



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Études

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

Immunisation érythrocytaire

Présenté par : SETRA Khadija

Encadré par : Pr. EL ABIDA Kouakib (FST Fès)

Dr. OUBENCHIKER Kamal (CRTS de Fés)

Soutenu le : .04/ 07/ 2022.

Devant le jury composé de :

- **Pr .EL ABIDA Kouakib.**
- **Pr.OUBENCHIKER Kamal.**
- **Pr .SEFRIOUI.Samira.**

Stage effectué à : Centre Régional de Transfusion Sanguine, Fés

Année universitaire 2021-2022

Dédicace

A mes parents

Nulle dédicace n'est susceptible de vous exprimer ma profonde affection et mon immense gratitude pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et mes études ainsi que votre soutien permanent.

A mes sœurs

Pour m'avoir toujours supporté dans mes décisions, pour le véritable et le sincère amour. Je vous souhaite, une vie pleine de succès avec beaucoup de bonheur,

A toute ma famille

Pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

A mes camarades surtout

Tout l'amour que j'ai rencontré au cours de mon stage.

Remerciements

La réalisation de ce modeste travail doit beaucoup à l'aide précieuse et conseils reçus des enseignants, qui ont beaucoup contribué par leurs suggestions et leur critiques. Ainsi je tiens à exprimer ma gratitude et présenter mes chaleureux remerciements au :

Professeur **EL Abida Kaouakib**, mon encadrante à la FST, pour sa disponibilité, sa générosité, son encouragement et son soutien.

C'est avec un réel plaisir que j'ai effectué ce stage sous sa direction.

Docteur **Benyesrhi Abderrahim**, le Directeur du Centre Régional de Transfusion Sanguine de Fés, pour son accueil chaleureux, il m'a donné l'opportunité d'effectuer mon stage dans de bonnes conditions. Qu'il trouve ici l'expression de mon profond respect et de ma gratitude.

Docteur **Oubenchiker Kamal**, mon encadrant au sein du Centre de Transfusion Sanguine, qui n'a pas cessé de me prodiguer ses conseils et qui n'a épargné aucun effort pour contribuer à la réussite de ce travail.

Professeur **Sefrioui Samira**, d'avoir accepté de juger ce modeste travail.

Toute l'équipe du CRTSF qui a contribué en fonction de ses moyens à affermir ma formation.

Mes remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

Table de matière

Représentation du lieu de stage

Introduction.....	1
--------------------------	----------

Partie bibliographique

I.Allo-immunisation ANTI- érythrocytaire.....	2
--	----------

1_ Définition.....	2
--------------------	---

2- Globules rouges.....	2
-------------------------	---

3- Antigènes érythrocytaires.....	3
-----------------------------------	---

3.1 – Définition.....	3
-----------------------	---

3.2 – Classification	3
----------------------------	---

3.3- Nature	3
-------------------	---

3.4- Différents types	4
-----------------------------	---

4- Anticorps Anti-érythrocytaire.....	4
---------------------------------------	---

4.1 – Définition	4
------------------------	---

4.2 - Structure	5
-----------------------	---

4.3 - Classification	5
----------------------------	---

5- Cinétique des anticorps Anti-érythrocytaire.....	6
---	---

6- Facteurs affectant la production d'Anticorps	7
---	---

6.1-Système HLA et immunisation Anti-érythrocytaire.....	7
--	---

II. Immuno-Hématologie.....	7
------------------------------------	----------

1- Les systèmes de groupes sanguins.....	7
--	---

1.1- Définition du groupe sanguin érythrocytaire.....	8
---	---

1.2- Notion d'Ag_Ac.....	8
--------------------------	---

1.3- Systèmes de groupes sanguins.....	9
--	---

2- L'incompatibilité immunologie érythrocytaire.....	12
--	----

2.1- Définition.....	12
----------------------	----

2.2- Physiopathologie.....	12
----------------------------	----

Partie Pratique

1- Matériel et Méthodes.....	14
1.1-Matériel.....	14
1.2- Méthodes.....	16
1.2.1-Détermination du groupe ABO Rhésus.....	17
1.2.2-Recherche d'anticorps irréguliers RAI.....	18
2- Résultats et discussion.....	21
2.1- Résultats.....	21
2.2- Discussion.....	22
2.3-Conclusion.....	23
Conclusion.....	23
Références Bibliographiques.....	24

Liste de figures

Figure 1	Structure de l'hémoglobine	2
----------	----------------------------	---

Figure 2	Structure de la membrane érythrocytaire	3
Figure 3	Structure d'anticorps	5
Figure 4	Taux de production d'anticorps	6
Figure 5	La production d'anticorps lors de la réponse I et II	7
Figure 6	Schéma représentant les anticorps dirigés contre les antigènes	8
Figure 7	Schéma de la caractérisation de l'allo-immunisation anti- HLA	10
Figure 8	Carte gel « liss-coombs » pour le test de coombs indirect RAI	15
Figure 9a	Groupe ABO-Rh sur les plaque d'opaline	17
Figure 9b	Détermination du groupe ABO-Rh et le phénotype Rh-kel	18
Figure 10a	Tubes à hémolyse contenant les hématies-tests après lavage	19
Figure 10b	RAI négative	20
Figure 10c	RAI positive	20
Figure 11a	Répartition des résultats selon le sexe	22
Figure 11b	Répartition les résultats selon resultat RAI	23

Liste des tableaux

Tableaux 1	Les valeurs physiologiques des hématies et d'hémoglobine chez hommes	2
Tableaux 2	Différents groupes sanguins et antigènes	4
Tableaux 3	Tableau récapitulatif des différentes données des patients immunisés	23

Liste d'abréviation

Ac : Anticorps

Ag : Antigènes.

AGH : Anti-Globuline Humain.

CGR : Concentré des Globules Rouges .
CHP : Centre d'Hospitalisation Provincial.
CHU : Centre d'Hospitalisation Universitaire.
CRTS : Centre Régional de Transfusion Sanguine.
Fy : Duffy.
GR : Globules Rouges.
Hb : Hémoglobine.
Jk : kidd.
PFC : Plasma Frais Congelé.
PSL : Produits Sanguins Labiles .
RAI : Recherche d'Agglutinines Irréguliers .
RH : Rhésus.
TCDL : Test de Compatibilité Directe au Laboratoire.
Hbs : antigène de surface de l'hépatite B.
TS : Transfusion Sanguine.
HP : Hémolysine positive.
IHR : Immuno-Hématologie Receveur

Présentation du Lieu du Stage

Le Centre Régional de Transfusion Sanguine (CRTS) de Fès, inauguré par sa Majesté **le Roi Mohamed VI** le Vendredi 8 Mars 2013 fait partie du réseau National de Transfusion Sanguine qui est composé de 16 CRTS, de 13 Banques de Sang (BS) et de 24 Antennes de Transfusion (AT), tous sous la dépendance du CNTS.

Le CRTS de Fès est le service public du Ministère de la Santé chargé de collecter les dons du sang, de les qualifier et satisfaire les besoins de tous les malades hospitalisés dans les établissements de soins publics ou privés de Fès et ses régions.

Le CRTS a pour missions de recevoir le sang des donneurs, de réaliser des examens complémentaires biologiques pour s'assurer de la qualité et de l'opportunité d'utiliser ce sang et de constituer un stock de sécurité pouvant être utilisé lors des interventions chirurgicales, les accidents de la voie publique, les hémorragies chez les femmes enceintes ou le traitement de maladies chroniques tel que le cancer.

Secteur du donneur, qui comporte :

- ❖ **Accueil** : c'est la phase de l'inscription du donneur et l'enregistrement de ses différentes informations : Nom, Prénom, Age, CIN...etc.
- ❖ **Consultation médicale** : l'entretien effectué avant chaque don par un médecin selon une procédure bien définie afin de sélectionner le donneur qui ne présente aucune contre-indications au don qui peut affecter sa sécurité ou celle du receveur.
- ❖ **Prélèvement** : Le prélèvement est effectué par des infirmiers, la récolte se fait sous forme de sang total dans une poche spéciale de 400 ml et deux tubes échantillons pour effectuer les analyses de la qualification biologique: L'immuno-hématologie et la sérologie.

Secteur technique, qui compose :

- ❖ **Le laboratoire d'immuno-hématologie donneurs** : La détermination du groupe sanguin pour chaque échantillon, le phénotypage et la recherche des anticorps antiérythrocytaires qui peuvent causer des conflits immunitaires chez le receveur.
- ❖ **Le laboratoire de sérologie** : dont lequel s'effectue le dépistage des différents Anticorps anti HIV (SIDA), anti HBs (HEPATITE B), anti HCV (HEPATITE C), et TPHA (SYPHILIS).
- ❖ **Le laboratoire de production et préparation de PSL (produits sanguins labiles)**

Les poches de sang prélevées subiront une centrifugation pour être fractionnées en concentré de globule rouge (CGR), plasma frais congelé PFC et concentré de plaquettes standard CPS).

Les PSL préparés seront finalement soumis à un triage qui cherche à identifier les poches conformes pour leur apposer les étiquettes adéquates avec les mentions nécessaires pour leur usage (Groupage, Résultats de sérologie négative, date de péremption et conditions de conservations). Les poches non conformes seront rejetées selon une procédure bien définies.

❖ **Le laboratoire d'étiquetage et de conservation** : Une fois les produits sanguins subissent

tous les contrôles, ils seront ensuite étiquetés et conservés dans des conditions optimales.

- Les globules rouges : 42 jours au réfrigérateur entre +2 et +8°C
- Les plaquettes : 5 jours dans un incubateur-agitateur entre 18 et 24°C sous agitation continue
- Le plasma : Après une congélation rapide ou une surgélation à -80°C, il peut être conservé une année à -25°C.

❖ **Laboratoire de contrôle de qualité** : Ce laboratoire permet de savoir si les produits et les services du centre sont conformes aux législations, au cahier des charges aux exigences du patient.

❖ **Laboratoire de distribution** : Le sang préparé et qualifié, est distribué ensuite aux hôpitaux et cliniques selon des demandes

Introduction

L'immunohématologie est une discipline de la biologie médicale qui étudie les antigènes de groupes sanguins érythrocytaires et les anticorps dont ils peuvent être la cible.

Le sang est un liquide qui circule dans les vaisseaux sanguins (artères, veines) et qui irrigue tous les tissus de l'organisme, y apportant les éléments nutritifs et l'oxygène, et y recueillant les déchets. Il contient des globules blancs, des globules rouges et des plaquettes en suspension dans un liquide appelé plasma.

Les globules rouges ont pour mission de transporter l'oxygène des poumons vers les tissus et de récupérer en retour le gaz carbonique afin de l'évacuer lors de l'expiration. Les GR sont les cellules les plus nombreuses du sang, de l'ordre de 5 millions par mm³ de sang.

Les globules blancs appelés également leucocytes sont produits par la moelle osseuse. Ils jouent un rôle important dans la défense immunitaire par production d'anticorps ; substance impliquée dans l'immunité innée. Ces anticorps peuvent résulter, soit d'un antigène provenant de globules rouges étrangers à l'individu (transfusion sanguine, grossesse) ou d'un agent pathogène, on parle alors d'Allo-anticorps; soit des propres GR de l'individu, ce sont alors des Auto-anticorps.

La transfusion sanguine est un acte médical qui consiste à donner le sang ou un de ses dérivés prélevés chez un sujet sain appelé donneur, à un sujet malade appelé receveur.

Le don du sang est une pratique qui consiste à se faire prélever une partie de son sang, ou de ses composés tel que le plasma, concentré plaquettaire ou concentrés de globules rouges (CGR), afin de l'utiliser pour des transfusions sanguines.

La transfusion de CGR apporte des antigènes étrangers aux receveurs et induit l'apparition d'allo-anticorps anti-érythrocytaires chez ce dernier.

Dans ce rapport, nous avons étudié les tests de recherches des agglutinines irrégulières chez des patients provenant de différents services de CHU Hassan II.

Recherche bibliographique :

I- Allo immunisation anti érythrocytaire :

1. Définition :

L'immunisation est un ensemble de circonstances ou de procédés qui déclenchent, chez un individu, une réaction immunitaire permettant à l'organisme de se défendre contre un antigène (substance, micro-organisme). Cette immunisation contrôlée a pour but de mettre en place des moyens de défense adaptés à la protection contre les agents infectieux pathogènes.

L'allo-immunisation anti-érythrocytaire correspond à la réponse immunitaire d'un individu vis-à-vis d'antigènes érythrocytaires étrangers, c'est-dire non présents à la surface de ses hématies [1].

On définit une allo-immunisation comme une immunisation de type humoral, qui se produit entre individus de la même espèce, tels qu'une incompatibilité Rhésus entre la mère et son enfant ou d'un rejet de greffe [1].

2. Globules rouges :

Appelés hématies ou "érythrocytes, sont des cellules anucléées, les plus abondantes, ont une forme de disque biconcave d'un diamètre d'environ 7 micromètres, Ce sont ces cellules qui donnent la coloration rouge au sang, leurs rôle est de transporter l'oxygène des poumons vers les tissus et du gaz carbonique des organes vers les poumons. Chaque GR contient de l'hémoglobine ; glycoprotéine riche en fer [1]. (tableau1 et figure 1)

Tableaux1 : Valeurs physiologique des hématies et d'hémoglobine

	Hommes	Femmes	Enfants
Nb GR 10^6 /mm ³	4,5 – 6	4 – 5,4	3,6 – 4,8
Taux Hb g/100 dl	13 – 18	12,5 – 15,5	11 – 12

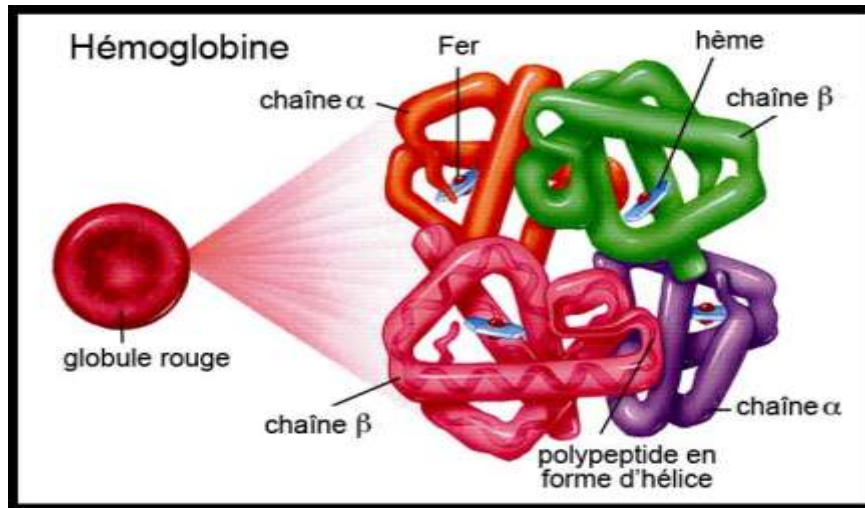


Figure 1 : Structure d'hémoglobine

3. Antigènes érythrocytaires

3.1- Définition d'un antigène

C'est une substance chimique, étrangère à l'organisme susceptible de déclencher une réponse immunitaire spécifique visant à l'éliminer [2].

Les antigènes érythrocytaires localisés sur les hématies sont aussi, dans de nombreux cas, trouvés dans les tissus et d'autre des cellules sanguines.

3.2- Classification des antigènes

Les antigènes sont classés selon leurs fonctions, on définit ainsi les :

- Immunogènes qui sont capables d'induire une réponse immunitaire par eux-mêmes.
- Les haptènes, molécules capables de réagir avec des anticorps mais sont incapables de stimuler directement leur production .

3.3- Nature des Antigènes de surface

On trouve à la surface des GR des antigènes membranaires érythrocytaires ; molécules capables d'être reconnues par le système immunitaire et de déclencher une réponse immune. [2]

Leur nature chimique est variable, ils peuvent être des protéines, glycoprotéines (protéine + polysaccharide) ou des glycolipides (lipide + oligo-polysaccharide)

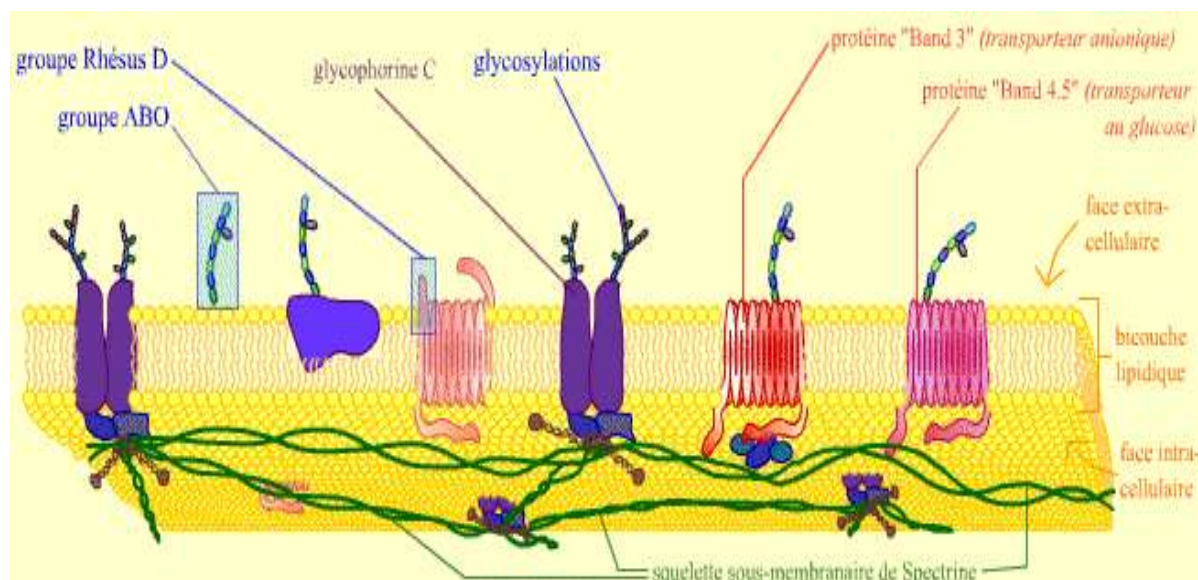


Figure 2 : Structure de la membrane érythrocytaire

3.4- Différents types d'antigènes

L'ensemble des variants antigéniques d'un composé membranaire constitue un système.

On a identifié à ce jour plus de vingt systèmes antigéniques érythrocytaires chez l'homme :

Tableaux 2 : Différents groupes sanguins

Groupes sanguins	Antigènes
ABO	A et B
Rhésus	D (présent + ou absent -), E ou e, et C ou c
Kell	K et k

4. Anticorps anti érythrocytaires

4.1- Définition d'anticorps

C'est une protéine plasmatique appelée immunoglobuline du groupe beta globulines qui réagit spécifiquement avec l'Ag [2].

La recherche d'anticorps érythrocytaires permet de détecter chez les individus d'autres anticorps que ceux dirigés contre les antigènes A et B. Cette recherche est particulièrement importante chez la femme enceinte porteuse de groupe Rh négatif.

4-2- Structure des anticorps

Les anticorps présentent une structure de base commune : chacun se compose de deux chaînes polypeptidiques lourdes et de deux chaînes polypeptidiques légères identiques, reliées par des ponts disulfures. Les chaînes lourdes et légères incluent des régions constantes (CL, CH) et des régions variables (VL, VH). Les régions variables des deux chaînes déterminent le site de liaison (paratope) d'un déterminant antigénique (épitope) spécifique. L'épitope est la partie de l'antigène qui est reconnue par l'anticorps. De plus, les régions constantes des chaînes lourdes déterminent la catégorie d'immunoglobuline à laquelle appartient l'anticorps (IgM, IgG, IgD, IgA ou IgE). La catégorie d'immunoglobuline est aussi appelée isotype [4].

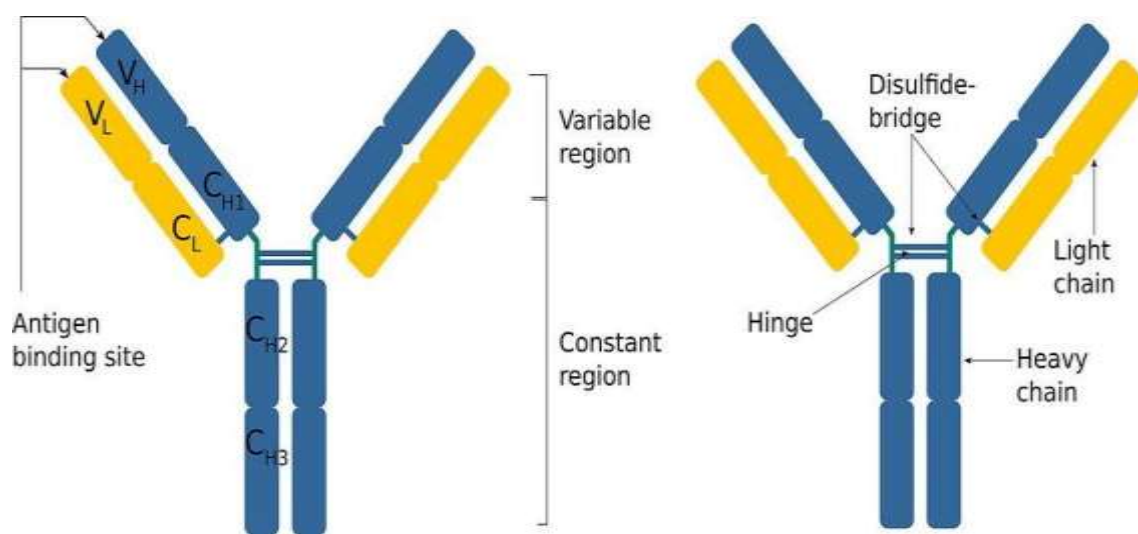


Figure 3: Structure d'un anticorps

4-3 Classification des anticorps

Les Anticorps anti érythrocytaires sont classés en :

- **Anticorps naturels** : sont des IGM, des IGG et même parfois des IGA. Ils représentent le premier obstacle à la transfusion de concentrés globulaires. Ces anticorps naturels sont soit réguliers, soit irréguliers.
- **Anticorps immuns** : Ils constituent un matériel fondamental pour l'étude des antigènes de groupes sanguins et de leur immunogénicité. C'est le plus immunogènes, capables d'induire la formation d'allo anticorps anti-érythrocytaires chez des patients polytransfusés et les femmes enceintes [5].
- **Allo anticorps du système Rhésus** : Conséquences des anticorps anti-érythrocytes

En se fixant sur le GR, les AC provoquent une hémolyse intravasculaire massive par activation du complément, et par conséquent un raccourcissement de la durée de vie des hématies [5].

5. Cinétique des anticorps anti-érythrocytaire

La cinétique des réactions primaires et secondaires (apparition et disparition des anticorps) dépend des antigènes et de leur élimination.

5-1. Réponse primaire :

Lors d'une première stimulation antigénique, on observe au début une phase de latence, sans anticorps détectables. 15 à 20 jours après le contact avec l'antigène, les anticorps se développent, principalement des IgM dont le titre augmente de façon exponentielle pour atteindre une concentration suffisante pour éliminer l'antigène. Puis les anticorps diminuent ; par suite d'une dégradation naturelle ou de leur fixation sur l'antigène, jusqu'à ce qu'ils disparaissent du sang circulant [6].

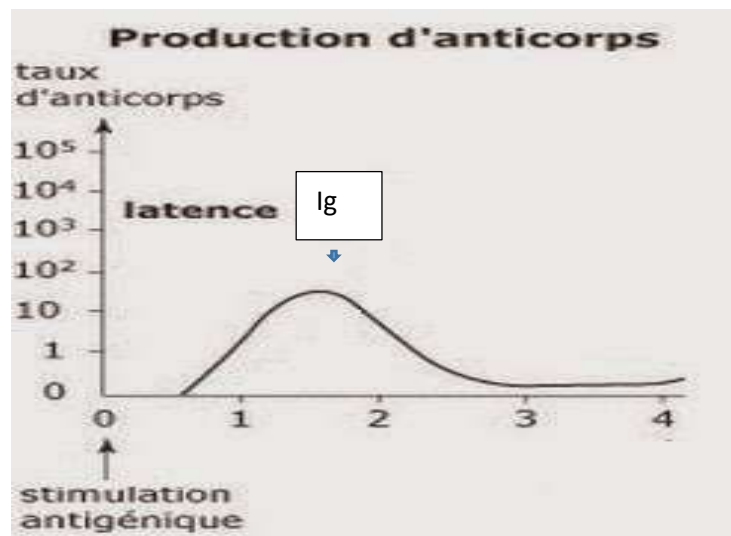


Figure 4 : Taux de production d'anticorps au cours de la réponse primaire

5-2. Réponse secondaire :

À la suite d'une deuxième stimulation antigénique, la cinétique des anticorps dans la circulation est différente de la réponse primaire. La phase de latence est plus courte, ainsi les anticorps apparaissent plus rapidement en 24 à 48h, avec une concentration en anticorps nettement plus élevée (>10 fois) que la réponse primaire. La nature des anticorps produits est différente de la réponse primaire essentiellement des IgG [6].

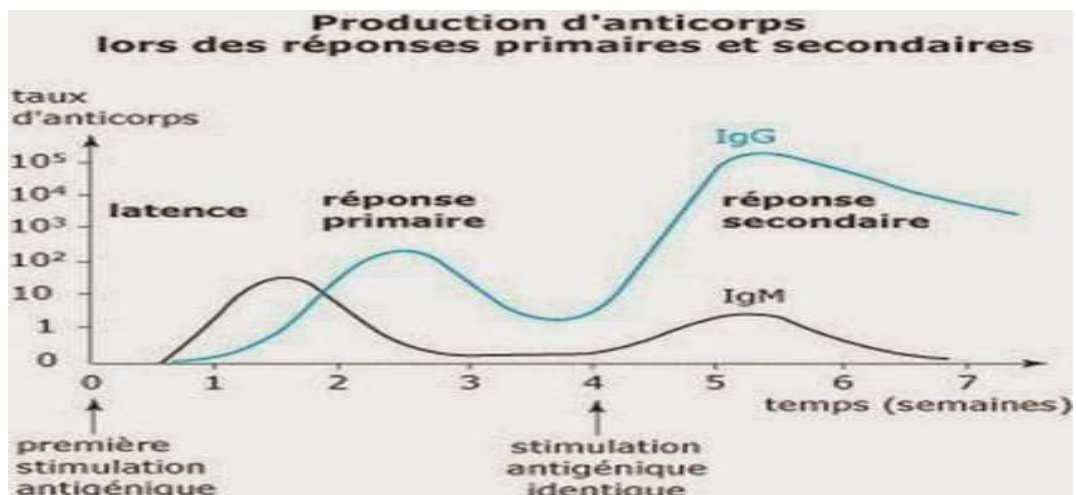


Figure 5 : Production des anticorps lors de la réponse primaire et secondaire

6. Facteurs affectant la production d'Anticorps:

La réponse immunitaire au même antigène est variable d'une personne à l'autre. Dans La plupart de cas le système immunitaire implique une coopération entre les lymphocytes T et les lymphocytes B. Lors de l'activation, les lymphocytes B se différencient en plasmocytes capables de sécréter l'anticorps spécifique de l'antigène cible. Bien qu'il y ait deux réponses, réponses cellulaires et réponses humorales [3].

6-1 Système HLA et immunisation anti-érythrocytaire :

Une des caractéristiques du système HLA est son polymorphisme. La principale fonction des molécules HLA est La présentation des antigènes peptidiques aux lymphocytes T. D'une manière générale, les molécules HLA de classe II Présentent des antigènes exogènes aux lymphocytes T CD4+ Auxiliaires. Ces molécules HLA de classe II sont formées d'une Chaîne alpha et d'une chaîne beta Seule une bonne interaction entre le peptide et la cavité formée par les chaînes alpha et beta va permettre la présentation de ce peptide au lymphocyte T CD4+.

L'activation des lymphocytes TCD4+ enclenche une coopération cellulaire avec les lymphocytes B pour la production d'anticorps spécifiques du peptide présenté [5].

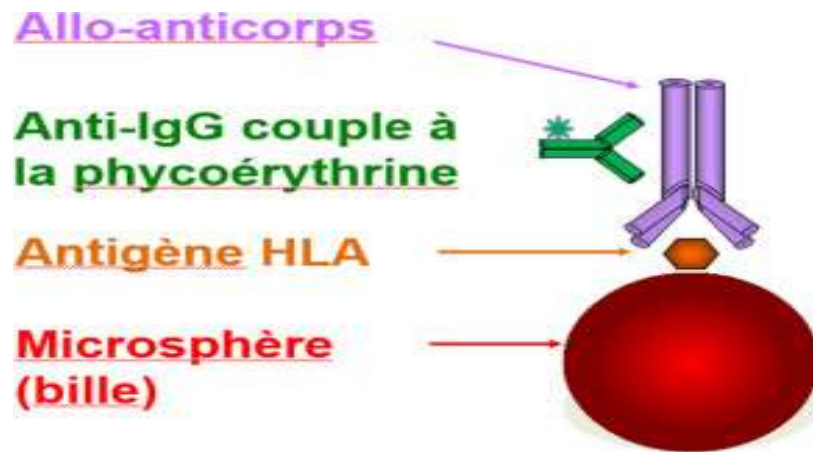


Figure 6 : Schéma d'une allo- immunisation anti-HLA

II- Immuno-hématologie

L'immuno-hématologie est la science consacrée à l'étude des propriétés antigéniques du sang, des réactions immunologiques correspondantes, et des pathologies qui y sont associées.

Immunohématologie est une discipline qui étudie dans les groupes sanguins, le système HLA, les systèmes rhésus (RH), les systèmes kell (KEL), certaines maladies auto-immunes, l'incompatibilité fœto-maternel, les réactions allergiques immunitaires affectant les composants symboliques du sang, etc.

1-Les systèmes de groupes sanguins

1.1-Définition du groupe sanguin érythrocytaire :

Les groupes sanguins, ou phénotypes érythrocytaires, correspondent à des antigènes membranaires de l'érythrocyte, dont l'expression est déterminée par une série de systèmes génétiques polymorphes. Les groupes sanguins érythrocytaires peuvent être définis comme l'ensemble des antigènes allo-typiques, génétiquement transmis, détectés par des anticorps spécifiques à la surface de la membrane érythrocytaire [7].

1.2-Notion d'Ag-AC

Les réactions antigène-anticorps sont des réactions très spécifiques. Un anticorps ne peut reconnaître qu'un antigène cible.

On a par exemple Le système immunitaire de l'organisme réagit à un vaccin en produisant des substances (telles que des anticorps et des globules blancs) qui reconnaissent et attaquent

la bactérie ou le virus spécifique contenu dans le vaccin. Ces anticorps et autres substances qui préviennent ou atténuent la maladie seront donc produits automatiquement chaque fois que le patient sera exposé à cette bactérie ou à ce virus spécifique [2].

1.3-Les systèmes de groupes sanguins

a)- le système ABO

Ensemble d'antigènes génétiquement déterminés, présents à la surface de la membrane des cellules sanguines, le système ABO est plus important en terme immuno-hématologique grâce à son implication dans la transfusion sanguine et aussi pour la transplantation d'organe. Le groupe sanguin ABO est défini par la présence ou par l'absence d'antigènes à la surface des hématies et D'anticorps dans le plasma.

❖ PHENOTYPE :

Ensemble des caractères apparents d'un individu.

❖ GENOTYPE :

Ensemble du matériel génétique porté par un individu, y compris les gènes non exprimés.

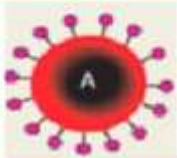
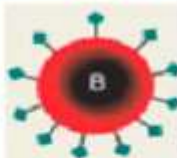
Il existe deux antigènes ABO, présents à la surface des globules rouges et de la plupart des tissus de l'organisme:

- L'antigène A
- L'antigène B.
- Il existe deux sortes d'anticorps ABO :
- Les anticorps anti -A
- Les anticorps anti -B.

Ils sont :

- naturels
- réguliers
- IGM.

On détermine leur présence dans le plasma quand l'antigène correspondant est absent de l'hématie et leur Absence dans le plasma lorsque l'antigène correspondant se trouve à la surface de l'hématie [8].

Groupe sanguin	Antigène à la surface du GR	Anticorps naturels présents dans le plasma	Pourcentage de la population
A	 Ag A	 Ac anti B	45 %
B	 Ag B	 Ac anti A	9 %
O	 Pas d'AG	 Ac anti A et anti B	43 %
AB	 Ag A et Ag B	 Aucun Ac	3 %

Le groupe A a des Ag A sur les GR et l'Ac antiB présent naturellement dans le plasma.
 Le groupe AB a des Ag A et l'Ag B sur les GR mais n'a aucun Ac dans le plasma.
 Le groupe O n'a pas d'Ag A et B sur les GR mais a des anticorps anti A et anti B dans le plasma.

Figure 7: Schéma illustrant les différents antigènes et anticorps du système ABO

b)- le système rhésus (Rh)

Le système Rh est un système de groupe sanguin qui est complexe. Les GR possèdent à leur surface de nombreux antigènes qui sont caractéristiques de la personne. Le système rhésus est la présence d'un antigène particulier à la surface des GR. Cet antigène s'appelle l'antigène D dont la présence définit le rhésus positif (qui agglutine le sang du macaque rhésus, d'où son nom), et son absence définit le rhésus négatif. Il existe en fait 5 types d'antigènes, D(RH1), C(RH2), E(RH3), c(RH4), e(RH5) [8].

La présence du seul antigène e (donc Rh+) suffit à faire fabriquer à la personne qui en est dépourvue (donc Rh-) des anticorps qui vont détruire les GR qui n'ont pas cet antigène.

• LES ANTICORPS DU SYSTEME RHESUS

Il n'y a pas d'anticorps naturels. Les anticorps identifiés dans le système Rhésus sont tous d'origine immune et de nature IgG. Deux origines sont possibles :

- la transfusion

- la grossesse.

c)- le système KELL (KEL)

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

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

Les anticorps anti-k (KEL2) 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 [9].

d)-Autres systèmes d'intérêt clinique en transfusion sanguine

Trois autres systèmes d'antigènes " secondaires " doivent être connus et pris en considération dans les conflits immunologiques potentiels provoqués par une transfusion ou une grossesse incompatible : les systèmes Duffy (FY), Kidd (JK) et MNS.

➤ LE SYSTEME DUFF(FY)

Il s'agit également d'un système immunogène. Il comprend 2 antigènes principaux : Fya (FY1) et Fyb (FY2). Il existe théoriquement 3 phénotypes possibles : Fy (a+b-), Fy (a+b+) et Fy (a-b+)

➤ LE SYSTEME KIDD (JK)

Représenté par 2 antigènes principaux : Jka (JK1) et Jkb (JK2) aussi immunogènes que les antigènes du système Duffy qu'ils peuvent se retrouver à la surface des tissus les antigènes JK sont strictement érythrocytaires.

➤ LE SYSTEME MNS

Ce système doit prendre en compte deux antigènes principaux:

- S (grand S – MNS3)
- s (petites – MNS4).

Les anticorps anti-S (MNS3) et anti-s (MNS4) peuvent être responsables de réactions hémolytiques Transfusionnelles et de maladies hémolytiques du nouveau-né [9].

❖ LA RECHERCHE D'AGGLUTININES IRREGULIERES (RAI)

1. DEFINITION :

C'est un examen biologique très fréquent est réalisé principalement dans 3 contextes différents, le bilan préopératoire, le suivi post-transfusionnel et la grossesse [2] .

2. AGGLUTININE IRREGULIERE

Une agglutinine irrégulière est un anticorps de nature IgG, résultant de la stimulation par un antigène de groupe sanguin autre que le système ABO = allo immunisation.

3. PRINCIPE

Le principe de la RAI repose sur la détection de l'existence d'anticorps irréguliers chez un patient en faisant réagir son sérum vis à vis d'une gamme d'hématies tests de groupe O et de phénotypes connus [8].

2 -L'incompatibilité immunologie érythrocytaire

2.1- Définition

En raison de la diversité du système de groupes sanguins érythrocytaires et de ses polymorphismes. La réponse du receveur peut prendre des formes très variées, allant de la simple immunisation jusqu'à l'accident d'hémolyse aiguë, avec toutefois une majorité de transfusions où il n'y aura pas de réponse immune. L'incompatibilité immunologique érythrocytaire peut aussi résulter de l'apport, lors de la transfusion, d'anticorps anti-érythrocytaires du donneur, incompatibles avec les antigènes du receveur [10] .

2.2- Physiopathologie

La destruction des hématies du receveur peut se faire de deux façons :

➤ L'hémolyse intravasculaire

Le conflit immunologique qui se déroule à la surface du globule rouge va provoquer l'activation du complément et la lyse membranaire, libérant de l'hémoglobine dans la circulation sanguine. Le plus souvent, mais pas toujours, il s'agira d'une forme immédiate d'incompatibilité immunologique érythrocytaire.

➤ L'hémolyse extravasculaire

Le conflit immunologique va se limiter à la présence d'anticorps ou de fragments du complément à la surface du globule rouge, mais sans lyse membranaire. Ces composants vont être reconnus par les macrophages du système réticulo-endothélial, entraînant le retrait de ces hématies de la circulation et leur destruction extravasculaire. Celle-ci entraînera l'accumulation de produits de dégradation de l'hémoglobine, comme la bilirubine [10].

Partie pratique

1-Matériel et méthodes

1.1-Matériel

a) matériel utilisés :

➤ **Plaque d'opaline et Microplaque**

-Une microplaque contient 8 lignes (A, B, C, D, E, F, G, H.), chaque ligne est constituée de 12 puits.

Dans une seule microplaque on détermine le groupage ABO D et le phénotype Rh-KEL pour 8 échantillons de sang différents.

➤ **Centrifugeuses**

Dans l'unité IHR on utilise 3 centrifugeuses différentes :

-Une centrifugeuse de tube modèle "HERAEUS MEGAFUGE 8", qui permet de centrifuger 28 tubes au même temps.

-Une centrifugeuse de microplaque, modèle "Bio-Rad", elle permet la centrifugation de 2 microplaques au même temps.

- Centrifugeuse pour les cartes gels, utilisés pour la RAI et le test de Coombs directs, modèle "Bio-Rad", sa capacité est de 12 cartes gels.

➤ **Incubateur**

Pour l'incubation les tubes.

➤ **Agitateur de microplaques**

● **Les réactifs**

Les réactifs utilisés pour les différents tests sont les suivants :

- kit de sérum-test pour le groupage ABO D : anti- A, anti-B, anti-AB et anti D ;

- kit de DIGAST:
 - anti-A: (ref Lot 2: 600 134C2)
 - anti-B: (ref Lot 610164G2)
 - anti-AB :(ref Lot 620119C3)
 - anti-D : (ref Lot 478000)

- kit de sérum-test, utilisé pour le phénotypage RH-KEL1 ;

- Kit de DIAGAST :
 - Anti-C (ref Lot 834000)
 - Anti-c:(ref Lot 835000)
 - AntiE: (ref Lot 829000)
 - Anti-e:(ref Lot 837000)
 - Anti-KEL1: (ref Lot 835000)

-Pour les tests de Coombs (Direct et Indirect), on utilise une Carte gel ‘‘Liss-Coombs’’ composée de six micro-tubes remplis de gel qui est imprégné d’une Anti-Globuline Humain (AGH), poly-spécifique (anti-IgG/C3d) pour la détection des anticorps et des fragments de complément.



Figure 8 : Carte gel ‘‘Liss-Coombs’’ pour le test de Coombs indirect (RAI)

➤ **Pour la dilution des réactifs et des hématies, on utilise :**

-L'albumine à 1%, utilisée pour la dilution des sérums-tests ;

-LISS (Low Ionized Strength Solution), utilisé pour diluer les hématies impliqués dans les tests de coombs (Direct et Indirect) réalisés sur la Carte gel "LISS-Coombs", sinon on dilue avec de l'eau physiologique lorsque le test est effectué sur des tubes.

1.2-Méthodes

a) Groupage ABO-Rhésus et phénotypage RH-KEL :

La détermination du groupe ABO est réalisée par deux techniques :

- Epreuve de Beth Vincent, consiste à rechercher les antigènes A et B érythrocytaires
- Epreuve de Simonin ou sérique consiste à rechercher les anticorps anti-A et anti-B ; réalisée à l'aide des sérums-tests anti-A, anti-B, anti-AB et anti-D.

-Etapas de groupages

- Sur la plaque d'opaline :

- ✓ Pour le test de BETH-VINCENT :

- On dépose 25µl des réactifs : anti- A, anti-B, anti-AB et anti D,
- Puis on rajoute avec une micropipette 25µl du sang du patient.

- ✓ Pour le test de SIMONIN:

- On dépose 25µl des hématies-test connus A et B.
- Puis on rajoute avec une micropipette le sérum du patient après centrifugation du sang (4000tpm pendant 2min).

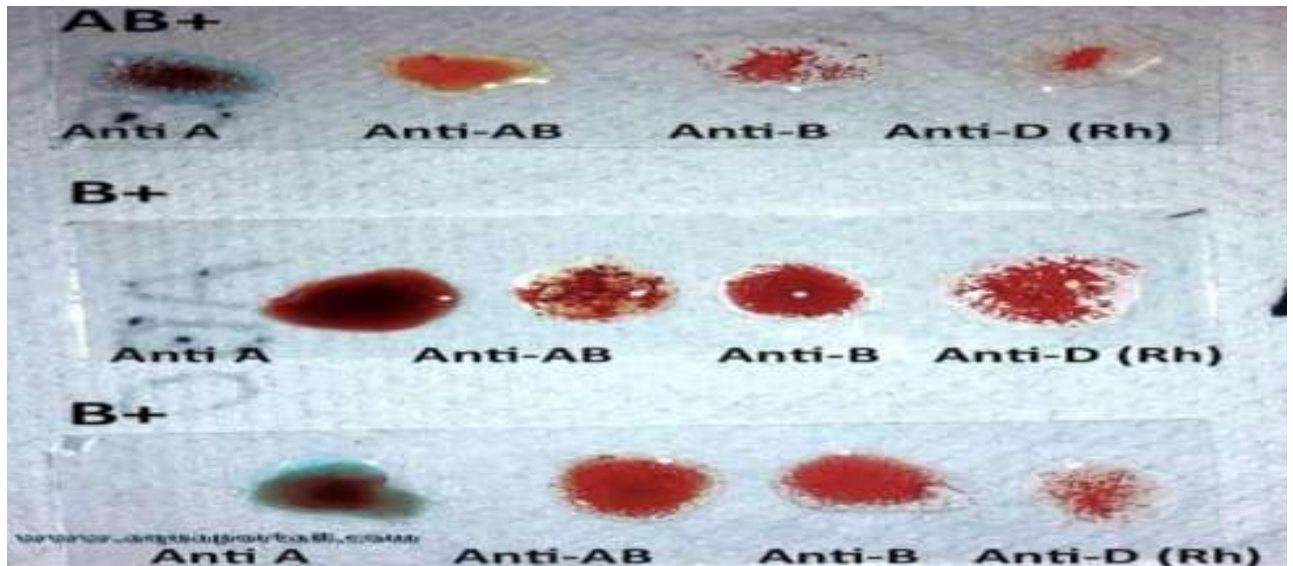


Figure 9a : Groupage ABO-Rh sur la plaque d'opaline

Après dépôt des réactifs et du sang, on mélange chaque goutte de réactif avec la goutte du sang déposée.

- **Lecture des résultats**
 - ❖ **Sur la microplaque : (la plus utilisée)**

On utilisant la microplaque, on associe le groupage ABO D et le phénotypage RH-KEL.

- **Dépôt de réactifs :**

On dépose 25µl de :

➤ **Pour L'épreuve de BETH-VINCENT**

- L'anti-B dans les puits de la colonne 1,
- L'anti-A dans les puits de la colonne 2,
- L'anti-AB dans les puits de la colonne 3,
- L'anti-D dans les puits de la colonne 4,
- Les hématies-test A et B sont déposées respectivement dans les puits des colonnes 5 et 6 : L'épreuve de SIMONIN.

➤ **Le phénotypage Rh-KEL**

- L'anti-C dans les puits de la colonne 7,
- L'anti-c dans les puits de la colonne 8,
- L'anti-E dans les puits de la colonne 9,
- L'anti-e dans les puits de la colonne 10,
- L'anti-KEL1 dans les puits de la colonne 11,

Dans la colonne 12, on met de l'eau physiologique pour la dilution du culot globulaire.

- **Dépôt de l'échantillon :**

- Dans la ligne A, pour le sang d'un patient, et après centrifugation, on met 25µl du sérum pour chaque puits 5 et 6 : test de SIMONIN,
- Dans les puits 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10 et 11 on met du culot globulaire après sa dilution dans le puits 12 avec de l'eau physiologique : test de BETH-VINCENT+Phénotypage RH-KEL
- Centrifugation à 1000 tpm pendant 2min.
- Puit agitation, pour que la réaction Ag-Ac s'effectue

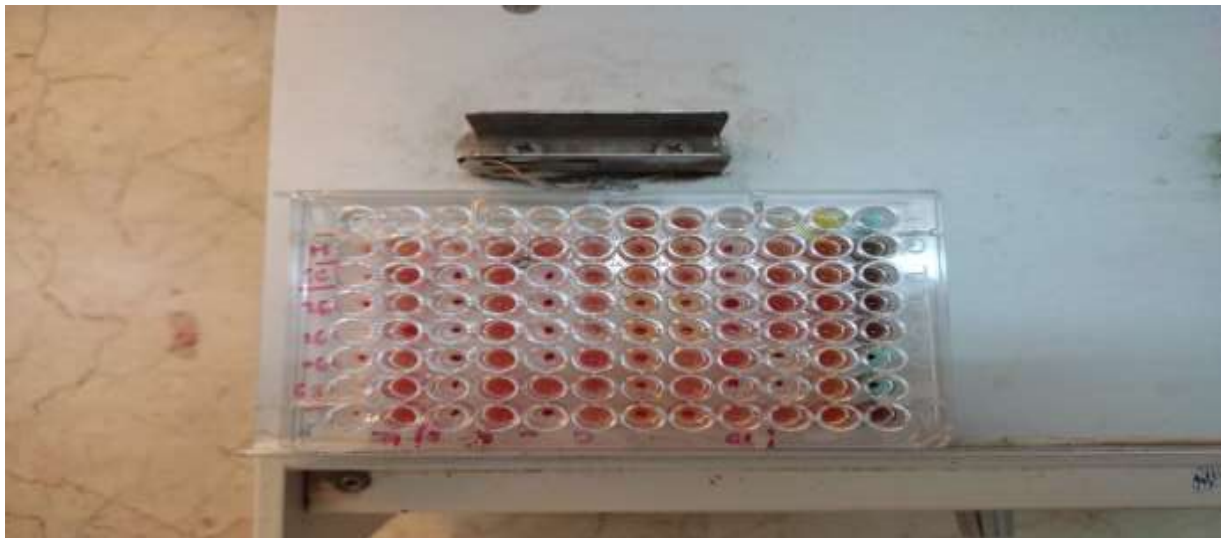


Figure 9b : Détermination du groupe ABO-Rh et du phénotype Rh-KEL

b) Test de Coombs Indirect : la RAI:

Il est impératif de réaliser ce test avant chaque transfusion sur un prélèvement frais de

moins 24 h.

-Mode opératoire :

Dans l'unité IHR, on reçoit 3 panels d'hématies-tests : panel 1, 2 et 3 sous-forme des tubulures.

Chaque panel contient un nombre d'antigènes érythrocytaires bien connus.

➤ Préparation des hématies-tests :

Lavage des hématies-tests :

- On prend de chaque panel, une tubulure et on la verse dans un tube à hémolyse marqué comme le numéro du panel,
- Au niveau de chaque tube, on rajoute de l'eau physiologique, puis on les centrifuge à 4000tpm pendant deux minutes. On répète cette action jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair et net, et généralement après le 3ème lavage



Figure 10a : Tubes à hémolyse contenant, les hématies-tests après lavage

Dilution des hématies-tests :

- On réalise une dilution de 0,8% pour les hématies-tests de chaque panel.

◆ Préparation du sérum de patient :

- Centrifugation du sang à 4000tpm pendant 2 min.

♦ Etapes du test de Coombs Indirect :

- Dans chaque puits de la carte gel on met :

-50µl des hématies-tests préparés,

-25µl de sérum du patient.

-La carte gel contenant les hématies-tests plus le sérum, est incubée à 37°C pendant 15 min.

(phase de sensibilisation)

-Centrifugation de la carte à 1000tpm pendant 10 min. (phase de révélation)

- Lecture des résultats

- Dépôt des hématies-tests au fond du puits : Pas d'agglutination → **RAI Négative.**

-Fixation des hématies-tests à la surface du réactif : Agglutination → **RAI Positive.**



Figure 10b : RAI négative

10c : RAI positive

❖ Choix des CGR compatibles

Selon les résultats de la RAI :

- **RAI négative:** livraison au patient de concentré de GR (CGR) iso-groupe ABO-D et phénocompatible RH-KEL1.

- **RAI positive :** dans ce cas on identifie l'anticorps en cause c'est-à-dire l'existence d'un ou plusieurs AC irréguliers, donc deux gestes à respecter :

*le sérum du patient est envoyé au "Centre de Référence Erythrocytaire" pour

l'identification des anticorps irréguliers ;

*Réalisation du Test de Compatibilité Direct au Laboratoire (TCDL).

Ce test correspond à la réalisation d'une épreuve croisée entre le sérum du receveur et les hématies contenus dans la tubulure des CGR qu'on désire lui attribuer (isogroupe ABO-D et phénocompatibles RH-KELL).

Le TCDL a le même principe que le test de RAI mais à la place des hématies-tests on met les hématies du CGR qu'on veut donner.

On confirme que le CGR est ''compatible'' si le TCDL est négatif, sinon (TCDL Positif), on répète le test avec chaque poche de CGR qu'on suppose contenir du sang compatible, jusqu'à l'obtention d'un résultat négatif.

2-Résultats et discussion

- Résultats

Cette étude a été réalisée au Centre de Transfusion Sanguine des Fès pendant 2 mois du 25/04/2022 au 25/05/2022.

Nous avons étudié les tests de recherches des agglutinines irrégulières chez des patients provenant de différents services de CHU Hassan II.

- Population d'étude

les tests RAI ont été déterminés chez une population portant sur 20 patients, suivis au dans différents services du CHU HASSAN II de Fès, (services d'Oncologie et services radio et choc et médecine interne).

La population d'étude est constituée par des patients ayant subi plus de deux séances de transfusion. On inclut dans cette étude les malades polytransfusés

Les tests Rh-KEL et le phénotype élargi (DUFFY, KIDD, MNS, ...) sont obligatoirement réalisés avant la 1ère transfusion.

Pour chaque patient et avant chaque transfusion on réalise un test de RAI sur un prélèvement frais de moins 24 h.

➤ Etude épidémiologique Selon le sexe

L'étude montre que le test RAI a été réalisé chez 12 femmes ce qui représente 60%, alors que les hommes représentaient 40%.

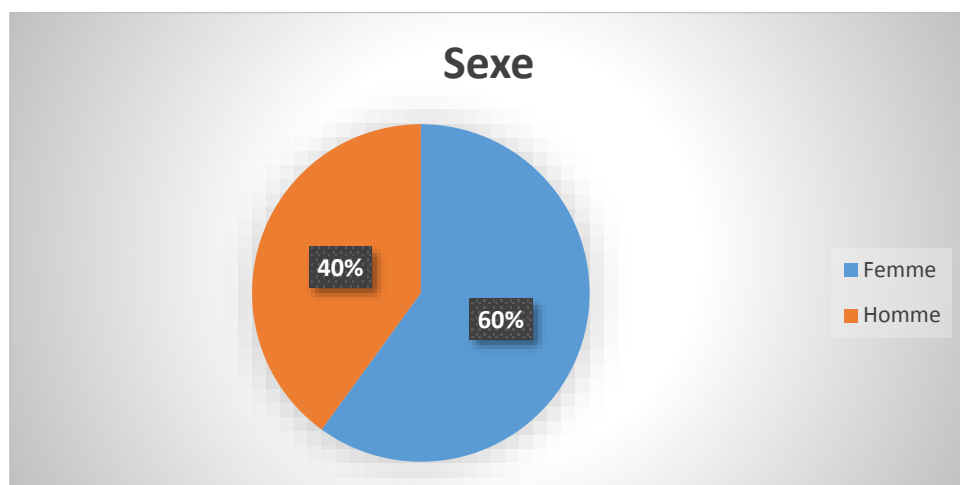


Figure11a : Répartition des résultats selon le sexe

Le calcul du sex-ratio H/F et de 0,66, ce qui montre que les tests ont été réalisés d'avantage chez les femmes.

Nous allons également étudier la répartition des patients selon certains nombre de paramètres à savoir le service, groupe ABO, le sexe et les résultats de RAI

Tableau n° 3: Tableau récapitulatif des différentes données des patients immunisés

Numéro de tube	Service	RAI	Groupes ABO	Phénotypage	Sexe
1	Médecine interne	+	AB+	C E Kell	F
2	Oncologie	+	A+	C E Kell	F

Nombre de patients avec RAI positive les résultats nous montrent que 2 patients ont une RAI positive représentent 10 %.

Le but de cette étude est de déterminer le pourcentage de patient présente une RAI positive parmi les 20 patients.

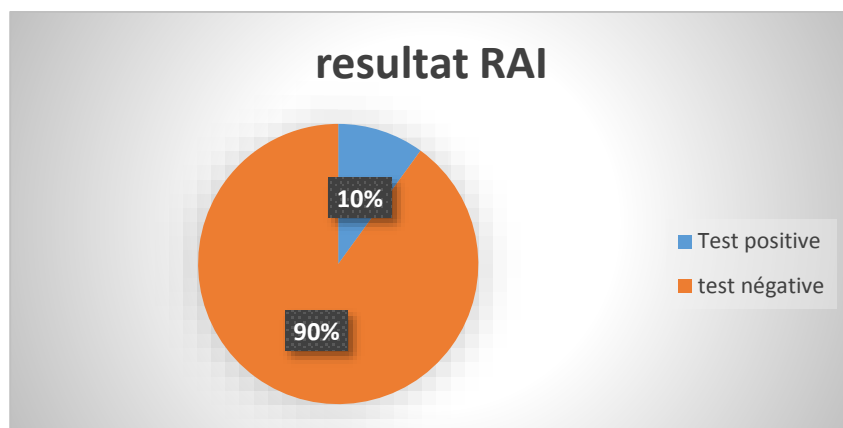


Figure 11b : Répartition les résultats selon resultat RAI

2.2-Discussion

Dans notre échantillon, l'objectif est de déterminer l'allo-immunisation érythrocytaire chez les malades polytransfusés du service d'hématologie-oncologie médicale qui ont une RAI positive. Le dépistage et l'identification des anticorps ont été réalisés par le test de Coombs indirect.

Le test est considéré comme étant positif lorsque des agglutinines irrégulières sont détectées. Dans ce cas précis, des examens complémentaires doivent être réalisés afin de déterminer vers quels types d'antigènes ils sont dirigées. En prévision d'une future transfusion sanguine, cela s'avère essentiel pour contrôler la compatibilité avec le sang du donneur et éviter le choc transfusionnel. Par contre le cas de RAI négative la recherche ne détecte pas d'agglutinines irrégulières, le risque d'incompatibilité foeto-maternel et transfusionnel est considérablement réduit.

Une étude réalisée en 2001 sur 42 autrichiens polytransfusés souffrant d'un syndrome myélodysplasique révélait une RAI positive chez 21% des patients. Au Bénin, la transfusion sanguine est réalisée dans un contexte de compatibilité dans les systèmes ABO et RH1 et la recherche d'anticorps irréguliers ne se fait pas de façon systématique au cours du bilan pré et post transfusionnel. Une telle pratique pourrait accroître les risques d'allo-immunisation anti-érythrocytaire, et engendrer des complications cliniques chez les polytransfusés tout en compromettant l'avenir obstétrical des sujets de sexe féminin. La répartition des polytransfusés de sexe féminin montrait que 10 sur les 21 femmes incluses (47,62 %) étaient des multigestes [11].

2.3-Conclusion

De ce fait, on peut conclure que :

- La capacité de réagir aux allo-antigènes varie considérablement d'une personne à une autre.
- La recherche d'agglutinines irrégulières systématique avant transfusion et la sélection de CGR phénotypés dans le système RH-KEL a pour but l'augmentation de la sécurité immunologique chez les polytransfusés.

L'immunisation anti-érythrocytaire représente un sérieux problème chez les patients polytransfusés. Elle souligne l'importance de transfuser en respectant le phénotype Rhésus/Kel1 surtout chez les femmes et chez les polytransfusés potentiels à fin de réduire le taux d'allo-immunisation. Les associations d'allo-anticorps de faible prévalence phénotypique doivent inciter à la promotion du don de sang ciblé.

Références Bibliographiques

- <https://www.larousse.fr> [1]
- <https://www.science directe.com> . [2]
- <https://planet-vie.ens.fr> [3]
- <https://www.futura-sciences.com> [4]
- Pham B-N., Le Pennec P., Rouger P., 2012, Allo-immunisation anti-érythrocytaire. Transfus Clin Biol, 19 : 321–32. [5]
- <https://www.toutsurlatransfusion.com> [6]
- Chiaroni J., Roubinet F., 2005, Groupes sanguins érythrocytaires, 112 [7]
- Janot C., Chiaroni J., Lejeualle A., Mathieu-Nafissi S., Roubinet F., 2002, ImmunoHématologie et Groupes Sanguins, Cahier de Formation Bioforma, 26 :176. [8]
- Schved J-F., 2007, Immuo-Hématologie Erythrocytaire. Hématologie, 4 - Thuret I., 2008, La Beta thalassémie, Encyclopédie Orphanet Grand public. [9]
- Ameen R., Al-Eyaadi O., Al-Shemmari S., Chowdhury R., Al-Bashir A., 2005, Frequency of read blood cell Alloantibody in Kuawaiti population. Med Princ Pract; 14(4) : 230–4 - ANSM, 2012, Fiche technique, Incompatibilité Immunologique Erythrocytaire, [10]
- Mortelecque R, Mercadier A. Recherche d'anticorps anti-érythrocytaires. In: Chiaroni J, Roubinet F, Bailly P, Mannessier L, Noizat-Pirenne F. Les analyses immunohématologiques et leurs applications cliniques. Montrouge: John Libbey Eurotext 2011;67-77. [11]

