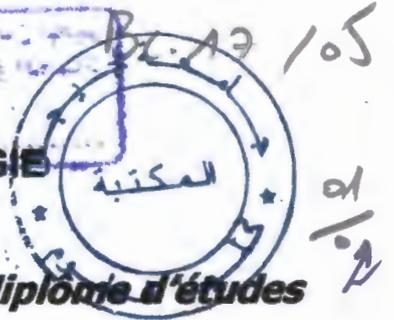


République Algérienne Démocratique Et Populaire
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE JIJEL
FACULTE DE SCIENCE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire
de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'études
supérieures

Option : Biochimie

Thème

La recherche d'anticorps irréguliers chez les polytransfusés

Membre de jury

Mr: Handis M^{ed} Sadek . Président
Mr: Laib Said . Examineur
M^{lle}: Bouhafs Leila . Encadreur

Présenté par :

Boulassel Ibtissem
Derbal Rahima
Rekina Fatma-Zohra



Promotion : 2005

REMERCIEMENTS

Nous remercions dieu tout puissant pour nous avoir donné le courage et la volonté pour réaliser ce travail.

Nous tenons d'abord à exprimer notre gratitude à notre directrice de mémoire Melle L. Bouhafis pour ses conseils, sa patience et surtout son enthousiasme communicatif.

Nos plus sincères remerciements s'adressent à Monsieur le directeur du Département de Biologie ainsi qu'aux membres de Jury d'avoir accepté de juger ce travail et tous les professeurs pour le soutien qu'ils ont apporté à la réalisation de ce travail.

Nous tenons aussi à remercier M^R. M^{Ed} Rachid Boulassel pour son aide précieuse ainsi que ses conseils.

Nous voudrions remercier les membres du Centre de Transfusion de Jijel et tout particulièrement Monsieur Reda pour son aide précieuse et ses conseils techniques. Nous remercions également toute l'équipe médicale du service de Médecine Interne et d'Hémodialyse pour leurs encouragements, aides et conseils précieux ainsi que tous les donneurs et les patients qui ont accepté de participer à cette étude.

Nous aimerions aussi remercier les personnes suivantes pour leurs encouragements et leur écoute et soutien: Rima, , Amel, Hanane, Soumia et Razika.

Enfin nous tenons à remercier nos parents qui nous ont soutenu en permanence pendant toute la durée de nos études et nous ont aidé à surmonter les difficultés avec tant de bienveillance et d'amour.

SOMMAIRE

I.	Introduction.....	2
II.	Partie théorique	
	Chapitre I : Les groupes sanguins érythrocytaires	
1.	Sang	5
1.1.	Plasma.....	5
1.2.	Les éléments figurés du sang.....	5
2.	Les antigènes.....	6
3.	Les anticorps.....	6
4.	Définition des groupes sanguins.....	7
4.1.	Rappel génétique.....	8
4.2.	Classification des groupes sanguins érythrocytaires.....	8
4.2.1.	Le système ABO et ses associés.....	8
4.2.1.1.	Le système ABO.....	8
4.2.1.2.	Système Rhésus.....	11
4.2.2.	Les autres systèmes sanguins.....	12
4.2.2.1.	Système Kell.....	12
4.2.2.2.	Système Lewis.....	12
4.2.2.3.	Système I.....	13
4.2.2.4.	Système Duffy	13
4.2.2.5.	Système MNSs.....	13
4.2.2.6.	Système Luthéran.....	14
4.2.2.7.	Système P.....	14
4.2.2.8.	Système Kidd.....	14
4.2.3.	Le système HLA.....	15
4.2.4.	Les groupes des protéines sériques.....	15
	Chapitre II : La transfusion sanguine	
1.	Définition.....	17
2.	Historique.....	17
3.	Les prélèvements et les différentes préparations	17
3.1.	Les donneurs.....	17

3.2.	Le prélèvement	17
3.3.	Les produits sanguins labiles.....	17
3.3.1.	Le sang total.....	17
3.3.2.	Concentré érythrocytaire.....	18
3.3.2.1.	Concentré érythrocytaire phénotypé.....	18
3.3.2.2.	Concentré érythrocytaire lavés ou déplasmatisés.....	18
3.3.2.3.	Concentré érythrocytaire déleucocyté	18
3.3.3.	Concentré plaquettaire.....	18
3.3.4.	Plasma frais congelé.....	19
3.3.5.	Cryoprécipité congelé	19
3.3.6.	Concentré de granulocytes.....	19
3.4.	Les produits sanguins stables.....	19
3.4.1.	L'albumine.....	19
3.4.2.	Immunoglobulines.....	19
4.	Les effets secondaires de la transfusion.....	20
4.1.	Accidents immédiats.....	20
4.2.	Accidents tardifs.....	20
Chapitre III : Les hémoglobinopathies.....		22
1.	Rappel sur l'hémoglobine normale.....	23
2.	La drépanocytose.....	23
2.1.	Définition.....	23
2.2.	Physiopathologie	23
2.3.	Drépanocytose homozygote.....	23
2.3.1.	Les signes cliniques.....	24
2.3.2.	Les signes biologiques	24
2.3.3.	Diagnostic	24
2.3.4.	Traitement	25
2.4.	Drépanocytose hétérozygote.....	25
2.4.1.	signes biologiques.....	25
2.4.2.	Diagnostic	25
2.4.3.	Traitement	26
3.	Syndromes thalassémiques	26

3.1. Définition.....	26
3.2. Physiopathologie.....	26
3.3. Les différents types de thalassémies	26
3.3.1. La β -thalassémie majeure "maladie de Cooley"	26
3.3.1.1. Les signes cliniques	26
3.3.1.2. Les signes biologiques	27
3.3.1.3. Diagnostic.....	27
3.3.2. La β -thalassémie mineure	27
3.3.2.1. Les signes biologiques	27
3.3.2.2. Diagnostic.....	27
3.3.3. Les α -thalassémies	28
3.3.3.1. Les signes cliniques et biologiques	28
3.3.3.2. Diagnostic.....	28
3.3.3.3. Traitement.....	28
3.3.4. La thalassémie-drépanocytose.....	28
3.3.4.1. Les signes cliniques	28
3.3.4.2. Les signes biologiques.....	28
3.3.4.3. Diagnostic.....	29
3.3.4.4. Traitement.....	29
4. Syndromes de l'insuffisance rénale	29
Chapitre IV : L'allo-immunisation	30
1. Définition	31
2. L'allo-immunisation anti-érythrocytaire.....	31
2.1. Mécanisme	31
2.2. Diagnostic biologique de l'allo-immunisation érythrocytaire	33
3. L'allo-immunisation leuco-plaquettaire	33
3.1. Diagnostic immunologique	33
4. Intolérance aux protéines plasmatiques	33
5. La prévention des allo-immunisations.....	33
III. Partie Pratique	
Chapitre V : Matériel et méthodes.....	37
1. Matériel Biologique.....	37

1.1.1. Les Donneurs du sang.....	37
1.1.2. Les Sujets polytransfusés.....	37
1.2. Matériel expérimental.....	38
1.2.1. Réactifs.....	38
1.2.2. Appareillage.....	39
2. Méthodes utilisées.....	39
2.1. Préparation d'un panel d'hématies test pour RIA.....	39
2.1.1. Sélection des donneurs	39
2.1.2. Mode de prélèvement.....	39
2.1.3. Groupage sanguin ABO.....	39
2.1.4. Groupage Rhésus	41
2.1.5. phénotypage dans le système Rhésus et kell.....	42
2.1.6. Recherche des anticorps irréguliers.....	43
2.1.6.1 Le test de Coombs indirect	43
2.1.6.2 Technique utilisant le milieu salin.....	43
Chapitre VI : Résultats.....	44
1. Répartition des patients étudiés en fonction de la provenance des échantillons sanguins.....	45
2. Répartition des patients étudiés en fonction de l'âge.....	46
3. Répartition des patients étudiés selon le groupe sanguin ABO.	47
4. Répartition des patients étudiés selon le groupe sanguin Rhésus.....	48
5. Répartition des patients étudiés selon le groupe sanguin Kell..	49
6. Répartition des patients étudiés selon le phénotype rhésus.	50
7. Répartition des patients étudiés selon le phénotype rhésus et Kell.....	51
8. Répartition des patients étudiés selon les résultats de la recherche des anticorps irréguliers.....	52
8.1. Préparation d'un panel d'hématies tests.....	52
8.1.1. Répartition des donneurs selon l'âge.....	52
8.1.2. Répartition des donneurs selon le sexe.....	53
8.1.3. Répartition des donneurs selon le groupe sanguin Rhésus.....	54

8.1.4. Répartition des donneurs selon le phénotype rhésus et Kell.....	55
8.2. Recherche des anticorps irréguliers.....	56
8.3. Influence de l'hémolyse sur l'efficacité du panel des hématies tests.....	58
Chapitre VII : Discussion et conclusion	59
Références bibliographiques	
Annexe	

INTRODUCTION

La transfusion est indispensable à de très nombreux traitements en médecine et en chirurgie, qu'elle soit compensatrice d'anémie profonde ou substitutive, elle est une mesure thérapeutique qui a un impact majeur sur l'espérance de vie des milliers des malades, tels que ; les polytransfusés dont on cite, les hémoglobinopathies et les hémodialysés.

En absence de ce traitement surtout chez les thalassémiques est en règle létal au cours des premières années de vie.

Mais ce moyen thérapeutique aussi indispensable est susceptible d'induire des accidents immunologiques très graves nécessitant la réduction des besoins transfusionnels et éviter la survenue des allo immunisations.

Le polymorphisme des groupes sanguins et l'immunogénicité des antigènes portés par les cellules sanguines sont les acteurs des allo immunisations ; un sujet qui reçoit par transfusion (ou grossesse) un antigène qui lui est étranger risque de développer l'anticorps correspondant (anticorps irréguliers), lors de transfusion (ou grossesse) ultérieur ; ainsi le conflit antigène – anticorps peut conduire à une hémolyse.

Il est donc recommandé de surveiller attentivement les personnes polytransfusées, parallèlement à la détermination du groupage ABO, le groupage rhésus et le phénotypage, la recherche des anticorps irréguliers est l'examen fondamental pour le diagnostic et la prévention des allo immunisations.

Aujourd'hui, malgré les mesures prises et les précautions envisagées, les risques d'allo immunisation existent toujours.

Notre travail consiste à rechercher des anticorps irréguliers chez les patients présentant un risque d'allo immunisation.

Vu l'importance d'un panel d'hématies tests, non seulement sur le plan médical mais également sur le plan économique étant donnée les coûts excessifs des panels commercialisés, dans ce but nous avons essayé ;

- D'une part , de préparer un panel d'hématies tests à partir de culots globulaires de donneurs de groupes O phénotypés dans le système rhésus et kell ;

- D'autre part, d'évaluer l'efficacité de ce panel par la recherche des anticorps irréguliers.

PARTIE
THEORIQUE

CHAPITRE !
LES GROUPES SANGUINS
ERYTHROCYTAIRES

1. Le sang

Le sang est un tissu vital, liquide visqueux et opaque irriguant tous les tissus de l'organisme, aux quels il apporte les substances nutritives et l'oxygène nécessaire au métabolisme, et dont il recueille les déchets pour les emporter vers les organes qui les éliminent (rein, poumon, foie...etc.). Il représente ~ 8% de la masse corporelle, sa température est de 38 °C, son PH est légèrement alcalin: 7.35 - 7.45 et son volume est de 4 à 5 L pour les femmes et de 5 à 6 L pour les hommes [11].

Le sang se compose de deux parties:

1.1. Le plasma

Le plasma est la phase liquide du sang et représente 55% du volume sanguin total. Il est formé par de l'eau (92%) et contient en solution des éléments comme: les minéraux, les immunoglobulines, l'albumine et les facteurs de coagulation qui permettent de transformer le sang fluide en un caillot [11].

1.2. Les éléments figurés du sang

Ils sont représentés par:

- **Les globules rouges (GR)** : ou hématies ou érythrocytes, éléments non nucléé, biconcaves, de diamètre de 7 à 8 μ , contenant de l'hémoglobine, pigment transportant l'oxygène vers les tissus. Leur taux varie de 4 à 5 millions/ml de sang et leur durée de vie est de 120 jours [11].
- **Les globules blancs (GB)**: appelés aussi leucocytes, cellules mobiles possédants tous des noyaux, peu nombreux que les hématies de 4000 à 10000 /ml du sang. Les GB interviennent dans les réactions immunitaires et la lutte contre les agents microbiens [11,17].

Selon la forme du noyau, on distingue deux grandes catégories:

Les polynucléaires: neutrophiles, basophiles et éosinophiles.

Les mononucléaires: monocytes et lymphocytes.

- **Les plaquettes:** petits éléments de 2 à 3 μ sans noyau, de formes très variables, plus abondante que les globules blancs 250000 à 400000/ml et elles interviennent dans la coagulation du sang et dans l'hémostase [11].

2. Les antigènes

Toutes substances de nature chimique diverse (protéine, lipide, glucide, ou mixte) capable a la fois d'induire une réponse immunitaire, et de réagir spécifiquement avec les effecteurs cellulaires ou humoraux de cette réponse. L'antigène a ainsi deux propriétés: l'immunogénéicité et la spécificité.

Les antigènes qui permettent de définir les multiples groupes sanguins sont des structures spécifiques de la membrane érythrocytaire [19].

3. Les anticorps

Il existe chez l'homme des anticorps dirigés contre les antigènes de groupes sanguins érythrocytaires. On peut les classer comme suit:

- **Les anticorps naturels:** Ce sont des anticorps présents chez l'homme naturellement, sans stimulation antigénique connue et dirigés contre l'antigène qu'un sujet ne le possède pas dans un système donné [1].

Ces anticorps naturels peuvent être subdivisés-en:

Les anticorps naturels réguliers: Sont des anticorps dont la présence est obligatoire compte tenu des antigènes portés par le globule rouge, comme les anticorps naturels anti-A et anti-B dont l'apparition de ces anticorps existe dès la naissance et peut être expliquée par des stimulations inapparentes bactériennes [1].

Les anticorps naturels irréguliers: Leur présence est inconstante et les plus classiques sont des anticorps du système Lewis.

Les anticorps naturels appartient à la classe des IgM et IgG. Ils sont peu actifs sur le plan immunologique car actif à froid [1].

- **Les anticorps immuns** : Ce sont des anticorps qui apparaissent suite à une stimulation antigénique. Ils sont de nature incomplète (IgG), actif à 37 C° et apparaissent généralement lors d'allo-immunisation (ABO incompatible) ou lors d'une hétéro-immunisation [1].

Dans le Tableau 1 ci-dessous sont résumés les différences entre ces deux types d'anticorps.

Tableau 1: Différence entre les anticorps naturels et les anticorps immuns [3].

	Anticorps naturels	Anticorps Immuns
Nature biochimique	IgM	IgG
Fixation du complément	+	-
Optimum thermique d'action	4°C	37°C
Agglutination	Directe en milieu salin	Indirecte par anti-globuline (Coombs indirect, après traitement enzymatique)
Groupes sanguins dont ils sont caractéristiques	Groupe érythrocytaire ABO, M, N, P et Lewis	Tous les groupes sanguins érythrocytaires, plaquettaire, mais surtout Rhésus, Kell et Duffy.
Agglutination en milieu salin avec antigène correspondant	Anticorps complet a deux sites antigéniques	AC incomplet dont un des sites antigéniques est bloqué
Evolution du taux sérique	En fonction de l'âge	Apparaissent dès l'immunisation

4. Définition des groupes sanguins

Les groupes sanguins érythrocytaires se répartissent en système dont chacun constitue un ensemble d'antigènes allotypiques de la membrane du GR génétiquement indépendant les uns des autres. C'est au niveau de la membrane de GR que ces antigènes sont insérés. Les structures réactives de ces groupes sanguins sont

variables. Certains groupes sanguins sont insérés dans la membrane lipidique comme le système Rhésus (Rh), d'autre sont des glycolipides (ABH) ou glycoprotéines (M N) accessible sur la surface externe de la membrane du GR [1].

4.1. Rappel génétique: La transmission héréditaire des groupes sanguins obéit aux règles habituelles de la génétique Mendélienne. Ces groupes sanguins sont liés à la présence des gènes situés au niveau des 23 paires du chromosome apparié, l'un d'origine maternelle et l'autre d'origine paternelle étant distribuer au niveau de la méiose grâce à la réduction chromatique dans l'une des gamètes [1].

4.2. Classification des groupes sanguins érythrocytaires

4.2.1. Le système ABO et ces associés

Le système ABO est présent avec les systèmes qui fonctionnent en association avec lui. Le premier système de groupe érythrocytaire ABO a été connu grâce aux travaux de Landsteiner en 1900. Ses élèves ont décrit par la suite le phénotype AB en 1902 [17].

4.2.1.1. Le système ABO

Le système ABO le plus anciennement connu, reste le plus important sur le plan transfusionnel. Il est défini par la présence d'antigène sur les GR (A, B) , définissant ainsi quatre phénotypes (A, B, AB, O) et par la présence d'anticorps sériques naturels spécifiques de ou des antigènes absents des GR. Autrement dit un antigène et son anticorps spécifique ne peuvent être présents en même temps chez un sujet [17].

Tableau 2: génotypes et phénotypes du système ABO [17].

Groupes sanguins	Antigènes	Anticorps naturels	Génotypes	Fréquence (%)
A	A	Anti-B	AA ou AO	45 p.100
B	B	Anti-A	BB ou BO	9 p.100
AB	A et B	Aucun	AB	3 p.100
O	Ni A ni B	Anti-A, anti-B	OO	43 p.100

Les gènes du système ABO sont situés sur le chromosome 9 dont il est codé par trois allèles A, B, O. Les gènes A, B sont codominants, alors que le gène O est récessif [17].

- **Phénotype du système ABO:** La première complexité apparaît une dualité d'antigène A qui correspond à A1 et A2. L'antigène A1 est un antigène fort fréquent agglutinable par des anticorps anti-A et anti-A1. L'antigène A2 plus rare n'est agglutinable que par les anticorps anti-A. Donc on peut avoir six phénotypes courants (Tableau 3) [1].

Tableau 3 : Phénotypes et génotypes des sous-groupes de l'antigène de A [1]. AB

Phénotypes	Antigènes érythrocytaires	Anticorps constants	Anticorps inconstants	Génotypes	Fréquence (%)
A1	A1	Anti-B	Anti-H	AA1, A1O, A1A2	80 p.100
A2	A2	Anti-B	Anti-A1	A2A2, A2O	20 p.100
A1B ✓	A1, B		Anti-H	A1B	80 p.100
A2B ✗	A2, B		Anti-A1	A2B	20 p.100

On rencontre exceptionnellement d'autres antigènes faibles, rattachés aux antigènes A ou B comme les phénotypes A3, Ax, Am, Ahm, Bx, Bm..... On soupçonne leur existence quand il y a discordance entre les antigènes globulaires et les agglutinines naturelles présentes dans le sérum [1].

- **La structure des substances de groupe ABH:** La fonction des gènes ABO est de produire des glycosyltransférases, enzymes qui sélectionnent dans le cytoplasme les différents sucres ; Le N acétyl-D-galactosamine pour la transférase A et le galactosamine pour la transférase B. Ces molécules sont fixées à une structure glucidique précurseur: L'antigène H dont le sucre dominant est un fucose. Cette substance H est étroitement associée au système ABO [1].

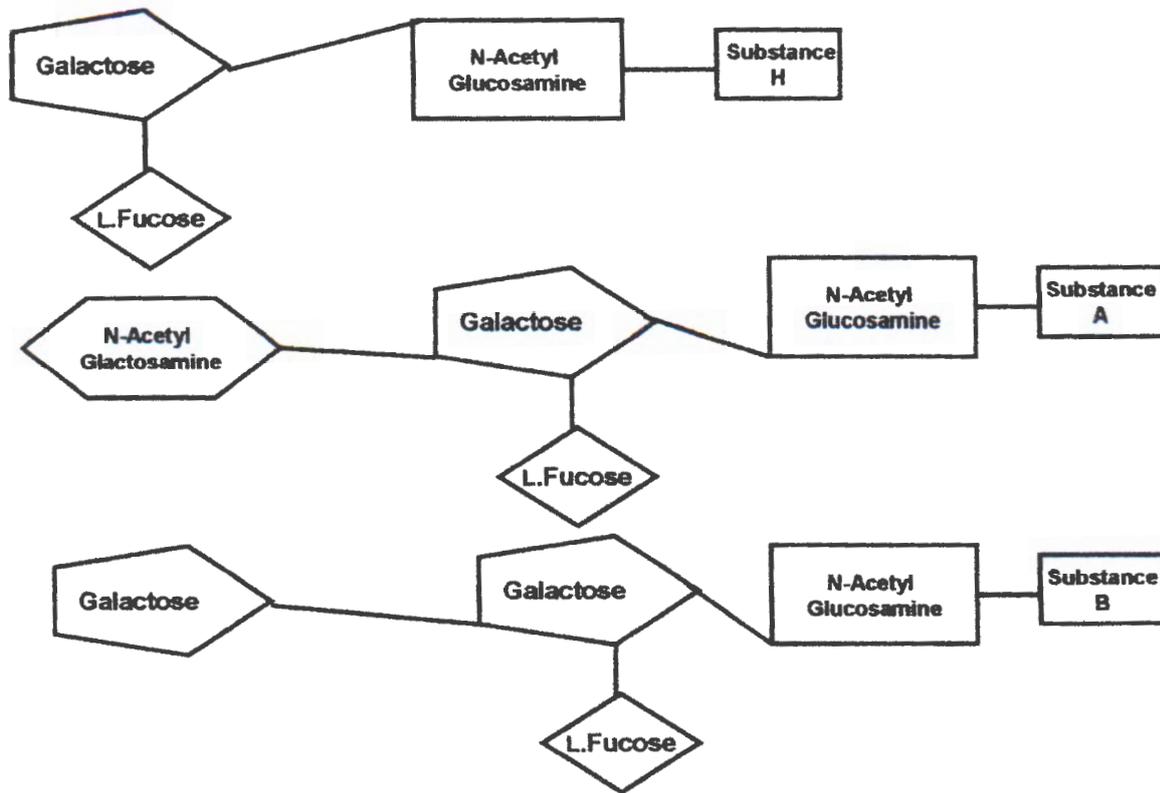


Figure 1. Structure des substances ABH [3]

- **Les anticorps de système ABO:** Sont classés en deux types naturels et immuns

Les anticorps naturels: ils apparaissent chez l'enfant entre 0 et 6 mois. Chaque sujet a dans son plasma les anticorps correspondants aux antigènes qu'ils ne possèdent pas sur ses hématies. Les sujets AB n'ont pas d'anticorps naturels, alors que les sujets O ont les anticorps anti-A et anti-B. Les sujets "Bombay" ont l'anticorps anti-H [4].

Les anticorps immuns: Ils apparaissent à la suite de stimulations antigéniques variées:

Soit lors d'allo-immunisation (ABO incompatible).

Soit lors d'hétéro-immunisation, les substances AB étant très répandues dans la nature.

Les anticorps immuns anti-A et/ou anti-B sont le plus souvent présents chez les personnes de groupe O [4].

4.2.1.2. Système Rhésus

Système de groupe sanguin érythrocytaire définit par la présence ou l'absence d'un antigène dit antigène Rh standard découvert par Landsteiner et Weiner en 1940. Ce système a une grande importance de point de vue transfusionnel [17].

- **Les antigènes:** Le système Rh est un système dont il faut impérativement se protéger du fait de la grande immunogénécité de son antigène. Ce système comporte 35 antigènes connus de fréquence et d'importance variable.

L'antigène Rh standard ou classique est l'antigène D, présent chez 85 p.100 des individus et responsable de la majorité des accidents transfusionnels. Il est codé par le gène D transmis selon les règles Mendéliennes. Les 15 p.100 des sujets Rh négatif dd sont définis négativement.

Cinq antigènes principaux D, C, c, E et e sont couramment déterminés dans ce système grâce à des allo-anticorps spécifiques. L'antigène D est une protéine trans-membranaire a deux domaines [5].

- **Les haplotypes Rhésus:** Les gènes Rh sont localisés sur le chromosome n°1 dont les gènes D,d C,c E et e forment les haplotypes. Les différentes combinaisons alléliques donnent naissance à huit haplotypes Rh différent [1] (Tableau 4).

Tableau 4: principaux haplotypes du système Rhésus [19].

Haplotype	Antigènes produits	Fréquences (%)
DCE (R1)	D, C, e	42 p.100
Dce (r)	C, e	29 p.100
Dce (R°)	D, c, e	21 p.100
DcE (R2)	D, c, E	8 p.100
dCe (r')	C, e	3 p.100
dcE (r'')	c, E	1.3 p.100
DCE (rz)	D, C, E	Très rare
Dce (ry)	C, E	Très rare

- **L'antigène (Du) faible:** il existe différentes expressions de l'antigène D, dont l'antigène Du faible. Les hématies ne sont pas agglutinées par les anti-globulines anti-D en test de routine. Elles sont beaucoup mieux détectées par des techniques plus sensibles telles que le test de Coombs indirect. Les sujets possédant l'antigène Du doivent être considérés comme Rh+ quand ils sont donneurs et Rh- quand ils sont receveurs. Ces antigènes Du sont peu immunogènes [4].
- **Les anticorps:** Pratiquement il n'existe pas d'anticorps naturels dans le système Rh. Les anticorps identifiés sont dans la totalité des cas des anticorps immuns qui apparaissent lors d'une immunisation transfusionnelle ou fœto-maternelle [3].

4.2.2. Les autres systèmes sanguins

4.2.2.1. Système Kell

Le système Kell est important parce que l'antigène K possède un pouvoir immunogène redoutable qui vient par ordre décroissant d'immunogénéicité après l'antigène D d'où la relative fréquence des allo-immunisations transfusionnelles. Il est représenté par deux gènes allèles situés sur le chromosome 1. Un antigène Kell (K) et son antithétique cellano (k) qui sont construits sur un substrat K_x. Les antigènes Kell se trouvent exclusivement sur la membrane du globule rouge. Le Tableau 5 ci-dessous représente le phénotype et le génotype du système Kell [1,15].

Tableau 5: Fréquence du système Kell.

Antigène	Phénotypes	Génotypes	Fréquences (%)
K	K+ K-	K K	0.2 p.100
K et k	K+ k+	K k	8.8 p.100
k	K- k+	k k	91 p.100

4.2.2.2. Système Lewis

Des antigènes du système Lewis ne sont pas produits par les érythroblastes mais ils sont absorbés sur la membrane érythrocytaire à partir de la salive ou de plasma

environnant dont le phénotypage peut être effectué sur ces deux compartiments de sujets dits sécréteurs Le/le ou Le/Le. Deux antigènes sont identifiés He_a et He_b dont la structure est reliée à celle des antigènes A, B et H [1].

Les anticorps anti-Lewis ont un taux faible dans des accidents transfusionnels car ils ont un optimum thermique à 4°C, de nature IgM, irréguliers et complément dépendant si bien qu'ils peuvent occasionnellement donner des réactions transfusionnelles [1].

4.2.2.3. Système I

Des déterminants I et i ont une structure hétérogène apparente aux structures biochimiques des antigènes H, B, A, Le, et P. Une différence de réactivité s'observe entre des hématies adultes et du sang de cordon car les hématies adultes sont fortement agglutinées avec l'anti-I, les hématies du cordon sont fortement agglutinées par l'anti-i. Les anti-i sont souvent des IgM et parfois des IgG [1,5].

4.2.2.4. Système Duffy

L'antigène Duffy a été découvert en 1950 chez un polytransfusé nommé Duffy où ils ont retrouvé un anti-Fya puis l'antigène Fyb. D'autres antigènes ont été découverts par la suite et numérotés selon l'ordre chronologique Fy3, Fy4, Fy5, Fy6. Le phénotype silencieux Fy (a-b-) est fréquent dans la population noire. Ce système allotypique de groupe sanguin érythrocytaire est défini par la présence de deux antigènes Fya et Fyb et présente un grand intérêt transfusionnel en raison du pouvoir immunogène de l'antigène Fya qui se situe après les antigènes D et K. Il est déterminé par deux gènes allèles situés sur le chromosome n° 1, le gène Fya et son allèle Fyb [1,15].

4.2.2.5. Système MNSs

A la suite de la découverte du système ABO, Levine et Landsteiner ont immunisé des lapins avec du sang humain. Les anticorps mis en évidence lors de l'expérience ont été appelés anti-M et anti-N. Par la suite ils ont découvert des antigènes S qui sont étroitement liés à MN. Ces antigènes sont des antithétiques formant le système MNSs. Les anticorps anti-S et anti-s sont actifs à 37°C que l'on peut observer chez les polytransfusés. Les anti-M et anti-N sont sans importance transfusionnelle actifs à 4°C (anticorps naturels) [15].

4.2.2.6. Système Lutheran

Le système Lutheran a été mis en évidence pour la première fois en 1945 à l'occasion de la découverte d'un anti-Lu_a chez un homme présentant un lupus érythémateux disséminé et ayant bénéficié d'une transfusion de sang possédant antigène correspondant. Le système est composé de plusieurs antigènes dont le plus important étant les Lu_a et Lu_b et présentant trois phénotypes courants Lu (a-, b+), Lu (a+, b+) et Lu (a+, b-). Les deux antigènes ne sont pas totalement développés à la naissance. Les anticorps sont rares et ils peuvent appartenir aux trois classes IgG (souvent IgG4), IgA ou IgM et occasionner des maladies hémolytiques périnatales [1].

4.2.2.7. Système P

Après immunisation des lapins par des globules rouges humaines, Landsteiner et Levine ont révélé un système P grâce à des anticorps anti-P. A l'heure actuelle trois sortes de déterminants antigéniques P1, P2 et Pk ont été décrits (Tableau 6) . Ces antigènes définissent des phénotypes dont le plus fréquent P1 et P2. Ils sont incomplètement développés à la naissance. Les anticorps anti-P1 des patient P2 sont naturels (IgM) actif à froid sans intérêt en transfusion et ne sont pas à l'origine de maladies périnatales [1].

Tableau 6: Fréquence du système P [1].

Groupes	Déterminant antigéniques			Fréquences (%)
	P1	P	pk	
P1	+	+	-	75-80 p.100
P2	-	+	-	20-25 p.100

4.2.2.8. Système Kidd

Le système Kidd est représenté par deux antigènes principaux antithétiques Jka et Jkb, produits par deux allèles et un phénotype silencieux Jk (a-, b-) d'une extrême rareté (Tableau 7). L'antigène Jka semble être aussi immunisant que l'antigène Fya (Duffy). L'anticorps produit de type IgG est souvent difficile à mettre en évidence. Il est néanmoins responsable d'accidents transfusionnels et de maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN) [1].

Tableau 7: Fréquence du système Kidd [1].

Phénotypes	Réaction avec		Génotypes	Fréquence en Algérie (%)
	Anti-Jka	Anti-Jkb		
Jk (a+ b-)	+	-	Jka Jka	28
Jk (a- b+)	-	+	Jkb Jkb	22
Jk (a+ b+)	+	+	Jka Jkb	50

4.2.3. Le Système HLA

C'est le système majeur d'histocompatibilité chez l'homme. Les antigènes du système HLA sont présents à la surface des leucocytes qui sont utilisés pour la détermination du phénotype. Mais on les retrouve également à la surface des plaquettes et de toutes les cellules nucléées de l'organisme. Ils constituent la principale structure de reconnaissance immunologique et interviennent au premier rang dans l'allogreffe tissulaire. Certaines maladies sont en outre corrélées avec certains phénotypes HLA. Les gènes du système HLA sont localisés sur le chromosome 6 [17].

Centromère

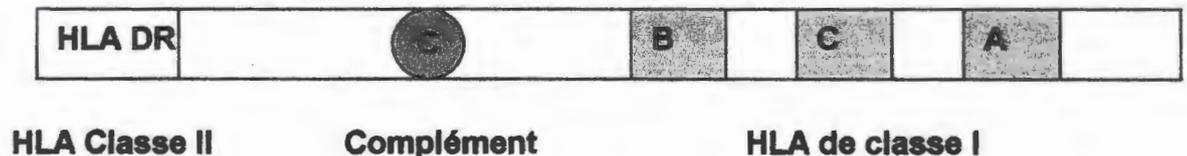


Figure 2. Représentation schématique du système HLA [1].

4.2.4. Les groupes des protéines sériques

Ils seront mentionnés pour mémoire car ils n'ont pas d'incidence clinique, ils représentent surtout des marqueurs génétiques.

- **Les systèmes de groupe d'immunoglobulines :** Les plus connus sont les systèmes Km pour les chaînes légères k et le système Gm pour les IgG1, IgG2 et IgG3.
- **Les autres systèmes de groupe :** Il existe aussi un polymorphisme génétique des fractions du complément, de l'haptoglobine, des lipoprotéines ...etc [1].

CHAPITRE II
LA TRANSFUSION
SANGUINE

1. Définition

La transfusion sanguine est le passage du sang total ou l'un de ses composants d'un sujet sain (donneur) à un autre sujet dit receveur [14].

2. Historique

La transfusion connaît un développement considérable dont les banques du sang naissent à travers le monde. Au XVII^e siècle, un médecin français, Jean-Baptiste Denis, pratiqua la première transfusion sanguine. Depuis cette époque, elle a connue quatre étapes :

L'époque du bras à bras (1945 à 1950)

L'époque du flacon de (1949 à 1965)

L'époque de la poche plastique depuis 1965 et

L'époque des machines (1967) : séparation in vivo des composants sanguins [10].

3. Les prélèvements et les différentes préparations

3.1. Les donneurs

Le don du sang est bénévole et anonyme. Le sang est prélevé chez les donneurs de (18 à 60 ans) ne présentant pas de contre indications médicales. La fréquence maximale du don est 5 par an chez l'homme et 3 par an chez la femme. Des analyses sérologiques telles que la recherche des hépatites, la syphilis et le SIDA sont effectués systématiquement chez tous les donneurs [17].

3.2. Le prélèvement

Le prélèvement s'effectue généralement sur une solution de citrate phosphate dextrose (CPD) qui est un anticoagulant. 500 ml de sang total sont prélevés au maximum. Le prélèvement peut être aussi effectué à l'aide d'une machine dite de cytophérèse [17].

3.3. Les produits sanguins labiles

3.3.1. Le sang total

C'est une poche contenant le sang d'un donneur bénévole tel qu'il a été prélevé et additionné de 60 ml d'une solution de conservation. Les indications du sang total se limitent à l'exsanguino-transfusion du nouveau-né et la compensation des hémorragies aiguës. Il est aussi utilisé dans le traitement des anémies, du déficit des facteurs de

coagulation et hypovolémie. La quantité à transfuser repose sur l'estimation des pertes [7,10].

3.3.2. Concentré érythrocytaire (CE)

Il s'agit d'une suspension de GR obtenue par centrifugation d'une poche du sang total prélevé sur anticoagulant suivis d'une soustraction aseptique du plasma. La transfusion de CE est indiquée généralement dans les anémies secondaires à des hémorragies d'origine chirurgicale ou obstétricale ou dans les anémies hémolytiques [7,10].

Le CE est utilisé sous plusieurs formes. Nous retenons le CE phénotypé, le CE lavés ou déplasmatisé et le CE déleucocytés.

3.3.2.1. Concentré érythrocytaire phénotype

Au moins cinq antigènes érythrocytaires sont déterminés. Ce produit est conseillé chez les polytransfusés afin d'éviter les allo-immunisations [10].

3.3.2.2. Concentré érythrocytaire lavé ou déplasmatisé

La qualification 'déplasmatisé' signifie l'élimination des protéines plasmatiques. Il est principalement indiqué dans certaines crises d'hémolyse intra-vasculaire et dans la prévention des réactions allergiques ; dues à la présence des anticorps anti-IgA chez le receveur [7].

3.3.2.3. Concentré érythrocytaire déleucocytés

Il s'agit de CE dont un grand nombre de leucocytes ont été éliminés. Ce produit est utilisé dans la prévenir de l'allo-immunisation HLA et dans la prévenir les réactions fébriles plus au moins importantes chez les malades déjà immunisées [5].

3.3.3. Concentrés plaquettaires

C'est le composant obtenu après centrifugation successives à partir d'un prélèvement de sang total d'un donneur. La transfusion des plaquettes est réservée en cas d'un syndrome hémorragique ou lors des thrombopénies comme dans les leucémies [7].

3.3.4. Plasma frais congelé

Le plasma est obtenu après centrifugation du sang total recueilli sur une solution anticoagulante, séparé et conservé entre -30°C à -40°C. Il est utilisé dans le traitement substitutif des déficits en facteurs de coagulation et lors les hémorragies aiguës [7,10].

3.3.5. Cryoprécipité congelé

Il est obtenu après congélation immédiate à -80°C d'un plasma fraîchement prélevé, suivi d'une décongélation à +4°C. Il contient surtout le facteur VIII et du fibrinogène qui sont utilisés dans le traitement de l'hémophilie A [10].

3.3.6. Concentré de granulocytes

Il s'agit d'une suspension de leucocytes obtenue par cytophérèse et contenant au moins 2.10^{10} granulocytes sous un volume inférieur ou égal à 500 ml. Il est indiqué dans le traitement des neutropénies centrales, la granulomatose septique et les septicémies néonatales [7,17].

3.4. Les produits sanguins stables

3.4.1. L'albumine

C'est la protéine la plus importante du plasma possédant un pouvoir oncotique et il est indiqué dans le traitement du choc des brûlés et les états d'hypoalbuminémie [5].

3.4.2. Immunoglobulines

Les gammaglobulines sont préparés à partir du sang de donneurs par fractionnement alcoolique du plasma [10].

- **Immunoglobulines polyvalentes** : Elles sont indiquées dans l'hypo ou agammaglobulinémie congénitale, dans les déficits immunitaires acquis et les infections résistants aux antibiotiques.
- **Immunoglobulines spécifiques** : A titre d'exemple, nous avons l'anti-D, l'anti-VHB et l'anti-tétanique.

4. Les effets secondaires de la transfusion

Tout acte transfusionnel implique la mise en présence d'antigène de donneur avec le système immunitaire de receveur. Ceci entraînera un risque à deux faces des accidents immédiats et des accidents tardifs.

4.1. Accidents immédiats

Les accidents immédiats surviennent dans les 24 heures suivant la transfusion. Ils sont des signaux d'alarmes et annoncent fréquemment l'éventualité de futures réactions plus sévères [5] dont les principaux signes sont :

- **Le syndrome frissons hyperthermie** : Il est due à un conflit immunologique anti-leuco-plaquettaire et se traduit par des frissons avec un clocher thermique durant la transfusion. Cette réaction bénigne se manifeste par une vive sensation de froid avec frissons parfois intenses et une hypotension modérée. Généralement les signes disparaissent au bout de 3 à 4 heures. La forme grave se traduit par un œdème aigu des poumons [14,17].
- **L'ictère et le sub-ictère** : Cette complication surviennent le jour où le lendemain de la transfusion même si le patient à bien supporter la transfusion. Elle résulte de la lyse des GR dans le torrent circulaire. Les urines se colore en noir dans les demi heure qui suit le choc du faite de la présence de grande quantité d'hémoglobine [8].
- **La surcharge transfusionnelle** : Elle survient après la transfusion de sang total ou de grandes quantités de culots érythrocytaires. Elle se traduit par des signes d'œdème pulmonaire avec une toux [10].
- **L'hypocalcémie** : Elle survient après transfusions massives et peut être prévenue par l'injection de chlorure de calcium [17].
- **Le choc septique** : Tout a fait exceptionnel et grave. Il est dû à la contamination bactérienne du sang pendant la conservation [21].

4.2. Les accidents tardifs

Une transfusion incompatible peut poser des problèmes après 7-15 jours impliquant tout le circuit medico-administration [4].

- **L'allo-immunisation concernant les érythrocytes :** L'accident se manifeste une à deux semaines après une transfusion incompatible. Les antigènes les plus immunogènes sont principalement la cause. Une inefficacité transfusionnelle différée vient s'ajouter donc à des symptômes d'accidents parfois graves (accident hémolytique et défaillance cardiaque). Dans ce cas, la transfusion se fait par du sang phénotype [4].
- **L'allo-immunisation concernant les leucocytes et les plaquettes :** Allo-immunisation se traduit par l'apparition des anticorps spécifiques des leucocytes et des plaquettes lors des transfusions du sang total ou de concentrés globulaires non déplaquetés ni déleucocytés. Le plus souvent il s'agit des anticorps anti-HLA détruisant les cellules transfusées [4].
- **L'hémochromatose :** Les transfusions répétées aboutissent à une augmentation sérique en fer. Ce syndrome est observé chez les polytransfusés comme les thalassémiques. Le dépistage est basé sur le dosage de ferritine plasmatique [17].
- **La contamination virales :** Le sang peut être le véhicule de nombreux agents pathogènes : virus, bactéries et les parasites. Ces agents peuvent provoquer des maladies graves telles que les hépatites, le SIDA, la syphilis et le paludisme [17].
- **La production d'anticoagulant circulant :** Ce sont des anticorps anti-facteur VIII qui résultent des transfusions répétées de concentrés de facteur VIII et du cryoprécipité congelé se qui rend très difficile le traitement des hémorragies [5].

Toutes ces conséquences immédiats ou retardes peuvent être prévenues par la recherche des agglutinines irrégulières qui résultent de différents antigènes (érythrocytaires, leucocytaires et plasmatiques) avec une fréquence qui croit avec leur immunogénicité [5]

CHAPITRE III
LES
HEMOGLOBINOPATHIES

1. Rappel sur l'hémoglobine normale

L'hémoglobine (Hb) est une hétéroprotéine tétramérique composée de deux paires de chaînes polypeptidiques de types (α , β , γ , δ). Chacune de ces chaînes est liée par une liaison covalente à un groupement hème. Sa biosynthèse se fait dans les cellules érythroblastiques de la moelle osseuse. Les proportions des différentes Hb diffèrent avec l'âge [2] (Tableau 8).

Tableau 8 : Les différents types d'hémoglobines [2].

Chaînes polypeptidiques	Naissance (%)	Adulte à partir de 6 mois (%)
($\alpha_2 \beta_2$) HbA1	15 p 100	97 p 100
($\alpha_2 \delta_2$) HbA2	0.5-1 p 100	2-3 p 100
($\alpha_2 \gamma_2$) HbF	85 p 100	0.5-1 p 100

2. La Drépanocytose

2.1. Définition

Affection d'origine génétique se caractérise par la présence au niveau des hématies d'une Hb anormale, l'HbS qui remplace complètement ou partiellement l'Hb A1. Les autres fractions hémoglobiniques HbA2 et HbF sont qualitativement et quantitativement normale [13].

2.2. Physiopathologie

La différence de structure entre l'HbA1 normale et l'HbS pathologique est minime. Elle se résume en une substitution d'un seul acide aminé dont l'acide glutamique situé en position 6 sur la chaîne 3 est remplacé par une molécule de valine. Cette substitution s'accompagne de modifications physico-chimiques.

Lorsque la pression partielle de oxygène baisse dans sang l'HbS se polymérise et se précipite dans les GR qui perdent leur souplesse, subissent une falciformation et prennent la forme d'un croissant ou d'une faucille [13].

2.3. La drépanocytose homozygote

Les sujets homozygotes possèdent une fraction hémoglobinique majoritaire constitué par l'HbS. Ces sujets développent une anémie hémolytique sévère [9].

2.3.1 Les signes cliniques

Ce sont les signes habituellement rencontrés lors d'une anémie hémolytique constitutionnelle. La pâleur est souvent masquée par la pigmentation raciale [13].

- La splénomégalie parfois volumineuse
- Les crises douloureuses abdominales accompagnées avec des crises douloureuses osseuses qui peuvent souvent simuler des crises de rhumatisme articulaire aigu
- L'atteinte cardiaque se traduit par une tachycardie
- Des infections broncho-pulmonaires à répétition

2.3.2. Les signes biologiques

Les signes biologiques caractérisant les drépanocytaires homozygotes sont variables [13].

- Une anémie normochrome ou légèrement hypochrome
- Le syndrome hémolytique associant une hyperbilirubinémie
- Une réticulocytose élevée (25 à 30% des GR circulants)
- Carence en acide folique due à l'hyperconsommation de l'érythropoïèse compensatrice
- Hb : 7-8g/dl
- GR: < 1000000/mm³
- Volume globulaire moyen (VGM) : 90-110 μ
- Taux de réticulocyte : 200000/m m³ []
- Hyperbilirubinémie

2.3.3. Diagnostic

Le test de falciformation est l'un des tests clé dans la diagnostic de la drépanocytose homozygote. La totalité des hématies présentent le phénomène de falciformation. L'HbS constitue la quasi-totalité de l'hémoglobine totale à l'électrophorèse. Une augmentation du taux d'HbF avec un taux normal ou modérément augmenté de HbA2 sont également retrouvés [13].

2.3.4. Traitement

Les sujets drépanocytaires peuvent se présenter sous différents états qui se distinguent par leur symptomatologie clinique et biologique. Il n'y a pas de traitement spécifique. Les transfusions de sang total ou de globules déplasmatisés sont programmées et effectuées sur rendez-vous. Les perfusions de soluté de faible poids moléculaire et l'oxygénothérapie permettent des améliorations transitoires. Plus récemment la transplantation de moelle osseuse a été suggérée dans le traitement de la drépanocytose [19].

2.4. La drépanocytose hétérozygote

Les porteurs hétérozygotes possèdent deux fractions hémoglobiniques une fraction HbA1 et fraction HbS. Les sujets drépanocytaires hétérozygotes sont indemnes de manifestations cliniques. Ils ne sont pas anémiques et ne présentent aucune anomalie hématologique [13].

2.4.1. Les signes biologiques

- Hb 9g/l
- VGM : 79 μ
- Plaquettes : 300.000/mm³
- GB : 9000/mm³
- Frottis sanguin : anisocytoses, poikilocytoses et drépanocytes [13,19].

2.4.2. Diagnostic

Le diagnostic peut être affirmé par le test de falciformation qui est moins fortement positif que dans la forme homozygote. L'électrophorèse de l'Hb montre la présence d'HbS qui est inférieure à l'HbA et un taux normale d'HbF et HbA2 [19].

2.4.3. Traitement

Le traitement est préventif et il vise à prévenir tous les mécanismes pouvant entraîner une falciformation. En cas de crises hyperalgiques, l'utilisation d'antalgiques est parfois indispensable [13].

3. Syndromes thalassémiques

3.1. Définition

La thalassémie ou plutôt les thalassémies sont des états génétiquement déterminés dont l'expression se traduit par l'absence ou la diminution de production d'une ou plusieurs chaînes polypeptidiques de globine. Donc c'est un déficit du taux de synthèse [15].

3.2. Physiopathologie

Le défaut de synthèse porte sur une des chaînes de globine. Il est dû à la délétion ou au défaut de transcription d'un ou plusieurs gènes avec défaut de formation d'ARN messenger spécifique selon la chaîne déficitaire. Deux groupes sont à distinguer : les α et les β - thalassémies. On classe les différentes thalassémies en fonction de la chaînes atteinte de la façon suivante : une absence totale de synthèse d'une chaîne est notée 0 ; un déficit partiel est noté +. Ainsi, une β thalassémie due à une mutation entraînant un déficit total de synthèse est notée β 0 thalassémie. Si le déficit est partiel on note β + thalassémie. On peut hériter l'anomalie génétique à l'état homozygote ou hétérozygote [15].

3.3. Les différents types de thalassémies

3.3.1. La β -thalassémie majeur "maladie de Cooley"

La forme la plus sévère de thalassémie homozygote est l'anémie de Cooley qui survient chez un individu lorsque les deux gènes β globines (un sur chaque chromosome 11) sont incapables de synthétiser les chaînes β . Elle se traduit par une anémie sévère dès la première année de la vie accompagnant d'un sub-ictère [17].

3.3.1.1. Les signes cliniques : Les thalassémiques sont caractérisés par :

- Un retard staturo-pondéral et pubertaire
- Des fractures osseuses et un teint blafard
- Une splénomégalie constante accompagnant une hépatomégalie.
- Un sub-ictère conjonctival.
- Des anomalies morphologiques du squelette osseux et une hypertrophie de la rate et du foie [17].

3.3.1.2. Les signes biologiques

- L'Hb < à 7g/dl
- VGM < 60-65 μ
- GB : 162.000/mm³ et plaquettes 687.000/mm³
- Lymphocytes 34% et neutrophiles 53%
- Augmentation de la bilirubine libre (témoins de l'hémolyse)
- Réticulocytose de 200.000 /mm³
- Présence d'anisocytose, de poikilocytose et d'érythroblastose
- Présence de corps de Heinz et des ponctuations basophiles [19].

3.3.1.3. Diagnostic

Le mode de diagnostic de la maladie de Cooley est variable et il est basé sur l'électrophorèse de l'Hb qui montre que HbA1 est constituée principalement par HbF et une bande mineure d'HbA2 (1-3%) [19].

3.3.2. La β -thalassémie mineure

On parle de β thalassémie hétérozygote lorsqu'un seul exemplaire du gène codant pour la chaîne β de l'hémoglobine est affecté. Cette forme est cliniquement asymptomatique [15].

3.3.2.1. Les signes biologiques

- Le niveau moyen d'Hb est inférieur à 1,5% d'un sujet sain.
- VGM : 65 μ
- TCMH : 20 μ g et CCMH : 31%
- Cellule cible en forme de cigare et des ponctuations basophiles.
- L'aspect pale des hématies [19].

3.3.2.2. Diagnostic

L'électrophorèse d'Hb est très utile pour établir le diagnostic de la β -thalassémie mineur. On peut toutefois dépister ces formes hétérozygotes par un examen de routine des cellules sanguines et par une étude appropriée de l'Hb. Les sujets atteints ont un

3.3.4.3. Diagnostic

L'examen qualitatif d'hémoglobine révèle la présence de trois fractions :

- HbS de (60-90%)
- HbF (10-30%)
- HbA (10-30%)
- Le taux d'HbA2 est modérément élevé [15].

3.3.4.4. Traitement

En effet il n'y a pas de traitement spécifiques de la thalasso-drepanocytose, les méthodes thérapeutiques sont celles utilisées en drépanocytose et la thalassémie majeure [15].

4. Syndrome de l'insuffisance rénale

L'insuffisance rénale ne fait pas partie des hémoglobinopathies. Ce syndrome résulte de la destruction progressive et irréversible des néphrons. La présence de certaines formes d'anémie chez les insuffisants rénaux est due à un défaut de synthèse de Hb qui est simulée par le fer et l'érythropoïétine. Cette dernière hormone est une glycoprotéine synthétisée par le rein. Des hémorragies gastro-intestinales et des pertes chroniques jouent le rôle dans la genèse de l'anémie.

Le traitement est basé sur la transfusion sanguine fréquente et par l'androgénothérapie. D'autres thérapies visant à soigner les carences nutritionnelles sont également utilisées [15].

CHAPITRE IV
L'ALLO-IMMUNISATION

1. Définition

Le polymorphisme génétique des antigènes érythrocytaires dans l'espèce humaine est tel que l'allo-transfusion antigéno-compatible pour tous les marqueurs de groupes sanguins portés par les globules rouges est en pratique impossible et que par conséquent chaque transfusion représente un risque potentiel d'allo-immunisation du receveur par l'un ou plusieurs antigènes qu'il ne possède pas [4].

Cette allo-immunisation devrait être présente à l'esprit dans la mesure où elle peut compliquer les possibilités de transfusion.

2. L'allo-immunisation anti-érythrocytaire

Elle est due à un conflit antigène-anticorps impliquant les GR et aboutissant à leur destruction. Deux configurations sont possibles selon que l'antigène et l'anticorps appartiennent au donneur ou au receveur [4].

L'anticorps présent dans le plasma du receveur et l'antigène correspondant est porté par les GR transfusés; c'est la situation la plus fréquente.

L'anticorps est apporté par le produit sanguin à transfuser et l'antigène est présent sur les GR du malade ou receveur; cas plus rare des transfusions non iso-groupes [4].

2.1. Mécanisme

En cas d'incompatibilité les hématies peuvent être détruites soit dans la circulation sanguine c'est l'hémolyse intra-vasculaire soit par phagocytose par les macrophages c'est l'hémolyse extra-vasculaire [4,8].

- **Hémolyse intra-vasculaire** : Elle intervient en présence d'anticorps hémolysants tels que ceux du système ABO (90% des cas), des anticorps naturels irréguliers anti-H, anti-Jk^a et anti-Le^a. Cette hémolyse peut conduire à une coagulation intra-vasculaire disséminée parfois grave pour le receveur [8].
- **Hémolyse extra-vasculaire** : C'est la plus fréquente et elle survient dans la rate et le foie. La phagocytose dans la rate concerne les anti-Rh, anti-Kell et anti-Fy^a qui sont à prédominance IgG. La phagocytose dans le foie par contre s'observe avec les anticorps de type IgM généralement anti-I [8].

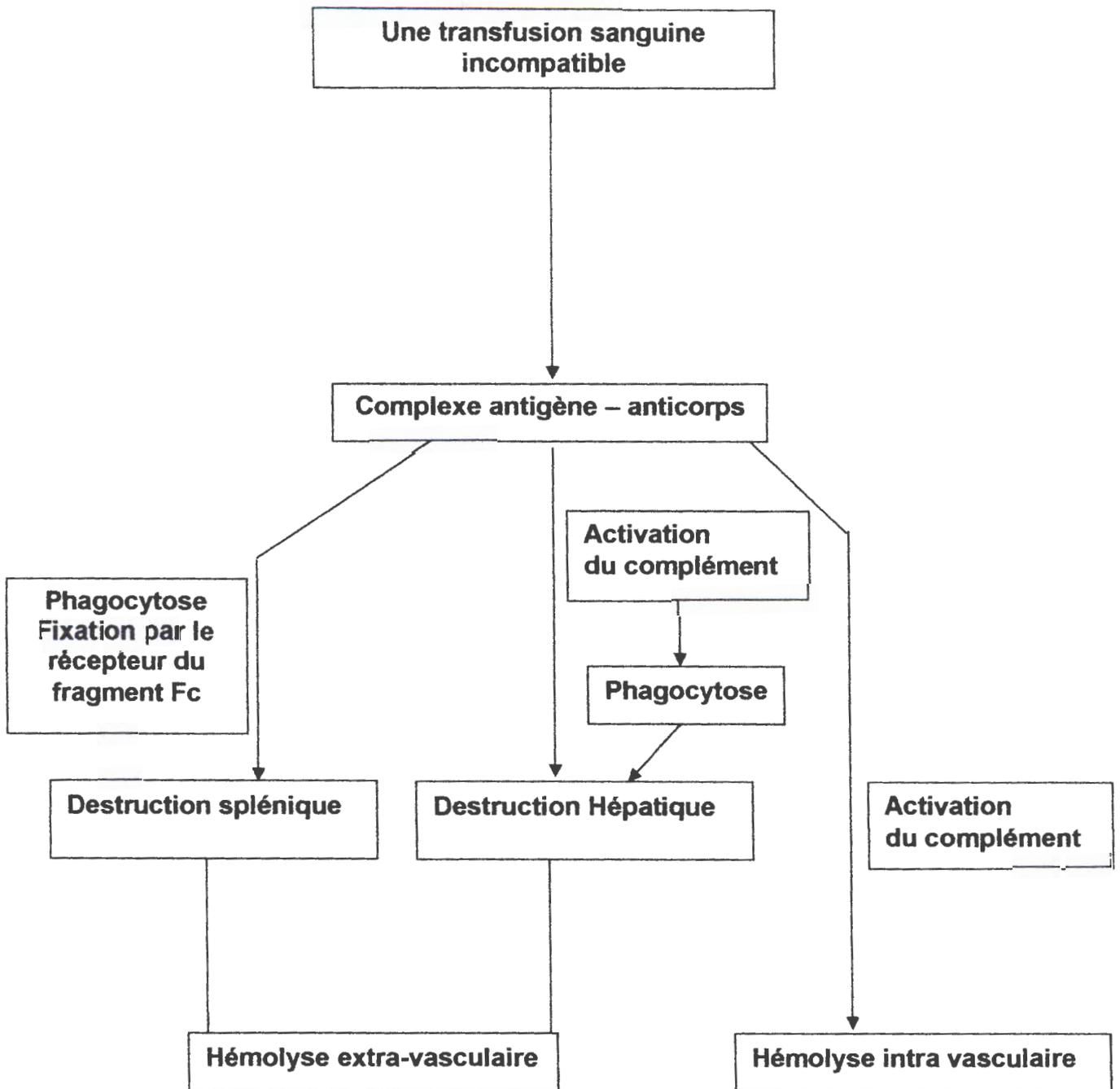


Figure 3: Destruction in vivo des hématies sensibilisées par un anticorps.

2.2. Diagnostic biologique de l'allo-immunisation érythrocytaire

Le diagnostic biologique de l'allo-immunisation érythrocytaire vise à dépister dans le sérum du malade la présence d'éventuels allo-anticorps ou agglutinines irrégulières. Il vise également à affirmer l'hémolyse en cherchant l'hyperbilirubinémie indirecte, la chute de l'haptoglobine et l'hémoglobinurie. Différents tests immunologiques sont utilisés pour affirmer l'hémolyse: groupage sanguin ABO et Rh, test à l'anti-globuline, recherche des agglutinines irréguliers, tests enzymatiques et les tests de compatibilité sanguine entre donneur (poche) et receveur [10].

3. L'allo-immunisation leuco-plaquettaire

L'allo-immunisation leuco-plaquettaire se traduit en pratique par l'apparition des anticorps spécifiques dirigés contre des leucocytes et des plaquettes. Le plus souvent il s'agit des anticorps anti-HLA polyspécifiques détruisant les cellules transfusées et ils sont une source d'inefficacité de transfusions chez le receveur [10].

3.1. Diagnostic immunologique

La recherche des anticorps repose essentiellement sur les méthodes suivantes :

- La méthode de lympho-cytotoxicité contre un panel de lymphocytes phénotypés ou non dans le système HLA
- Les réactions de fixation du complément sur plaquettes
- Les réactions de leuco agglutination
- L'immunofluorescence indirecte [18]

4. Intolérance aux protéines plasmatiques

Ce sont des réactions fréquentes qui surviennent surtout chez les polytransfusés (10%). Il s'agit surtout d'une allergie à l'IgA chez les sujets porteurs de déficit immunitaire isolé en IgA. Ceci se traduit par un conflit entre les anti-IgA et les IgA. Le tableau clinique est variable : de la simple réaction urticarienne à l'œdème de Quincke et même un choc anaphylactique, des malaises respiratoires, des crises d'asthme et des troubles de rythme cardiaque [21].

5. La prévention des allo-immunisations

La sécurité immunologique des transfusions de GR implique la prévention des accidents hémolytiques ; autrement dit la prévention de l'allo-immunisation.

La stratégie de la prévention de l'allo immunisation est discutée à la lumière des facteurs qui y interviennent, permettant de concentrer l'effet prophylactique d'une part sur les antigènes à risque et d'autre part sur les individus à risque, surtout les jeunes femmes et les polytransfusés. Les différents types d'immunisations ne bénéficient pas d'une prévention spécifique. Une bonne prévention indirecte tenant bien entendu au choix de la meilleure compatibilité transfusionnelle possible au moins dans les systèmes, ABO, Rh et Kell [22].

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE V

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel et méthode

1.1. Matériel biologique

Nous avons étudié deux populations incluant les donneurs de sang et les sujets polytransfusés.

1.1.1. Les donneurs de sang

Les donneurs de sang ont été recrutés au Centre de Transfusions Sanguine de l'hôpital de Jijel. A total 70 donneurs de groupe sanguin O ont été sélectionnés. Ces donneurs réguliers ou occasionnels étaient âgés plus de 18 ans et étaient indemne de toutes infections. Des analyses sérologiques ont été effectuées sur chaque poche de sang. Lors de don de sang, 2 ml de sang total ont été prélevés pour préparer le panel d'hématies tests.

poste

1.1.2. Les sujets polytransfusés

Nous avons étudié 21 patients polytransfusés, âgés de 7 à 83 ans dont 11 (52%) étaient de sexe masculin. Ces patients ont été recrutés aux services de Pédiatrie, d'Hémodialyse et de Médecine Interne à l'hôpital de Jijel. Ils étaient atteints d'hémoglobinopathies et d'insuffisance rénale. Tous les patients ont reçu plusieurs transfusions sanguines à base de sang total ou de culots globulaires. Pour chaque patient, des échantillons sanguins (2-3 ml de sang total) ont été prélevés et le plasma préparé et congelé à -20°C jusqu'à utilisation. Les patients atteints d'insuffisance rénale ont reçu en plus des transfusions sanguines de la vitamine D3 et un apport calcique. Les données démographiques sont résumées ci-dessous dans le Tableau 9.

Tableau 9. Caractéristiques des patients étudiés.

Caractéristiques	Nombre de patients (n=21)
Age [(ans), moyenne et l'étendue]	26 (7-83)
Sexe	
Masculin (n, %)	11 (52)
Féminin (n, %)	10 (48)
Diagnostic	
Drépanocytose (n, %)	3 (14)
Thalassémie (n, %)	8 (38)
Thalasso-dépanocytose (n, %)	3 (14)
Insuffisance rénale (n, %)	7 (34)

1.2. Matériel expérimental

1.2.1 Réactifs

- Eau distillé.
- Sérum physiologique (9 pour 1000).
- Antiglobuline polyvalente (monoclonal murin biorade).
- Anti-A (sanofi diagnostic pasteur monoclonal murin).
- Anti-B (sanofi diagnostic pasteur monoclonal murin).
- Anti-A+B (sanofi diagnostic pasteur monoclonal murin).
- Anti-D (IgM Sacromex monoclonal humain).
- Anti-D (IgG Sacromex monoclonal humain).
- Anti-E (sanofi diagnostic pasteur).
- Anti-e (sanofi diagnostic pasteur).
- Anti-C (sanofi diagnostic pasteur).
- Anti-c (sanofi diagnostic pasteur).
- Anti-Kell (sanofi diagnostic pasteur).
- SAG mannitol.

1.2.2. Appareillage

- Centrifugeuse
- Bain-marie
- Chronomètre
- Réfrigérateur
- Congélateur
- Plaque opaline
- Tubes contenant l'anticoagulant l'EDTA
- Tubes secs
- Portoirs
- Pipettes

Compte

2. Méthodes utilisées

2.1. Préparation d'un panel d'hématies test pour RAI

2.1.1 Sélection des donneurs

Les donneurs de sang de groupe sanguin O ont été sélectionnés, d'âges et de sexe différents.

2.1.2. Mode de prélèvement

- Prélever 3 ml du sang du donneur de groupe sanguin O sur tube contenant un anticoagulant l'EDTA pour préparer un panel d'hématies tests.
- Prélever 5 ml du sang des patients présentant un risque d'allo-immunisation (polytransfusés) sur tube contenant de l'EDTA pour la recherche des agglutinines irrégulières (RAI).
- Effectuer :
 - Le groupage ABO et Rh
 - Un phénotype Rh élargi et kell
 - RAI

2.1.3. Groupage sanguin ABO

Il s'effectue obligatoirement par deux épreuves complémentaires, par deux techniciens différents et par deux lots de réactifs.

- **Epreuve de Beth-vincent (Epreuve globulaire)** : Elle consiste à mettre en contact des sérums tests anti-A et anti-B et anti-A+B avec les GR à tester pour identifier l'antigène qu'ils portent : A, B ou AB ou aucun des deux. L'antigène ou les antigènes du GR définissent le groupe sanguin A , B , AB ou O [12].

- **Epreuve de Simonin (Epreuve sérique)** : C'est la recherche des agglutinines anti-A et anti-B dans le sérum. Les résultats viennent confirmer ceux de la méthode précédente. Cette réaction s'effectue en mélangeant le sérum du sujet à examiner avec des GR tests connus A1, A2 et B [12].

- **Techniques**
 - **Epreuve de Beth-vincent** : Déposer sur la plaque d'opaline de cote à cote :
 - 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 globules échantillons

 - **Epreuve de Simonin** : Déposer sur la plaque d'opaline de cote à cote :
 - Quelques gouttes de sérum ou de plasma
 - 1 goutte de globules tests A1
 - 1 goutte de globules tests A2
 - 1 goutte de globules tests B

 - **Témoins** : On utilise d'une manière systématique pour toute détermination du groupe sanguin ABO trois témoins.
 - **Témoin auto** : Sérum ou plasma échantillon + GR échantillons. Ce témoin permet le contrôle des agglutinations observées dans les deux épreuves.
 - **Témoins allo** : Sérum ou plasma échantillon + GR tests de groupe O. Ce témoin contrôle l'épreuve de Simonin .

- **Témoin AB** : Sérum ou plasma test prévenant d'individus de groupe AB + GR échantillon. Ce témoin contrôle l'épreuve de Beth-vincent.
- **Interprétation des résultats**

Tableau 10. Détermination de groupe sanguin ABO [12].

Epreuves	Réaction de Beth-Vincent			Réaction de Simonin			Témoins		
	Globules rouges			Sérum			Auto	Allo	AB
Sang à examiner	Sérums-tests			GR-tests			Sérum du sujet	Sérum du sujet	Globules du sujet
Réactifs	anti-A	anti-B	Anti-AB	A1	A2	B	GR du sujet	GR du O	Sérum AB
Groupe A	+	-	+	-	-	+	-	-	-
Groupe B	-	+	+	+	+	-	-	-	-
Groupe O	-	-	-	+	+	+	-	-	-
Groupe AB	+	+	+	-	-	-	-	-	-

2.1.4. Groupage Rhésus

Détermination du groupe Rhésus standard : 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 sérum test. Deux conditions sont indispensables pour cette agglutination ait lieu :

- La réaction doit être effectuée entre 37 °C et 40 °C.
- La réaction doit être effectuée en milieu sérique.

En effet l'agglutinine anti-D présente dans le sérum test est un anticorps dit incomplet n'agissant qu'en milieu macromoléculaire tel que le sérum humain. Les hématies testées doivent donc être mises en suspension dans leur propre sérum.

2.1.5. Phénotypage dans le système Rhésus élargi et Kell

Principe : Le phénotypage repose sur la mise en évidence de structures antigéniques à la surface des GR. Les réactifs anti-D, anti-C, anti-c, anti-e, anti-E et anti-Kell sont utilisés afin de détecter les antigènes du système Rh élargi et Kell.

Technique : Déposer 1 goutte des réactifs suivants : anti-D, anti-C, anti-c, anti-e et anti-E sur une plaque d'opaline.

- A cote de chacune déposer 1 goutte de globules échantillons
 - Observer si la réaction est positive (agglutination) ou négative.
- On peut conclure :
- Soit l'absence de l'antigène en cause
 - Soit présence de son allèle antigénique à double dose

Interprétation des résultats : Les résultats de la détermination des antigènes du système Rhésus sont :

➤ agglutination avec anti-D	}	DD
➤ pas d'agglutination avec anti-D		dd
➤ agglutination avec anti-C	}	Cc
➤ agglutination avec anti-c		
➤ agglutination avec anti-c	}	cc
➤ pas agglutination avec anti-C		
➤ agglutination avec anti-C	}	CC
➤ pas agglutination avec anti-c		
➤ d'agglutination avec anti-E	}	Ee
➤ pas agglutination avec anti-e		
➤ d'agglutination avec anti-E	}	EE
➤ pas d'agglutination avec anti-E		
➤ d'agglutination avec anti- e	}	ee
➤ pas d'agglutination avec anti-E		

Autre phénotype : La recherche de l'antigène Kell grâce à l'anticorps anti-Kell. Si l'agglutination est positive, ceci signifie la présence de l'antigène Kell.

2.1.6. Recherche des anticorps irréguliers

Deux tests ont été utilisés pour la recherche d'anticorps irréguliers . Le test de Coombs indirect et le test en milieu salin.

2.1.6.1. Le test de Coombs indirect

- **Objectif :** La recherche anticorps irréguliers dans le cadre d'une allo-immunisation transfusionnelle par sensibilisation de GR in vitro.
- **Principe :** Mise en contact du sérum échantillon avec les GR tests (panel d'hématies tests) lavés et remis en suspension en présence d'un révélateur l'anti-globuline.
- **Technique :**
 - Laver les GR du panel et les remettre en suspension à 5%
 - Mettre dans un tube 3 gouttes de sérum du patient et 1 goutte de la suspension globulaire
 - Mélanger et incuber à 37°C pendant 45 min
 - Retirer les tubes
 - Laver les GR au moins 3 fois en solution saline
 - Ajouter 2 gouttes d'anti-globuline aux GR lavés
 - Décoller les GR du tube en le secouant
 - Centrifuger à 100 tours/min pendant 15-20 secondes
 - Lire s'il y'a une agglutination

2.1.6.2. Technique utilisant le milieu salin

- Laver les hématies du panel trois fois puis les remettre en suspension à 5% en milieu salin
- Mettre une goutte de suspension de chacune des hématies dans un tube
- Ajouter une goutte de sérum à tester
- Laisser incuber 1h30 à 22°C
- Effectuer une lecture microscopique et macroscopique.

CHAPITRE VI

Résultats

1. Répartition des patients étudiés en fonction de la provenance des échantillons sanguins

Les échantillons sanguins ont été prélevés dans les services de Pédiatrie, de Médecine interne et d'Hémodialyse. Le Tableau 11 et la Figure 4 ci-dessous représentent la répartition des patients selon les services d'hospitalisation.

Tableau 11. Répartition des patients étudiés en fonction de la provenance des échantillons sanguins

Service	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)
Pédiatrie	9	43 p100
Médecine Interne	4	19 p 100
Hémodialyse	8	38 p 100
Total	21	100 p100

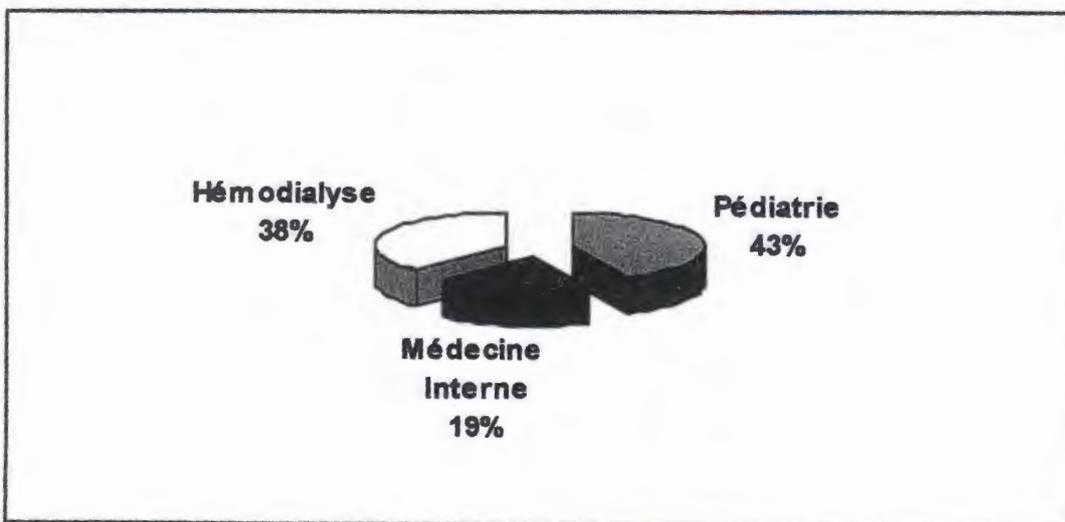


Figure 4. Répartition des patients en fonction de la provenance des échantillons sanguins.

La majorité des sujets étudiés (43%) provenaient du service de la pédiatrie.

2. Répartition des patients étudiés en fonction de l'âge

Comme le montre le Tableau 12 et la Figure 5 ci-dessous, la majorité des patients (43%) étudiés étaient des enfants âgés entre 5 et 15 ans.

Tableau 12. Répartition des patients étudiés en fonction de l'âge.

Tranche d'âge	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)
5-15	9	43 p 100
16-25	4	19 p 100
26-35	4	19 p 100
36-85	4	19 p 100
Total	21	100 p 100

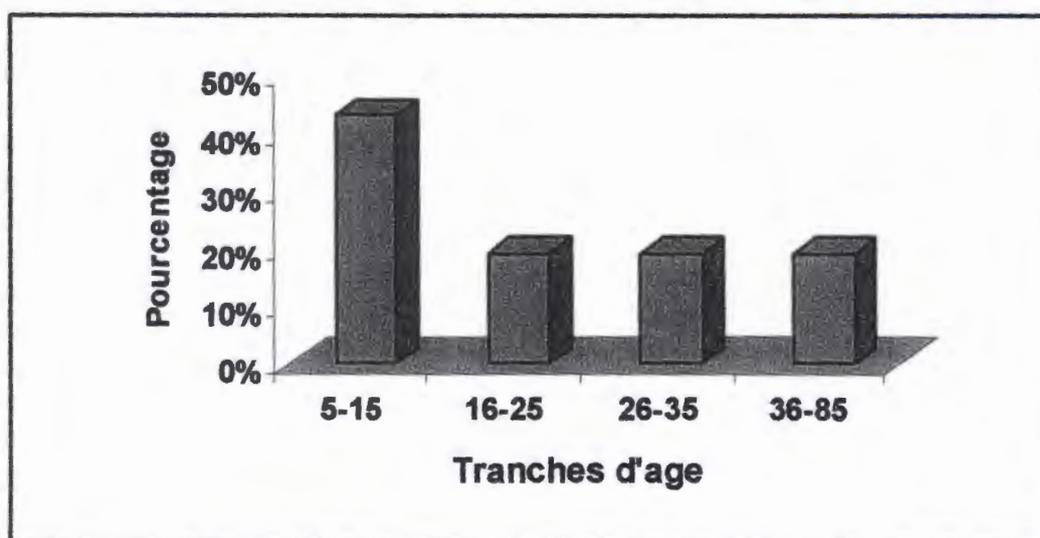


Figure 5. Répartition des patients en fonction de l'âge.

3. Répartition des patients étudiés selon le groupe sanguin ABO

Le groupage sanguin ABO a été effectué par la méthode de Beth-Vincent. Le Tableau 13 et la Figure 6 résument les résultats trouvés.

Tableau 13. Répartition des patients étudiés selon le groupe sanguin ABO.

Groupes sanguins ABO	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)
A	4	19 p 100
B	4	19 p 100
AB	1	5 p 100
O	12	57 p 100
Total	21	100 p 100

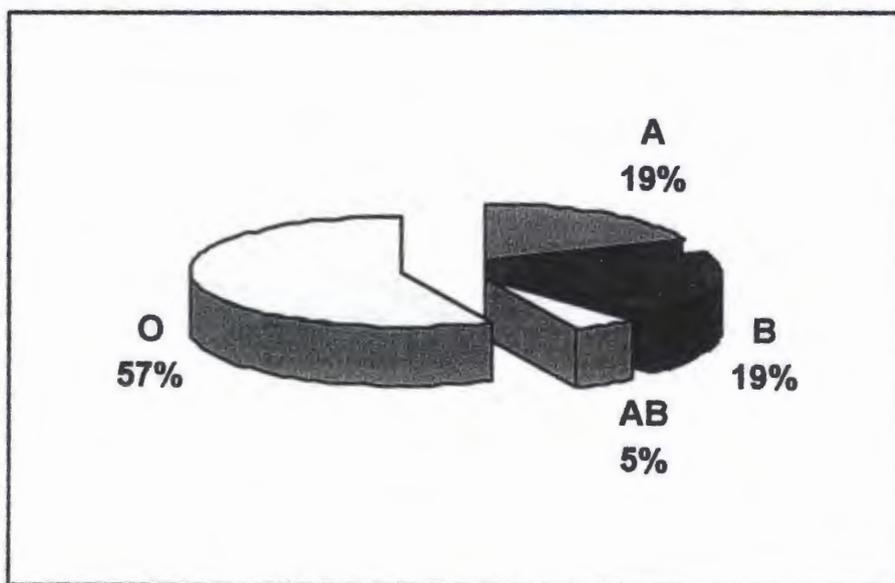


Figure 6. Répartition des patients selon le groupe sanguin ABO.

Le groupe O est le répondeur et représente 57% de la population étudiée.

4. Répartition des patients étudiés selon le groupe sanguin Rhésus

Tableau 14. Répartition des patients étudiés selon le groupe sanguin Rhésus.

Groupes sanguins Rhésus	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)
Rhésus positif	18	85 p 100
Rhésus négatif	3	15 p 100
Total	21	100 p 100

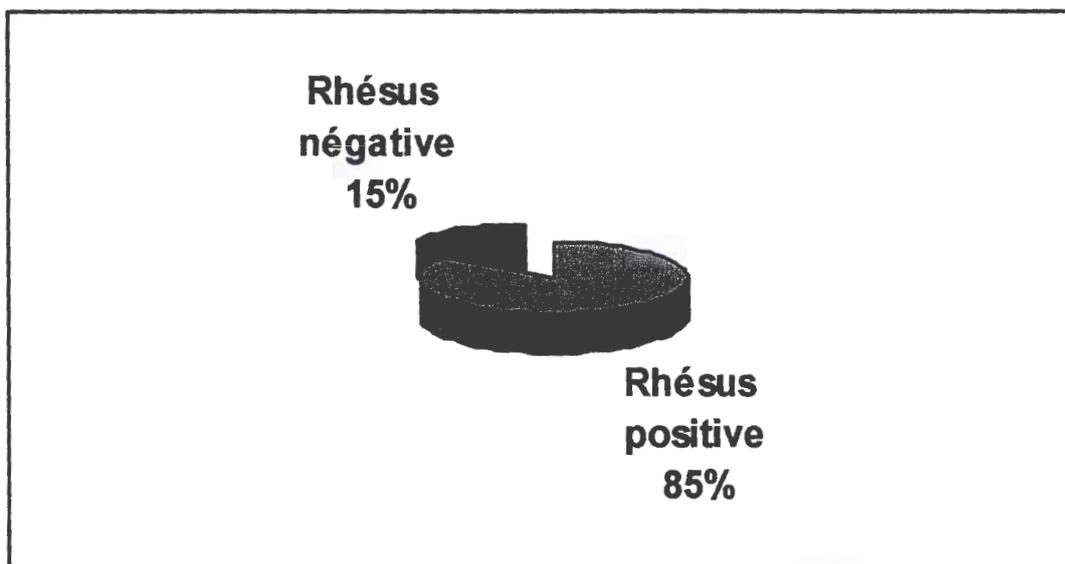


Figure 7. Répartition des patients selon le groupe sanguin Rhésus.

La majorité des sujets étudiés était Rhésus positif (85%).

6. Répartition des patients étudiés selon le phénotype rhésus

Le phénotype rhésus a été obtenu en utilisant conjointement cinq anticorps dirigés contre les antigènes D, C, c, E et e. Le phénotype rhésus a été rangé selon la nomenclature DCE.

Tableau 16. Répartition des patients étudiés selon le phénotype rhésus.

Phénotypes rhésus	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)
Dccee	7	33 p 100
ddccee	2	10 p 100
DCCee	3	14 p 100
DCcEe	5	24 p 100
DCcee	3	14 p 100
ddCcee	1	5 p 100
Total	21	100 p 100

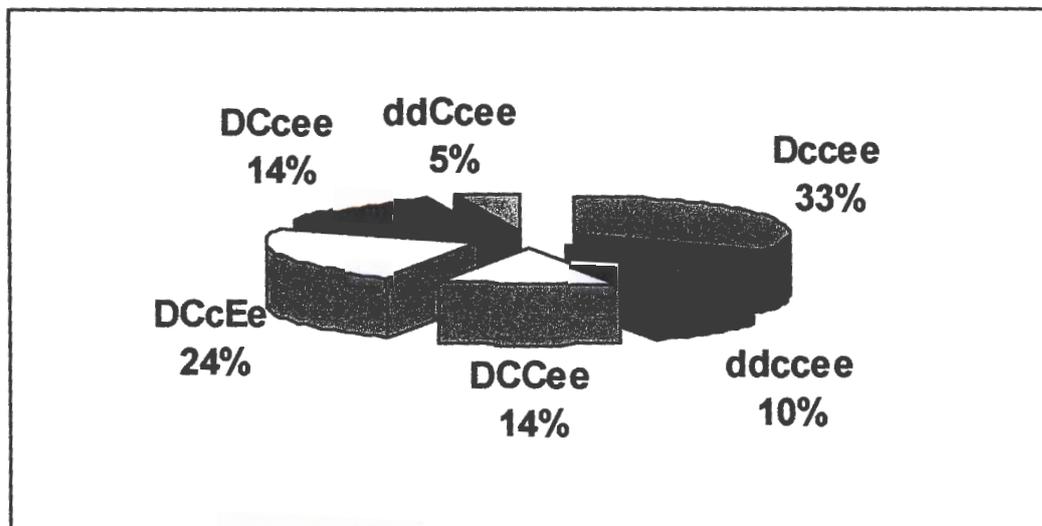


Figure 9. Répartition des patients selon le phénotype rhésus.

Nous remarquons que le phénotype $D\bar{C}cEe$ est plus fréquent (24%).

7. Répartition des patients étudiés selon le phénotype rhésus élargi et Kell

Tableau 17. Répartition des patients étudiés selon le phénotype rhésus élargi et Kell.

Phénotypes rhésus et Kell	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)
Dccee K ⁺	1	5 p 100
ddccee K ⁺	1	5 p 100
Dccee K ⁻	6	28 p 100
ddccee K ⁻	1	5 p 100
DCCee K ⁻	3	14 p 100
DccEe K ⁺	2	10 p 100
DccEe K ⁻	3	14 p 100
DCcee K ⁻	3	14 p 100
ddCcee K ⁻	1	5 p 100
Total	21	100 p 100

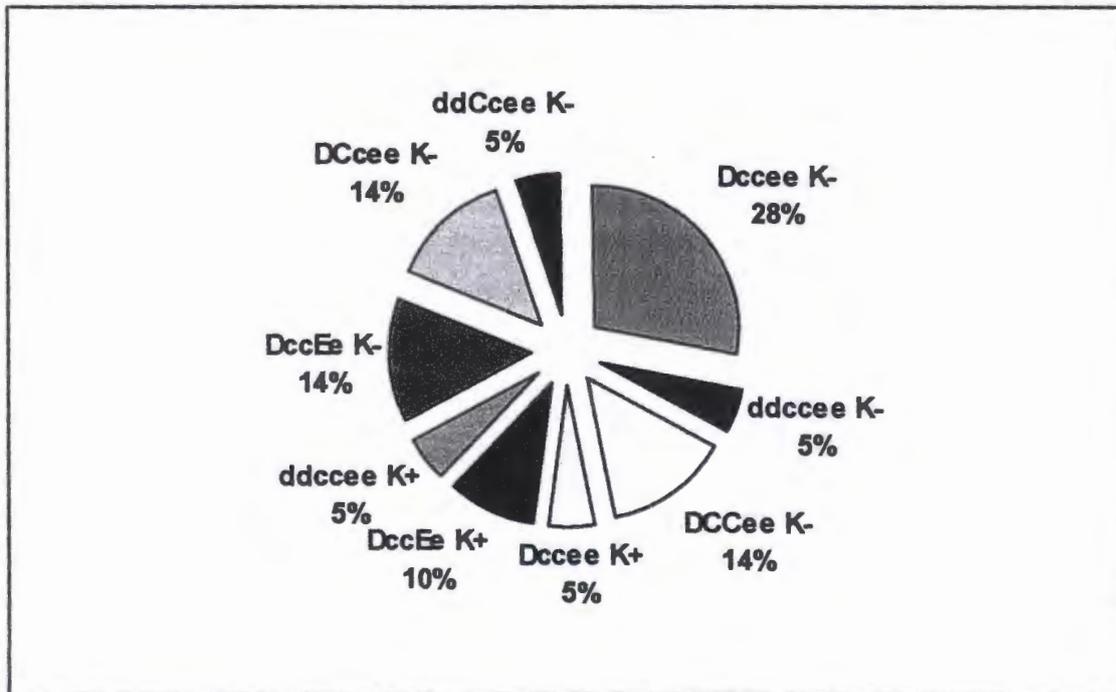


Figure 10. Répartition des patients selon le phénotype rhésus et Kell.

Nous remarquons que le phénotype Rhésus élargi et Kell Dccee K⁻ est plus fréquent (28%).

8. Répartition des patients étudiés selon les résultats de la recherche des anticorps irréguliers

8.1. Préparation d'un panel d'hématies tests

Afin de rechercher les anticorps irréguliers, nous avons dans un premier temps préparé un panel d'hématies tests. Pour cela, nous avons utilisé les hématies des donneurs de sang de groupe O. Soixante-dix donneurs ont été prélevés. Les hématies ont été préparées, phénotypées (D, C, c, E, e et Kell) puis diluées et conservées à +4°C jusqu'à utilisation.

8.1.1. Répartition des donneurs selon l'âge

Tableau 18. Répartition des donneurs selon l'âge.

Tranche d'âge	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)
19-29	40	57 p 100
30-40	22	32 p 100
41-58	8	11 p 100
Total	70	100 p 100

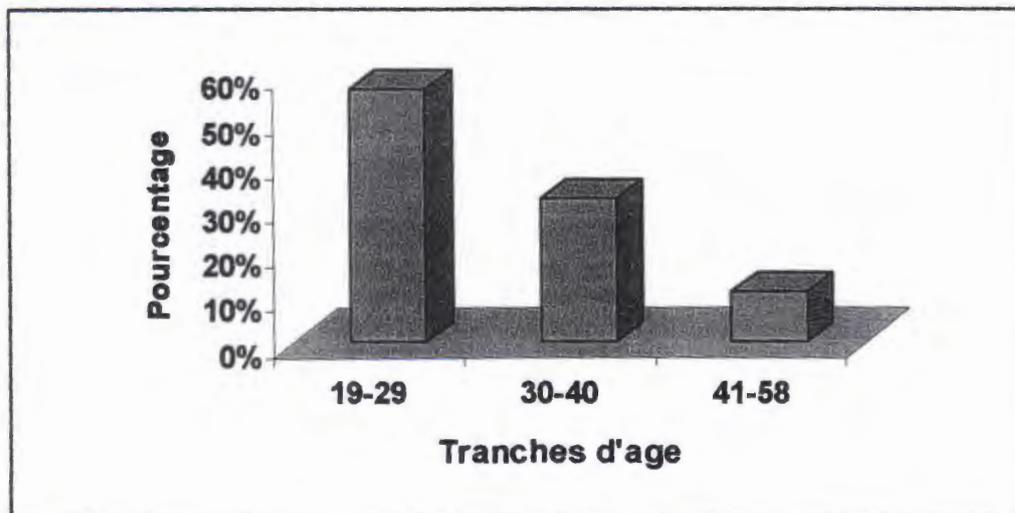


Figure 11. Répartition des donneurs selon l'âge.

La majorité des donneurs (57%) étudiés étaient âgés entre 19 à 29 ans.

8.1. 2. Répartition des donneurs selon le sexe

Tableau 19. Répartition des donneurs selon le sexe.

Sexe	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)
Masculin	49	70 p 100
Féminin	21	30 p 100
Total	70	100 p 100

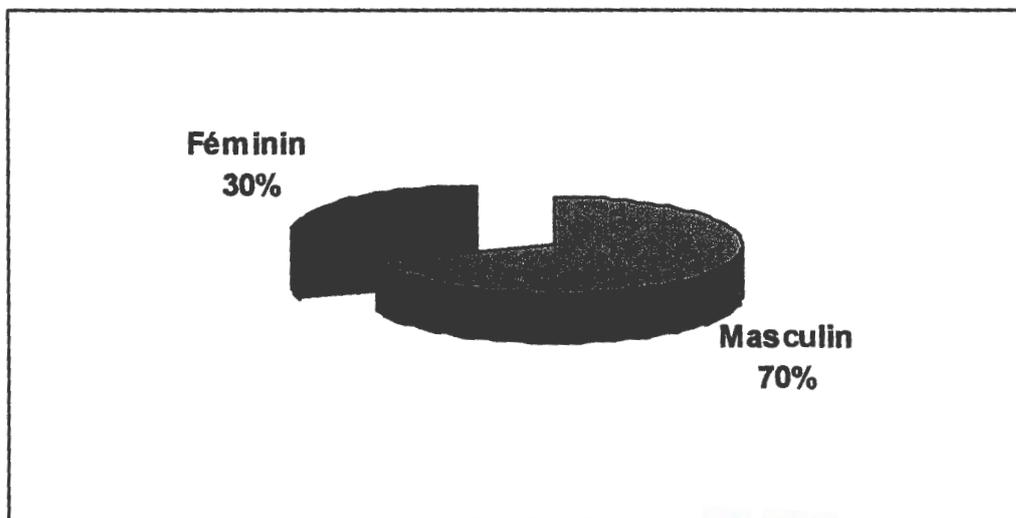


Figure 12. Répartition des donneurs selon le sexe.

La majorité des donneurs (70%) étudiés étaient de sexe masculin.

8.1.3. Répartition des donneurs selon le groupe sanguin Rhésus

Tableau 20. Répartition des donneurs selon le groupe sanguin Rhésus.

Groupe sanguin Rhésus	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)
Positif	60	86 p 100
Négatif	10	14 p 100
Total	70	100 p 100

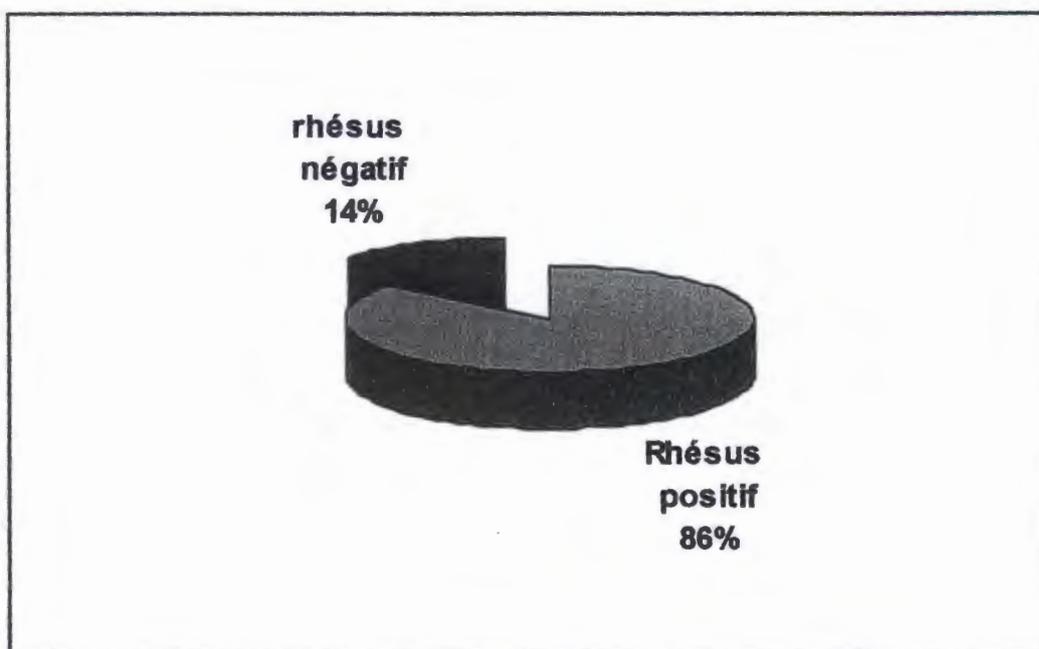


Figure 13. Répartition des donneurs selon groupe sanguin Rhésus.

La majorité des donneurs étudiés était Rhésus positif (86%).

8.1.4. Répartition des donneurs selon le phénotype rhésus élargi et Kell

Comme le montre le tableau 21 et la Figure 14 ci-dessous, douze phénotypes ont été identifiés correspondant à douze hématies tests.

Tableau 21. Répartition des donneurs selon le phénotype rhésus élargi et Kell.

Phénotypes rhésus élargi et Kell	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)
DCcee K ⁻	22	32 p 100
Dccee K ⁻	13	19 p 100
DCCee K ⁻	11	16 p 100
ddccee K ⁻	5	7 p 100
ddCcee K ⁻	2	3 p 100
Dccee K ⁺	2	3 p 100
DCcee K ⁺	2	3 p 100
DccEe K ⁻	5	7 p 100
DCcEe K ⁻	5	7 p 100
ddccee K ⁺	1	1 p 100
DccEe K ⁺	1	1 p 100
DCCee K ⁺	1	1 p 100
Total	70	100 p 100

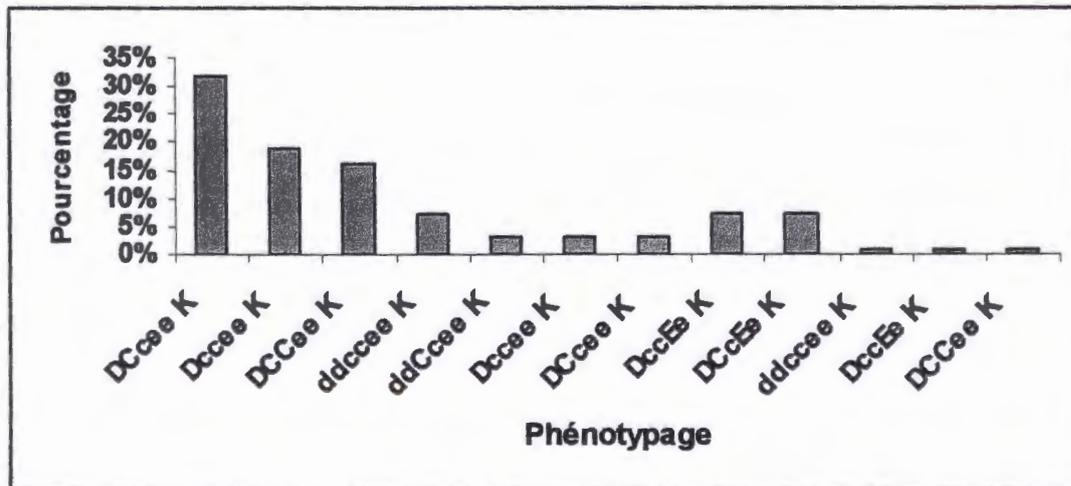


Figure 14. Répartition des donneurs selon le phénotype Rhésus et Kell.

8. 2. Recherche des anticorps irréguliers

Vu que la quantité de sérum de patients polytransfusés était insuffisante pour tester les douze hématies tests, nous avons choisi six phénotypes qui sont représentés dans le Tableau 22 ci-dessous.

Tableau 22. Phénotype des hématies tests utilisées pour la recherche des anticorps irréguliers.

Numéro d'hématie	Phénotypes Rhésus et Kell
01	Dccee K ⁻
02	DCcee K ⁻
03	DCCee K ⁻
04	DCcEe K ⁻
05	DCcee K ⁺
06	DccEe K ⁺

Nous avons utilisé deux types de tests pour rechercher les anticorps irréguliers, à savoir le test de Coombs indirect et le test au milieu salin. Sur les 21 patients polytransfusés, deux sujets âgés de 12 et 13 ans avaient des résultats positifs. Le premier patient avait des anticorps irréguliers détectés par le test de Coombs indirect et le second avait le test en milieu salin positif. Les deux patients étaient suivis au service de Pédiatrie et atteints d'hémoglobinopathies. Leurs phénotypes Rhésus et Kell étaient Dccee K⁻ et DCcee K⁻ respectivement.

Le test de Coombs indirect était positif avec les hématies test N° 04 et 06 (DCcEe K⁻ et DccEe K⁺) et négatif avec les hématies test N° 01, 02, 03 et 05 (Dccee K⁻, DCcee K⁻, DCCee K⁻ et DCcee K⁺).

Le test en milieu salin à température ambiante (~22°C) était positif avec les hématies tests N° 04 (DCcEe K⁻) mais pas avec les autres hématies tests N° 01, 02, 03, 05 et 06.

Le titrage de ces anticorps irréguliers n'a pas été effectué par manque de sérums. La figure 15 récapitule les résultats trouvés.

Tableau 23. Résultats de la recherche des anticorps irréguliers.

Anticorps irréguliers	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)
Positif	2	10 p 100
Négatif	19	90 p 100
Total	21	100 p 100

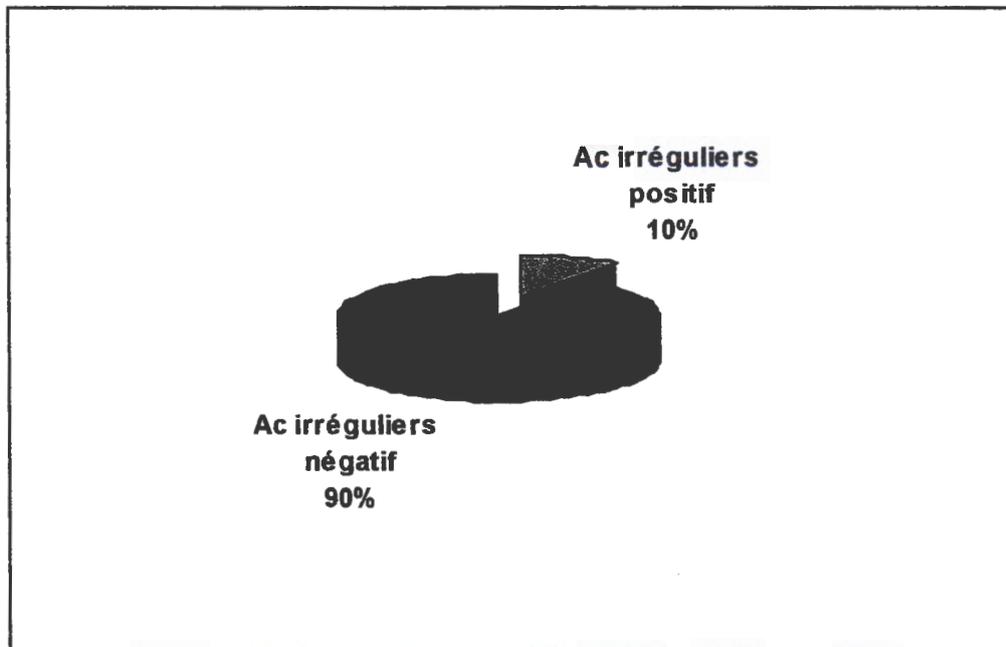


Figure 15. Recherche des anticorps irréguliers par panel d'hématies tests.

8.3. Influence de l'hémolyse sur l'efficacité du panel des hématies tests

Pour vérifier l'influence de l'hémolyse sur l'efficacité du panel d'hématies tests, nous avons examiné ces hématies après plusieurs jours de conservation à + 4°C. Le Tableau 24 récapitule les résultats que nous avons obtenus.

Tableau 24. Influence de l'hémolyse sur l'efficacité du panel des hématies tests.

Durée de conservation (jours)	Estimation de l'efficacité du panel d'hématies tests (hémolyse)
1-5	+++
6-10	+++
11-15	++
16-20	+
21-25	-

Comme le montre le Tableau l'efficacité du panel est inversement proportionnelle à la durée de conservation. En effet, l'efficacité du panel diminue avec le temps.

CHAPITRE VII

DISCUSSION & CONCLUSION

Discussion

Dans le présent travail, nous avons cherché les anticorps irréguliers chez les patients polytransfusés en utilisant un panel d'hématies tests préparé à partir de sang total prélevé sur donneurs ayant un groupe sanguin O. Cette recherche d'anticorps irréguliers est importante puisqu'elle permet de prévenir la survenue de choc transfusionnel qui pourrait être fatal pour le patient.

Dans un premier temps, nous avons sélectionné les donneurs réguliers ou occasionnels qui se présentaient au Centre de Transfusion de Jijel, de groupe sanguin O, d'âge et de sexe différent (Figures 11-13). La plupart des donneurs étaient âgés de 19-29 ans (57%), de sexe masculin (70%) et de groupe rhésus positif (86%). Ce dernier résultat confirme les données de la littérature selon lesquelles, 85% de la race blanche sont de groupe rhésus positif [1]. Nous avons constaté également qu'un fort pourcentage de donneurs avaient un phénotype DC_{cee} K⁻ (32%), Dc_{cee} K⁻ (19%) DCC_{ee} K⁻, (16%), représentant 67% de l'ensemble des phénotypes. Ces résultats sont aussi en accord avec ceux publiés selon lesquels le phénotype DC_{cee} est le plus fréquent en France (34.39%) [1].

Par la suite nous avons préparé le panel d'hématies tests. Ces hématies tests une fois phénotypées ont été conservées dans une solution à base d'adénine, glucose et mannitol (SAGM). Nous avons remarqué que le SAGM empêche l'hémolyse des hématies tests uniquement pendant les vingt premiers jours de conservation (Tableau 24). Ce résultat indique que le panel d'hématies tests ne pourrait pas être utilisé après cette période de conservation.

Dans un deuxième temps, nous avons recruté des patients ayant reçus plusieurs transfusions sanguines à base de sang total ou du culot globulaire. Ces patients polytransfusés étaient atteints d'hémoglobinopathies (66%), et d'insuffisance rénale (34%) (Tableau 9). La majorité de ces patients étaient âgés de moins de 15 ans (43%), sans prédominance du sexe et ayant un groupe sanguin ABO principalement de type O (57%) et un groupe rhésus positif (85%) (Figure 5-7). Ces derniers résultats sont concordants avec ceux rapportés dans la littérature et selon lesquels le groupe sanguin O et le groupe rhésus représentent 43% et 85% respectivement dans la population

caucasienne [1]. Nous avons également remarqué que la plupart des patients étaient Kell négatif (81%), confirmant ainsi les données de la littérature [1].

En utilisant cinq anticorps dirigés contre les antigènes érythrocytaires D, C, c, E, e, nous avons aussi remarqué que les phénotypes Rhésus Dccee est le plus fréquent (33%), suivi du phénotype DCcEe (24%). Ces résultats se distinguent de ceux rapportés dans la littérature, montrant que le phénotype rhésus DCcee est le plus répondeur (34.39%) [1]. Ces différences peuvent s'expliquer par différentes raisons dont la plus plausible est le faible échantillonnage dans notre cas. On a également trouvé que les phénotypes Rhésus élargi et Kell (Dccee K⁻) était le plus fréquent (28%) chez nos patients. Ce résultat était prévisible puisque la majorité des patients étaient Kell négatif et ayant un phénotype Rhésus Dccee.

La recherche d'anticorps irréguliers était négative à l'exception de deux sérums qui donnaient une positivité en milieu salin et avec le test de Coombs indirect. Ces deux sérums provenaient de deux enfants atteints d'hémoglobinopathies, l'un de sexe masculin et l'autre de sexe féminin.

Le premier sérum réagissait en Coombs indirect mais pas en milieu salin avec les hématies tests ayant pour phénotype DCcEe K⁻ et DccEe K⁺ mais pas les autres (Tableau 22). Ces résultats suggèrent que le sérum contienne des anticorps irréguliers qui ne sont pas dirigés contre l'antigène Kell puisque les hématies tests Kell positif et négatif donnaient une positivité avec l'anti-globuline polyvalente. En procédant par élimination, nous avons constaté que les antigènes D, C, c, et e ne sont pas à l'origine de cette réaction puisque ces antigènes étaient présents sur les autres hématies tests qui ne donnaient pas de positivité. D'après ces résultats, on peut dire qu'il s'agit d'un anticorps irrégulier anti-E. Toutefois, ces résultats doivent être interprétés avec précaution puisque le phénotype des hématies tests que nous avons préparé n'est pas complet. En fait, il pourrait s'agir d'autres antigènes présents sur les hématies tests que nous n'avons pas révélés.

De plus, la spécificité de cet anticorps irrégulier n'a pas été déterminée puisque nous avons utilisé une anti-globuline polyvalente qui contient en outre des anti-IgG et IgM, des anticorps anti-complément. Il serait donc intéressant d'utiliser dans des études futures des anti-globulines spécifiques anti-IgG, IgM, IgA et anti-complément afin de

déterminer avec certitude la spécificité de cet anticorps irrégulier. De même le titre qui correspond à la plus forte dilution, de ce sérum positif n'a pas été déterminé parce que la quantité prélevée était insuffisante pour effectuer ce test. De plus, nous n'avons pas pu re-contacter ce patient pour d'autres prélèvements sanguins.

Le deuxième sérum donnait une positivité en milieu salin mais pas en Coombs indirect uniquement avec les hématies tests ayant un phénotype Rhésus et Kell (DCcEe K⁺). Cet anticorps agglutinant à température ambiante en milieu salin n'a pas pu être identifié avec les hématies tests que nous avons préparées puisque le phénotype du panel d'hématies est incomplet. Il se pourrait que cet anticorps soit dirigé contre un antigène inconnu présent sur ces hématies. Des études prospectives utilisant un phénotype érythrocytaire complet, c'est-à-dire incluant en outre du système Rhésus et Kell, d'autres systèmes sanguins tels que le Duffy, Lewis, Kidd et MNS seraient nécessaire pour confirmer la nature de cet anticorps. De plus, il serait important d'utiliser un éventail de techniques telles que les tests en milieu enzymatique pour identifier les différents types d'anticorps.

Malgré que nos résultats étaient concluants, notre étude est sujette à plusieurs limites. Premièrement, le nombre de patients recrutés était faible. Ceci est du au manque de la collaboration entre les différents services d'hospitalisation et l'absence de sensibilisation de la part des parents de malades et les membres du personnel médical et paramédical. Deuxièmement, le manque de réactifs pour préparer un panel d'hématies test aussi complet que possible, nous a obligé à utiliser un phénotype érythrocytaire restreint basé sur les antigènes Rhésus et Kell. Troisièmement, le matériel de conservation ainsi que certains produits pour traiter les hématies n'étaient pas disponibles. Ceci nous a contraint à ne pas effectuer un certain nombre de tests qui serait indispensable pour la détection des anticorps irréguliers.

Des études futures incluant un nombre élevé de patients et utilisant conjointement plusieurs techniques permettraient de confirmer nos résultats et de déterminer avec certitude la spécificité des anticorps irréguliers que nous avons trouvé.

Conclusion

L'allo immunisation érythrocytaire constitue un risque majeur sur la santé, en cas ou elle survienne chez les polytransfusés ou les femmes enceintes.

A ces raisons on à recoure à une bonne surveillance des patients présentant ce risque. Cette surveillance impose la recherche d'agglutinines irrégulières, qui consiste à mettre en évidence et à identifier la présence des anticorps dirigés contre des antigènes des GR des patients afin d'assurer une meilleur prise en charge.

Pour l'évaluation et l'analyse des réponses immunitaires, et également pour la reconstitution de l'immunité, des méthodes sont nécessaires à cet égard (RAI).

A fin de prouver l'efficacité de la transfusion sanguine, la RAI nécessite un panel d'hématies tests qui à été prépare localement et couvrant l'ensemble des antigènes importants (Rhésus restreint et Kell). Ce dernier est effectué au niveau de centre de transfusion sanguine à jijel.

Résumé

Ce travail a porté sur la recherche d'anticorps irréguliers chez les patients polytransfusés en utilisant un panel d'hématies tests préparées à partir de sang O positif et négatif de donneurs réguliers ou occasionnels. Nous avons étudié, vingt et un patients atteints d'hémoglobinopathies et d'insuffisance rénale ayant reçu plusieurs transfusions sanguines à base de sang total ou culots globulaires. Nous avons trouvé que 10% de la population étudiée est porteuse d'anticorps irréguliers. Nous avons également remarqué que la fréquence de certains antigènes érythrocytaires tels que le groupe sanguin ABO, Rhésus et Kell est semblable à celle déjà rapporté dans la littérature.

Références bibliographiques

BIBLIOGRAPHIE

1. **BERNARD.J ; GOUEMAND.M. et SALIMON.C.** 1980. IMMUNO-HEMATOLOGIE ET IMMUNOGENETIQUE. Ed : FLAMMARION, MEDECINE-SCIENCES, PP 93-178.
2. **BOUHADJA .N.** 1992-1993. FREQUENCE DES HEMOGLOBINOPATHIES EN ALGERIE.MEMOIRE FIN DE RESIDINAT. DEPARTEMENT DE PHARMACIE, INSSM, ALGER.
3. **BOUSSER.G, BILSKI.P.**1970.ABREGED'HEMATOLOGIE
Ed: ALBERTOLLAND .PARIS ,P 127.
4. **CHASSAIGNE.** 1984 TRANSFUSION PRATIQUE. Ed : DOIN EDITEURS.
PP 81- 84.
5. **CHELLIA.N, CHENTOUT.H.** 2003. PREPARATION D'UN PANEL D'HEMATIES TESTS POUR LA RECHERCHE D'AGGLUTININES, PP15.24, PP75.95
6. **FOA. J.**1994. THALASSEMIE MINEURE.DIAGNOSTIC CONDUITE ATENIR.
LA REVUE DU PRATICIEN .N° 40, P 187 - 188.
7. **GENETET .B.** 1992. TRANSFUSION SANGUINE, ENCYCLOPEDIE.13000.M.
69. Ed: THECNIQUE, EMC. P P 50-59.
8. **GENETET. B, MANNONI.P.**1978. LA TRANSFUSION. FLAMMARION, PARIS,
PP 122 - 128.
9. **GOASGUEN.J.LAURENS.A.**1994.MEDECINE PRATIQUE.LADREPANOCYTOSE. MEDECINE ET ARMEE.P65-68.

10. **HABIBI.B. 1994.** TRANSFUSION CLINIQUE : REGLES, SURVEILLANCE, PROCEDURES. Ed : OFFICE DES PUBLICATIONS OU UNIVERSITAIRES.V 3.PP11-131.
 11. **HERMAN.H, CIER J.F.** PRECIS DE PHYSIOLOGIE. Ed: MASSOU.PARIS. PP 75-97.
 12. **MARCELLI.M, DAVEAU.F.1981.**TECHNIQUES EIMMUNO-HEMMATOLOGIE. Ed: FLAMMARION.PP26-27.
 13. **ORSINI.A, PERIMOND.H.1992.**DREPANOCYTOSE DE L'ENFANT.REVUE PRATICIEN. N°30 DU 21 NOVENBRE. PP 1-5.
 14. **SMALI.F.2003.** ABREGED'HEMATOLOGIE Ed:OFFICE DEPUBLICATIONS UNIVERSITAIRES .PP 269- 277.
 15. **JEANS, WILSON.H.** PRINCIPES DE MEDECINE INTERNE. Ed: FLAMMARION MEDECINE-SCIENCES .PP1494-1551.
 16. **WIRTHNER, HOHFELD .P, TISSOT.D.J.** 1998. MALADIE HEMOLYTIQUE PRINATALE : REVUE GENERALE. JOURNAL DE GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE ET BIOLOGIE DE LA PRODUCTION. FMC, V27 N°2. MARS. MASSON, PARIS. PP 139-140.
 17. **ZITTOUN. R.** 1982. MANUEL D'HEMATOLOGIE. EDITION. P 192-183.
 18. CD ENCARTA 2005.
 19. CD D'HEMATOLOGIE 2003.
- SITES INTERNET :**
20. [http // www.e.santé/sang.htm](http://www.e.santé/sang.htm).
 21. <http.www.Complication de la santé .htm>.

ANNEXE

ANNEXE

ABREVIATION

AC	Anticorps
Ag	Antigène
CCMH	Concentration corpusculaire moyenne d'hémoglobine
EDTA	Acide diéthylène diamine tétra-acétique
GB	Globule blanc
GR	Globule rouge
Ig	Immunoglobuline
MHNN	Maladie hémolytique de nouveau-né
PFC	Plasma frais congelé
RAI	Recherche d'agglutine irrégulières
RH	Rhésus
SAGM	Solution adénine glucose mannitol
TCMH	Teneur corpusculaire moyenne d'hémoglobine
TDA	Test direct à l'anti-globuline
TIA	Test indirect à l'anti-globuline