the foetus, turning to protection of the neonate, *Acta Paediatrica*, 2009; 98: 221-228.
- [28] **Englund J.A.**, The Influence of Maternal Immunization on Infant Immune Responses, *Journal of Comparative Pathology*, 2007 ; 137 :S16-S19.
- [29] **d'Ercole C.**, *L'allo-immunisation foetomaternelle anti-D*, collection Immunologie, Editions LFB, décembre 2006.
- [30] **Urbaniak S.J.**, Alloimmunity to RhD in humans, *Transfusion clinique et biologique*, 2006 ; 13 : 19-22.
- [31] [http : //www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/gpes-sanguins/02anticorps.htm](http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/gpes-sanguins/02anticorps.htm), site pédagogique consacré à la biologie et réalisé dans le cadre « BioMédia » par un laboratoire de l'Université Pierre et Marie Curie (Paris VI), consulté en octobre 2009.
- [32] **Roopenian D.C. & Akilesh S.**, FcRn : the neonatal Fc receptor comes of age, *Nature Reviews Immunology.*, 2007 ; 7(9) : 715-25.
- [33] **Kane S.V. & Acquah L.A.**, Placental transport of Immunoglobulins : A Clinical Review for Gastroenterologists Who Prescribe Therapeutic Monoclonal Antibodies to Women During Conception and Pregnancy, *The American Journal of Gastroenterology*, Jan 2009 ; 104 : 228-233.
- [34] **Hadley A.G.**, Laboratory assays for predicting the severity of haemolytic disease of the fetus and the newborn, *Transplant Immunology.*, 10 (2002):191-198.
- [35] **Malek A., Sager R., Kuhn P., Nicolaides K.H. & Schneider H.**, Evolution of maternofetal transport of immunoglobulins during human pregnancy, *The American Journal of Reproductive Immunology*, 1996 ; 36(5) : 248-55.
- [36] **Raghavan M., Wang Y. & Bjorkman P.J.**, Effects of receptor dimerization on the interaction between the class I major histocompatibility complex-related Fc receptor and IgG, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995 Nov, 21 : 92(24) : 11200-4.
- [37] **Simister N.E.**, Placental transport of immunoglobulins G, *Vaccine*, 2003 ; 21 : 3365-69.
- [38] **Cortey A. & Brossard Y.**, Prévention de l'allo-immunisation Rhésus-D foeto-maternelle : Aspects pratiques, *Journal de Gynécologie Obstétrique et de Biologie de la Reproduction*, 2006 ; 35 (suppl. au n°1) : 1S123-1S130.
- [39] **Mannessier L.**, La surveillance immunohématologique de la femme enceinte et la nouvelle politique de prévention de l'allo-immunisation anti-RH1, *Transfusion Clinique et Biologique*, 14 (2007) : 112-119.
- [40] **Flegel W.A., Wagner F.F, Muller T.H. & Gassner C.**, Rh phenotype prediction by

DNA typing and its application to practice, *Transfusion Medicine*, 1998, 8 ; 281-302.

- [41] **Minon J-M., Schaaps J-P., Retz M-C., Dricot J-F., Foidart J-M. & Senterre J-M.**, Utilisation en routine clinique du génotypage fœtal RHD sur plasma maternel : bilan de deux ans d'activité, *Journal de Gynécologie Obstétrique et de Biologie de la Reproduction*, 2005 ; 34: 448-453.
- [42] **Dricot J-F., Minon J-M., Schaaps J-P., Dewez P. & Foidart J-M.**, Le génotypage RHD dans le suivi prénatal des patientes Rh D négatif, *La Revue Médicale de Liège*, 2006 ; 61(12) : 820-826.
- [43] **Van der Schoot C.E., Hahn S. & Chitty L.S.**, Non-invasive prenatal diagnosis and determination of fetal Rh status, *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, 2008, 13 ; 63-68.
- [44] <http://www.besancon-cardio.org/cours/05-echodopp.php>, cours de cardiologie en ligne proposé par le CHU de Besançon à l'usage des étudiants en médecine, consulté le 14 janvier 2011.
- [45] **Samson J., Block D. & Mari G.**, Middle Cerebral Artery Doppler for Managing Fetal Anemia, *Clinical Obstetrics & Gynecology*, 2010, December, 53(4):851-857.
- [46] **Mari G.**, Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization, *The New England Journal of Medicine*, 2000, January, 342(1): 9-14.
- [47] <http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/gpes-sanguins/03merefoetus.htm>, site pédagogique consacré à la biologie et réalisé dans le cadre « BioMédia » par un laboratoire de l'Université Pierre et Marie Curie (Paris VI), consulté le 5 juillet 2011.
- [48] http://www.paeds.co.uk/wiki/index.php?title=Kleihauer_Test, site internet rassemblant les connaissances pédiatriques (The Revolutionary Online Paediatric Encyclopaedia) à l'usage des étudiants en médecine du Royaume-Uni, consulté le 17 novembre 2010.
- [49] **Rongieres C., Nisand I. & Favre R.**, *Gynécologie Obstétrique.*, Collection Inter Med., 2002, Editions Doin.
- [50] **Kumpel B.M.**, On the immunologic basis of Rh immune globulin (anti-D) prophylaxis, *Transfusion*, 2006 ; 46 : 1652-1656.
- [51] **Brinc D & Lazarus A.H.**, Mechanisms of anti-D action in the prevention of hemolytic disease of the fetus and newborn, *Hematology*, 2009 : 185-191.
- [52] **Branch D.R., Shabani F., Lund N. & Denomme G.A.**, Antenatal administration of Rh-immune globulin causes significant increases in the immunomodulatory cytokines transforming growth factor- β and prostaglandin E2, *Transfusion*, 2006 ; 46 : 1316-1322.
- [53] **Abdelmalek M.F., Hellner L.B., Zumberg M., Melgen V.W. & Lottenberg R.**, Acute

Liver Failure Occurring Immediately Following Anti-D Immune Globulin Infusion in a Patient with Chronic Hepatitis B Infection, *Digestive Diseases and Sciences*, 2007 ; 52(9) : 914-919.

[54] **Marpeau L.**, Prévention de l'allo-immunisation Rhésus-D fœto-maternelle : Introduction, *Journal de Gynécologie Obstétrique et de Biologie de la Reproduction.*, 2006 ; 35 (suppl. au n°1) :1S84.

[55] LFB, Monographie Rhophylac[®], Juillet 2006, SeeYouOnTheMoon

[56] **Kumpel B.M.**, Monoclonal anti-D development programme, *Transplant Immunology*, 2002 (10): 199-204.

[57] **Kumpel B.M.**, Lessons learnt from many years of experience using anti-D in humans for prevention of RhD immunization and haemolytic disease of the fetus and newborn, *Clinical & Experimental Immunology*, 2008, 154 : 1-5.

[58] **Nielsen L.K., Green T.H., Sandlie I., Michaelsen T.E. & Dziegiel M.H.**, In vitro assessment of recombinant, mutant immunoglobulin G anti-D devoid of hemolytic activity for treatment of ongoing hemolytic disease of the fetus and newborn, *Transfusion*, 2008; 48: 12-19.

[59] **Daffos F.**, Transfusion in utero, *Journal de pédiatrie et de puériculture*, 2004; 17:191-197.

[60] **Messer J., Escande B., Astruc D., Matis J. & Brossard Y.**, L'anémie néonatale de l'incompatibilité Rhésus : y a-t-il une place pour l'érythropoïétine ?, *Archives pédiatriques*, 2000 ; 7 : 1264-1267.

[61] **Agence française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé**, Transfusions de globules rouges homologues : produits, indications, alternatives, août 2002 :17-20.

[62] **Erlandsen M.A. & Hansen T.W.R.**, Treatment of neonatal jaundice – more than phototherapy and exchange transfusions, *Eastern Journal of Medicine*, 2010 ; 15: 175-185.

[63] **Maisels J. & McDonagh A.F.**, Phototherapy for Neonatal Jaundice, *The New England Journal of Medicine*, 2008 ; 358(9) :920-928.

[64] <http://omlc.ogi.edu/spectra/PhotochemCAD/html/bilirubin.html>, site de l'Oregon Medical Laser Center de l'hôpital St Vincent de Providence de Portland conçu avec la collaboration de l'Université des Sciences et de la Santé de l'Oregon (Oregon Health and Sciences University) proposant de nombreux spectres d'absorption, consulté le 14 août 2010.

[65] http://en.wikipedia.org/wiki/File:Bili_light_with_newborn.jpg, Bili light with newborn, photographie prise le 10 avril 2005 par Jeremy Kemp, consultée le 08 février 2009.

[66] **Silva L., da Silva F.S., Turiani M., Juliani C.M.C.M. & Spiri W.C.**, Development of

- an eye protector for phototherapy on newborns: A technology, *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, Jan-Feb 2008; 16(1):47-51.
- [67] **Robert V. & Boubli L.**, Incompatibilités érythrocytaires foetomaternelles, *Hématologie clinique et biologique*, Gérard Sébahoun, 1998, Editions Arnette.
- [68] **Smits-Wintjens V.E.H.J., Walther F.J. & Lopriore E.**, Rhesus haemolytic disease of the newborn: postnatal management, associated morbidity and long-term outcome, *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, 2008; doi:10.1016/j.siny.2008.02.05.
- [69] **Lakatos L.**, Bloodless treatments of infants with haemolytic disease, *Archive of Disease in Childhood*, 2004 ; 89 : 1076-1079.
- [70] **Kayemba-Kay's S., Yahouanc-Lappale H. & Oriot D.**, Anémie néonatale par incompatibilité rhésus traitée par érythropoïétine, *Lettres à la rédaction/Archives de pédiatrie*, 2004 ; 11 : 868-869.
- [71] **Palfi M., Hildén J-O., Matthiesen L., Selbing A. & Berlin G.**, A case of severe Rh (D) alloimmunization treated by intensive plasma exchange and high-dose intravenous immunoglobulin, *Transfusion and Apheresis Science*, 2006 ; 35:131-136.
- [72] <http://www.rhophylac.com/About/history.asp> consulté le 13 juin 2009.
- [73] <http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/ct031678.pdf> consulté le 13 juin 2009.
- [74] <http://www.dondusang.net/rewrite/article/4241/l-efs/actualites-nationales/don-de-sang:il-y-a-un-site-de-collecte-pres-de-chez-vous.htm?idRubrique=899>, site de l'EFS consulté le 09 septembre 2011.
- [75] <http://www.dondusang.net/rewrite/article/2438/les-dons-de-sang/le-don-de-plasma/le-don-de-plasma.htm?idRubrique=982>, site de l'EFS consulté le 09 septembre 2011.
- [76] <http://afssaps-prd.afssaps.fr/php/ecodex/rcp/R0171389.htm>, site de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé présentant le Résumé des Caractéristiques du Produit, mis à jour du 20/04/2010, consulté le 17 décembre 2010.
- [77] <http://www.soinsdenosenfants.cps.ca/enfantmalade/CinquiemeMaladie.htm>, consulté le 07 octobre 2009.
- [78] **Hirose T.G. & Mays D.A.**, The safety of RhIG in the prevention of haemolytic disease of the newborn, *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, August 2007 ; 27(6) :545-557.
- [79] <http://www.cslbehring.fr/a-propos-de-csl-behring/plasma-une-matiere-premiere-precieuse.htm>, consulté le 22 juillet 2011.
- [80] ZLB Behring, Rhophylac, immunoglobuline anti-D de la dernière génération, 05.06.
- [81] <http://afssaps-prd.afssaps.fr/php/ecodex/rcp/R0171389.htm>, RCP du Rhophylac 300µg

consulté le 27/07/2011.

[82] **Lefrère J.-J. & Rouger P.**, Accidents de la transfusion, *Pratique nouvelle de la transfusion sanguine*, 2006, Editions Elsevier Masson, 75-77.

[83] **Rezaei Kalantari H.**, Surveillance et effets secondaires des transfusions, *Revue Médicale de Liège*, 2002 ; 57(6) : 385-388.

[84] **Sieunarine K., Shapiro S. Al Obaidi M.J. & Girling J.**, Intravenous anti-D immunoglobulin in the treatment of resistant immune thrombocytopenic purpura in pregnancy, *British Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 2007 ; 114 : 505-507.

[85] **De Castro R.A., De Castro J.A., Barez M.Y., Frias M.V., Dixit J. & Genereux M.**, Thrombocytopenia associated with dengue hemorrhagic fever responds to intravenous administration of anti-D (RH₀-D) immune globulin, *American Journal of Tropical Medicine & Hygiene*, 2007; 76(4) : 737-742.

[86] Instruction N°02 Du 15 Juillet 1996.