

SOMMAIRE

INTRODUCTION :	6
I. ORGANISATION DU CENTRE DE TRANSFUSION SANGUINE DE FES (CRTS).....	8
II. NOTIONS D'IMMUNO-HEMATOLOGIE :	9
1. LES GROUPES SANGUINS :	9
1.1. SYSTEME ABO :	9
1.2. SYSTEME RH :	13
1.3. SYSTEME KELL.....	14
2. REGLES DE COMPATIBILITE TRANSFUSIONNELLE :	15
2.1. COMPATIBILITE ABO DES TRANSFUSIONS AUX GLOBULES ROUGES :.....	16
2.2. COMPATIBILITE ABO DES TRANSFUSIONS DE PLASMA :	17
3. RECHERCHE DES ANTICORPS IRREGULIERS (RAI) :	18
III. L'INCOMPATIBILITE FŒTO-MATERNELLE :	19
1. PHYSIOPATHOLOGIE DE L'INCOMPATIBILITE FŒTO-MATERNELLE :	19
1.1. L'ALLO-IMMUNISATION PAR L'ANTIGENE RHESUS (D).....	20
1.2. L'ALLO-IMMUNISATION A DES ANTIGENES AUTRES DE D :	25
2. LES CIRCONSTANCES DE SURVENUE DES ALLO-IMMUNISATIONS :	25
2.1. AU COURS DES GROSSESSES NORMALES :	26
2.2. LES AVORTEMENTS :	26
3 CONSEQUENCES PHYSIOPATHOLOGIQUES CHEZ LE FŒTUS ET LE NOUVEAU-NE.....	27
IV. ETUDE CLINIQUE :	28
1. DEPISTAGE D'UNE INCOMPATIBILITE FŒTO-MATERNELLE :	28
1.1. DETERMINATION DU GROUPE SANGUIN ET RECHERCHE D'AGGLUTININES IRREGULIERES (RAI) :	28
1.2. DETERMINATION DU GROUPE SANGUIN DU PERE :	29
1.3. SURVEILLANCE CLINIQUE DE LA GROSSESSE CHEZ UNE FEMME AYANT DES ANTICORPS IRREGULIERS :	29
2. PREVENTION DE L'ALLO-IMMUNISATION MATERNELLE ANTI-RH :	30
V. MATERIEL ET METHODES :	31
1. MATERIEL	31
1.1 Appareils.....	31
1.2 Les réactifs.....	32
2 METHODES	34
2.1 Traitement des échantillons	34
2.2 Préparation des hématies tests :.....	34

2.3	<i>Préparation des hématies du panel O1, O2 et O3 :</i>	34
2.4	<i>Dilution des sérums tests :</i>	35
2.5	<i>Préparation de la suspension globulaire :</i>	35
2.6	<i>Détermination du groupe ABO-RH :</i>	35
2.7	<i>Recherche des anticorps irréguliers (RAI) :</i>	39
3	INTERPRETATION DES RESULTATS :	42
	CONCLUSION :	45
	BIBLIOGRAPHIE :	46

LISTE D'ABREVIATIONS :

-CRTS : centre régionale de transfusion sanguine

-CRTSF : centre régionale de transfusion sanguine Fès

-AG: antigène

-AC: anticorps

-IgM: immunoglobines M

-IgG : immunoglobines G

-Rh: rhésus

-RAI: recherche des anticorps irréguliers

-IFM: incompatibilité foëto-maternelle

-AIFM: allo-immunisation foëto-maternelle

-MHNN: maladie hémolytique du nouveau-né

-IHD : immuno-hémato donneur

INTRODUCTION :

L'incompatibilité fœto-maternelle est considérée comme un des conflits fœto-maternelles qui font partie de la maladie hémolytique périnatale du facteur Rhésus.

Elle demeure d'actualité en raison de plusieurs points :

- Immunisation au facteur D.
- Immunisation au facteur autre que D sont fréquentes est actuellement plus efficace surtout pour le fœtus mais impose des mesures préventives indispensables pour éviter des problèmes maternelles.
- La surveillance des grossesses à risque (c'est-à-dire à Rhésus négatif) nécessite des dosages biologiques plus précis et également un examen échographique pour dépister les malformations fœtales.

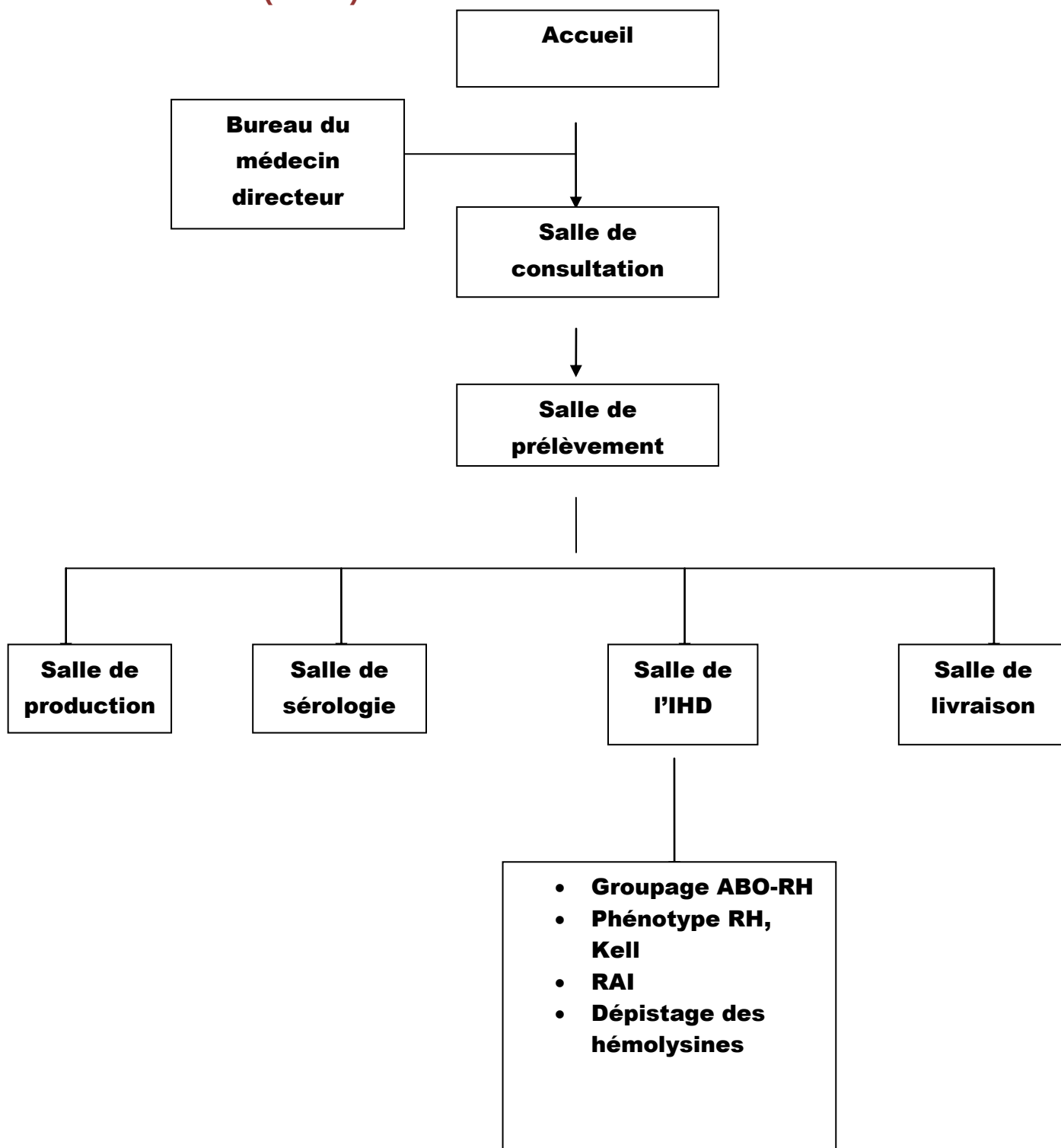
Grace à cette immunoprophylaxie, l'incidence de l'incompatibilité a chuté dans les pays développés, mais il pose toujours des problèmes dans les pays sous-développés par leur fréquence élevée et la difficulté de la prise en charge des formes graves dans les centres hospitaliers universitaires spécialisés.

Objectif du travail :

Notre objectif est d'étudier théoriquement les conséquences de l'incompatibilité foeto-maternelle, et pratiquement la surveillance des grossesses à risque par des tests et des dosages dans les formations sanitaires (étude faite au centre de transfusion sanguine).

Ce travail est destiné à toute femme enceinte afin de suivre sa grossesse par des consultations pré et post natale.

I. ORGANISATION DU CENTRE DE TRANSFUSION SANGUINE DE FES (CRTS)



II. NOTIONS D'IMMUNO-HEMATOLOGIE :

Le caractère immunogène du polymorphisme érythrocytaire est un obstacle à la transfusion et nécessite le respect des compatibilités immunologiques. La prévention du risque immunologique repose notamment sur le statut immuno-hématologique du patient au moment de la transfusion (groupe du patient, Recherche d'anticorps irréguliers (RAI)).

1. Les groupes sanguins :

Le sang est un tissu que l'on peut facilement prélever sur un individu sain pour le transfuser à un individu malade. Malgré une compensation cellulaire identique de ce tissu, il existe une variabilité ou polymorphisme des divers éléments du sang entre les individus, ce qui rend impossible la transfusion entre certains groupes de personnes, on dit des personnes qui présentent une même caractéristique qu'elles appartiennent au même groupe.

Les principaux groupes sanguins définissent les systèmes ABO, Rh et Kell, mais il en existe d'autres. Ces 3 systèmes sont les plus importants en pratique transfusionnelle. La détermination du groupe de ces 3 systèmes en ABO (A, B, AB ou O), en Rh (+ ou -) ou en Kell (+ ou -) se base comme pour tous les systèmes, sur les caractéristiques des antigènes présents à la surface des érythrocytes et pour le système ABO, sur les anticorps présents dans le sérum.

1.1. **Système ABO :**

Un groupe sanguin est une classification de sang reposant sur la présence ou l'absence de substance antigénique héritée à la surface des globules rouges (hématies). Ces antigènes peuvent être des protéines, des glucides, des glycoprotéines ou des glycolipides, selon le système de groupe sanguin, et certains de ces antigènes sont également présents à la surface d'autres types de cellules de différents tissus.

On dit des personnes qui présentent une même caractéristique qu'elles appartiennent au même groupe sanguin, jusqu'à une époque récente, ces caractéristiques ont été mises en évidence grâce à des

anticorps spécifiques d'un épitope, déterminant antigénique reconnu spécifiquement par un anticorps. Ces épitopes, déterminant divers phénotypes, sont génétiquement transmis.

Les groupes ABO se définissent à la fois par les antigènes présents sur l'hématie et par les anticorps toujours présents quand l'antigène correspondant est absent.

Globules rouges	Sérum	Groupe
Ni A, Ni B	Anti A et Anti B	O
A	Anti B	A
B	Anti A	B
AB	Ni Anti A ni Anti B	AB

Les antigènes ABO ont une distribution étendue dans l'organisme, sont exprimés par les cellules sanguines circulantes, mais aussi par les cellules endothéliales, des épithéliums, la salive ou le lait.

Les antigènes ABO sont de véritables antigènes d'histocompatibilité.

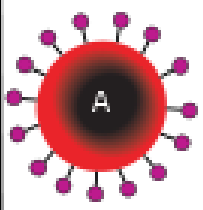
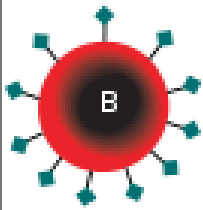
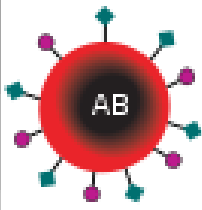
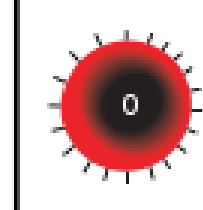
	Groupe A	Groupe B	Groupe AB	Groupe O
Globule Rouge				
Anticorps	 Anti-B	 Anti-A	Aucun	 Anti-A et Anti-B
Antigène	 Antigène A	 Antigène B	 Antigène A et B	Bas d'antigène

Figure 1 : Schéma illustrant les différents antigènes et anticorps du système ABO

a- Les Antigènes Du Système Abo :

➤ Définition d'antigène :

C'est une macromolécule naturelle ou synthétique, reconnue par des anticorps ou des cellules du système immunitaire et capable d'engendrer une réponse immunitaire.

Les antigènes sont généralement des protéines, des polysaccharides et leurs dérivés lipidiques. Des fragments d'antigènes appelés peuvent aussi induire une allergie.

➤ **Antigène du groupe sanguin :**

L'expression des antigènes A et B sur les hématies est contrôlée par deux locus distincts dont les gènes codent pour des enzymes appelées glycosyltransférases. Ces deux systèmes génétiques fonctionnent sur un mode diallélique codominant, ce qui veut dire que la présence de deux allèles fonctionnels différents conduit à l'expression phénotypique de deux antigènes différents.

b- Les anticorps ANTI-A et ANTI-B :

➤ **Définition d'anticorps :**

Est un complexe utilisé par le système immunitaire pour détecter et neutraliser les agents pathogènes de manière spécifique. Les anticorps sont sécrétés par des cellules dérivées des lymphocytes B : les plasmocytes.

➤ **Anticorps du groupe sanguin :**

Les anticorps constituent l'immunoglobuline principale du sang, aussi on utilise parfois le terme immunoglobuline à la place du mot anticorps.

Les anticorps anti-A et anti-B, dirigés contre les antigènes du système ABO, sont des anticorps naturels réguliers, c'est à dire qu'ils existent de façon constante chez tout individu adulte qui ne possède pas le(s) antigène(s) A et/ou B, en dehors de toute stimulation antigénique. En fait, les antigènes A et B se trouvent largement répandus dans l'environnement, en particulier chez les bactéries. Ces anticorps dits "naturels" correspondent en réalité à une immunisation acquise vis-à-vis d'antigènes étrangers ubiquitaires.

Ainsi, les individus de groupe A produisent des anti-B, les individus de groupe B produisent des anti-A et les individus de groupe O produisent à la fois des anti-A et des anti-B. Les personnes de groupe AB ne possèdent pas d'anticorps naturel dans le système ABO.

Il faut noter l'intérêt clinique de ces anticorps naturels anti-A et anti-B : en se fixant à la surface d'hématies étrangères non compatibles avec le système ABO, ils sont capables d'induire une réaction d'hémolyse massive souvent mortelle. Ces anticorps appartiennent aux classes IgM et IgG en proportion variable.

1.2. Système Rh :

Le système Rh comprend une cinquantaine d'antigènes de nature polypeptidique. Seuls 5 d'entre eux présentent un intérêt clinique en médecine transfusionnelle. Il s'agit des antigènes D (RH1), C (RH2), E (RH3), c (RH4) et e (RH5).

Deux gènes (RHD et RHCE), adjacents et de structure très voisine, localisés sur le chromosome 1, contrôlent l'expression de ces antigènes.

Le gène RHD détermine l'expression d'une protéine exprimant l'antigène D. On note sa présence chez 87% des individus au Maroc dits : Rhésus positifs (Rh +). Chez les autres, dits Rhésus négatifs (Rh-), il existe une délétion complète du locus RHD, à l'état homozygote qui conduit à l'absence de protéine RHD sur la membrane érythrocytaire et donc à l'absence d'antigène D. Le phénotype de ces individus s'écrit D- (RH :-1) (l'appellation " d " est incorrecte car il n'existe pas d'antigène d).

Il existe donc 3 combinaisons alléliques possibles, conduisant à 2 phénotypes : D+ ou D- :

Le gène RHCE induit l'expression des antigènes C, E, c et e.

Il existe 4 allèles possibles pour le gène DCE : DCE, DCE, DcE, et Dce.
[2]

Tableau 1 : Répartition des génotypes et phénotypes du système Rhésus

Génotype		Phénotype	Fréquence
D	D	D+	Rhésus positif ~ 85%
D	-	D +	
-	-	-	Rhésus négatif ~ 15%

1.3. SYSTEME KELL

Il s'agit du système le plus immunogène après le système Rhésus. Le système Kell possède 2 antigènes principaux : K (KEL1) et k (KEL2), portés par une glycoprotéine membranaire dont l'expression se trouve restreinte à la lignée érythrocytaire.

Tableau 2 : Répartition des génotypes et phénotypes du système Kell

Génotype		Phénotype	Fréquence
K (KEL2)	k (KEL2)	K- k + (KEL:-1; 2)	91%
K (KEL1)	k (KEL2)	K+k+ (KEL: 1; 2)	8, 8 %
K (KEL1)	K (KEL1)	K+k- (KEL: 1; -2)	0, 2%

Les anticorps anti-K (KEL1) sont fréquents et dangereux, occasionnent des accidents hémolytiques post transfusionnels, des anémies fœtales sévères (avec pancytopénie) et des maladies hémolytiques du nouveau-né.

Ceci justifie le respect du phénotype Kell, comme le phénotype Rhésus, en particulier chez les femmes avant la ménopause et chez les sujets polytransfusés. Cependant, compte tenu de la fréquence élevée de donneurs de sang de phénotype K- (91 %), il est aisé d'obtenir du sang compatible pour les sujets présentant un anticorps

Anti-K.

Les anticorps anti-K (KEL2) sont très rares (0,2 % seulement de la population n'exprimant pas l'antigène k), aussi dangereux que les anti-KEL1, peuvent conduire à des situations d'impasse transfusionnelle, la fréquence des donneurs compatibles étant très faible.

2. Règles de compatibilité transfusionnelle :

Lors d'une transfusion de globules rouges, il faut veiller à ne pas transfuser au receveur des cellules sanguines sur la surface desquelles se présentent des antigènes que le receveur n'a pas et qui sont capables de provoquer une allo-immunisation. Cette pratique est respectée systématiquement en transfusion pour les antigènes du groupe ABO et l'antigène rhésus D.

Dans certains cas, elle l'est aussi pour les antigènes les plus immunogènes (C, c, E, e, K), mais bien entendu impossible de réaliser pour l'ensemble des autres systèmes.

2.1. Compatibilité ABO des transfusions aux globules rouges :

Les hématies A, injectées à un receveur B ou O, seront détruites par l'anticorps anti-A contenu dans leur sang : ce sang injecté est incompatible.

Les hématies A peuvent être transfusées sans inconvénient à un receveur A ou AB: ce sang est compatible.

- Les transfusions iso groupes sont toutes compatibles.
- Le sang de groupe O peut être transfusé sans inconvénient à des receveurs A, B, AB.
- Les sujets AB peuvent recevoir aussi bien des hématies A, B, ou O puisqu'ils ne possèdent pas d'Anticorps naturels.

Ainsi, pour le système ABO, et ne considérons que le groupe rhésus standard (antigène D), les sujets AB+ sont considérés comme receveurs universels, et les O- comme donneurs universels de globules rouges ou de plaquettes à condition d'être Rh-. Cette règle est toujours considérée comme valable en cas d'urgence vitale, et en l'absence de l'iso-groupe.

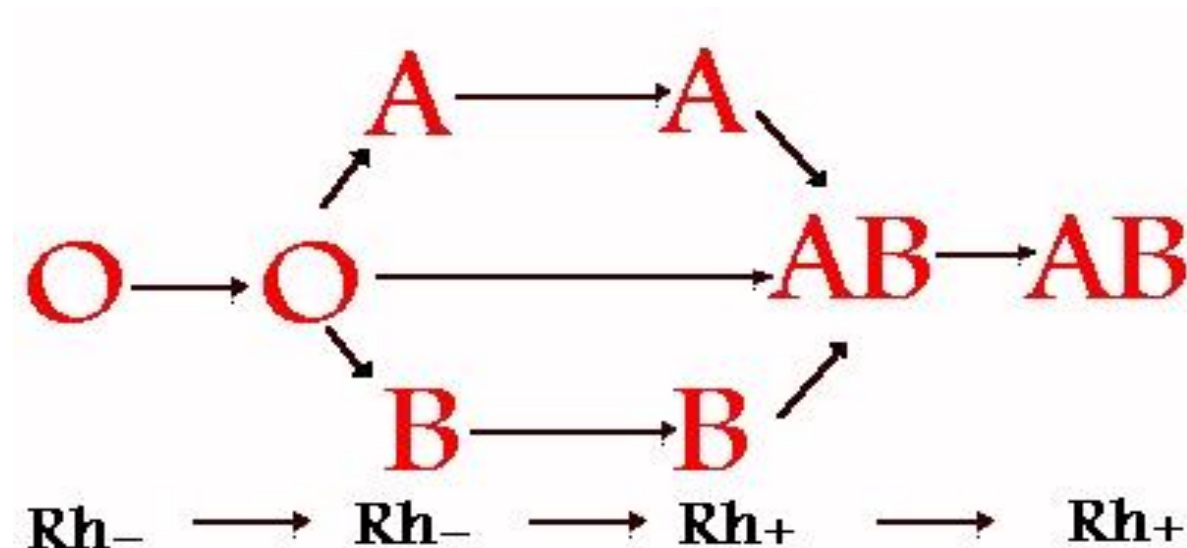


Figure 2 : Schéma d'une compatibilité ABO des transfusions de globules rouges

2.2. Compatibilité ABO des transfusions de plasma :

Le plasma est un des composants du sang. Comme il contient des anticorps en fonction du groupe. Les globules rouges du receveur ne doivent pas présenter les antigènes correspondants.

Le plasma des donneurs du groupe AB ne contiennent pas l'anticorps anti-A et anti-B qui convient à tous les receveurs.

Ainsi les personnes du groupe O sont des donneurs universels de globules rouges et receveurs universels de plasma. au contraire, les personnes de groupe AB sont des receveurs universels de globules rouges et donneurs universels de plasma.

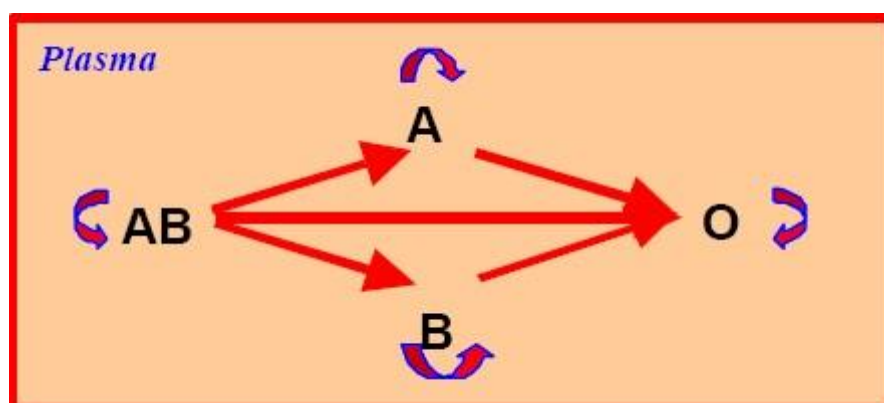


Figure 3 : Schéma d'une compatibilité des transfusions de plasma



3. Recherche des anticorps irréguliers (RAI) :

La recherche d'anticorps irréguliers ou recherche d'agglutinines irrégulières est un examen d'immuno-hématologie permettant de mettre en évidence et d'identifier la spécificité d'anticorps anti-érythrocytaires présents dans le sérum d'un malade pour prévenir un choc transfusionnel et ou chez une femme enceinte en vue de détecter une incompatibilité fœto-maternelle.

La présence de ces anticorps, provenant de transfusions antérieures, de grossesses antérieures, ou d'une auto-immunisation (dérèglement du système immunitaire), peut provoquer lors de transfusions de produits sanguins une inefficacité de la transfusion (destruction des globules rouges) pouvant avoir des conséquences cliniques graves (choc transfusionnel). Ce test est donc indispensable pour la sécurité immunologique des transfusions.

Chez une femme enceinte, la présence de ce type d'anticorps peut provoquer, en cas d'incompatibilité fœto-maternelle, une maladie hémolytique du nouveau-né. La recherche sera faite systématiquement chez les femmes enceintes Rhésus négatif.

III. L'INCOMPATIBILITE FŒTO-MATERNELLE :

L'incompatibilité fœto-maternelle se caractérise par la production d'anticorps maternels dirigés contre les éléments figurés du sang fœtal : principalement les hématies mais aussi les plaquettes ; ce qui aboutit à **la maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN).**

Le mécanisme général est la conséquence de la fixation d'anticorps (AC) anti-maternels sur des antigènes (Ag) fœtaux transmis par voie trans-placentaire. Ces anticorps sont de type IgG car le poids moléculaire des IgM interdit leur transfert trans-placentaire. Le facteur étiologique essentiel (hors erreur transfusionnelle) sur lequel une action préventive est possible, est le passage de sang fœtal dans la circulation maternelle générant la stimulation antigénique.

1. Physiopathologie de l'incompatibilité fœto-maternelle :

En fin de grossesse, et particulièrement au moment de l'accouchement lui-même, quelques millilitres de sang fœtal peuvent s'introduire dans la circulation maternelle (hémorragie trans-placentaire) et provoquer une allo-immunisation dont le mécanisme n'est pas différent de celui de l'allo-immunisation transfusionnelle.

1.1. L'allo-immunisation par l'antigène Rhésus (D) :

Cette allo-immunisation restant encore la plus fréquente nous la conservons quel que soit l'allo-antigène.

Quand les mamans Rh- détruisent les globules rouges de leur bébés Rh+



Incompatibilité foëto-maternelle : Mère Rh- → **Enfant Rh+**

La séquence des événements qui aboutit à **la maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN)** se déroule selon les étapes suivantes :

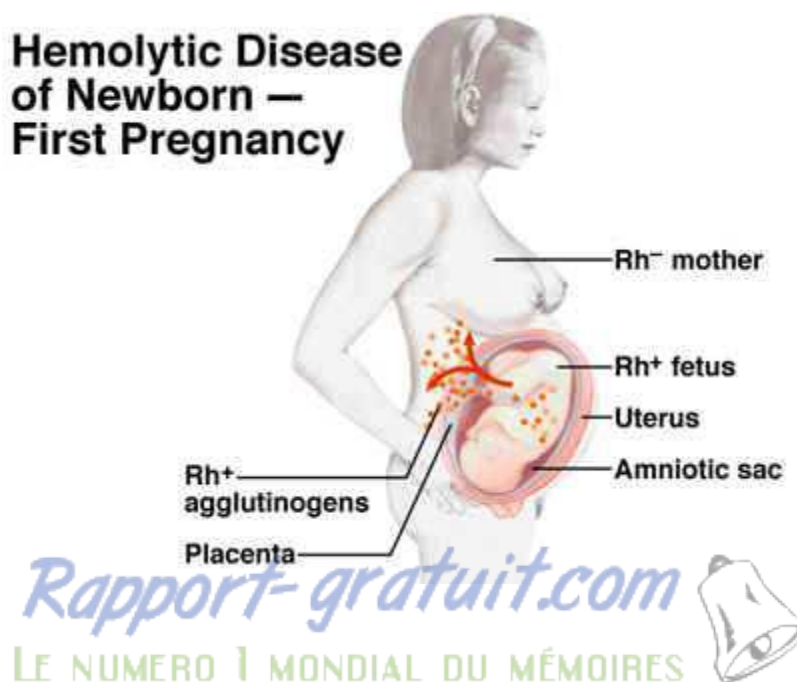
- passage d'hématies fœtales à travers le placenta.
- réponse primaire maternelle.
- réponse secondaire lors d'une grossesse ultérieure, traversée du placenta par les anticorps.
- sensibilisation des hématies fœtales.

La MHNN se déclenche alors avec ses conséquences pour le fœtus ou pour le nouveau-né.

Cette succession d'événements concerne donc au moins deux grossesses dans cette forme habituelle de la maladie ou n'intervient pas une all-immunisation préalable par transfusion.

a- Le passage d'hématies fœtales :

Dans de nombreux cas, des hématies fœtales passent dans la circulation de la mère au cours du dernier mois de la grossesse mais du fait des faibles quantités, ne génèrent pas de réponse primaire mais c'est au moment du <travail> à la faveur des lésions placentaires minimales que la quantité de sang apporté à la mère provoquera une réponse primaire. [8]

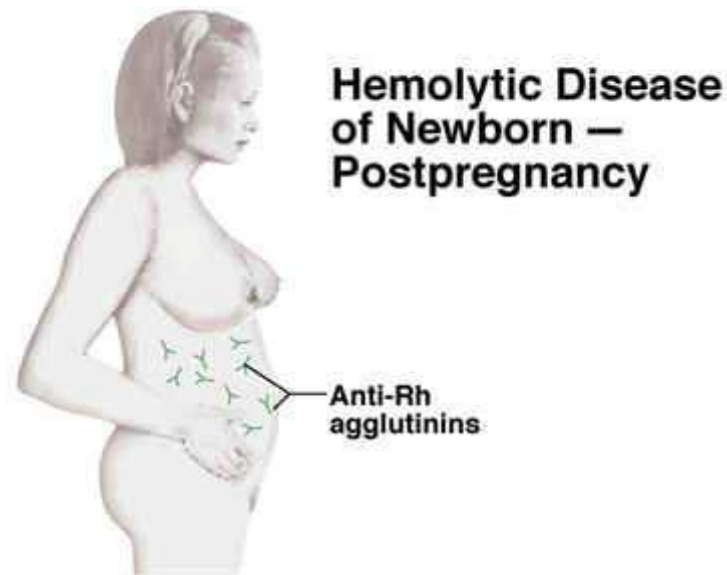


Incompatibilité foeto-maternelle : première grossesse

b- La réponse primaire maternelle :

Ces hématies, étrangères à l'organisme maternel et reconnues comme telles, vont donner lieu à une réponse immunitaire primaire, faible et tardive ; les anticorps ne sont décelables que plusieurs mois plus tard dans le sérum de la mère alors que le premier enfant est né depuis longtemps ce qui explique pourquoi il est indemne. Il est démontré que le risque d'immunisation est en corrélation étroite avec le nombre de globules rouges fœtaux présents à l'accouchement dans le sang de la mère. L'allo-immunisation n'est pas constante et on estime que 30% de femmes capables de s'immuniser contre l'antigène D. En outre l'incompatibilité ABO protège contre l'allo-immunisation Rh. La survenue de l'immunisation anti-Rh est très significativement différente entre les femmes dont le fœtus est incompatible dans le système ABO (mère O – enfant A), les femmes dont le fœtus est compatible (mère O – enfant O ou mère A – enfant A ou O).

Cette différence est due à la destruction des hématies incompatibles avant qu'elles puissent immuniser la mère. Il est probable que la séquestration hépatique (liée au type d'anticorps anti-A fixant le complément) des hématies ABO incompatibles les met à l'abri des systèmes de reconnaissance pour l'antigène D, la séquestration des hématies Rh incompatibles s'effectuant généralement dans la rate. L'antigène serait ainsi artificiellement détourné de l'organe compétent.



Mère immunisée contre D

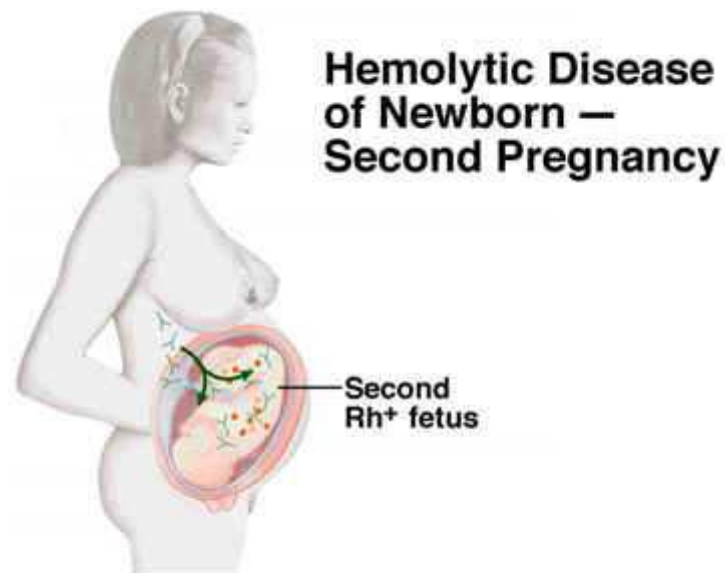
c- La réponse secondaire et le passage des anticorps à travers le placenta :

Lors d'une grossesse ultérieure où le fœtus est de nouveau Rh positif, quelques hématies traversant le placenta sont suffisantes pour déclencher une réponse immunitaire, cette fois rapide et massive. La mère produit alors des anticorps en grande quantité dont on voit monter la concentration. Il s'agit de leur chaîne d'IgG, possédant des structures particulières sur le fragment FC de la chaîne lourde, leur conférant la propriété de traverser activement le placenta : ces anticorps arrivent dans la circulation du fœtus.

d- Le déclenchement de la maladie chez le fœtus et le nouveau-né :

Les anticorps maternels fixés à la surface de l'hématie fœtale entraînent leur destruction rapide au niveau de la rate, d'où une splénomégalie, une anémie et une réaction avec hyper hématopoïèse.

Celle-ci se traduit par l'apparition d'un gros foie et la présence d'érythroblastes dans le sang. Bien que la mort de l'enfant puisse survenir in utero, le fœtus survit généralement ; au moment de la naissance, une hémolyse intense se développe. La bilirubine, produit de la dégradation de l'hémoglobine s'accumule alors dans le plasma, faute d'être évacuée par l'organisme maternel, le foie du nouveau-né n'étant pas encore capable d'extraire cette bilirubine. Ainsi les conséquences de l'allo-immunisation fœto-maternelle sont souvent graves : mort in utero, anasarque fœto-placentaire, ictère néonatal avec risque d'ictère nucléaire.



Deuxième grossesse : Hémolyse Deuxième grossesse : Hémolyse chez l'enfant

1.2. L'allo-immunisation à des antigènes autres de D :

Les autres antigènes du système Rhésus (c, E, parfois C ou e) peuvent aussi être en cause de même que les antigènes du système Kell (K) ou d'autres systèmes. En effet, chaque fois que l'enfant est porteur d'un antigène que ne possède pas sa mère, les conditions d'une allo-immunisation sont théoriquement réunies. Avant la prévention de l'allo-immunisation anti-D, il y avait environ 1 enfant sur 2000 atteint de la MHNN, 1 cas sur 20 était lié aux antigènes autres que D. Actuellement, il reste 1 MHNN sur 2000 enfants, 1 cas sur 2 est lié à ces autres antigènes : il y a donc bien une augmentation des MHNN liées aux antigènes autres que D, en chiffre absolu. Ces immunisations sont pour la plupart d'origine transfusionnelle ; le médecin doit être conscient de ce risque particulier de transfusion chez les receveurs de sexe féminin.

2. Les circonstances de survenue des allo-immunisations :

Pour qu'une allo-immunisation fœto-maternelle apparaisse, il faut qu'il existe un passage de globules rouges fœtaux dans la circulation maternelle par hémorragie trans-placentaire. Le volume de sang fœtal nécessaire pour induire une immunisation varie selon les individus. Il est en moyenne de 0.1ml mais chez certains sujets particulièrement sensibles, une hémorragie trans-placentaire bien plus réduite évaluée à 0.003ml à pu être suffisante. Toutes les circonstances cliniques normales ou pathologiques au cours desquelles une hémorragie trans-placentaire peut survenir sont susceptibles d'induire une immunisation.

IL faut remarquer que si le risque de voir se développer une immunisation est évalué à 3.5 à 7% des femmes rhésus négatif ayant accouché de nouveau-né rhésus positif, le survenue d'une telle immunisation peut être facilitée par un facteur génétiques prédisposant ou une compatibilité dans les groupes sanguins ABO.

2.1. Au cours des grossesses normales :

Il existe souvent un passage trans-placentaire d'hématies fœtales très faible au cours du premier et deuxième trimestres de la grossesse, celui-ci augmente au cours du troisième trimestre et surtout au moment de l'accouchement ou l'hémorragie trans-placentaire est constatée plus de 1 fois sur deux. L'importance de l'hémorragie trans-placentaire est accrue en cas de césarienne ou de délivrance artificielle.

Ceci explique que les immunisations au cours d'une première grossesse conflictuelle soient rarissimes ; pour ces cas, certains auteurs ont avancé l'hypothèse, dite de la <<Grande mère>>, d'une possible exposition in utero de fœtus de sexe féminin Rh négatif aux hématies Rh positif de leur mère. Ces femmes rhésus négatifs ainsi immunisées pourront développer ultérieurement des allo-immunisations fœto-maternelles sévères lorsqu'elles porteront elles-mêmes un fœtus Rh positif.

2.2. Les avortements :

Les allo-immunisations fœto-maternelle après avortement spontanée précoce sont rares, car il semble qu'alors le volume de l'hémorragie trans-placentaire soit presque toujours inférieure à 0.02ml.

L'hémorragie trans-placentaire est par contre plus fréquente (25% des cas) et plus abondante en cas d'avortement provoqué, médicalisé ou thérapeutique. Aucune différence n'a été révélée selon le moyen utilisé pour interrompre la grossesse : aspiration, curetage, injection intra-amniotique, mini-césarienne. Mais il apparaît que le risque est d'autant plus grand que le geste est plus tardif. Les avortements spontanés tardifs exposent également d'avantage à l'hémorragie trans-placentaire.

3 Conséquences physiopathologiques chez le fœtus et le nouveau-né

Le phénomène primaire est l'hémolyse des globules rouges fœtaux par les anticorps maternels qui ont traversé le placenta entraînant une anémie fœtale avec une hématopoïèse réactionnelle d'abord médullaire puis extra-médullaire.

Une hyper hémolyse se traduit par une hépato-splénomégalie fœtale, elle-même responsable d'une hypertension portale et d'un œdème placentaire. Dans les incompatibilités sévères, l'anémie est importante. Le rôle du foie est détourné pour induire une hématopoïèse extra-médullaire compensatrice ; il s'en suit d'une diminution de la fonction normale du foie. Les modifications hépatiques et placentaires vont entraîner une hypo protéinémie (hypo albuminémie fœtale) responsable d'une anasarque foeto-placentaire (l'état d'un fœtus présentant une anémie sévère, une insuffisance cardiaque, une importante hépatomégalie et un œdème prononcé).

Les hématies détruites libèrent l'hémoglobine qui est transformée en bilirubine. Chez le fœtus, la bilirubine traverse le placenta et est éliminée par la mère.

Après la naissance, les anticorps maternels persistent pendant plusieurs semaines chez le nouveau-né et il est fréquent d'observer une aggravation de l'anémie au cours des premiers jours de la vie (anémie néonatale).

IV. ETUDE CLINIQUE :

1. Dépistage d'une incompatibilité fœto-maternelle :

Le dépistage précoce de l'allo immunisation érythrocytaire chez la femme enceinte est obligatoire, car dès son apparition tous les moyens de surveillance cliniques et biologiques du risque hémolytique fœtal doivent être mis en place pour pouvoir appliquer à temps les thérapeutiques adaptées. Ce dépistage se fait grâce à un examen biologique, la recherche d'agglutinines irrégulières (RAI). Elle a pour but de rechercher et d'identifier la présence d'anticorps anti-érythrocytaires irréguliers dans le sérum des patientes.

1.1. Détermination du groupe sanguin et recherche d'agglutinines irrégulières (RAI) :

La détermination et la vérification du groupe sanguin sont obligatoires en début de la grossesse chez toutes les femmes enceintes, elles permettent de repérer les femmes rhésus négatif : chez ces derniers, la recherche dans le sang maternel d'anticorps immuns anti-D lors de la première consultation prénatale puis à l'occasion des visites du 6^{ème}, 8^{ème}, et 9^{ème} mois est obligatoire. Si l'immunisation anti-D a été responsable de la quasi-totalité des incompatibilités fœto-maternelles, on assiste à une augmentation de fréquence des allo-immunisations vis-à-vis d'autres antigènes, responsables d'atteinte fœtale modérée et sévère et d'accidents transfusionnels, les anticorps anti-c, anti-K, et anti-E sont les plus fréquemment retrouvés et sont responsables de 80% des complications graves. Il est donc souhaitable de demander au cours du 8^{ème} mois de la grossesse une recherche d'anticorps irréguliers anti-érythrocytaire chez toutes les femmes enceintes. Cette recherche permet de différencier 2 groupes de patientes :

- celles chez qui la recherche des anticorps irréguliers est négative et pour lesquelles il n'y a aucun risque.
- et celles qui présentent des anticorps et dont l'enfant est susceptible d'être atteint.

1.2. Détermination du groupe sanguin du père :

Pour qu'il puisse y avoir IFM chez une patiente enceinte immunisée il faut que les globules rouges de son enfant possèdent l'antigène correspondant. Ce phénotype fœtal peut être suspecté par le phénotype paternel ou affirmé par une étude directe des cellules fœtales.

Le phénotypage du père permet dans un certain nombre de cas d'éliminer tout risque d'IFM. En effet s'il ne possède pas l'antigène correspondant, il ne peut le transmettre à son enfant et le risque d'IFM est nul. Devant une telle situation il n'y a pas de surveillance particulière à avoir, la RAI recherche alors l'apparition d'un nouvel anticorps. Si le père possède l'antigène correspondant une étude plus complète de son phénotype érythrocytaire nous permet d'évaluer son génotype. Il peut être homozygote pour le gène en cause (avec toutes les chances de transmettre l'antigène à son enfant) ou hétérozygote (avec une chance sur deux de lui transmettre)

➤ Le phénotype direct des cellules fœtales :

Il n'a d'intérêt que si le père est hétérozygote et l'immunisation de la mère très importante pouvant justifier de thérapeutiques transfusionnelles fœtales. Il peut se faire par différentes techniques sur des prélèvements différents. Mais il faut savoir que toutes les techniques décrites ci-dessous sont invasives et qu'elles augmentent de façon iatrogène le risque de réactivation de l'immunisation maternelle. Leur indication doit donc être posée après confrontation de toutes les données connues et en cas de nécessité absolue.

1.3. L'échographie fœtale

Elle permet de rechercher des signes de rétention hydrique, l'hépatomégalie et d'insuffisance cardiaque.

1.4. L'étude du liquide amniotique

La ponction amniotique est indiquée si l'on suspecte une atteinte fœtale. Elle permet de doser la bilirubine amniotique par spectrophotométrie, qui donne un indice optique à interpréter en fonction de l'âge de la grossesse.

1.3 Surveillance clinique de la grossesse chez une femme ayant des anticorps irréguliers :

En général l'évolution est favorable mais parfois certains accidents fœtaux et maternels peuvent survenir, à savoir :

➤ **Accident fœtaux :**

- ❖ Mort fœtale banale marquée par la diminution des mouvements fœtaux puis la disparition des bruits du cœur.
- ❖ Mort fœtale avec anasarque s'accompagne d'un hydramnios modéré.

➤ **Accidents maternelles :**

- ❖ Néphropathie : syndrome rénale sévère, ictère, oligurie...
- ❖ Interruption de grossesse avant un stade très avancée → guérison rapide des symptômes.
- ❖ Phénomène de coagulopathies par défibrination.

2. Prévention de l'allo-immunisation maternelle anti-Rh :

Une mère de Rh négatif non encore immunisée qui reçoit, dans les heures qui suivent l'accouchement, des immunoglobines anti-D ne s'immunise pas.

Le mécanisme de cette protection est loin d'être bien compris. Le fait important reste l'élimination rapide des hématies Rhésus positif de la circulation maternelle sous l'action des anticorps anti-D.

Néanmoins d'autres facteurs interviennent sans doute. Ainsi la protection par l'injection d'anti D est plus efficace que celle exercée par l'incompatibilité ABO, bien qu'en principe dans les deux cas, les hématies immunogènes soient éliminées. Par ailleurs l'injection d'anti-D peut être efficace même faite jusqu'à deux semaines après le passage dans la circulation des hématies Rhésus positif. Enfin divers auteurs ont observé chez les femmes soumises à la prophylaxie par anti-D, la même fréquence d'immunisation à d'autres antigènes érythrocytaires que chez les femmes non traitées.

Cette prophylaxie s'adresse non seulement à toute femme Rh négatif venant d'accoucher d'un enfant Rh positif sans anticorps anti-Rh mais encore à toute femme Rh négatif venant de subir une interruption de grossesse.

1 MATERIEL ET METHODES :

Ce travail a été effectué au centre de transfusion sanguine de Fès (CRTFS) sous la direction du Dr Benyasrhi pendant une période de 2 mois allant de 2 Avril jusqu'à 31 Mai. Cette étude consiste à faire des analyses du sang collecté afin d'assurer sa sécurité et ne représentera aucun danger sur la vie de la personne transfusée.

1 Matériel

Le matériel utilisé pour ce travail est constitué d'appareils et d'un équipement adapté.

1.1 Appareils

- Réfrigérateur : stockage des réactifs, des échantillons de sang et de sérum.
- Centrifugeuse pour les tubes
- Centrifugeuse pour les microplaques



Centrifugeuse Universel 320

- Agitateur



Agitateur TITRAMAX 100

- Portoirs
- Microplaque
- Plaque d'opaline
- Micropipette
- Pissette remplie d'eau physiologique
- Des tubes vides

1.2 Les réactifs

Les réactifs que nous avons utilisés dans ce travail sont les suivants :

- Les hématies tests dilués à 5% (hématies nécessaires pour le dépistage des différents anticorps érythrocytaires)
 - Les réactifs de groupage :
- + 2kits de sérums tests : anti-A, anti-B, anti-AB et anti-D.

Un kit de Séraclone

Un kit de DIAGAST



Un kit de Séraclone

+Sérums tests anti-C, anti-c, anti-E, anti-e et anti-K.



Un kit de DAIAGAST

- Les hématies tests connus A et B
- Les hématies du panel connus O₁, O₂ et O₃
- L'albumine
- La bromuline
- La papaïne

- L'anti globuline

2 Méthodes

2.1 Traitement des échantillons

Pour les techniques du groupage et de la RAI, le sang doit être prélevé aseptiquement dans un tube sec ou avec un anticoagulant (EDTA).

2.2 Préparation des hématies tests :

La préparation des hématies nécessite une étape de lavage, suivie d'une dilution

➤ Lavage des hématies :

- Dans des tubes vides, ajouter 4 volumes d'eau physiologique pour 1 volume d'hématies A et B à laver.
- Centrifuger les tubes à une vitesse de 3000 à 4000 RPM pendant 2 minutes
- Décanter le surnageant, pour cela il suffit de retourner le tube dessous dessus, les hématies seront saisies au fond du tube et complètement débarrassé du liquide de lavage.
- Refaire le cycle de lavage 3 fois pour avoir un surnageant clair.

➤ La dilution des hématies :

Préparation de 5ml d'hématies à 2% :

- le facteur de dilution étant $2\% = 2\mu\text{l}/100\mu\text{l}$
- On prend $100\mu\text{l}$ des hématies tests et on rajoute 4.9ml d'eau physiologique.

2.3 Préparation des hématies du panel O1, O2 et O3 :

On prépare les hématies O1, O2 et O3 à une concentration de 2%, c'est la même technique pour la préparation des hématies tests.

Après on ajoute un enzyme :

- soit la papaïne pour une incubation de 30 minutes
- soit la bromuline pour une incubation de 10 minutes

2.4 Dilution des sérums tests :

Les sérums tests dilués à 1/5 dans l'albumine.

2.5 Préparation de la suspension globulaire :

- Pour la détermination du groupe sanguin sur microplaque, on dilue les globules rouges l'échantillon sanguin à une concentration de 2% :
- mettre 200µl d'eau physiologique (4 gouttes) + 4µl du culot globulaire (échantillon sanguin).

2.6 Détermination du groupe ABO-RH :

Le groupe ABO est déterminé par deux épreuves qui doivent obligatoirement être réalisées :

- ✚ Une épreuve **globulaire** permettant de mettre en évidence les antigènes globulaires ABO à l'aide de sérums tests (anti-B, anti-A et anti-AB) : c'est l'épreuve de **BETH-VINCET**.
- ✚ Une épreuve **sérique** mettant en évidence les anticorps anti-A et anti-B à l'aide des hématies tests connues : c'est l'épreuve de **SIMMONIN**.

NB : Les résultats du groupage ne pourront être considérés comme **définitifs** qu'**après une seconde détermination** par un 2^{ème} prélèvement avec des réactifs différents, et par un 2^{ème} technicien.

a) Techniques de détermination du groupe ABO Rhésus :

Les épreuves de Beth-Vincent et de Simonin sont réalisées selon 2 techniques. Il s'agit des techniques sur la plaque d'opaline et sur une microplaque.

La technique la plus utilisée est celle sur microplaque.

b) Détermination du groupe ABO-RH sur microplaque :

Les étapes de ces différentes techniques son décrites ci-dessous :

➤ **Dépôt des échantillons et des réactifs :**

Ces épreuves se font sur une microplaque de 12 puits, chaque puits contient un réactif connu :

Dans ce travail, nous avons utilisé une microplaque de 12 puits, pour le dépôt des échantillons et des réactifs, nous procédons de la manière suivante :

Epreuve globulaire de Beth-Vincent :

- Déposer 25µl des réactifs : anti-A, anti-B, anti-AB et anti-D respectivement dans les puits 1, 2, 3,11.
- Rajouter 25µl de la suspension d'hématies 2% obtenue dans les puits 1, 2,3 pour l'épreuve globulaire, et le puits 11 pour la détermination du Rhésus.

Epreuve sérique de Simonin :

- Déposer 25µl d'hématies tests connus A et B dans les puits 4 et 5
- Rajouter 25µl du sérum du patient.

Autocontrôle :

- Dans le puits 6 ; déposer 25µl du sérum du patient.
- Rajouter 25µl de suspension globulaire du patient.

Témoin albumine :

- Déposer dans le puits 11, 25 µl d'albumine, et rajouter 25 µl du sérum du patient.

NB : l'autocontrôle et le témoin albumine permettent de valider le groupage ABO. Dans ces conditions, il ne devrait pas avoir une agglutination.

➤ **Mélange des réactions :**

- Après cette 1^{ère} étape de dépôt, la microplaque est mise dans l'agitateur pendant 2 secondes, suivie d'une centrifugation pendant 2 minutes.
- Une 2^{ème} agitation pendant 30 secondes.

c) Détermination du système Kell et phénotype :

Permet de déterminer la présence ou l'absence de ces antigènes sur les hématies du patient à l'aide des sérums tests : anti-C, anti-c, anti-E, anti-e et anti-K. Pour cela, cette détermination se fait sur une microplaque.

➤ **Protocole :**

- Sur une nouvelle microplaque, déposer 25µl des sérums tests anti-C, anti-c, anti-E, anti-e et anti-K respectivement dans les puits 1, 2, 3, 4 et 5.
- Rajouter 25µl de la suspension d'hématies dans les puits 1, 2, 3, 4 et 5.
- Agiter 2 secondes, centrifuger pendant 2 minutes, et agiter une 2^{ème} fois pendant 30 secondes.
- Interpréter les résultats.

2.7 Recherche des anticorps irréguliers (RAI) :

Pour la réalisation de la RAI, nous avons utilisé deux techniques :

- La DSAI : dépistage des anticorps irréguliers sur microplaque
- La RAI : recherche des anticorps irréguliers

a) Le dépistage des anticorps irréguliers DSAI :

Ce test consiste à mettre en évidence la présence ou non des anticorps dans le sérum du patient vis-à-vis d'antigènes érythrocytaires. Ce test se fait sur une microplaque.

➤ Protocole :

- Sur la même microplaque de la détermination du groupage, déposer 25 µl du sérum du patient dans les puits 7,8 et 9.
- Rajouter 25 µl d'hématies connus O1, O2 et O3
- Agiter pendant 2 secondes, et mettre dans l'incubateur à 37C pendant 30 min.
- Centrifuger la microplaque 1000 RPM pendant 2min, et mettre dans l'agitateur pendant 30 secondes.
- Interpréter les résultats.

NB : s'il y'a absence d'agglutination, le sérum du patient ne porte pas d'anticorps irréguliers et ne nécessite pas la 2^{ème} technique, mais s'il ya une agglutination, on passe à la recherche des anticorps irréguliers RAI.

b) Recherche d'anticorps irréguliers RAI :

Après une DSAI positif, le test de la RAI est obligatoire pour mettre en évidence ces anticorps. Pour cela on utilise 3 techniques d'identification :

 Technique avec la papaïne :

Dans 3 tubes marqués : P1, P2 et P3, mettre respectivement :

- 50µl d'hématies O₁ + 100µl de sérum à tester + 50µl de la papaïne.
- 50µl d'hématies O₂ + 100µl de sérum à tester + 50µl de la papaïne.
- 50µl d'hématies O₃ + 100µl de sérum à tester + 50µl de la papaïne.
- Incuber 30 minutes à une température de 37°C.
- Centrifuger pendant 2 minutes à 1000 RPM.
- Observer l'agglutination en secouant le tube doucement.

Technique avec la bromuline :

Dans 3 tubes marqués B₁, B₂ et B₃, mettre respectivement :

- 50µl d'hématies O₁ + 100µl de sérum à tester + 50µl de la bromuline.
- 50µl d'hématies O₂ + 100µl de sérum à tester + 50µl de la bromuline
- 50µl d'hématies O₃ + 100µl de sérum à tester + 50µl de la bromuline.
- Incuber 10 minutes à 37C
- Centrifuger 2 minutes à 1000 RPM
- Observer l'agglutination en secouant le tube doucement.

Technique avec l'anti globuline :

Dans 3 tubes marqués A₁, A₂ et A₃, mettre respectivement :

- 50µl d'hématies O₁ + 100µl de sérum à tester.
- 50µl d'hématies O₂ + 100µl de sérum à tester.
- 50µl d'hématies O₃ + 100µl de sérum à tester.
- Incuber 30 à 60 minutes à 37C
- Laver 3 fois avec de l'eau physiologique.
- Ajouter dans chaque tube 2 gouttes d'antiglobuline.
- Centrifuger pendant 2 minutes à 1000 RPM.
- Lire en agitant légèrement les tubes.

3 Interprétation des résultats :

Ces techniques sont utilisées pour déterminer le groupe sanguin et phénotype de la femme enceinte et du fœtus, et de déterminer la présence ou l'absence des anticorps irréguliers :

Groupe ABO et Rhésus :

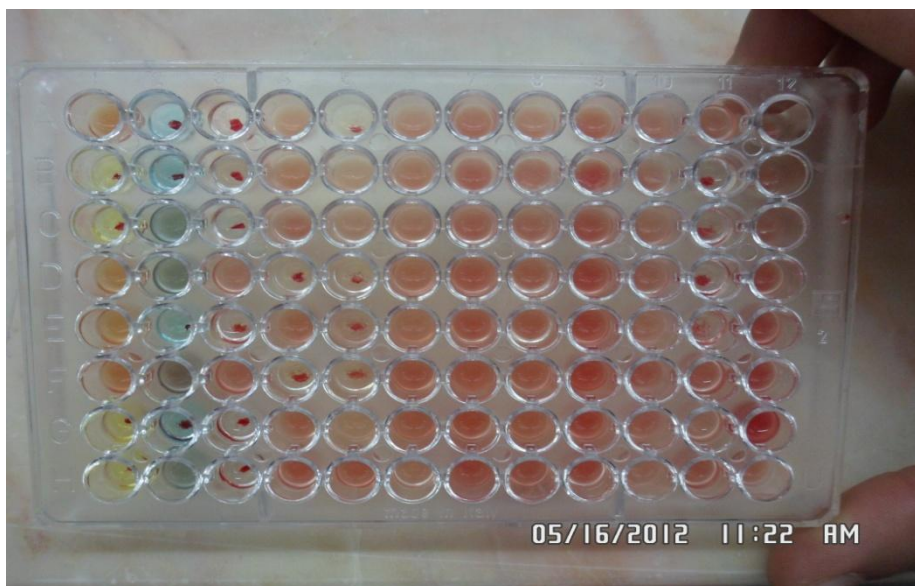


Figure 5 : détermination du groupe ABO et système Rh sur microplaque

- Pour l'épreuve globulaire :
 - Réaction positive = présence d'antigènes sur les hématies.
 - Réaction négative = absence d'antigènes sur les hématies.

- Pour l'épreuve sérique :
 - Réaction positive = absence d'anticorps dans le sérum
 - Réaction négative = présence d'anticorps dans le sérum.

Tableau montrant les différentes agglutinations par les 2 méthodes d'identification du groupe sanguin

Groupes	BETH-VEINCET			SIMONIN		Rhésus
	Sérums tests			Hématies tests		Sérums tests
	Anti-B	Anti-A	Anti-AB	A	B	Anti-D
A	-	+	+	-	+	+ /-
B	+	-	+	+	-	+/-
AB	+	+	+	-	-	+/-
O	-	-	-	+	+	+/-

3.1 Système Kell et phénotypes :

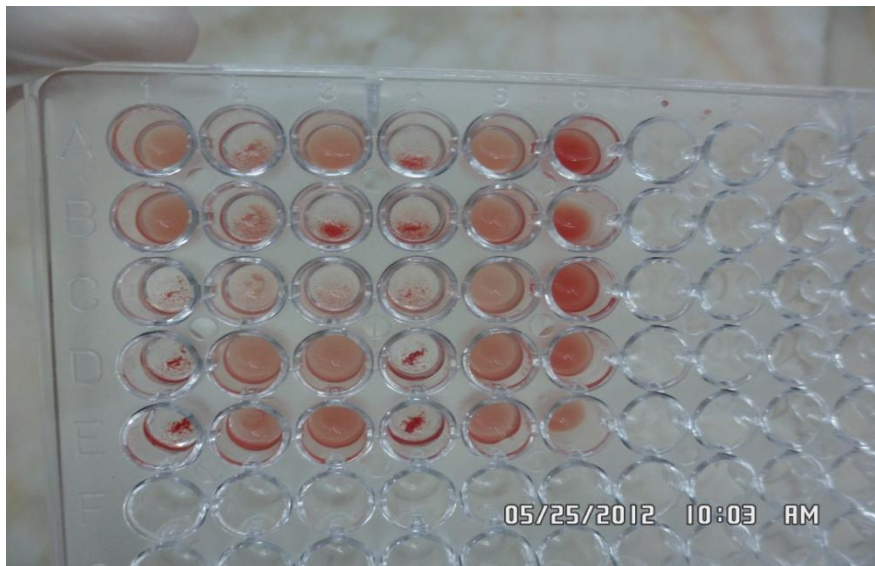


Figure 6 : détermination du système Kell et phénotype sur microplaque

- Réaction positive : présence des antigènes sur les hématies.
- Réaction négative : absence des antigènes sur les hématies.

Tableau montrant les différentes agglutinations du système Kell et phénotype

Phénotypes	C	c	E	e	K
Sérums tests	Anti-C	Anti-c	Anti-E	Anti-e	Anti-K
Résultats	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-

Recherche d'anticorps irréguliers

- Réaction positive : présence d'agglutinats témoignant de la présence d'anticorps.
- Réaction négative : absence d'agglutinats témoignant de l'absence d'anticorps.
- Si une femme Rhésus négatif est testée positive à la RAI : la femme est immunisée.
- Et si une femme Rhésus négatif est testée négative à la RAI : la femme n'est pas immunisée.

CONCLUSION :

Aujourd'hui, le nombre des femmes enceintes et celui des complications fœtales par IFM a considérablement diminué, l'IFM reste néanmoins une préoccupation de santé publique d'autant plus de nos jours il y a encore des femmes enceintes de Rh négatif qui consulte paradoxalement pour une RAI après avoir été immunisées ou sujettes à des complications de grossesse. Ceci devrait être évité par un suivi dans un centre spécialisé.

Le dépistage de l'allo-immunisation repose sur un bilan minimum comportant des RAI mais celles-ci sont incapables de détecter les quantités infra-biologiques d'anticorps et de ce fait conduit, dans certains cas, à déclarer des femmes non immunisées.

Une bonne surveillance immuno-hématologique de la femme enceinte doit permettre dans la grande majorité des cas, une bonne prise en charge de leur grossesse, et permettre à leur enfant incompatible, de bénéficier de tous les traitements actuels leur assurant une naissance des plus satisfaisantes avec une évolution normale à long terme.

L'instauration de l'immunoprophylaxie systématique, la sensibilisation des femmes rhésus négatif sur la gravité de l'IFM, la limitation des naissances et le contrôle de la compatibilité Rh avant le mariage sont les facteurs majeurs qui contribueront à diminuer la fréquence des problèmes que pose l'allo-immunisation Rh.

BIBLIOGRAPHIE :

- Encyclopédie Médico-chirurgicale Paris : les allo-immunisations fœto-maternelles.
- Coordination Régionale d'Hémovigilance, Dr Mahdi TAZEROUT – Mme Yolande GALINIER : les clés de l'hémovigilance.

WEBOGRAPHIE :

- <http://www.toutsurlatransfusion.com/securite-de-la-transfusion/immuno-hematologie-et-transfusion-et-don-du-sang.php>
- <http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/gpes-sanguins/03merefoetus.htm>
- <http://fr.wikipedia.org/wiki/Antig%C3%A8ne>
- <http://fr.wikipedia.org/wiki/Anticorps>
- <http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/gpes-sanguins/04regles.htm>