

Application d'une option préventive dans le cadre du management des grossesses à risque d'allo-immunisation plaquettaire

BROUK Hacene ⁽¹⁾, ZERMAT Bisma Behia ⁽¹⁾, BOUHSANE Djinen ⁽¹⁾, ZERMANE Amir ⁽¹⁾, HOUADEF Akram Omar ⁽¹⁾, DJABRI Yacine ⁽²⁾, KAPLAN Cécile ⁽³⁾, OUELAA Hanifa ⁽¹⁾

ملخص

مقدمة: نقص الصفائح الدموية مناعيا عند الأجنة والأطفال حديثي الولادة (TFNAI) يمكن أن يكون له عواقب وخيمة في حالة نزيف داخل الجمجمة. في حالات الحمل اللاحقة هذا الضرر يكون حادا و نسبة تكراره عالية جدا. التشخيص المنتظم هو خيار في الصحة العمومية يقلل من معدلات الاعتلال والوفيات.

الطريقة: الدراسة شملت حوالي 1000 من النساء الحوامل. التقنيات المستعملة هي-ELISA, MAIPA, PCR SSP

النتائج والمناقشة: تم تحديد 28 حالة في خطر نقص الصفائح الدموية المناعي ما في ذلك 03 من 13 (23.07%) حاملين HLA-DRB3*0101 في مثل هذه الحالات وجود هذا الأليل يزيد من شدة خطر TFNAI وقد لوحظت نتيجة إيجابية في ~ 93% من الحالات. **الاستنتاج:** بفضل دراسات التشخيص المنتظم وبرنامج التدخل نتج ما يمنع ما يقرب من 80% من حالات الوفاة والإعاقة المتعلقة ب TFNAI

Résumé

Introduction. les thrombopénies fœtales et néonatales allo-immunes (TFNAI) peuvent avoir des conséquences délétères en cas d'hémorragie intracrânienne (HIC). La récurrence de l'atteinte fœtale est très élevée et sa sévérité est amplifiée lors des grossesses ultérieures. Le dépistage systématique des TFNAI est une option de santé publique et permet de réduire la morbidité et la mortalité.

Matériel et méthodes. Près de 1000 femmes enceintes sont incluses. Le diagnostic des TFNAI est réalisé par MAIPA. Le phénotypage HPA-1 par ELISA et les génotypes HPA-1 et HLA-DRB3*0101 par PCR-SSP.

Résultats et Discussion. 28 cas homozygotes HPA-1bb (2.94%) ont été identifiés à risque potentiel d'allo-immunisation plaquettaire dont 03/13 (23.07%) sont HLA-DRB3*0101. La présence de cet allèle augmente le risque de sévérité de la TFNAI. Chez ces cas la thrombopénie néonatale était sévère sans détection sérologique d'anticorps anti-HPA-1a par MAIPA. L'issue favorable a été observée dans ~93% des cas.

Conclusion. Les observations tirées de ces études bénéficiant de programme de screening et d'intervention montrent qu'on peut prévenir approximativement 80% de décès et de séquelles liés aux TFNAI.

Mots clés : Allo-immunisation plaquettaire, Thrombopénie, Hémorragie intracrânienne, Dépistage, HPA, MAIPA, PCR-SSP

Abstract

Introduction: fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia (FNAIT) can have deleterious consequences in case of intracranial hemorrhage (ICH). The recurrence of fetal damage is very high and its severity is amplified in subsequent pregnancies. FNAIT screening is a public health option and may reduce morbidity and mortality.

Material and Methods. Nearly 1,000 pregnant women are included. Diagnosis of FNAIT is performed by MAIPA. HPA-1 phenotyping is made by ELISA and HPA-1/HLA-DRB3*0101 genotyping by PCR-SSP.

Results and Discussion. 28 homozygous women HPA-1bb (2.94%) were identified at high-risk of platelet alloimmunization. In which, 3/13 were HLA-DRB3*0101 (23.07%). The presence of this HLA allele increases the risk of severity of FNAIT. In these cases the thrombocytopenia was severe without serological detection of anti-HPA-1a antibodies (Ab). Favorable outcomes were observed in ~93% of cases.

Conclusion: The findings from these studies benefiting from screening and intervention programs show that we can prevent approximately 80% of death and disability related to FNAIT.

Keywords : Platelet alloimmunization, Thrombocytopenia, Intracranial hemorrhage, screening, HPA, MAIPA, PCR-SSP

1. INTRODUCTION

Le dépistage et la prise en charge des femmes à risque de Thrombopénie fœtale et néonatale allo-immune (TFNAI) ainsi que des enfants atteints nécessitent une collaboration multidisciplinaire entre hématologues, obstétriciens et néonatalogues, appuyée et soutenue par les prestations et les services de médecine transfusionnelle et des

laboratoires spécialisés d'immunologie plaquettaire [1]. La TFNAI est considérée comme l'équivalent plaquettaire de la maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN); cependant plusieurs éléments la distinguent dont l'atteinte possible du premier enfant. Elle est le résultat de l'immunisation maternelle vis-à-vis d'antigènes plaquettaires fœtaux « human platelet antigen (HPA) »

(1) Service d'Hémobiologie et Transfusion Sanguine. CHU Annaba. Faculté de Médecine. Université Badji Mokhtar d'Annaba. ALGERIE.

(2) Service de Gynécologie. CHU Annaba. Faculté de Médecine. Université Badji Mokhtar d'Annaba. ALGERIE

(3) Institut National de la Transfusion Sanguine INTS. Paris. FRANCE

Received 17/05/2015

Accepted 15/06/2015

Correspondance:

Hacene BROUK

E-mail: hacenebrouk@yahoo.fr



provenant du père et dont la mère en est dépourvue [2]. Cette allo-immunisation est à l'origine de la destruction des plaquettes fœtales par les immunoglobulines (Ig) de type G qui traversent le placenta dès 14 semaines de gestation [3, 4]. Cette atteinte, ayant une incidence estimée à 1 cas pour 1000 – 2000 naissances vivantes [5] est responsable de la survenue des accidents hémorragiques dont le risque majeur demeure prénatal avec la possibilité d'apparition d'hémorragies cérébrales avant 20 semaines de gestation. Le nouveau-né peut présenter des accidents hémorragiques dont les plus graves sont les hémorragies intracrâniennes (HIC) à l'origine de séquelles neurologiques (15-20%) [6] ou de décès (10%) [7]. Chez les caucasiens l'anticorps anti-HPA-1a est reconnu responsable dans approximativement 80% des cas sévères de TFNAI [1, 8, 9]. Le phénotype HPA-1a est prédominant chez la population caucasioïde et la réponse allo-immune dans le système HPA-1 est étroitement liée à l'expression du phénotype HLA-DRB3*0101 [10]. Les fréquences de ces deux phénotypes dans la population Algérienne sont très proches de celles observées chez les caucasiens [11,12]. La mise en œuvre d'un dépistage systématique des TFNAI permet une évaluation du risque d'allo-immunisation dans le système HPA-1 afin de prévenir leurs complications. Ce screening permettra un diagnostic très précoce chez les femmes génotypées HPA-1bb durant la première grossesse ; une évaluation du risque d'allo-immunisation plaquettaire fœto-maternelle et une réduction de la mortalité et les infirmités néonatales liées à cette atteinte [13]. Des éventuelles options supplémentaires dans le but d'améliorer le management des TFNAI chez les femmes immunisées peuvent être appliquées telles que l'accouchement par césarienne dans les 2 à 4 semaines à terme de grossesse et la transfusion immédiate de concentré de plaquettes HPA-1bb pour les nouveaux nés sévèrement thrombopéniques ($<35 \times 10^9/l$) [14]. Comprendre la réponse immunitaire serait aussi fondamental pour la conception des méthodes les plus efficaces pour prévenir ou traiter l'allo-immunisation plaquettaire et ses complications [15].

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Patients et échantillons biologiques

Deux prélèvements sanguins de 5 à 10ml sur tube EDTA et sec ont été réalisés chez 952 femmes en deuxième ou troisième trimestre de gestation. Les prélèvements ont été acheminés en respectant les conditions optimales de conservation au service d'hémodiologie et Transfusion sanguine du CHU d'Annaba. Un prélèvement de 2 ml sur tube EDTA a été réalisé chez les nouveaux nés des femmes identifiées à risque de TFNAI et incluses dans ce programme de screening. Les observations et renseignements cliniques ont été rapportés à partir des dossiers des patients.

2.2. Méthodes

Phénotype HPA-1

Le typage des plaquettes dans le système HPA-1 est réalisé par une technique immuno-enzymatique en une seule étape : *Polymorphisme HPA-1a/b sur la glycoprotéine GP IIb/IIIa (HPA-1a Typing Assay kit, BIO-RAD)*.

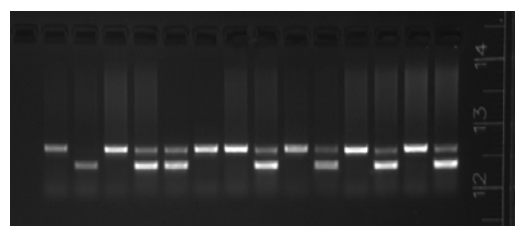
Extraction de l'ADN

La micro méthode Qiagen a été utilisée pour l'extraction de l'ADN à partir du sang total (*QIAamp DNA Blood Mini kit*) selon les instructions du fabricant.

Génotype HPA-1 et HLA-DRB3*0101

Le génotypage plaquettaire pour les systèmes HPA-1, -2, -3, -5 et HLA DRB3*0101 a été déterminé par polymérase chain reaction sequence specific primer (PCR-SSP) utilisant Gene Amp PCR System 9600 (*Perkin Elmer AB Applied Biosystems*).

Figure 1. Génotypage du système HPA-1 par PCR-SSP



Numération plaquettaire

Les nouveaux nés des femmes à risque d'allo-immunisation (HPA-1bb) ont bénéficié d'une numération formule sanguine (NFS) sur *HMX Beckman Coulter*.

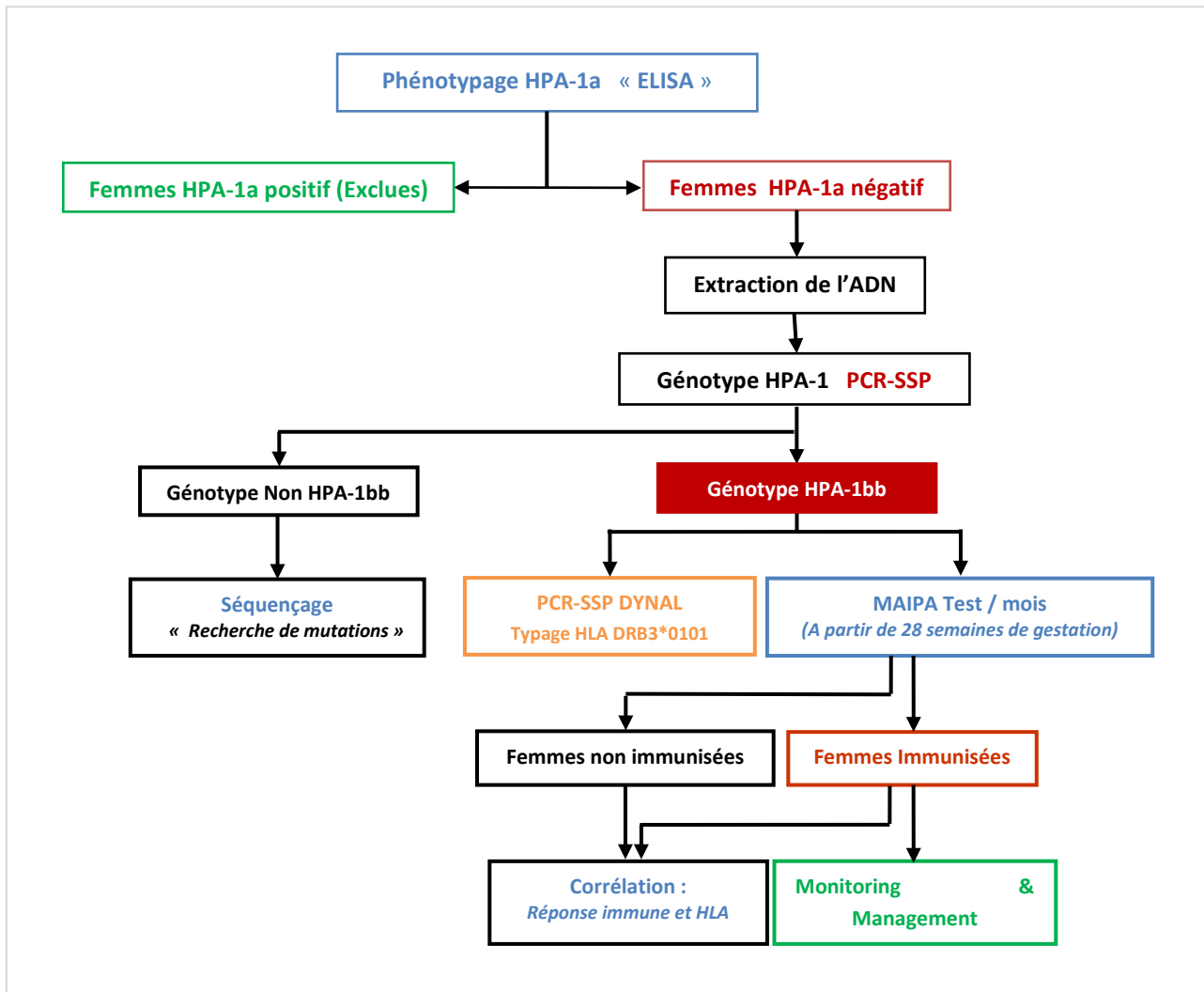
Détection et identification des anticorps anti-HPA

La recherche des anticorps anti-HPA est réalisée par le Monoclonal Antibody specific Immobilization of Platelet Antigen (*MAIPA*) utilisant 10 μL d'anticorps monoclonaux (anti-GPIaIIa clone P16 ; anti-GPIIbIIIa clones PL1-64 and PL2-46; anti-GPIbIX clone GRP ; anti-HLA class I clone B1G6 anti B2-microglobuline) et 30 μL de plaquettes typées dans les systèmes HPA-1,-3 et -5 (*Kiefel et al., 1987*) [16].

Analyse statistique

Le logiciel *HLASTAT2000* a été utilisé pour le calcul des fréquences alléliques.

2.3. Protocole expérimental



3. RESULTATS

Sur 952 prélèvements sanguins de femmes enceintes : 897 femmes (soit 94.22%) ayant un phénotype HPA-1a positif étaient exclues de l'étude. 55 cas (soit 5.77%) de phénotype HPA-1a négatif semblent avoir un risque d'allo-immunisation plaquettaire dans le système HPA-1 dont 28 cas étaient confirmés homozygotes HPA-1bb par PCR-SSP soit une fréquence de **2.94%**.

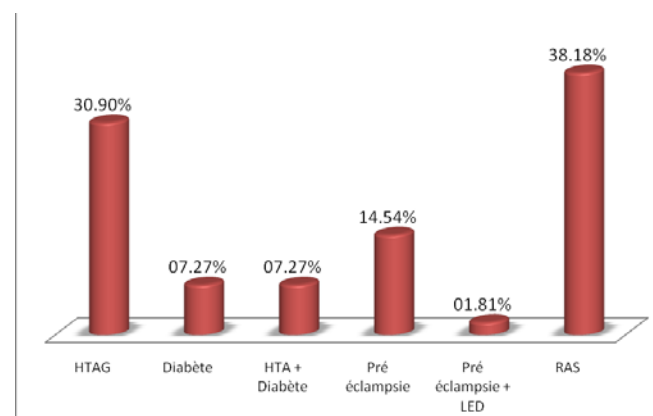
Tableau 1. Phénotypage (ELISA) et Génotypage (PCR-SSP) dans le système HPA-1

	HPA-1a positif	HPA-1a négatif	HPA-1bb	Total
Nombre	897	55	28	952
%	94.22	05.77	2.94	100

Le génotypage HLA-DRB3*0101 n'a été réalisé que sur 13 femmes à risque de TFNAI dont 3 (23.07%) exprimaient cet allèle en association avec HLA-DRB3*0202 dans 66.7%.

Tableau 2. Résultats du génotypage HLA par PCR SSP DYNAL des femmes HPA-1bb

HLA DRB3	0202	0301	0101	0202+ 0101	NUL	Total
Nombre	4	4	1	2	2	13
%	38.78	38.78	7.68	15.38	15.38	100
			3 ; 23.07%			



Graph 1: Répartition des femmes à risque d'allo-immunisation selon les complications de la grossesse Dans 30.90% des cas, les femmes à risque présentaient une HTA gravidique.

Tableau 3. Répartition des nouveau-nés selon l'évolution

Evolution	Décès	Favorable	Total
Nombre	02	25	27
%	7.41	92.59	100

Afin de prendre en charge à temps certains cas de TFNAI, suivies dans le cadre de ce programme de screening et nécessitant des transfusions HPA compatibles, un génotypage plaquettaire dans le système HPA-1 des donneurs de sang réguliers a été réalisé.

Tableau 4. Fréquences alléliques et génotypiques des donneurs de sang réguliers dans le système HPA-1

Système HPA-1 ; Nombre = 92		
Fréquence alléliques	1a	0.793
	1b	0.207
Fréquences génotypiques	1a1a %	63.05
	1a1b %	32.60
	1b1b %	4.35

4. DISCUSSION

Le typage des femmes enceintes dans le système HPA-1 semble être la première étape logique du dépistage. Les femmes révélées, par des techniques immuno-enzymatiques, HPA-1a positif seront exclues de l'enquête. La confirmation du phénotype négatif ou douteux se fait par une étude génotypique par PCR-SSP. Selon le **tableau 1** ; 94.22% des cas sont porteur de l'antigène HPA-1a. En effet *Contreras et al.* en Grande Bretagne, *Decary et al.* au Canada, *Soulier et al.* en France et *Shibata et al.* au Japon ont respectivement trouvé : 98,24%, 98,17%, 97,58% et 100%. En réalité le phénotype HPA-1a est cosmopolite, non spécifique d'une race donnée [17]. Plusieurs études ont démontré l'intérêt de déterminer le typage plaquettaire par des méthodes complémentaires afin d'éviter toute erreur en lien avec un polymorphisme génétique à l'origine de discordance de génotypage. La fiabilité du typage plaquettaire sera ainsi meilleure lorsque le phénotypage et le génotypage sont conjointement réalisés, ou bien lorsque deux méthodes de génotypes différentes sont utilisées [18]. Le génotypage a révélé une fréquence HPA-1bb de 2.94%. Cette fréquence rejoint celle décrite dans la population Algérienne selon *Brouk et al.* en 2010 [11] soit (2.29%). Les discordances constatées entre les phénotypes et génotypes peuvent être liées à un allèle rare et silencieux ITGB3*0101 (GPIIIa) selon *Smith G.A. et al.* [19]. Les techniques immuno-enzymatique sont d'une grande utilité dans les programme de screening de TFNAI, cependant les cas considérés comme étant à risque de TFNAI doivent être confirmé par un génotypage HPA-1 afin d'éviter les investigations immunologiques inutiles. La présence de L'antigène HLA-DRB3*0101 chez ces femmes HPA-1bb constitue un facteur majeur favorisant la réponse immunitaire antiplaquettaire. Il est nécessaire dans le

programme de dépistage d'associer la recherche de ce phénotype HLA classe II. Selon le **tableau 2** ; les femmes gestantes HPA-1bb et HLA-DRB3*0101 ont une fréquence de 23.07%. La fréquence de l'antigène HLA-DRB3*0101 trouvée dans la population algérienne est de 17,92% [12]. Elle est similaire à celle observée dans la population tunisienne (18%) [20] et supérieure à celle de la population marocaine (14,3%) [21]. Dans ces populations, la fréquence d'un tel antigène (HLA-DRB3*0101) accroît le risque d'allo-immunisation. En effet, la molécule HLA-DRB3*0101 pourrait être impliquée dans la présentation de l'Ag HPA-1a aux CPA stimulant ainsi la production de l'anticorps anti-HPA-1a. Les résultats d'études rétrospectives et prospectives ont montré que 90% des femmes HPA-1bb allo-immunisées sont HLA-DRB3*0101 positif. Selon *Loewenthal R et al.*; la présence de l'allèle HLA-DRB3*0101 augmentent le risque de sévérité de la TNAI et réduit l'efficacité du traitement par les immunoglobulines intraveineuses (IgIV) [22]. D'après le **graphe 1** ; Presque 2/3 des grossesses présentaient une complication en période de gestation (61.82%). Dans les TNAI, la thrombopénie est souvent isolée. Cependant les associations ne doivent pas être méconnues telles que la coexistence d'une infection ou d'une auto-immunité maternelle [18]. Selon *C. Kaplan*, une association avec d'autres causes avait été retrouvée dans 14 % des cas [23]. 14.81% des nouveaux nés ont présenté une thrombopénie. Sur les trois décès; une mort est survenue *in utero* à la 34^{ème} Semaine d'aménorrhée et l'hémorragie intracrânienne était suspectée pour deux cas ayant une thrombopénie sévère (**tableau 3**). La recherche des anticorps anti-HPA-1a par MAIPA pour les trois cas à haut risque d'allo-immunisation (HPA-1bb et HLA-DRB3*0101) est revenue négative or et selon la littérature on s'attendait à un cas positif. Des études ont montré que 30% des femmes HPA-1bb et HLA-DRB3*0101 développent une allo-immunisation anti-HPA-1a. *Husebekkk A et al.* trouvent que 10,6% des femmes HPA-1bb s'immunisent [24]. *Lorna M. Williamson et al.* ont détecté chez 46 sur 385 femmes HPA-1bb des Ac anti-HPA-1a (soit 12%), ils ont trouvé l'association des allo anticorps maternels anti-HPA-1a avec l'allèle HLA-DRB3*0101 chez 43 femmes (valeur prédictive positive = 35%) et seulement 1 cas d'allo immunisation chez une femme négative pour cet allèle était observé. Selon la même étude, la TFNAI à anti-HPA-1a est apparue dans approximativement 1/350 grossesses, ce qui correspond à 11.4% des femmes HPA-1a négatives. D'autres études ont trouvé : 0% (*Panzer S et al.*); 1.4% (*Doughty HA. et al.*); 6% (*Blanchette VS et al.*) et 10% (*Durand-Zaleski I et al.*) [25]. *Bertrand G. et al.* (2011) dans une étude similaire, n'ont trouvé aucune corrélation significative entre la présence de l'allèle HLA-DRB3 et la concentration des allo-anticorps maternels. Par contre, ils confirment dans la même étude qu'une concentration élevée des allo anticorps maternels mesurés avant la 28^{ème} semaine d'aménorrhée et avant tout traitement immunomodulateur est corrélée avec une thrombopénie fœtale sévère. Ils concluent que la concentration des allo anticorps maternels pendant la grossesse peut être un paramètre prédictif de la thrombopénie fœtale et aussi un facteur pronostic de la réponse thérapeutique. Ce paramètre est important pour guider la décision du traitement non invasif [26]. La

négativité des tests MAIPA réalisés peut être aussi expliquée par:

- Anticorps de faible affinité et/ou de faible titre difficilement détectables [18]
- Incompatibilité antigénique sans anticorps présents chez la mère [17][27]

Dans ces cas difficiles, il est nécessaire de compléter les investigations avec de nouveaux prélèvements, retester à distance de l'accouchement (environ 1 à 2 mois) en raison de l'évolution variable de l'anticorps maternel dans le post-partum et mettre en œuvre des techniques plus complexes [27]. La constitution d'un fichier de donneurs de sang réguliers HPA-1bb est entreprise (**Tableau 4**) dans le but d'optimiser la prise en charge précoce des cas de TFNAI dépistés à anticorps anti-HPA-1a par des transfusions de concentrés de plaquettes HPA compatibles. Cette démarche est inscrite dans le cadre du renforcement des mesures d'accompagnement de certaines options thérapeutiques (Ex: Césarienne programmée) et ce pour un maximum d'efficacité. Ce travail sera poursuivi sur un nombre d'échantillons plus représentatif associant les critères cliniques prédictifs et les examens biologiques nécessaires pour assurer le screening, le diagnostic et le management des TFNAI. Les forums internationaux ont montré qu'il n'y avait pas de standardisation dans la prise en charge de ces grossesses. Cependant les protocoles évoluent vers une réduction sensible des gestes invasifs en raison de leurs risques inhérents. La mise en œuvre d'un tel programme soulève plusieurs questions telles que la sensibilité suffisante des tests de diagnostic et l'existence de paramètres prédictifs maternels de l'atteinte fœtale [28].

CONCLUSION

La TFNAI est une pathologie parfois méconnue ayant des conséquences gravissimes. En raison du risque majeur d'hémorragie intracrânienne, le diagnostic biologique est indispensable pour prendre en charge les patients atteints et suivre les grossesses ultérieures. Des études collaboratives sur le screening et l'étude de la réponse allo-immunes sont nécessaires pour répondre aux questions en suspens sur la physiopathologie et le management des TFNAI. Ce screening permettra un diagnostic très précoce par l'identification des allo anticorps anti HPA-1a, responsables des thrombopénies sévères chez les femmes HPA-1bb durant la première grossesse, et une application d'éventuelles options supplémentaires pour améliorer le management des TFNAI.

Conflit d'intérêt

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

REFERENCES

1. DONALD M, ARNOLD, JAMES W. SMITH, AND JHON G. KELTON. Diagnosis and management of neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfus Med Rev* 2008; 22(4) : 255-267
2. KAPLAN C. Les thrombopénies fœtales et néonatales allo-immunes: problèmes en suspens. *Transf Clin Biol* 2005 ;12 :131-134
3. BERTRAND G, MARTAGEIX C, JALLY V, VITRY F, KAPLAN C. Predictive value of sequential maternal anti-HPA-1a antibody concentrations for the severity of fatal allo immune thrombocytopenia. *J Thromb Haemost* 2006; 4(3):628-637.
4. KAPLAN C, MOREL-KOPP MC, VERDY E, PRON B, TCHERNIA G, et al. Thrombopénies fœtales et néonatales immunes. *La presse médicale* 1992; 21(36) : 1717-1724.
5. BUSSEL JAMES B, PRIMIANI ANDREA. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: progress and ongoing debates. *Blood Rev* 2008; 22:33-52.
6. RADDER CM, DE HAAN MJJ, BRAND A, STOELHORST GMSJ, VEEN S, KANHAI HHH. Follow up of children after antenatal treatment for alloimmune thrombocytopenia. *Early Human Development* 2004; 80:65-76.
7. BESSOS HAGOP, SEGATCHIAN J. What's happening? The expanding role of apheresis platelet support in neonatal alloimmune thrombocytopenia: current status and future trends. Hagop Bessos. *Transfus Apher Sci* 2005; 33:191-197
8. KJELDSSEN-KRAGH J, HUSEBEKK A, KILLIE MK, SKOGEN B. Is it time to include screening for neonatal alloimmune thrombocytopenia in the general antenatal health care programme?. *Transfus Apher Sci* 2008; 38:183-188
9. DAVOREN A, CURTIS BR, ASTER RH, et al. Human platelet antigen-specific alloantibodies implicated in 1162 cases of neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion* 2004; 44:1220-1225
10. VALENTIN N, VERGRACHT A, BIGNON JD, et al. HLA- DRw52a is involved in alloimmunization against PL-A1 antigen. *Hum Immunol* 1990; 27: 73-79.
11. BROUK H, HALLE L, BERTRAND G, NECHE FZ, OUELAA H & KAPLAN C. Human platelet antigen allele frequencies in different Algerian populations. *Tissue Antigens* 2010;75(6):673-678.
12. ARNAIZ-VILLENA A, BENMAMAR D, ALVAREZ M et al. HLA allele and haplotype frequencies in Algerians. Relatedness to Spaniards and Basques. *Hum Immunol* 1995; 43: 259-68.
13. MURPHY MF, WILLIAMSON LM. Antenatal screening for fetomaternal alloimmune thrombocytopenia: an evaluation using criteria of the UK National Screening Committee. *Br J Haematol* 2000; 111:726-732

14. BROUK H, OUELAA H. Plaquette sanguine: *polymorphisme et allo-immunisation*. Editions Universitaires Européennes Fév. 2015.132p. ISBN: 978-613-1-51355-8
15. BROUK H, BERTRAND G, ZITOUNI S, DJENOUNI A, MARTAGEIX C, GRIFFI F, KAPLAN C & OUELAA H. HPA antibodies in Algerian multitransfused patients: Prevalence and involvement in platelet refractoriness. *Transfus Apher Sci* 2015; 52 : 295–299.
16. KIEFEL V, SANTOSO S, WEISHEIT M, MUELLER-ECKHARDT C. Monoclonal antibody--specific immobilization of platelet antigens (MAIPA): a new tool for the identification of platelet-reactive antibodies *Blood* 1987; 70(6): 1722-1726
17. ANANI L. BIGOT A. LATOUNDJI S. HALLE L. ADEICHAN O. ZOHOUN I. KAPLAN C. L'incompatibilité foeto-maternelle antiplaquettaire, à propos de 238 gestantes à Cotonou. *Journal de la société de biologie clinique* 2005 ; 9 : 10-15
18. [BERTRAND G. KAPLAN C. Les thrombopénies fœtales et néonatales alloimmunes. Immuno-analyse et biologie spécialisée 2013 ; 28:335-342](#)
19. SMITH GA et al. Severe fetomaternal alloimmune thrombocytopenia due to anti-human platelet antigen (HPA)-1a in a mother with a rare and silenced ITGB3*0101 (GPIIIa) allele. *Vox Sang* 2007; 93(4):325-30.
20. AYED K, AYED-JENDOUBI S, SFAR I, LABONNE MP, GEBUHRER L. HLA class-I and HLA class-II phenotypic, gene and haplotypic frequencies in Tunisians by using molecular typing data. *Tissue Antigens* 2004 ; 64: 520 – 32
21. OUMHANI K, CANOSSA A, PIANCATELLI D et al. Sequence-based analysis of the HLA-DRB1 polymorphism in Metalsa Berber and Chaouya Arabic-speaking groups from Morocco. *Hum Immunol* 2002; 63: 129 – 38.
22. LOEWENTHAL R, ROSENBERG N, KALT R, DARDIK R, LANDAU M, YAHALOM V, AVISHAI O, FRENKEL O, GAZIT E, STEINBERG DM, LIPITZ S, SALOMON O. Compound heterozygosity of HLA-DRB3*01:01 and HLA-DRB4*01:01 as a potential predictor of fetal neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion* 2013;53(2): 344-52
23. KAPLAN C. Alloimmunisation antiplaquettaire et diagnostic biologique. *RFL Rev* 2012 ; 439 : 49-54
24. HUSEBEKK A. EL EKIABY M. et al. Foetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia in Egypt; human platelet antigen genotype frequencies and antibody detection and follow up in pregnancies. *Transfus Apher Sci* 2012;47(3): 277-282
25. WILLIAMSON LM. et al. The natural history of fetomaternal alloimmunization to the platelet specific antigen HPA-1 (PLA1, Zwa) as determined by antenatal screening. *Blood* 1998; 92(7) :2280-87
26. BERTRAND G, DRAME M, MARTAGEIX C, KAPLAN C. Prediction of the fetal status in noninvasive management of alloimmune thrombocytopenia. *Blood*. 2011; 117(11): 3209-3213.
27. KAPLAN C. Incompatibilités sanguine plaquettaires maternofoetales. *EMC Pédiatrie* 2005; 2: 58-64.
28. [BROUK H, OUELAA H. Fetal and Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia: Advances in Laboratory Diagnosis and Management. Int J Blood Res Disord 2015; 2:013.](#)