

République algérienne démocratique et populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
UNIVERSITE DE JIJEL

FACULTE DE SCIENCE  
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE ET DE MICROBIOLOGIE



Mémoire  
*De fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'études  
Supérieures*

*Option : Biochimie*

*Thème*

*La recherche des Anticorps irréguliers  
chez les femmes enceintes rhésus négatif  
et efficacité de l'anti- D*

Membre de jury

Président : M<sup>r</sup> Handis M<sup>ed</sup> Saddek

Examinatrice : M<sup>me</sup> Hireche Saliha

Encadreur : M<sup>elle</sup> Bouhafs Leila



Présenté par :

Guemri Souad

Lasmar Wassila

Ledjradi Houria

*Promotion : 2006*

## **Remerciement**

*Avant tous nous remercions Dieu, le tout puissant et prions de nous accorder tout au long de notre future profession volonté et persévérance*

*Nous tenons à exprimer notre grand respect et profonde gratitude à notre promoteur : M<sup>elle</sup> « Bouhafis Leila » pour son aide et sa patience*

*Nous remercions aussi toutes les personnes qui ont participer de prés ou de loin à la réalisation de ce travail, principalement tout le personnel de service de maternité et gynécologie de Jijel et également nous remercions vivement les membres de jury d'avoir accepter de juger ce modeste travail.*

*Sans oublier de remercier « Mr: Gherraz Sofiane , Zofo Bureau d'étude (Génie Informatique) » .*

**Souad,**

**Wassila.**

**Houria,**

## *Dédicace*

Nous dédions ce travail :

- A nos parents qui ont tout faits pour nous voir grandirent et nous ont encouragé pour avoir ce diplôme.
- A nos familles.
- A nos amis.
- A nos collègues.

A toutes les personnes qui nous aiment nous offrons ce travail.

*Suoâd , Houria , Wassila.*

# SOMMAIRE

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Abreviation	
Glossaire	
<b>Introduction</b>	<b>01</b>
<b>PARTIE THEORIQUE</b>	
<b>CHAPITRE I : LES GROUPES SANGUINS</b>	
1. Les groupes sanguins	
1-1- Définition	03
2- Les antigènes et les anticorps du groupes sanguins	03
3- Les différents systèmes sanguins des groupes sanguins	03
3-1- Le système ABO	04
3-1-1- Définition	07
3-1-2- La génétique	05
3-1-3- La génétique des antigènes ABO	05
3-1-4- Nature des antigènes du système ABO	06
3-1-5- Les antigènes et les anticorps de système ABO	07
3-2- Le système rhésus	07
3-2-1- Historique	07
3-2-2- Définition	08
3-2-3- La génétique du système rhésus	08
3-2-4- Les antigènes et les anticorps du système rhésus	08
3-2-5- Les variantes des antigènes du système rhésus	09
3-3- Les autres systèmes	09
4- La réaction antigènes– anticorps	11
4-1- In vitro	11
4-2- In vivo	11
<b>CHAPITRE II : L'INCOMPATIBILITE FOETO-MATERNELLE</b>	
II. L'incompatibilité foeto-maternelle (IFM)	15
1- Mécanisme de l'incompatibilité foeto-maternelle	15
1-1- La sensibilisation par grossesse	15

1-2- La sensibilisation par transfusion sanguine	15
2- Les conséquences de l'incompatibilité foeto-maternelle	16
3-1 Incompatibilité foeto- maternelle dans le système ABO	16
3-1-1 La physiopathologie de l'incompatibilité foeto-maternelle par le système ABO	16
3-2- Diagnostic	17
4- L'incompatibilité foeto- maternelle dans le système rhésus	17
4-1- Immunisation anti-D	17
4-2- Physiopathologie	18
4-3-Diagnostic	18
4-3-1- Aspects cliniques	18
4-3-2- Aspects biologiques	19
4-4- Surveillance de la femme enceinte immunisée	20
4-5- L'incompatibilité (l'allo-immunisation) a des antigènes autre que D	21
5- L'incompatibilité dans les autres systèmes	21
6-1-1- La recherche de l'allo-immunisation foeto-maternelle	21

## PARTIE PRATIQUE

### CHAPITRE III : MATÉRIELS ET MÉTHODES

1-Matériels	23
1-1- Effectifs	24
1-1-1-Prélevement sanguin	24
1-1-2- Présentation des cas	25
1-1-3- Matérielle expérimentale	25
2- Méthodes utilisées	25
2-1- Détermination du groupe sanguin ABO	25
2-1-1-épreuve de beth-vincent	25
2-1-2-épreuve de simonin	26
2-2 - Détermination du groupe sanguin Rhésus	28
2-3-Détermination des phénotypage	28
2-4- La recherche des anticorps irréguliers (RAI)	29
2-4-La fabrication d'un panel d'hématies tests local	30
2-4-2- L'épreuve saline : « test d'agglutination en salin a 22° c »	30
2-4-3-Méthode enzymatique (utilisation de la broméline )	31
2-5- Test de kleihauer	31

## RESULTATS ET DISCUSSION

II. Resultats	34
Discussion	40
Conclusion	44
Annexes	
<b>Bibliographie</b>	

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 01</b> : Le système ABO .	<b>04</b>
<b>Tableau 02</b> : Les phénotypes et génotypes du système ABO.	<b>05</b>
<b>Tableau 03</b> : La nomenclature internationale des autres systèmes de groupe sanguin du Globule rouge.	<b>13</b>
<b>Tableau04</b> : Représentation des cas	<b>25</b>
<b>Tableau 05</b> : Répartition des femmes en fonctions de la parité.	<b>34</b>
<b>Tableau 06</b> : Répartition des femmes en fonctions de nombre de gestation.	<b>34</b>
<b>Tableau 07</b> : Répartition des femmes en fonction de groupe sanguin ABO.	<b>35</b>
<b>Tableau 08</b> : Résultat de phénotypage.	<b>36</b>
<b>Tableau 09</b> : Résultat de RAI avec le milieu salin	<b>36</b>
<b>Tableau 10</b> : Résultat de la RAI avec la broméline	<b>36</b>
<b>Tableau 11</b> : Nombres des hématies fœtales avant et après l'injection de l'anti-D estimé par le Test de Kleihauer .	<b>37</b>
<b>Tableau 12</b> : L'estimation du volume de sang fœtale par le test de Kleihauer après l'accouchement avant et après l'anti-D.	<b>38</b>
<b>Tableau 13</b> : Influence de la parité sur le volume des hémorragies foeto-placentaire estimé par le test de Kleihauer avant l'anti-D.	<b>38</b>
<b>Tableau 14</b> : Représentation de toute des résultats précédent	<b>39</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure01</b> : La structure des Ags du système ABO.	<b>06</b>
<b>Figure02</b> : L'épreuve de Beth-vincent et simonin.	<b>27</b>
<b>Figures03</b> : Répartitions des femmes enceintes en fonction des groupes sanguins.	<b>35</b>
<b>Figure 04</b> : Nombres des hématies fœtales avant et après l'anti-D estime par le test de KLEHHAUER.	<b>37</b>
<b>Figure05</b> : Le nombre des hématies fœtales estimé par le test de Kleihauer avant l'anti-D.	<b>39</b>
<b>Figure06</b> : Le nombre des hématies fœtales estimé par le test de Kleihauer après l'anti-D.	<b>40</b>



## Abréviation

**Ac** : Anticorps.

**Ag** : Antigène

**CTS** : Centre de la transfusion sanguine

**EDTA** : Acide diéthylène diamine tetracétriq

**GR** : Globule rouge

**HB** : Hémoglobine

**HBF** : Hémoglobine fœtale

**HM** : Hématies maternelle

**TFM** : Incompatibilité foeto-maternelle

**IgG** : Immunoglobuline G

**IgM** : Immunoglobuline M

**MHNN**: Maladie hémolytique de nouveau-né

**RAI** : Recherche des Anticorps irréguliers

**Rh<sup>-</sup>** : Rhésus négatif

**Rh<sup>+</sup>** : Rhésus positif

# GLOSSAIRE

## **Antigènes (Ag)**

Les antigènes sont des substances chimiques organiques étrangères à l'organisme, susceptibles de stimuler la production d'anticorps ou plus généralement de déclencher une réponse immunitaire.

## **Anticorps (Ac)**

Il s'agit de protéines douées de la fonction de reconnaissance spécifique des Ag qui ont provoqué leur synthèse et qui peuvent être rassemblés sous l'appellation générale d'immunoglobuline.

## **Anticorps naturel régulier**

Il est toujours pratiquement présent dans le plasma sans pré-immunisation apparente par l'Ag correspondant dont une population présentant un phénotype érythrocytaire donné. Par exemple : anti-B chez tous les sujets de phénotype A. Il s'agit en fait d'anticorps apparaissant à la suite d'une hétéro-immunisation par un antigène ubiquitaire.

## **Anticorps naturels irréguliers**

Ac parfois détecté dans le plasma sans pré-immunisation apparente par l'Ag correspondant, chez des individus présentant un phénotype érythrocytaire donné. Par exemple : anti-Lewis chez les sujets L (a- b-).

## **Allèle**

Se dit que chacune des gènes pouvant occuper un même locus et dont l'expression produit des effets différentiels sur un même caractère, les gènes A, B, O sont des allèles

[23]

### **Anasarque**

Oedème du tissu cellulaire sous- cutané avec épanchement dans les cavités séreuses (plèvre, péricarde, péritoine).

L'apparition d'une anasarque est due à diverses maladies (insuffisance cardiaque, cirrhose du foie ou insuffisance rénale)

### **Anasarque foeto-placentaire**

Il s'agit d'une complication grave de la maladie hémolytique du nouveau-né (incompatibilité entre les groupes sanguins rhésus du fœtus et celui de la mère). Elle atteint le fœtus au cours de son développement et entraîne souvent sa mort in utero.

### **Exanguino transfusion**

Remplacement de la plus grande partie du sang ou des GR d'un malade par le sang ou les GR de donneurs.

### **Génotype**

Ensemble des caractères génétiques d'un être vivant, qui se traduit ou non dans son phénotype.

### **Immunogénicité**

Capacité d'une substance à susciter une réponse immunitaire

### **Ictère**

Coloration jaune de la peau, de la sclérotique (blanc de l'œil) et des muqueuses, due à l'accumulation, dans le sang, de bilirubine (pigment dérivé de l'HB). [ 23 ]

### **Réaction immunitaire**

Réponse du système immunitaire à l'introduction d'un antigène, conduisant soit à la production d'anticorps par les lymphocyte B : réponse dite humorale, soit à la différenciation de cellules effectrices (lymphocytes T) aux fonctions multiples : réponse

dite cellulaire. En matière de transfusion, les renseignements marquent quant à l'initiation d'une réponse de ce type par antigène cellulaire.

### **Immunogénicité**

Capacité d'une substance à susciter une réponse immunitaire.

### **Maladie hémolytique du nouveau-né**

Destruction des GR d'un nouveau-né causé par une incompatibilité sanguine entre sa mère et lui

### **Phénotype**

Ensemble des caractéristiques corporelles d'un organisme, le phénotype est l'expression morphologique de certains éléments de génotype

### **Primigeste**

Se dit d'une femme qui est enceinte pour la première fois

### **Primipare**

Se dit d'une femme qui accouché pour la première fois.

### **Locus**

Position sur un chromosome où l'on trouve un gène. [23]

# Introduction

## **INTRODUCTION**

Les incompatibilités fœto-maternelles bien que moins fréquentes et moins dramatiques qu'il y a quelques dizaines d'années restent un sujet d'actualité.

En effet l'alloimmunisation fœto-maternelle survient lorsque la mère développe des anticorps immuns spécifiques d'un antigène porté par son fœtus et que elle ne possède pas.

L'incompatibilité Rhésus D s'avère la plus sévère à cause des accidents qu'elle entraîne , aussi bien dans la vie intra-utérine qu'à la naissance : cette incompatibilité qui encore la plus souvent rencontrée en dépit des possibilités de prophylaxie existant depuis vingt ans n'est pas la seule en cause , les anticorps de plusieurs autres systèmes de groupes sanguins souvent stimulés suite à une transfusion sont susceptibles d'être à l'origine des maladies hémolytiques perinatales dont certaines peuvent être aussi graves.

Le mécanisme de l'alloimmunisation Rhésus D est lié au passage de cellules fœtales dans la circulation maternelle qui survient normalement à la suite du travail, c'est à dire que constitue l'accouchement[16] ,et la réponse immunitaire maternelle ne se développera qu'au cours de la deuxième grossesse : les anticorps maternelles anti-rhésus (anticorps irréguliers) passeront alors à travers le placenta et atteindront le nouveau fœtus détruisant ses érythrocytes et entraînant ce qu'on appelle la maladie hémolytique du nouveau-né (MIHN) [15] .

La prévention remarquablement efficace de l'allo- immunisation RhD consiste à l'injection d'immunoglobuline anti-D juste après les heures qui suivent l'accouchement.

Le principe de cette prophylaxie consiste à détruire les globules rouges de l'enfant passés dans la circulation maternelle avant qu'ils n'aient le temps nécessaires d'entraîner la formation d'Ac (anticorps irréguliers). [ 09 ] .

Par conséquent, il est recommandé que toute femme Rhésus négatif soit prise en charge le plus tôt, dès sa première grossesse, ceci repose sur le groupage systématique de ces femmes et sur la recherche des agglutinines irrégulières anti- Rhésus.

Notre travail consiste :

- A dépister et à identifier les anticorps irréguliers chez des femmes Rhésus négatif, cette recherche est réalisée par deux techniques, une, en milieu salin et l'autre grâce à une méthode enzymatique en utilisant la Broméline.
- Tester l'efficacité immédiate de la prévention (par les immunoglobulines D) par le test de Kleihauer qui révèle la présence des hématies fœtales dans la circulation maternelle, ce même test servira de guide pour moduler les doses de l'anti- D.



# Partie Théorique



# Chapitre I

## Groupes Sanguins

## I. Les Groupes Sanguins

### 1- Définition

les groupes sanguins sont un ensemble d'Ag constitués en systèmes génétiquement induits , on distingue les groupes sanguins érythrocytaires , les groupes leuco plaquettaires , et les groupes d'immunoglobulines , les plus importants en pratique médicale quotidienne sont les groupes érythrocytaires .

Chaque système de groupe sanguin est défini par ses antigènes et ses anticorps .[ 08].

### 2- Les Antigènes et Les Anticorps du Groupes Sanguins

Les antigènes sont présents à la surface des hématies, soit ils y sont synthétisés, soit ils sont adsorbés, les antigènes peuvent être des protéines directement produits par les gènes exemple : les Ag du système rhésus, d'autre sont de fabrication plus complexe : les déterminations antigéniques sont des structures glycolipidiques ou glycoprotéines, résultat d'activité spécifique d'enzyme spécialisées qu'on appelle les glycosyl-transférases. [ 08 ].

### 3- Les Différent systèmes sanguins des groupes sanguins

Les groupes sanguins sont déterminés par la présence des protéines spécifiques à la surface des globules rouges, leur apparition lors de la formation du globules rouges est déterminée génétiquement, elles se comportant comme des antigènes ou déterminant antigénique.

Il existe de nombreuses variétés de protéines membranaires déterminant plusieurs systèmes de groupe sanguin dont les principaux sont les systèmes ABO et rhésus. [ 20 ].

### 3-1- Le système ABO

#### 3-1- 1- Historique

C'est le système découvert en 1900 par LANDESTEINER, lequel a observé que le sérum de certain sujets agglutinant les hématies d'autres sujet, il a identifié ainsi deux antigènes qu'il a appelé A et B et les hématies non agglutinées par les deux anticorps correspondants sont appelées O (zéro).

Ses élèves CASTELLO et STUILLI ont décrit en 1902 le phénotype AB dix ans plus tard, en 1910 VON DUN GERN et HIRZFELD ont démontré que les caractères A et B et aient contrôlés génétiquement et, en 1924 BERNSTEIN a prouvé la transmission mendélienne des allèles de ce système. [ 03 ].

#### 3-1-2- Définition

Les phénotypes ABO sont définis par l'existence concomitante d'antigène membranaire et d'anticorps plasmatique. Deux antigènes A et B peuvent être reconnus à la surface de l'hématies définissant ainsi quatre groupes sanguins : A, B, AB, O. [ 03 ].

L'antigène AB et O existent outre sur les globules rouges, sur les globules blancs, les plaquettes et dans presque tous les tissus de l'organisme.

Les antigènes ont également été retrouvés dans les sécrétions chez 80% des sujets mais sont hydrosolubles, ces sujets sont dits sécréteurs. [ 01 ].

**Tableau 01 : le système ABO [ 03 ].**

Groupes	Antigène (globulaires)	Anticorps (plasmatiques)	Fréquence (chez les caucasiens) (en p.cent)
A	A	Anti-B	45
B	B	Anti-A	9
AB	A et B	Aucun	3
O	ni A ni B	Anti-A et Anti-B	43

### 3-1-3- La Génétique des antigènes ABO

La transmission héréditaire des groupes ABO suit les lois de Mendel [ 08 ] ; le locus ABO est située sur l'autosome IX, considérée sous une forme simplifiée l'hérédité du système ABO dépend de trois allèles A, B et O [ 06 ] ; A et B s'excluent lors de la méiose et sont dominants sur le O pour le groupe O et le groupe AB, le phénotype correspond au génotype d'un sujet O a un génotype OO. Un sujet AB a un génotype AB. Pour le groupe A et B le génotype et le phénotype ne correspondent pas toujours. [ 08 ].

**Tableau 02 : les phénotypes et les génotypes du système ABO [ 08 ].**

Phénotypes	Génotypes
O	O / O
AB	A / B
A	A / A ou A - O
B	B / B ou B - O

### 3-1-4- Nature des antigènes du système ABO

Il s'agit d'une structure chimique comportant un précurseur commun aux substances A ,B,O et LEWIS : le galactose -N- acetylglucosamine-mucopolysaccharide doué d'une spécificité de type pneumocoque fixé sur un polypeptide sur lequel viennent se greffer par des liaisons covalents des oligosaccharides, support des spécificités antigéniques différentes : cette fixation se fait grâce à des enzymes transférases spécifiques antigéniques différentes pour chaque sucre codé par le gène correspondant . [ 01 ].

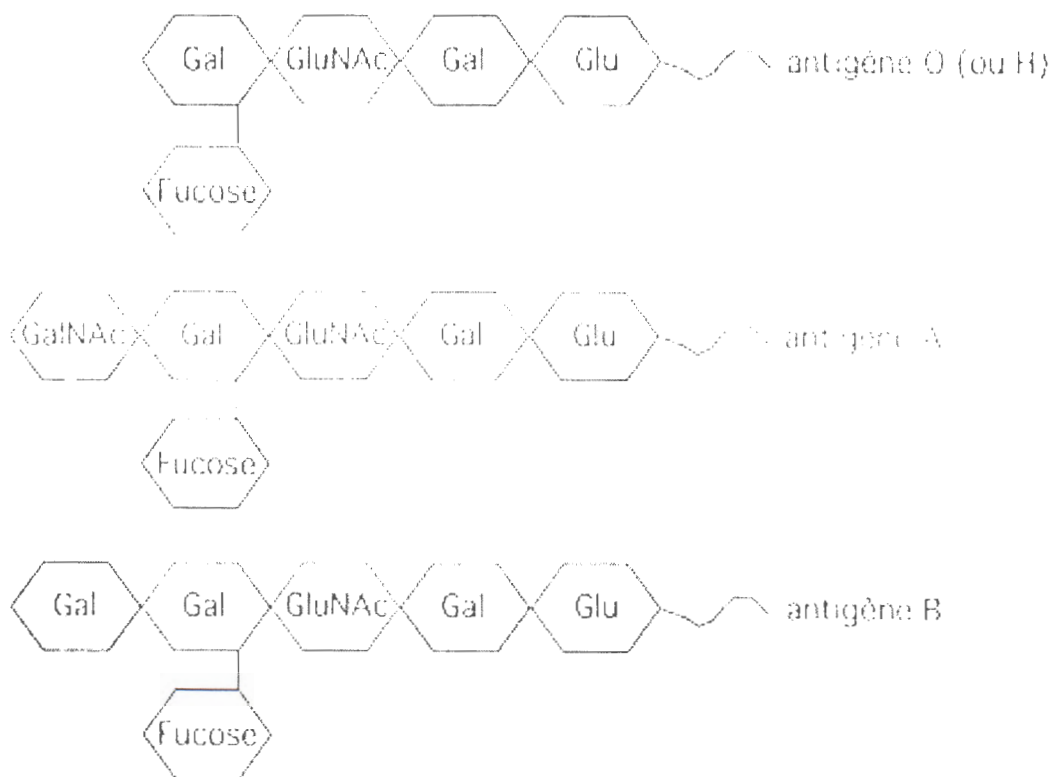
- la spécificité A est porté par le sucre N acétyl galactosamine [ 08 ].
- la spécificité B est portée par le galactose [ 08 ].
- la spécificité O est porté par le fucose [ 08 ].

### 3-1-5- Les antigènes et les anticorps de système ABO

#### ✓ Les antigènes de système ABO

Le système ABO est le système majeur de l'immunologie transfusionnelle. Dans le système ABO il existe 4 groupes sanguins différents : le groupe A, B, AB, et le groupe O, il sont caractérisés par la présence ou l'absence des protéines antigéniques A et B.

Parallèlement, le sang fabrique systématiquement des anticorps dirigés contre les antigènes qui ne sont pas présents à la surface des globules rouges. [ 19 ].



. **Figure01** : la structure des Ags du système ABO. [ 22 ].

✓ **Les anticorps de système ABO**

➤ **Les anticorps naturels réguliers**

Ils sont normalement et régulièrement présents dans le plasma de tous les sujets, anticorps normaux correspondants à ou aux antigènes absents sur la surface de l'hématie, ainsi l'anti-A est présent chez les sujets B, l'anti-B chez les sujets A et l'anti-A et l'anti-B chez les sujets de groupes O.

Ces anticorps sont des IgM agglutinants qui ne traversent pas les barrières placentaires, complètes, chaudes et actifs à 40°C, ils apparaissent chez l'enfant vers le 5<sup>ème</sup> et le 6<sup>ème</sup> mois, d'où les difficultés de groupage à la naissance. [ 01 ].

➤ **Les anticorps immuns**

Ils apparaissent à la suite de stimulations antigéniques variées, parfois accidentelles, ce sont des IgM ou le plus souvent des IgG hémolysant actifs à 37°C, froid et non agglutinants.

Cette immunisation survient lors d'une allo-immunisation soit :

- Au cours de la grossesse.
- Au cours d'une transfusion incompatible. [ 01 ].

### 3-2- Le système rhésus

#### 3-2-1- Historique

Il a été découvert en 1940 par LANDESTEINER et WIENER [ 01 ]. L'application d'antigène rhésus lui a été donnée à la suite de travaux de LANDESTEINER et WIENER qui en injectant des hématies de singe *Macacus Rhésus* à un lapin, a obtenu un hétéro anticorps agglutinant, les hématies de singe et aussi convenablement diluées. Celle de 85 % des échantillons d'individus de race blanche.

Ultérieurement il a été démontré qu'il existe en réalité sur les globules rouges humains deux types d'antigènes différents :

▪ **l'antigène rhésus**

c'est l'antigène défini par l'allo anticorps existant chez les femmes dont l'enfant est atteint de maladie hémolytique néonatale.

- **l'antigène LW (de LANDESTEINER et >WIENER)**

Défini par l'hétéro anticorps produit avec les hématies de Macacus Rhésus et présent sur toutes les hématies humaines, mais de façon beaucoup plus abondante sur les hématies rhésus positif. [ 03 ].

### 3-2-2- Définition

Le système rhésus a un intérêt considérable en transfusion sanguine [ 03 ]. Ce système complémentaire au système ABO et qui permet de classer les groupes sanguins selon la présence ou non d'antigène D à la surface des globules rouge ; sa présence détermine le groupe rhésus positif et son absence le groupe rhésus négatif . [ 19 ].

### 4-2-3- La génétique du système rhésus

Le système rhésus est situé sur le chromosome I , après D d'autre antigènes ont été découvert ,plus ou moins associés à l'Ag D il s'agit des Ag C, E , c et e , mises en évidence par les 'anticorps correspondant ; par convention l'absence de D traduit l'existence de d (petit d) il n'y a pas d'anticorps du système anti-d . [ 08 ].

### 3-2-4- Les Antigènes et les Anticorps du système rhésus

#### - Les antigènes du système rhésus

A ce jour plus de quarante "antigènes" du système rhésus ont été décrits , ce qui démontre sa complexité , nous limiterons l'étude aux cinq principaux antigènes qui convient de connaître les antigènes D , C ,e ,c , E [ 03 ] .

les antigènes du système rhésus se trouvent exclusivement dans la membrane du GR L'Ag D est du point de vue pratique l'Ag le plus important tant dans la détermination du groupage pour la transfusion que dans la maladie hémolytique du nouveau né. D ou d, C ou c, E ou e sont bien des allèles, ils s'excluent au cours de la méiose. [ 08 ].

#### - Les anticorps du système rhésus

Contrairement aux anticorps du système ABO, les anticorps dirigés contre les antigènes du système rhésus sont toujours de nature immune l'Ag D est le plus immunogène de tous les Ag de groupe sanguin, il est responsable de la majorité des

maladies hémolytiques néonatales par immunisation fœto-maternelle et de certains accidents transfusionnels.

Les autres antigènes E, c est plus rarement C et e peuvent également provoquer l'apparition d'anticorps immuns susceptibles d'être à l'origine d'hémolyse post-transfusionnelle ou de maladies hémolytique néonatales. [ 03 ].

**3-2-5- Les variantes des Ag du système rhésus :** il s'agit surtout des variantes de l'Ag D

**- L'Ag D faible ou Du**

Ce sont des hématies dont l'antigène rhésus n'est pas mis en évidence par la majorité des anti-sérums anti-D utilisés avec des techniques d'agglutination standards, donc soit on va traité les hématies par les enzymes pour faire apparaître les sites, soit on va utiliser des sérums plus puissants.

Le danger de ces Ag Du est de donner de fausse réaction négative, donc de conclure à un rhésus négatif.

La recherche de l'Ag D faible est fait par le test à la papaïne, soit par le test de coombs indirect. [ 08 ].

**3-3- Les autres systèmes**

D'autres systèmes héréditaires liés aux groupes sanguins ont été découverts, du point de vue d' immunogénicité le système Kell vient immédiatement après le rhésus. [ 08 ].

**- Le système Kell**

La conception générale de ce système s'apparente à celle du système Rh, mais il existe ici 4 loci étroitement liés au lieu de 3 près du locus primitif KK il existe un 2ème locus pour les allèles Kpa, Kpb, Kpc puis un 3ème locus pour les allèles JSa et JSb et enfin un 4ème locus pour les allèles K11 et K17.

Les sujets Kell + sont donc génotypiques soit Kk (le plus souvent), soit KK (beaucoup rarement), les sujets Kell- sont des génotypes kk. Les anticorps anti-K sont des anticorps immuns irréguliers. [ 17 ].



### - Le système Duffy

Le locus Duffy est situé sur le chromosome 1 [ 03 ]. Deux gènes allèles principaux Fya et Fyb s'associent pour former chez les blancs 3 phénotypes principaux

- ✓ Fy (a+b-) de génotype Fya/ Fya (fréquence 20%).
- ✓ Fy (a+b+) de génotype Fya/ Fyb (fréquence 46%).
- ✓ Fy (a-b+) de génotype Fyb/ Fyb (fréquence 34%).

Dans la race noire par contre un 4ème phénotype Fy (a-b-) est fréquent (70% des sujets) mais il ne s'immunisent pas, les anticorps anti-Fy sont des anticorps irréguliers que l'on doit dépister chez les polytransfusés. [ 17 ].

### - Le système Kidd

Le système Kidd est donc en première analyse, un système simple à deux allèles principaux JKa et JKb s'associent pour former les 3 phénotypes principaux :

- ✓ JK (a+ b-), de génotype JKa/ JKa (fréquence 26%).
- ✓ JK (a+ b+), de génotype JKa/ JKb (fréquence 50%).
- ✓ JK (a- b+), de génotype JKb/ JKb (fréquence 24%).

Un 3ème allèle silencieux dit «JK » explique le très rare phénotype JK (a- b-) parfois trouvé chez les asiatique, les anticorps anti-JK sont des Ac irréguliers que l'on doit dépister ou prévenir chez les polytransfusés. [ 17 ].

### - Le système MNSs

Le système MNSs apparut à cette époque comme formé de deux couples d'allèles : M et N, S et s. La synthèse des anticorps MN et Ss sont situés sur le chromosome 4 [03 ], quatre haplotypes Principaux MS, Ms, NS et Ns déterminent en s'associent deux à deux, 9 phénotypes et 10 génotypes différents. [ 17 ].

La majorité des anti-M et des anti- N sont des anticorps apparemment naturels, actifs à basse température et de titre faible. Les anti-S et sont généralement d'origine immune et capable d'entraîner des accidents de transfusion. [ 03 ].



### - Le système P

Le système P est de nos jours considéré comme un système complexe qui comporte deux phénotypes principaux, P1 qui possède les spécificités P1 et P et présent chez 75 % des sujets race blanches, P2 (25 % des sujets), ne possède que la spécificité P, il existe dans ce système des phénotypes exceptionnels PK. [ 20 ].

Les sujets P2 ont souvent un anti-P1 naturel peu dangereux, les sujets PK ou P peut avoir des anticorps dangereux naturels respectivement anti-P et anti-TJa (P, P1, PK). [1]

### - Le système LEWIS

Deux sérums dit anti-Lea et anti-Leb déterminent chez l'adulte trois phénotypes érythrocytaires Lewis Le (a+ b-) avec des hématies porteuse du seul antigène

Lea (20% des sujets), Le (a- b+) avec des hématies porteuse du seul antigène Leb (70% des sujets) et Le (a- b-) avec les hématies qui ne portent ni l'antigènes Lea , ni l'antigènes Leb (10% des sujets ). les sujets Lewis négatifs Le (a- b-) peuvent développer des anticorps irréguliers anti-Lewis a ou b. [ 17 ].

## 4- La Réaction Ag – Ac

Le complexe Ag – Ac est la base de nombreuses réactions immunologiques.

### 4-1- In Vitro

La réaction Ag- Ac est à la base de la détermination des groupes sanguins quand un Ac est mis en présence de l'Ag correspondant il y a la formation d'amas d'hématies, c'est-à-dire une agglutination. [ 11 ].

### 4-2- In Vivo

La réaction Ag-Ac en présence de complément conduit à l'hémolyse des globules rouges transfusés, ce-ci se passe lors de la transfusion d'un sang incompatible

La mesure directe de la liaison de l'Ac à l'Ag est utilisée dans beaucoup d'analyse sérologique quantitative ,cependant, certains analyses importantes sont basées sur la capacité de l'anticorps à modifier l'état physique de l'Ag auquel il se lie par exemple

lorsque l'Ag est placé à la surface de grosses particules telles que des bactéries , les Ac peuvent provoquer leur agglutination.

Le même principe s'applique aux réactions utilisées pour typage des groupes sanguins , sauf que dans ce cas , les cibles antigéniques sont à la surface de globules rouges : cette agglutination provoquée par les Acs s'appelle dans ce cas l'hémagglutination ( du grec , haerma , sang ).

C'est par cette méthode qu'on détermine le groupe sanguin ABO chez les donneurs de sang et les receveurs de transfusion sanguin.[11].

Tableau 3 : classification des groupes sanguins [ 22].

Classification des groupes sanguins				
N°	Dénomination initiale ou commune	Dénomination abrégée (symbole) officielle	Nature de l'épitope ou de l'élément qui le porte	Localisation chromosomique
001	ABO	ABO	ose (N-acétylgalactosamine, galactose)	9
002	MNS	MNS	GPA / GPB (glycophorines A et B)	4
003	P	PI	glycolipide	22
004	Rhésus	RH	protéine	1
005	Lutheran	LU	IgSF (apparenté aux immunoglobulines)	19
006	Kell	KEL	glycoprotéine	7
007	Lewis	LE	ose (fucose)	19
008	Duffy	FY	protéine (ECR ou récepteur de chimiokine, et des <i>Plasmodium vivax</i> et <i>knowlesi</i> )	1
009	Kidd	JK	protéine (transporteur d'urée)	1
010	Diégo	DI	glycoprotéine (bande 3, AE 1, ou échangeur d'anions)	17
011	Cartwright	YT	protéine (AChE, acétylcholinestérase)	7
012	Xg	XG	glycoprotéine	X
013	Scianna	SC	glycoprotéine	1
014	Dombrock	DO	glycoprotéine (fixée à la membrane par le GPI ou glycosyl-phosphatidyl-inositol)	12
015	Colton	CO	aquaporine 1	7
016	Landsteiner-	LW	IgSF (apparenté aux	19

	Wiener		immunoglobulines)	
017	Chido/Rodgers	CH/RG	C4A C4B (fractions du complément)	6
018	Iih	H	ose (fucose)	19
019	Kx	XK	glycoprotéine	X
020	Gerbich	GE	GPC / GPD (glycophorines C et D)	2
021	Cromer	CROM	glycoprotéine (DAF ou CD55, régulatrice des fractions C3 et C5 du complément, liée à la membrane par un GPI)	1
022	Knops	KN	glycoprotéine (CRI ou CD35, capteur d'immun-complexes)	1
023	Indian	IN	glycoprotéine (CD44 fonction d'adhésion ?)	11
024	OK	OK	glycoprotéine (CD147)	19
025	RAPH	MER2	glycoprotéine transmembranaire	11
026	John Hagen Milton	JMH	protéine (liée à la membrane par un GPI)	6
027	Ii	I	polyoside ramifié (I) / non ramifié (i)	6
028	Globoside	P	glycolipide	3
029	GIL	GIL	aquaporine 3	9

CHAPITRE II  
L'incompatibilité  
foeto-maternelle

## **II. L'incompatibilité Foeto-maternelle (IFM)**

L'allo-immunisation foeto-maternelle peut se définir comme l'ensemble des manifestations pathologiques qui ont pour cause l'allo-immunisation de la mère à un allo-antigène cellulaire présent chez le fœtus et pour conséquence : l'atteinte plus ou moins grave de ce dernier. [ 09 ].

L'immunisation foeto-maternelle est une cause majeure d'anémie hémolytique chez le nouveau-né, l'anémie est causée par la présence dans le sang du fœtus d'anticorps de type IgG dirigés contre un antigène porté par les globules rouges fœtaux, ces anticorps ont été sécrétés par la mère après allo-immunisation antérieure et passent à travers la barrière placentaire durant la grossesse. [ 21 ].

### **1- Mécanisme de L'incompatibilité Foeto-maternelle**

Deux circonstances conduisent à l'allo-immunisation maternelle :

#### **1-1- La Sensibilisation par grossesse**

C'est par le passage d'hématies fœtales dans la circulation maternelle, soit, au cours de grossesses, soit après accouchement ou interruption, que l'organisme maternel peut se sensibiliser contre l'antigène rhésus.

Une telle immunisation intervient comme une hémothérapie puisque le passage trans-placentaires d'hématies fœtales fréquemment observés au cours de la grossesse et surtout au moment de l'accouchement réalisent une véritable micro transfusions de sang fœtale et bien que souvent favorisés par des difficultés obstétricales, ils se produisent aussi au cours des grossesses normales [ 10 ].

#### **1-2- La Sensibilisation Par Transfusion Sanguine**

L'immunisation par voie transfusionnelle est encore parfois observée, des injections de sang incompatible (exemple : sang rhésus positif injecté à une femme rhésus négatif) ont un potentiel d'immunisation très élevé. Une seule injection provoque la formation d'anticorps dans presque 50% des cas [14]



## **2- Les Conséquences de L'incompatibilité Foeto-maternelle**

Les AC maternels fixés à la surface des hématies fœtales entraînent leur hémolyse (une destruction rapide des globules rouge au niveau de la rate)

Cette hémolyse pathologique à pour conséquence , une anémie très régénérative qui provoque une augmentation de la production de la bilirubine libre celle-ci sera grâce au passage trans-placentaire éliminé par glycoro- conjugaison maternelle [ 15 ]. mais après la naissance les fonctions hépatiques du nouveau-né seront incapables d'éliminer la bilirubine libre .

La bilirubine en excès peut chez le nouveau-né se déposer dans les noyaux gris centraux provoquant ainsi un ictère [ 23 ].

Cet ictère survient en générale à partir du 2ème ou du 3ème jour et provoque soit la mort de l'enfant, soit en cas de survie de grave séquelles neuropsychique.

Ainsi la gravité de la maladie hémolytique néonatale (MHNN) est fonction non seulement de l'importance de l'hémolyse mais également du degré l'immaturité hépatique de ce fait l'apparition de lésion nerveuses de l'ictère nucleaire . [ 14 ].

## **3-L'incompatibilité Foeto- maternelle dans Le système ABO**

Il s'agit souvent d'une hétéro- immunisation de type IgG par antigénémie Croisée avec les antigènes A ou B.

L'immunisation dans le système ABO entraîne la maladie hémolytique néonatale habituellement bénigne, elle ne se révèle le plus souvent que par un ictère néonatal très discret et spontanément réversible, elle est plus fréquente si on la recherche systématiquement [04].

Elle s'observe chez des nouveau-nés de groupe A ou B lorsque la mère est de groupe O.

### **3-1-La Physiopathologie de l'IFM Par Le Système ABO**

La MHNN ne survient pratiquement que si la mère est de groupe O. La formation des anticorps maternels est liée le plus souvent à l'environnement chez la mère d'un enfant qui présente une maladie hémolytique néo-natal ABO, il est mis en évidences à côté des anticorps « naturels » des anticorps anti-A (ou anti-B) dites de type immun. Ces



anticorps sont relativement fréquents dans le sérum de sujet normal, ils proviennent soit d'une allo immunisation foeto-maternelle par voie trans-placentaire lors d'une grossesse antérieure, soit d'une hétéro-immunisation antérieure à la grossesse.

Les femmes de groupe O immunisées fabriquent plus facilement des IgG contrairement aux femmes A ou B qui produisent surtout des anticorps de classe IgM : ce fait rend probablement compte de ce que la maladie hémolytique néonatale ABO se rencontre essentiellement chez des femmes de groupes O ; l'hémolyse des globules rouges de l'enfant est modérée, le seul danger réel dépend du taux de bilirubine donc de la maturité des cellules hépatiques de l'enfant [ 04 ].

### **3-2- Diagnostic**

#### **▪ chez la mère**

Il peut être envisagé de rechercher chez toute femme enceinte de groupe O dont la mari est de groupe A ou B, les anticorps anti-A et/ ou anti-B de classe IgG.

#### **• Chez l'enfant**

La chronologie des tests est la suivante :

- Le groupage dans le système ABO (et Rhésus).

- Le test de Coombs direct : cette recherche d'IgG fixé sur les hématies de l'enfant est rarement positive car les épitopes antigéniques sont rares et distants, la recherche chez l'enfant des anticorps immuns anti-A ou B est déterminante pour attester de l'hémolyse du nouveau- né et dosage de bilirubine.[ 09 ].

## **4- L'incompatibilité foeto- maternelle dans le système rhésus**

### **4-1- Immunisation anti-D**

L'allo-immunisation anti-D, représente environ la moitié de toutes les immunisations , elle représente 70% des incompatibilités foeto-maternelles dépistées à la naissance et 90% des incompatibilités foeto-maternelles graves ayant justifié un traitement anténatal, cette nocivité impose une surveillance très stricte de ces patientes . [14].

## **4-2- Physiopathologie**

C'est l'Ag « D » qui est le responsable de l'immunisation foeto-maternelle, si la mère de Rh<sup>-</sup> et son mari est de Rh<sup>+</sup>. [ 14 ].

Dans le cas d'un premier enfant Rh positif, c'est après le post- partum qu'apparaissent pour la première fois les anticorps anti-Rh, le passage des hématies fœtales ne surviennent guère que pendant le troisième trimestre (ou plus, après le 5ème mois) et ne portent que sur des volumes très faibles. De ce fait il n'y a habituellement pas d'immunisation décelable au cours de la gestation, d'un premier enfant Rh positif.

Mais chez une femme déjà immunisée à la suite d'une grossesse antérieure, cette très faible quantité d'hématies fœtales suffit à provoquer une réponse anamnesticque qui se traduit par une nette montée du taux des anticorps ou par leur réapparition rapide, si dans l'intervalle à cause de manifestation pathologique (décollement placentaire, grossesse extra-utérine) un grand volume de sang fœtal qui traverse le placenta.

Le premier né Rh positif est habituellement indemne car l'immunisation au cours de la grossesse lorsqu'elle se produit est trop faible et tardive (dans les dernières semaines) pour avoir une action sur l'enfant. C'est après ce premier accouchement d'un enfant Rh positif que peuvent apparaître les anticorps à un taux habituellement faible.

Lors des grossesses ultérieures d'enfants Rh positif qui constituent autant des stimulations antigéniques, ce taux va augmenter.

Des Ac anti-Rh « D » vont se combiner à l'antigène Rh des hématies fœtales qui sont alors phagocytées dans la rate et le foie.

Lorsqu'un enfant est Rh négatif, cette réactivation ne se produit pas et le taux des Ac ne varie pas [ 04 ].

## **4-3-diagnostic**

### **4-3-1- aspects cliniques**

L'incompatibilité foeto-maternelle se révèle sous des aspects divers témoignant une atteinte plus au moins grave de l'enfant. [ 04 ].

→ **Les accidents prénatals**

L'accident le plus difficile à éviter est la mort fœtale *in utero*, soit dans un tableau d'anasarque fœto placentaire (hydramnios), soit en dehors de ce tableau (30% des cas).

[ 07].

→ **Les accidents néo-natals (post-natals)**

Ictère néo-natal : précoce (3 à 6h), progressivement croissant pour devenir flamboyant après 24h, hépato-splénomégalie, pâleur et hémorragies.

- Forme anémique avec ictère précoce mais modéré, disparaissant ensuite spontanément mais pouvant être à l'origine de l'anémie du 1<sup>er</sup> trimestre du nourrisson. [ 02 ].

- Une accumulation de bilirubine indirecte , principale catabolite de l'hémoglobine libérée normalement épurée par le placenta et retrouvée dans le liquide amniotique , et qui ne peut être éliminée par le foie fœtal encore immature d'où l'ictère . [ 07 ].

#### 4-3-2- aspects biologiques

Le diagnostic biologique se pose différemment avant et après la naissance.

- **diagnostic au cours de la grossesse**

- Il est important de rechercher les antécédents ayant pu entraîner une allo immunisation antérieur :

- Les circonstances évoquées plus haut
- Les pathologies du fœtus ou du nouveau-né précédant (anasarque, ictère néonatale) [15] .

- L'examen principal est la recherche des agglutinines irrégulières anti-érythrocytaires dans le sang de la mère, à partir du 3<sup>ème</sup> mois et ensuite chaque mois par deux méthodes :

En milieu salin et par le test de Coombs indirect et en milieu enzymatique[13]

- l'étude des groupes sanguins familiaux est intéressante :

- Analyse détaillée du phénotype Rh paternel et le groupe des enfants précédents.

Si le père est Rh positif homozygote DD, le fœtus est sûrement Rh<sup>+</sup>

Si le père est Rh positif hétérozygote Dd, le fœtus n'a qu'une chance sur deux d'être Rh<sup>+</sup>. [ 07 ]

- Examen du liquide amniotique, le taux de bilirubine reflète exactement l'atteinte fœtale [14].

**- diagnostic à la naissance**

Le sang du nouveau-né est prélevé au cordon au moment de la naissance [ 04 ]

**• Chez la mère**

- Le test de Kleihauer permet d'évaluer le passage d'hématies fœtales dans la circulation maternelle [ 14 ].

- Le groupe sanguin de la mère et la recherche d'agglutinines irrégulières, s'ils n'ont pas été effectués précédemment. [ 18 ] [ 15 ].

S'il y a présence d'agglutination → présence d'anticorps anti-D

Pas d'agglutination → absence d'anticorps anti-D. [ 14 ].

**• Chez l'enfant**

- le groupage sanguin et rhésus.

- Test de Coombs direct : met en évidence les allo anticorps maternels fixé sur les hématies de l'enfant.

- Les signes hématologiques : diminution du taux d'hémoglobine, l'élévation du taux de bilirubine [ 04 ].

**4-4- surveillance de la femme enceinte immunisée**

La surveillance repose sur plusieurs éléments :

→ Le taux d'agglutinines n'a pas une valeur formelle car ils ne permet pas de définir exactement la concentration de l'anticorps, il n'y a pas de parallélisme entre ce taux et l'atteinte fœtale. [ 13 ].

→ Le dosage pondérale des anticorps anti-D doit être réalisé tous les mois jusqu'à le 5 mois , puis tous les 15 jour lorsque le taux d'agglutinines est supérieur à 1/ 32° . [ 18 ].

→ L'étude de la bilirubine du liquide amniotique prélevé par ponction sous échographie à partir de la 20-22eme semaine est un élément de surveillance important

→ Dans les cas graves, la ponction de sang fœtale permet d'évaluer avec plus de précision l'importance de l'anémie et peut être associée dans le même temps à une exsanguino-transfusion. [ 07 ].

#### **4-5- L'incompatibilité (l'allo immunisation) à des antigènes autre que « D »**

Les autres antigènes du système Rh (c, E parfois C ou c) peuvent être une cause d'allo immunisation foeto-maternelle.

En effet, chaque fois que l'enfant dont son père est porteur d'un antigène que la mère ne possède pas, les conditions d'une telle immunisation sont théoriquement réunies.

Ces immunisations qui étaient jusqu'à ces dernières années d'une fréquence presque négligeable par rapport aux immunisations au seul antigène Rh D doivent maintenant ( en raison de la remarquable diminution puis stabilisation de l'immunisation à l'antigène D liée à la prévention par les immunoglobulines anti-D) être recherchées avec beaucoup plus d'attention . A terme elles risquent d'être les causes les plus nombreuses de maladie hémolytique du nouveau-né.[ 15 ].

Contrairement à ce qui se passe avec l'immunisation anti-D, l'origine de ces immunisations est très souvent transfusionnelle. [ 04 ].

#### **5- L'incompatibilité dans les autres systèmes**

Beaucoup plus rares, elles sont le plus souvent le résultat d'une immunisation post-transfusionnelle.

##### **- L'immunisation anti-Kell**

Souvent grave, post-transfusionnelle, elle conduit à une exsanguino-transfusion de sang Kell négatif.

##### **- L'immunisation anti-K (celano)**

Très rare et peu sévère

##### **- L'immunisation anti-Duffy (anticorps anti-Fya et Fyb)**

Post-transfusionnelle, elle est rare et peu sévère

L'imprécision est telle que ce ci peut correspondre à un volume de 0,002 ml pour certains auteurs).

Les doses de l'anti-D injectées sont en fonction de l'importance du passage de sang fœtal dans la circulation maternelle [ 09 ].

L'efficacité immédiate de la dose d'immunoglobuline doit être vérifiée par un nouveau test deKleihauer fait 12 à 24 heures après l'injection. [ 10 ].

Si on constate qu'il y a persistance d'hématies fœtale, une nouvelle injection s'avère nécessaire. [ 14 ].

# Partie Pratique

# Chapitre III

## Matériels et Méthodes



## 1-Matériels

### 1-1- Effectifs

Notre étude porte sur 7 femmes Rh négatif ayant accouchées d'enfants Rh positif, l'intervalle d'âge est compris entre 27 et 39 ans et de groupe sanguin différent .

Le prélèvement des échantillons, le groupage et le phénotypage ont été réalisés au niveau du service de gynécologie , laboratoire d'hématologie et du poste de transfusion sanguin (PTS). La recherche des Ae irréguliers et le test de Kleihauer ont été réalisés au niveau du laboratoire centrale de Biochimie de l'université de Jijel

Une dose standard d'immunoglobuline d'anti-D de 250 µg a été administrée à ces femmes , par voie intramusculaire dans les 72 heures qui suivent l'accouchement.

Notre travail consiste d'une part : à faire dépister les anticorps irrégulier chez les femmes enceintes Rh<sup>-</sup> et pour cela un panel d'hématie test local a été préparé en sélectionnant les donneurs de sang de groupe O afin d'éviter toute interférence avec les anti-A et le anti-B

D'un autre part, faire tester l'efficacité de l'anti-D

#### 1-1-1- prélèvement sanguin

Chez ces patientes, nous avons effectué des prélèvements sanguins qui sont comme suit :

- 3ml de sang maternel sur un tube sec, après l'accouchement pour la recherche d'anticorps irréguliers par différentes techniques.

- 5ml de sang maternel prélevé sur un tube contenant un anticoagulant (EDTA) pour le groupage ABO, le rhésus le phénotypage, et le test de Kleihauer, pour ce dernier test nous avons fait des prélèvements à différents intervalles de temps

- après l'accouchement (avant l'injection de l'anti-D)

- dans les heures qui suivent l'injection de l'anti-D (21heures - 25heures) pour étudier l'efficacité de vaccin anti-D

## 1-1-2- Présentation des cas

Tableau 04 : Représentation des cas

Nombre des cas	Service	Age	Nombre de geste	Lieu de résidence	Date d'accouchement
1	Maternité	39 ans	7	kaous	30-04-2006
2	maternité	27 ans	5	belghimauz	02-04-2006
3	gynéco	34 ans	1	djimla	05-05-2006
4	maternité	27 ans	1	kaous	09-05-2006
5	-	27 ans	2	-	12-05-2006
6	-	38 ans	6	-	20-05-2006
7	-	30 ans	3	Jijel	25-05-2006

## 1-1-3- Matériels expérimentales : (voir l'annexe)

## 2-Méthodes utilisées

## 2-1- Détermination du Groupe sanguin ABO

Le groupage sanguin repose sur la réaction d'agglutination, la détermination de ce groupe doit être toujours le résultat de deux épreuves complémentaires, par deux techniques différentes et par deux lots de réactifs

- épreuve de Beth- Vincent « épreuve globulaire »
- épreuve de Simonin « épreuve sérique »

## 2-1-1-épreuve de Beth-Vincent

## - Principe

Elle consiste à mettre en contact les sérums tests anti-A, anti-B et anti-AB avec les globules rouges à tester pour identifier l'Ag ou les Ag qu'ils portent :

A ou B, A et B ou aucun des deux , l'Ag ou les Ags du GR définissent le groupe sanguin A,B, AB, O . [ 16 ].

#### **-Technique sur plaque d'opaline**

Déposer sur plaque d'opaline de haut en bas ou côte à côte :

- 1 goutte de sérum – test anti-A
- 1 goutte de sérum – test anti-B
- 1 goutte de sérum - test anti-A+B

Déposer à coté de chacune de ces gouttes, 1 goutte de globule échantillons à tester en suspension à 10. p 100 en soluté salé isotonique, puis homogénéiser le mélange a l'aide d'une baguette en verre, à la fin on observe S'il se produit une agglutination.

#### **2-1-2-Épreuve de Simonin**

##### **- Principe**

Elle consiste à mettre en contact du sérum à tester, les globules rouges tests connus A1, A2, B (Ag détecteur) qui permettront de reconnaître la présence d'un Ae ou aucun. [ 16 ].

##### **- Technique sur plaque d'opaline**

Déposer sur la plaque d'opaline, de haut en bas ou côte à côte trois gouttes de sérum ou de plasma échantillon à côté de chacune de ces gouttes , déposer respectivement :

- 1 goutte de globule- tests A en suspension de 5 à 10 p. 100
- 1 goutte de globule- tests B en suspension de 5 à 10 p. 100

Mélanger soigneusement à l'aide d'une baguette de verre rodée ou du fond d'un tube, on agite doucement et circulairement la plaque deux à trois minutes pour homogénéiser le mélange. On observe s'il se produit une agglutination.

Lecture

épreuve	Réaction de BETH VINCENT			Réaction de SIMONIN		
Sang à examiner	Globules rouges			Sérum		
Réactifs	Sérum tests			GR – tests		
	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	A1	A2	B
Groupe A	+	-	+	-	-	+
Groupe B	-	+	+	+	+	-
Groupe O	-	-	-	+	+	+
Groupe AB	+	+	+	-	-	-

+ : présence d'agglutination

- : absence d'agglutination

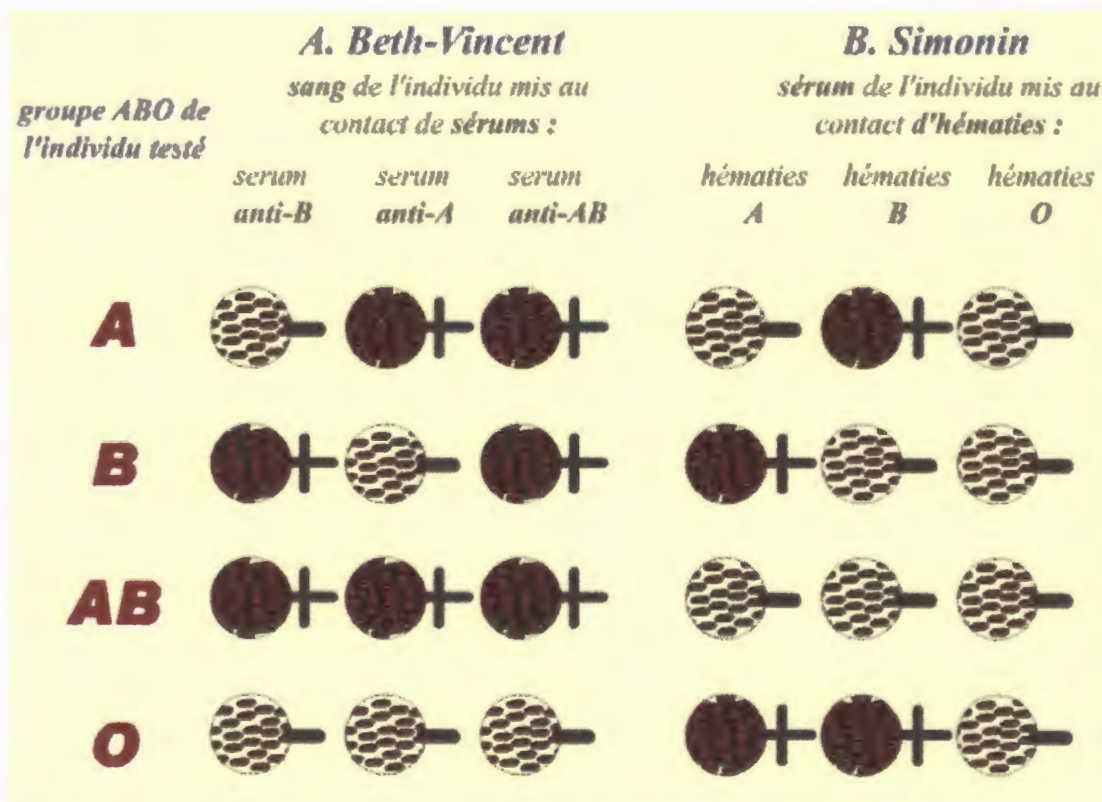


Figure02 : l'épreuve de Beth – vincent et simonin.[20]

## 2-2 - Détermination du groupe sanguin Rh

### - Principe

La mise en évidence de l'antigène D sur les hématies à examiner repose sur l'agglutination de ces hématies par l'agglutinine anti-D présente dans le serum test [10].

### - Mode opératoire

Trois conditions sont indispensables pour que cette agglutination ait lieu :

1. la réaction doit être effectuée entre 37°C et 40°C
2. la réaction doit être effectuée en milieu sérique
3. la concentration globulaire utilisée doit être forte lorsqu'on utilise une technique sur plaque.

On dépose sur une lame d'opaline préalablement lavée et chauffée à 40°C une goutte de serum test anti-D avec une goutte de sang totale . On mélange circulairement les deux gouttes avec baguette en verre. Il faut attendre deux à trois minute pendant les quelle on effectue la plaque de mouvement lent de baseule au tour de son axe

Lecture :

Groupe Rh	Anti- D	
D+	+	Rh+
D-	-	Rh-

+ : présence d'agglutination

- : absence d'agglutination

## 2-3-Détermination des phénotypage

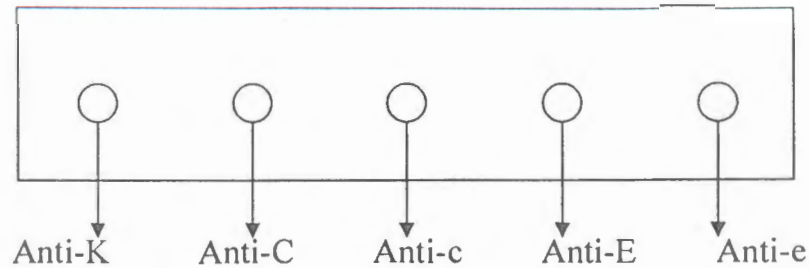
Il existe d'autre systèmes antigéniques portés par les globules rouges dont le plus important est le système Kell.

### - Principe

Le principe de phénotypage repose sur la recherche des antigènes K, C, c , E, e sur les hématies à tester grâce à des serum tests portant les anticorps correspondants . [ 14 ] .

**- Mode opératoire**

Mettre sur une plaque d'opaline 5 gouttes égales de sang à tester cote a cote avec micropipette (50ul) , puis réagir les gouttes avec leurs anti-sérums correspondants.



**Lecteur**

Anti-K		Anti-C		Anti-c		Anti-E		Anti-e	
+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
K+	K-	C	c	c	C	E	e	e	E

+ : présence d'agglutination (C, E).

- : Absence d'agglutination (c, e).

**2-4- La recherche des anticorps irréguliers (RAI)**

**- Principe**

Une R.A.I correspond à la recherche d'anticorps libres sériques par la mise en présence du sérum du patient avec des hématies tests d'antigénicités connues dans un certain nombre de système de groupes sanguins ( Rhésus ,kell ,Duffy.....).

La R.A.I est une procédure ayant pour le dépistage précoce de l'allo-immunisation anti-érythrocytaire chez les sujets polytransfusés ou les femmes enceintes Rhésus négatif ainsi que l'identification des allo-anticorps en cause[ 10].

### 2-4-1a fabrication d'un panel d'hématies tests local

Elle consiste à tester la composition antigénique dans le système Rh élargi et Kell de plusieurs dizaines d'hématies de groupe O , afin d'éviter l'interférence des anti-A et anti-B sérique , de façon à obtenir une grande diversité d'antigène et à permettre le dépistage d'une variété aussi grande que possible de spécificité d'anticorps .

La fabrication du panel d'hématies tests a été réalisée au laboratoire du centre de transfusion sanguine (CTS) , on a pu avoir 08 suspensions d'hématies tests de phénotype différent dans le système rhésus élargi et Kell .

1- CcDeeK <sup>+</sup>	5- ccDEeK <sup>-</sup>
2- ccDeeK <sup>-</sup>	6- ccddeeK <sup>-</sup>
3- CCDeeK <sup>-</sup>	7- CCDeeK <sup>+</sup>
4- CcDeeK <sup>-</sup>	8- CcDEeK <sup>-</sup>

Pour une bonne conservation de ce panel, on utilise une solution de SAG-Mannitol ( 1 volume pour 2 volume de sang ) car les suspensions d'hématies tests en saline se hémolysent au bout de 24 à 48 heures .

Ce panel peut être conservé pour une durée allant de 20 à 25 jours à + 4° [13] [18].

### 2-4-2 l'épreuve saline : « test d'agglutination en salin à 22° c »

Elle se déroule selon les étapes suivantes :

- laver les hématies du panel 3 fois et les remettre en suspension a 5% en milieu salin
- dans une série de micro tubes, introduire :
  - une goutte des suspensions de chacune des hématies
  - une goutte de sérum à tester
- laisser incuber pendant 1heure.30minutes à 22°
- mentionner la présence ou l'absence d'agglutination.



### 4-3-Méthode enzymatique

#### - Principe

Le principe de cette technique repose sur le fait que les hématies soumises à l'action de certaines enzymes protéolytiques deviennent agglutinables en suspension saline par des anticorps non agglutinants ou l'enzyme va décaper la surface des GR des glycoprotéines porteurs des charges négatives. [10].

#### - Utilisation de la Broméline « one step »

- mettre une goutte de sérum dans un tube
- ajouter une goutte de suspension globules rouges à 2,5% dans du salin tamponné
- -ajouter une goutte de solution de broméline
- mélanger
- incuber 15 minutes à température ordinaire
- mélanger
- centrifuger
- lire

### 2-5- Test de Kleihauer

#### - Principe

Elle a pour but de mettre en évidence, après l'accouchement la présence des hématies fœtales dans la circulation maternelle. Base pour déterminer le degré de l'immunisation. Le teste base sur le caractère de réticence à la dénaturation acide de l'hémoglobine fœtale. [ 12 ]

#### .- Réactifs

**Solution 1** : hématoxyline 0,75% dans l'éthanol absolu.

**Solution 2**: chlorure ferrique.....2,4ug.

    Hcl 25% .....2ml

    Eau distillée q-s-p100ml



**Solution finale d'hématoxyline:**

Solution 1	2 volume
Solution 2	1 volume
Ethanol à 80%	1 volume
Solution 3 : éosine 0,5g%	dans l'eau distillé

**- Mode opératoire**

- Diluer un volume de sang avec 2 à 3 volume de sérum physiologique
- Préparer des films sur les lames port objet bien séché à l'air (réalisation des frottis sanguins).
- Fixer à l'éthanol à 80 % pendant 5 minutes à température ambiante
- Laisser sécher
- Colorer pendant 20 secondes dans la solution finale l'hématoxyline
- Rincer à l'eau distillée
- Contre-colorer avec une solution d'éosine à 0,5% pendant 5 minutes
- Laisser sécher

**- La lecture**

La lecture se fait à l'objectif 40 (par microscope)

Les cellules contenant l'IIB a adulte sont complètement éluées laisser les stromas vide.

Les cellules contenant l'IIBF s'ont colorés en rouge (résistant à l'éluition acide. et les leucocytes sont coloré en gris pourpre grisâtre

**- Remarques**

- la solution colorante est stable pendant quelque jours et peut être filtrée en cas de précipitation
- certains auteurs prétendent que le méthanol à 80% en fixateur est préférable à l'éthanol à 80%
- l'étalement fixé peut être conservé 8 jours à 4°C avant d'être coloré

**- Formule**

1 hématic foetale  $\rightarrow$   $\times 10^4$  hématic maternelles

$10^4$  hématic maternelles  $\rightarrow$   $\times 0,24$ ml

$$\text{Volume (ml)} = \frac{2400 \times \text{nombre dhématic foetale}}{10^4 \text{ hématic Maternel}}$$

Cette formule permet d'apprécier le volume d'hématic foetales présentes chez la mère [40].

Résultats  
et  
Discussion

## II- Résultats

**Tableau 05 :** Répartition des femmes en fonction de la parité.

Patientes	Nombre des cas
Primipares	02
Multipares	05
<b>Total</b>	<b>07</b>

On remarque que parmi les sept cas , on a cinq cas multipares et deux cas primipares .

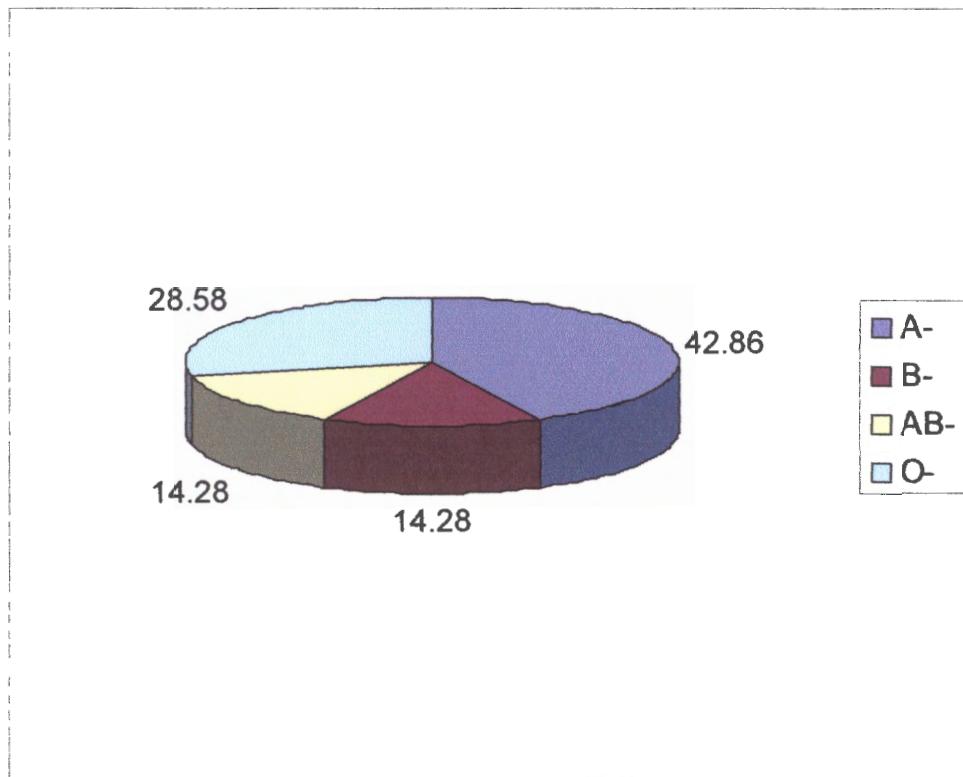
**Tableau 06 :** Répartition des femmes en fonction du nombre de gestation.

Nombre de geste	Nombre des cas
02	01
03	01
05	01
06	01
07	01

Chez les femmes multi gestes on observe que le nombre de geste est différent entre les cinq cas.

**Tableau 07:** Répartition des femmes en fonctions de groupe sanguin ABO.

Groupes sanguins	Nombre des cas	Pourcentages %
A <sup>-</sup>	03	42,86%
B <sup>-</sup>	01	14,28%
AB <sup>-</sup>	01	14,28%
O <sup>-</sup>	02	28,58%
<b>Total</b>	<b>07</b>	<b>100%</b>



**Figures03 :** Répartition des femmes enceintes en fonction des groupes sanguins

On remarque que le groupe sanguin A<sup>-</sup> est le plus fréquent (03 cas ) et un seul cas est du groupe AB<sup>-</sup> et une autre seul cas est du groupe B<sup>-</sup> .

**Tableau 08 :** Résultat de phénotype.

La femme	Phénotype
01	ccccK <sup>-</sup>
02	ccccK <sup>-</sup>
03	ccccK <sup>-</sup>
04	ccccK <sup>-</sup>
05	ccccK <sup>+</sup>
06	ccccK <sup>-</sup>
07	ccccK <sup>+</sup>

La plus part des femmes possèdent le phénotypage ccccK<sup>-</sup> mais ils existe d'autre phénotypage comme la cinquième et la septième cas.

**Tableau 09 :** Résultats de la R.A.I par le milieu salin

	RAI positif	RAI négatif	Total
Nombre des cas	03 cas	04 cas	07 cas

**Tableau 10 :** Résultat de la RAI avec la broméline

	RAI positif	RAI négatif	Total
Nombre des cas	04 cas	03 cas	07 cas

On remarque que la RAI avec le milieu salin et avec la broméline est positif beaucoup plus chez les femmes multigestes que chez les femmes primigestes.

**Tableau 11** : Nombre des hématies fœtales avant et après l'injection de l'anti-D estimé par le test de kleihauer.

Patiente	Nombre des hématies fœtales estimées par le test de kleihauer	
	Avant l'anti-D (L'injection)	Après l'anti- D (L'injection)
01	19	03
02	13	04
03	20	05
04	49	03
05	8	02
06	20	04
07	13	03

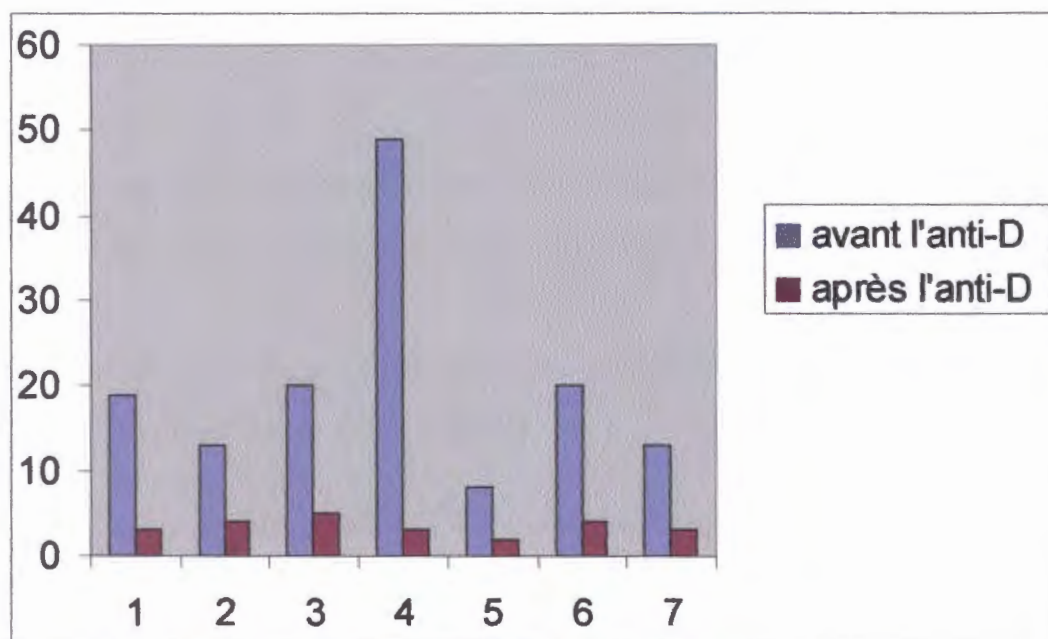


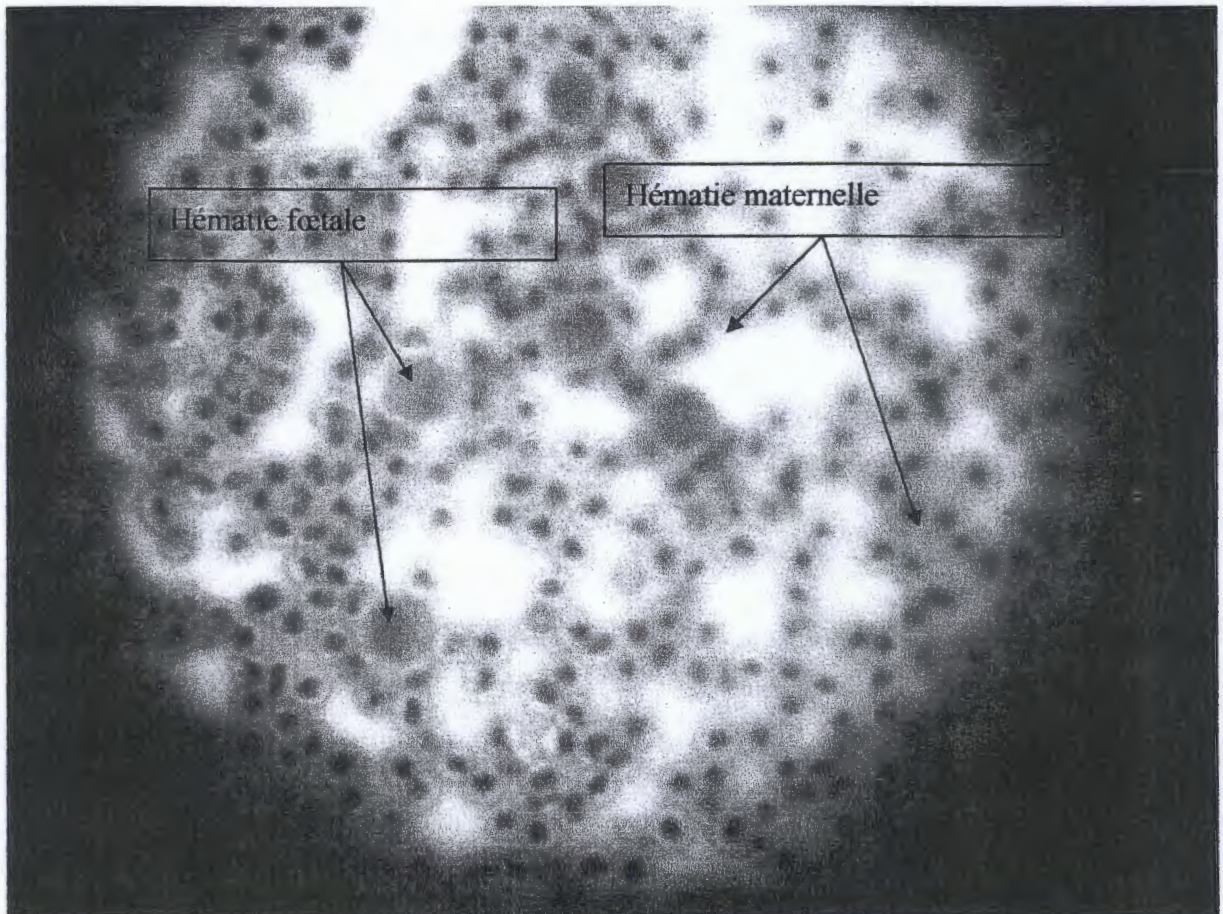
Figure 04: Nombres des hématies fœtales avant et après l'anti-D estime par le test de Kleihauer

On remarque que le nombre des hématies fœtales est diminué après l'injection de l'anti-D

**Tableau 14:** présentation de tous les résultats précédents.

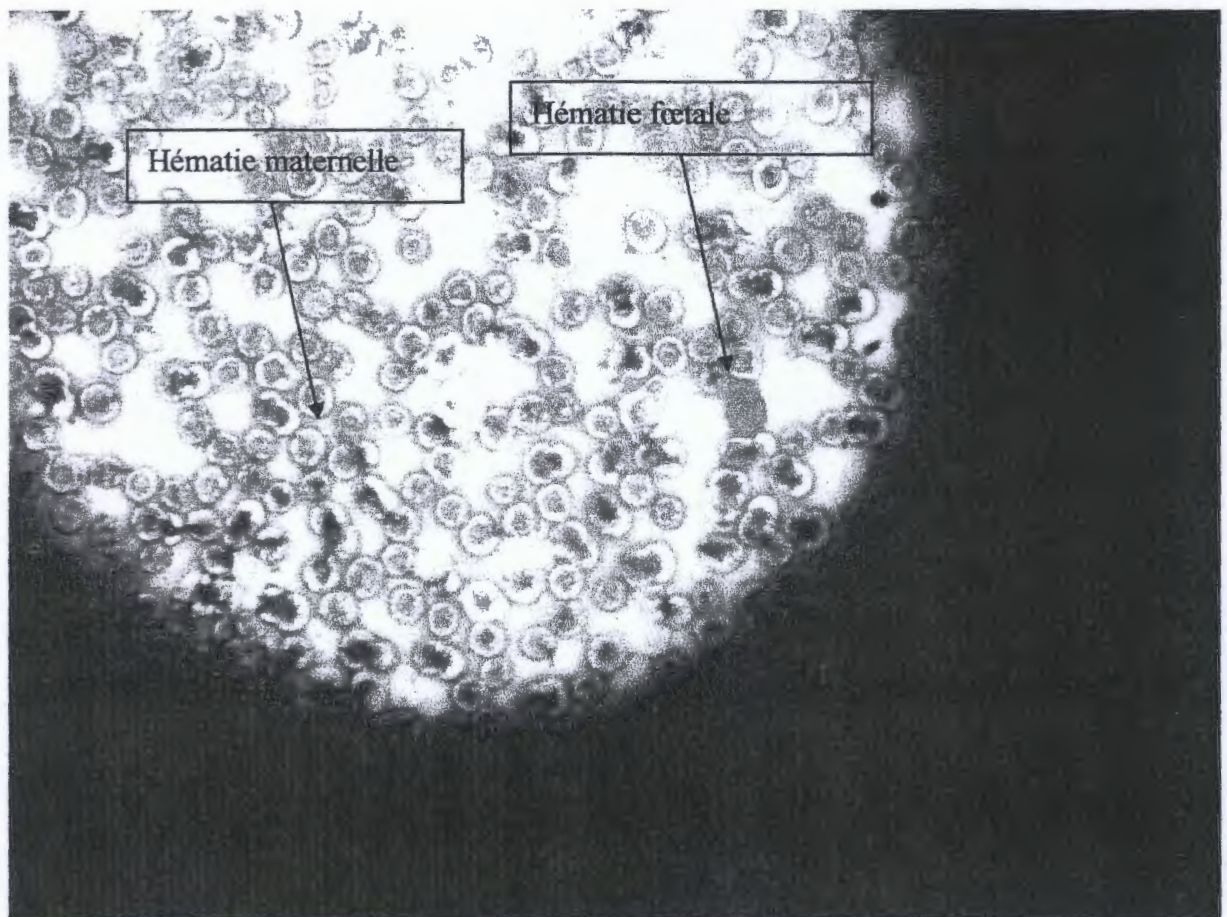
Nombre de patiente	Age	Nombre de geste	Groupage	Phenotypage	La R A I		L'identification des Ac irrégulier
					½ salin	bromeline	
1	39 ans	7	A <sup>-</sup>	cc ee k <sup>-</sup>	-	+	Non identifier
2	27 ans	5	A <sup>-</sup>	cc ee k <sup>-</sup>	+	-	Non identifier
3	34 ans	1	O <sup>-</sup>	cc ee k <sup>-</sup>	+	-	Non identifier
4	27 ans	1	B <sup>-</sup>	cc ee k <sup>-</sup>	-	+	Non identifier
5	27 ans	2	O <sup>-</sup>	cc ee k <sup>+</sup>	-	+	Anti-C
6	38 ans	6	AB <sup>-</sup>	cc ee k <sup>-</sup>	+	-	Non identifier
7	30 ans	3	A <sup>-</sup>	cc ee k <sup>+</sup>	-	+	Non identifier





**Figure 05 :** Le nombre des hématies foetales estimé par le test de Kleihauer avant l'anti-

D .



**Figure 06:** Le nombre des hématies fœtales estimé par le test de Kleihauer après l'anti-D.

## Discussion

Parmi les sept femmes rhésus négatif ayant accouchées d'enfants rhésus positif, on a deux cas primipares et cinq multipares ( Tab 05) , pour ces derniers cas le nombre de geste est compris entres deux et sept gestes.

Ces femmes ont été réparties selon leur groupe sanguin ( tab 07) . 03 cas sont du groupe A<sup>+</sup> , cela ne signifie pas que le A est le groupe abondant quant il s'agit de rhésus négatif, car d'après la littérature, c'est le groupe O qui est le plus dominant en France comme en Algérie [ 01].

Du même pour les résultats de phénotypage (tab 08) , les sept femmes sont cccck<sup>+</sup>K<sup>+</sup> , ceci ne signifie pas également qu'il s'agit d'un phénotype abondant dans le rhésus négatif, ceci est dû certainement au faible effectif de patiente que nous avons recrutés.

Les résultats de la RAI , faite pas le panel locale que nous avons prepare et qui s'avère efficace , montre que 03 cas sont positifs en pratiquant la méthode en salin(09) et 04 cas sont positifs par le test enzymatique à la broméline(10).

En comparant ces résultats au faible nombre des sujets de notre étude, on peut dire que 03 ou 04 cas positifs sur sept, est nettement considérable par rapport aux résultats rapportés dans la littérature [ 17].

La RAI négative chez les femmes restantes n'exclu pas toutefois l'absence totale des allo Ae car le panel est incomplet .

Sur les cas de RAI positives , on a pu identifier les allo Ae en cause , seulement chez une seule femme , il s'agit des Ae anti-C , cependant, aucune atteinte fœtale n'a été signalé , ceci est expliqué peut être, car les allo immunisations dans les systèmes C , c E et e sont moins dangereuses et sans conséquence fatales [10].



Signalons que l'intensité de la réactivité de ces allo -Ac avec les Ag de surface du fœtus est très minime , ceci n'est pas illustré dans la présentation de nos résultat ,le score de l'agglutination étant faible .

Les résultats du (tab 11) révèlent clairement que c'est essentiellement après l'accouchement que se produit le passage des hématies fœtales dans l'organisme maternelle .

On note un passage de 49 hématies (Tab 11) , soit 11,76 ml (Tab 12) chez la 4<sup>ème</sup> patiente ayant accouchée par césarienne, or on sait que le risque d'une allo- immunisation est proportionnel avec l'importance de l'hémorragie foeto- maternelle Cette hémorragie transplacentaire est d'autant plus grande que la manœuvre obstétricale est difficile [15] , toutefois la RAI chez la même malade est positive, ce qui confirme la présence d'un allo- immunisation.

En effet dans le cas du premier enfant Rh+ ( dans le cas des primipares) , c'est après le post partum qu'apparaissent pour la première fois des Ac anti rhésus , et cela six mois après l'accouchement [16] .

Il faut noter que l'aptitude des femmes à l'immunisation est très variable , il n'est pas possible de prévoir ce que sera la réponse à l'immunisation qui dépend des mécanismes génétiques complexes [11].

Dans le (tab 12) , on note une diminution nette du nombre des hématies fœtale dans le sang de la mère , après l'administration du vaccin anti-D , on prend comme exemple , la 04<sup>ème</sup> patiente qui avait 11.76ml d'hémorragie foeto –maternelle avant l'anti-D , ce volume est devenu 0,72ml, après l'anti-D d'où l'efficacité du vaccin .

Chez les 07 femmes , le volume de l'hémorragie après l'anti-D , ne dépasse pas 1ml , sauf pour le 3<sup>ème</sup> cas ( 1.2ml) , ou signale la persistance des hématies fœtales d'où il s'avère nécessaire d'effectuer une 2<sup>ème</sup> réinjection afin de détruire les hématies fœtales restantes .

On parle d'efficacité du vaccin seulement si le volume sanguin résiduel ne dépasse pas 1 ml.

D'après le Tab (13) , il semble que la parité ne modifie pas le volume de l'hémorragie fœto-maternelle, nos résultats sont en accord avec ceux de la littérature [15].

Conclusion

## Conclusion

Les incompatibilités sanguines foeto-maternelles restent d'actualité et constituent la forme la plus grave des accidents des allo-immunisations .

Nos résultats qui sont moins concluantes , peuvent être dus :

→ Au nombre faible des femmes recrutées .

→ Au panel incomplet , pour pouvoir dépister et identifier les allo- Ac en cause

Il aurait été souhaitable également de calculer le titre exacte des allo- Ac en cause afin d'évaluer avec certitude le risque de cette allo-immunisation .

Signalons que le test de Kleihauer n'est pas systématique dans notre pays , toutes les femmes rhésus (-) reçoivent une même dose standard de 250  $\mu\text{g}$  , cette quantité doit tenir compte du volume de l'hémorragie foeto-maternelle , d'où la nécessité du test de Kleihauer .

Annexes



# Annexe

## → Matériel expérimental

Tube à essai contenant l'anti-coagulant : EDTA, Heparine, Citrate de Sodium .

- Tube sec.
- Micropipette.
- Centrifugeuse.
- Bain-marie.
- Agitateur.
- Plaque d'opaline.
- Les Lames.
- Portoirs
- La Pissette.
- Réfrigérateur.



## Les Réactifs

- Hématoxyline.
- Eosine.
- Ethanol 80%.
- Chlorure Ferrique.
- Eau distillée.
- SAG mannitol.
- Broméline.
- Sérum a testé.
- Le Sang.
- EDTA.
- Anti-A (sonafi diagnostic pasteur monoclonal murin).
- Anti-B (sonafi diagnostic pasteur monoclonal murin).
- Anti-AB (sonafi diagnostic pasteur monoclonal murin).
- Anti-O (IgM socromex monoclonal humain).
- Anti-K.
- Anti-C (sonafi diagnostic pasteur).
- Anti-c (sonafi diagnostic pasteur).
- Anti-E (sonafi diagnostic pasteur).
- Anti-e (sonafi diagnostic pasteur).
- Anti-globuline humain.

# Bibliographie

# Bibliographie

- 1- **Bachir. D; Belabes .S; Bouzid. K; Smaili F** (1989)  
hématologie, Tome II .Ed: Masson PP 227-231.
- 2- **Bachir.D; Belabes.S; Bouzid K; Smaili. F** (1989)  
hématologie;Tome I Ed: Masson PP 181-186.
- 3- **Bernard .D; Henri .R; Jean.R** (1992)  
Hématologie. Ed flammarion.pp 166-180.
- 4- **Cartron .JP ; Rouger .PH et Salmon.CH** (1991)  
Les groupes sanguins chez l'homme .Ed : Masson PP : 396- 415
- 5- **Chiaroni. J.**  
Les bonnes pratiques d'immuno-hématologie clinique, TCB vol 10 n : 3, Jun 2003.
- 6- **Davean. M ; Homberg. J.C, Marcelli.A ; Rivat.L** (1981).  
Technique en immuno-hématologie.Ed : Flammarion : PP 20-39.
- 7- **Fabrice.P ; Guillaume M ; Taurri .S.H** (2003).  
Gynécologie obstétrique.Ed : Masson PP 377-382.
- 8- **Farida.S** (2003)  
Abrégée d'hématologie.Ed : office des publication universitaire  
PP 259-267.
- 9- **genetal.B Mannoni.P et Salmon.CH**  
La transfusion. Ed : Flammarion Médecine sciences  
PP : 571-579.
- 10- **Hammoum.Z** (1988).  
Contribution a l'étude de l'incompatibilité foeto-maternelle dans le système rhésus D  
.Ed : mémoire de fin d'étude universitaire.
- 11- **Joneway .C.A et Travers.** (1997)  
Immunobiologie.Ed : de Bocck université .PP 62-64.

**12- Kheniche. L (2005).**

Contrôle de l'efficacité de la sérothérapie anti-D chez la femme rhésus négatif non immunisée .Ed : mémoire professionnel laborantine diplômée d'état.

**13- Manessier. L ; Roubinet F**

RAI en test indirect à l'antiglobuline en ½ de basse force ionique, TCB vol 6 1999  
PP 174-179.

**14- Megrus .K ; Sahraraoui .A et Terra. M (2003).**

L'incompatibilité foeto – maternelle érythrocytaire Ed : Mémoire du fin d'étude universitaire.

**15- Le Pennec. P.Y ; Tissier. A. M ; Noizate-pirene**

L'accident immuno-hémolytique transfusionnel TCB vol 3 N° 3,1996

**16- Le Pennec .P.Y .2000.**

Evolution des réactifs en immuno hématologie Enythrocytaire.transfus clin Biol.7  
.40S-43S

**17-Reviron.J et Reviron.M.(1984)**

les groupes sanguin érythrocytaire humain .Ed : encycl..Méd .chn pp 2-7

**18-Roubinet.F ; Mannessier .L ; Ghiaroni .J ; lauroua .P**

Aide à la décision en immuno- hématologie : recherche des anticorps anti-énythrocytaires (R.A.I) , TCB vol.7,2000,pp 513-518 .

**19-extrait de encyclopédie médicale pratique, copyrighte**

.1994, 1995, 1996, 1997. The learning company .Inc .TLc, Edusoff

**20 – Muller JY.**

Immuno-hématologie et transfusion sanguine

<http://.cri-cirs-univ-lyon1-fr/polycopiés/transfusion sanguine /transfusion-3rtm.immunohématologie .>

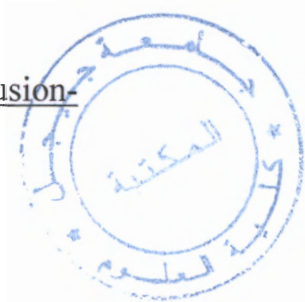
**21-Seroussi . H**

Diagnostic biologique d'une immunisation foeto-maternelle

<http://www.gyneweb.fr/sources/biologie/hémato/immunofetomater:ht.m/>

**22-http://www.callisto.si.usherb.cal~bcm5/4/3c.htm/.**

**23- La rousse médicale. Edition : 1984.**



Soutenance : 15/07/2006

Heure : 14H

Réalisé Par :

- ❖ GUEMRI Souad
- ❖ LASMAR Wassila
- ❖ LEDJRADI Houria

**Thème : La recherche des Anticorps irréguliers chez les femmes enceintes rhésus négatif et efficacité de l'anti- D**

#### Résumé

Les incompatibilités fœto-maternelles bien que moins fréquentes et moins dramatiques qu'il y a quelques dizaines d'années restent un sujet d'actualité .

Notre présent travail porte sur sept femmes rhésus négatif d'âge compris entre 27 -39ans , de groupe sanguins différents et ayant accouchées d'enfants rhésus positifs .

Pour suivre l'évolution d'une allo immunisation chez ces femmes nous avons recherché les anticorps irrégulier par la méthode d'agglutination en milieu salin et par une technique utilisant la broméline comme enzyme , nos résultats révèlent la positivité de la RAI chez la moitié des cas .

Pour évaluer l'efficacité de la prévention par l'anti- D , le test de Kleihauer à été réalisé , nos résultats témoignent de l'efficacité du vaccin chez la majorités des femmes

#### Abstract

The incompatibility fœto-nursery schools although less frequent and less dramatic than there are a few tens of years remain a subject of topicality.

Our present work carries on seven women negative rhesus monkey of age understood between 27 -39ans, of blood group different and having delivered of children positive rhesus monkeys.

To follow the evolution of a hello immunization at these women we have search for the irregular antibodies by the method of agglutination in saline middle and by a technique using the broméline like enzyme, our results waking up the positivity of the RAI at the half of cases.

To value the efficiency of the prevention by the anti - D, the test of Kleihauer to been achieved, our results testify the efficiency of the vaccine at majorities of women.

#### ملخص :

رغم قلة إنتشار ومساوية اللاتوافق بين الجنين و الأم منذ عشرات السنين إلا أنه يبقى موضوع الساعة . عملنا هذا تم على 07 نساء ذوات زمرة دموية سالبة الريزوس أعمارهن تتراوح ما بين 27 و 39 سنة ، ذات مجموعة دموية مختلفة وواضعات لأطفال زمرة دموية موجبة .

من أجل متابعة تطور allo immunisation عند هؤلاء النسوة قمنا بالبحث عن الأجسام المضادة غير المنتظمة بطريقة الترسيب في وسط ملحي و بتقنية استعمال البروميلين كإنزيم ، نتائجا بينت إيجابية البحث عن الأجسام المضادة غير المنتظمة عند نصف الحالات .

من أجل تقدير فعالية الوقاية بواسطة المضاد D ، إختبار كليهر تم إنجازه ، نتائجا تبين فعالية اللقاح عند أغلبية النساء

**Mots clés : Ac irréguliers, RAI, l'anti - D , test de Kleihauer**

**Encadré par :Bouhafs Leila**