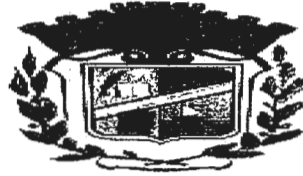


ABB.03/07

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

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Vu le 18-09-2007
Laib Essaid
JL

Mémoire
De fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme d'Etudes
Universitaires Appliquées

Option : Analyse Biologique et Biochimique

Thème

*L'évolution des techniques en immuno-hématologie
Pour la recherche des Anticorps irréguliers*

RAI

Membre de jury

Examineur : M^r Laib Essaid
Encadreur : M^{elle} Bouhafs Leila

Présenté par :

Bettira Fatma
Bouabsa Soumia
Boukhbib Meriem



Promotion : 2007

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 profonde gratitude à notre promoteur M^{elle} BOUHAFS LEILA pour ces précieux conseils , Son aide inestimable , Sa patience et compréhension afin que nous puissions réalisé notre travail .

Nous remercions aussi vivement les membre de jury, d'avoir accepter de juger ce modeste travail .

En fin nous exprimons notre reconnaissance pour tout ceux qui nous ont aidé.

Soumia , Fatma , Meriem

Dédicace

Nous dédions ce travail :

- ♣ *A nos parents qui ont tout fait 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 .

Soumia , Meriem , Fatma

SOMMAIRE

Introduction	01
CHAPITRE I : LES GROUPE SANGUINS	
I. Les groupes sanguins	
1-Définition	03
2-Les antigènes et les anticorps des groupes sanguins.....	03
3-les différents systèmes sanguins des groupes sanguins.....	03
3-1-le système ABO	04
3-1-1-Historique.....	04
3-1-2-Définition	04
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	09
3-2-1-Historique	09
3-2-2-Définition	09
3-2-3-La génétique du système rhésus	09
3-2-4-Les antigènes et les anticorps du système rhésus	10
3-2-5-Les variantes des antigènes du système rhésus.....	11
3-3-Les autres système du groupes sanguins	11
3-3-1-Le système Kell	12
3-3-2-Le système Duffy	12
3-3-3-Le système Kidd	12
3-3-4-Le système MNSs.....	13
3-3-5-Le système P.....	13
3-3-6-Le système Lewis	14
4-La réaction antigènes – anticorps	14
CHAPITRE II : ALLO IMMUNISATION FŒTO-MATERNELLE	
II- Allo immunisation foeto-maternelle	
1-Définition.....	15
2-Mécanisme de l'incompatibilité foeto-maternelle.....	15
2-1-La sensibilisation par grossesse.....	15
2-2-La sensibilisation par transfusion sanguine.....	15
3-Les conséquences de l'incompatibilité foeto-maternelle.....	16
4-L'incompatibilité foeto-maternelle dans le système ABO	16
4-1- Mécanisme physiopathologique	16
4-2-Physiopathologie de l'IFM par le système ABO.....	16
5- L'incompatibilité foeto-maternelle dans le système rhésus	17
5-1- Immunisation anti-D.....	17
5-2- Physiopathologie	17

6- L'incompatibilité foeto-maternelle dans les autres systèmes	18
7- La prévention de l'allo- immunisation foeto-maternelle.....	19
CHAPITRE III : TRANSFUSION SANGUINE	
III- Transfusion sanguine	
1- Définition	21
2- Historique	21
3- Le don du sang	21
4- Les prélèvements	22
5- Complication de la transfusion sanguine	22
5-1- Risque immunologique	22
5-2- Risques infectieux	23
5-3- Risques de surcharges	23
6- allo- immunisation transfusionelle	23
6-1- L'allo- immunisation anti érythrocytaire	23
6-1-1- Mécanisme	24
6-1-1-1- Hémolysé intra-vasculaire	24
6-1-1-2- Hémolysé extra-vasculaire.....	24
6-2- L'allo -immunisation leuco-plaquettaire.....	25
6-3- Intolérance aux protéines plasmatiques.....	25
6-4- Prévention	25
CHAPITRE IV : L'EVOLUTION DES TECHNIQUES EN IMMUNO- HEMATOLOGIE POUR LA RECHERCHE DES ANTICORPS IRREGULIERS	
IV- L'évolution des techniques en immuno-hématologie pour la recherche des anticorps irréguliers	
1- Tests utilisés pour la RAI.....	27
1-1- les tests classiques (tests en tube).....	27
1-1-1- test de COOMBS	27
1-1-1-1 Test de coombs direct	27
1-1-1-2-Test de coombs indirect.....	27
1-1-2-Technique utilisant les enzymes protéolytiques	28
1-2- Les nouveaux tests.....	28
1-2-1- Introduction	28
1-2-2- Principe	29
1-2-3-Présentation	29
1-2-4-Autres techniques basées sur la filtration des agglutinats	29
2- Comparaison des techniques manuelles et des techniques sur gel de filtration.....	30
2-1- Les techniques manuelles en tube.....	30
2-2- Technique de filtration en gel	32
CHAPITRE V - DISCUSSION : ASPECTS POSITIFS DE LA TECHNIQUE DE FILTRATION	
Conclusion	36
Bibliographie	

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Le système ABO.	05
Tableau 2 : Phénotypes et géotypes dans le système de groupe ABO.....	05
Tableau 3 : Principaux phénotypes du système Rhésus.....	10
Tableau 4 : Le système Kell.....	12
Tableau 5 : Fréquence du système P.....	14

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Antigènes ABO et polymorphisme génétique.....	07
Figure 2 : Destruction in vivo des hématies sensibilisées par un anticorps.....	25

ABREVIATION

Ac : Anticorps.

Ag : Antigène.

ALAT : Alanine Aminotransférases.

CPS: Citrate, phosphate standard.

GR: Globule Rouge.

Hb: Hémoglobine.

HVB: L'antigène central du virus de l'Hépatite B.

HBs: L'antigène de la surface de l'Hépatite B.

HTLV-I/II: Human thymus lymphoma virus I/ II.

IgA : Immunoglobuline A.

IgG: Immunoglobuline G.

IgM: Immunoglobuline M.

IFM: Incompatibilité foeto-maternelle.

MHNN: Maladie hémolytique de nouveau-né.

RAI: Recherche des Anticorps irréguliers.

Rh⁻ : Rhésus négatif.

Rh⁺: Rhésus positif.

VHB: Hépatite virale B.

VHC: Hépatite virale C.

VII : Virus immunodéficience humain.

GLOSSAIRE

Hémagglutination :

Agglomération de globules rouges.

Allèles :

Des gènes sont dits allèles lorsque, étant situés sur un même locus, ils déterminent un caractère différent. Il s'ensuit que, cours de lamiose, deux gènes allèles ne sont jamais transmis ensemble.

Allo-antigène:

Ag capable de susciter une réponse immunitaire chez un individu appartenant à la même espèce.

Anticorps :

Protéine protectrice produite par la réponse immunitaire à la stimulation par une protéine étrangère. Un anticorps reconnaît les antigènes présents sur des globules rouges étrangers et peut causer, *in vivo*, une agglutination suivie d'une hémolyse.

Anticorps naturels :

Anticorps apparus sans stimulation antigénique connue.

Ac naturels réguliers :

Ac toujours pratiquement présent dans le plasma sans préimmunisation apparente par l'Ag correspondant, dans une population présentant un phénotype érythrocytaire donné. 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.

Ac naturels irréguliers :

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

Ac immuns :

Ac détecte dans le sérum à la suite d'une stimulation connue.

Antigène :

Toute substance reconnue comme étrangère par l'organisme et qui suscite une réponse immunitaire dirigée contre elle-même.

Bilirubine :

Pigment issu de la dégradation des globules rouges, qui donne sa couleur à la bile.

Chromosome :

Structure filamenteuse portant les gènes et se trouvant dans le noyau des cellules vivantes.

Coagulation :

Mécanisme qui fait cailler le sang quand il est recueilli dans un récipient sec ou exposé au niveau d'une plaie ouverte.

Complément :

Protéine sérique normale souvent impliquée dans des réactions de groupe sanguin et des troubles immunologiques.

Déterminant antigénique :

Structure de quelques acides aminés présents à la surface de la molécule d'antigène, capables de se combiner à un seul récepteur lymphocytaire (BCR ou TCR).

Erythrocytes :

Globules rouges ou hématies. Ce sont les cellules les plus nombreuses qui contiennent un pigment rouge, l'hémoglobine, et transportent l'oxygène vers les tissus.

Exsanguino-transfusion :

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

Gène :

Unité de base de l'hérédité portée par les chromosomes.

Génotype :

Ensembles des gènes hérités de chacun des parents présents sur les chromosomes.

Globulines :

Classe de protéines comprenant notamment les anticorps.

Hémolyse :

Destruction (lyse) de la membrane des globules rouges qui entraîne la libération de leur contenu, l'hème et la globine. L'hémolyse résulte de la réaction entre un anticorps hémolytique et l'antigène des globules rouges spécifiques en présence du complément.

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).

Immunogénicité :

Capacité d'une substance à susciter une réponse immunitaire.

Immunoglobuline (Ig) :

Anticorps synthétisés par des lymphocytes spécialisés en réponse à un antigène.

In vitro :

Réaction survenant hors de l'organisme, par exemple réaction obtenue dans un tube au laboratoire.

In vivo :

Réaction survenant dans l'organisme, par exemple une anémie hémolytique auto-immune.

Locus :

Emplacement d'un gène sur un chromosome.

Maladie hémolytique du nouveau-né :

Maladie au cours de laquelle des anticorps maternels traversent le placenta et détruisent les globules rouges fœtaux ayant l'antigène correspondant.

Phagocytose :

Processus par lequel certains globules blancs ingèrent les bactéries et d'autres corps étrangers.

Phénotype :

Effet observable des gènes hérités, par exemple le groupe sanguin.

Introduction

Introduction

Les réactions d'allo-immunisation sont connues depuis longtemps, le polymorphisme des groupes sanguins et l'immunogénicité des Ag portés par les cellules sanguines sont les deux causes de l'allo-immunisation ; un sujet qui reçoit par transfusion (ou par grossesse) un Ag qui lui est étranger, risque de développer l'Ac correspondant (Ac irrégulier) lors de transfusion (ou par grossesse) ultérieure, le conflit Ag-Ac peut conduire ainsi à une hémolyse.

Le suivi des allo immunisation repose essentiellement sur la recherche des Ac irrégulier (RAI) qui constitue l'un des piliers de la sécurité transfusionnelle et de la surveillance obstétricale.

Sur le plan transfusionnel, la RAI doit être effectuée dans les trois jours qui précède la transfusion, la RAI est également obligatoire au décours de la transfusion , sa réalisation chez le receveur 3mois après la transfusion permet de mettre en évidence une éventuelle allo-immunisation post- transfusionnelle [15].

Chez la femme enceinte, la RAI doit être réalisée au moins une fois durant la grossesse, chez les femme rhésus négatif, elle est effectuée au 3^{ème}, 6^{ème}, 8^{ème} et 9^{ème} mois de la grossesse et après l'accouchement.

Comme pour toute analyse biologique, il existe dans la RAI, une notion de seuil de sensibilité, il est maintenant clairement démontré que ce seuil dépend de la technique choisie, mais aussi de ses modalités de réalisation [8].

Il y a une dizaine d'années , les techniques "traditionnelles" manuelles en tube requiraient une expérience difficile à maîtriser , de plus la lecture était parfois difficile , voir peu objective , rendant le résultat délicat à interpréter , en particulier pour des Ac de titre faible[4] .

L'automatisation des différents étapes d'une technique ou la suppression de certaines étapes permettent d'éviter ou limiter les variations existantes , et c'est pourquoi au cours de la dernière décennie , de nouvelles techniques de recherche d'Ac irrégulier ont été développés et mises sur le marché .

Grâce à ces nouvelles techniques, la RAI, est aujourd'hui effectuée par de très nombreux laboratoires en Europe[4].

En Algérie , non seulement nos laboratoires utilisent encore les techniques traditionnelles , mais aussi d'après l'observation de beaucoup de biologistes , la RAI n'est pas un test systématique ,d'où une mauvaise prise en charge des malades poly transfusés (drépanocytaire , thalassémique) et les femmes enceintes rhésus négatif .

Dans ce cadre et via cette synthèse bibliographique, nous avons essayé de révéler les aspects positifs et le grand intérêt des nouvelles techniques par rapport aux techniques classiques.

Chapitre I
Groupes sanguins

I- les groupes sanguins humains

1 – définition

Les groupes sanguins sont des ensembles de variation du polymorphisme génétique, observés à l'intérieur de l'espèce humaine sur les cellules sanguines ou les protéines du plasma.

Ces ensembles sont produits par des unités génétiques qui se transmettent indépendamment les unes des autres, au cours de la méiose [20].

On distingue les groupes sanguins érythrocytaires, les groupes leuco- plaquettaires et les groupes des immunoglobulines, les plus importants en pratique médicale quotidienne sont les groupes érythrocytaires [21].

2 – les antigènes et les anticorps des groupes sanguins

La membrane du globule rouge est une mosaïque d'antigènes dont la synthèse est génétiquement contrôlée dans l'érythroblaste; ces antigènes sont reconnus par des anticorps spécifiques. Certains de ces antigènes sont spécifiques du globule rouge, d'autres sont également présents par l'ensemble des cellules de l'organisme [17].

Les antigènes peuvent être des protéines directement produites par les gènes par exemple; les Ag du système rhésus. D'autres sont de fabrication plus complexe; les déterminants antigéniques sont des structures glycolipidiques ou glycoprotéiques, résultat d'activité spécifique d'enzymes spécialisées qu'on appelle les glycosyltransférases [21].

Les anticorps des groupes sanguins sont des immunoglobulines de type IgG ou IgM, Ils peuvent être:

- soit naturels (encore appelés Ac réguliers) : c'est-à-dire présents sans stimulation antigénique préalable, c'est le cas des anticorps du système ABO ; sont des Ig de classe M.

- soit immuns (encore appelés Ac irréguliers) : ils apparaissent après une stimulation antigénique,

(Grossesse, transfusion); sont des Ig de classe G.

La rencontre d'un antigène avec un anticorps se traduit le plus souvent par une agglutination, une hémolyse et une destruction prématurée du GR [18].

3- les différents systèmes sanguins des groupes sanguins

3-1- le système ABO

3-1-1- Historique

Le système ABO est le plus anciennement connu des systèmes de groupes sanguins, il fut découvert en 1900 par Karl Landsteiner [13].

La découverte de Landsteiner a toutes les apparences d'un travail d'artisan, cependant c'est une date de l'histoire de la médecine. Landsteiner prit des échantillons de sang de six de ses collègues et prépara des suspensions salines de leur globule rouge, après les avoir séparés du sérum; chaque sérum fut mélangé avec chacune des suspension de globules rouges: dans quelques uns des mélanges, les globules rouges furent agglutinés, dont d'autre ils ne le furent pas. Se passant sur ces réactions, Landsteiner divisa les êtres humains en trois groupes distincts: A, B et O. Deux ans plus tard, un quatrième groupe, le plus rare, AB, fut découvert par deux de ses élèves.

Landsteiner observa que le facteur agglutinant, qu'il appela agglutinine, s'observait dans le sérum des individus qui n'avaient pas l'antigène correspondant. Il venait de découvrir les anticorps et les antigènes des groupes. La transmission génétique des antigènes fut reconnue en 1910; l'immunogénétique venait de naître. La nature glucidique des antigènes ne sera reconnue que dans les années 50 [20].

3-1-2- Définition

Le système du groupe sanguin ABO définit à la fois par la présence d'antigènes sur les hématies et par la présence d'anticorps dans le sérum.

Le système ABO classe les individus en 4 catégories selon le tableau 2 [18].

Tableau 1: le système ABO [18]

Groupe	Antigène globulaire	Anticorps sérique
A	Antigène A	Anti- B
B	Antigène B	Anti- A
AB	Antigène A et Antigène B	-
O	-	Anti- A Anti- B

3-1-3- la génétique des antigènes ABO

Le locus des gènes ABO est situé sur le bras du chromosome 9, en position q34, tout près de celui d'une autre enzyme du globule rouge, l'adenylate kinase. Ce locus s'étend sur sept exons représentant une longueur de 18 kilo bases [20].

Le phénotype ABO d'un individu naît de la conjonction de deux gènes allèles (les allèles sont des formes différentes d'un même gène). Ainsi, pour les gènes du locus ABO, trois allèles sont identifiés: A, B ou O. les allèles A et B sont dits codominants car ils peuvent s'exprimer simultanément si l'un et l'autre sont présente. L'allèle O correspond à l'absence d'antigène A ou B [9].

L'être humain, organisme diploïde, dispose de deux allèles par locus, selon les possibilités indiquées par le tableau 3.

Tableau 2: phénotypes et génotypes dans le système de groupe ABO [9].

Phénotypes (groupe)	Génotypes (exprimé par deux gènes allèles)
A	AA ou A/O
B	B/B ou B/O
AB	A/B
O	O/O

Ainsi pour le même phénotype, par exemple A, deux génotypes (c'est-à-dire deux formules génotypes) sont possibles: soit A/A, soit A/O. Quel que soit le génotype, le phénotype est identique : le sujet est de groupe A [13].

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, le galactose -N- acetylglucosamine – mucopolysaccharide doué d'une spécificité de type pneumocoque fixé sur un polypeptide sur lequel viennent se greffer par 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 [2].

- la spécificité A est portée par le sucre N- acétyl galactosamine.
- la spécificité B est portée par le galactose.
- la spécificité O est portée par le fucose [21].

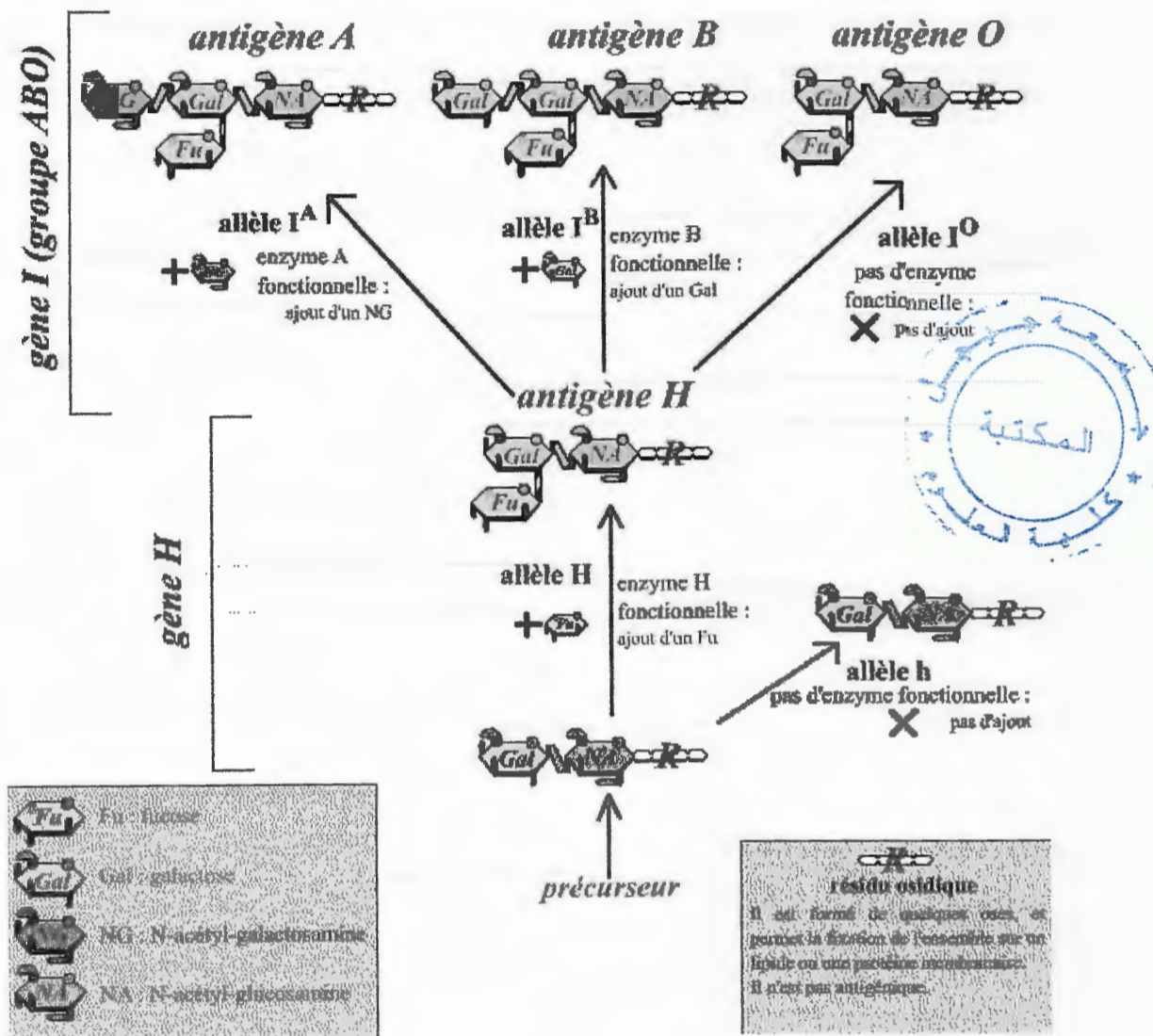


Figure1 - Antigènes ABO et polymorphisme génétique [23].

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

3-1-5-1- les antigènes de système ABO

Les Ag de système ABO ne se limitent pas au GR, mais s'expriment dans le plasma, les sécrétions et à la surface de nombreuses cellules de l'organisme: lymphocytes, cellules endothéliales, cellules rénales, fibroblastes, leucocytes et plaquettes [21].

La production des antigènes A et B est sous la dépendance d'un gène H. Ce gène H transforme une substance "précurseur" (SP) en substance H à la base des groupes sanguins [21].

La présence du gène A provoque la production d'un antigènes A, la présence du gène B provoque la formation de l'antigènes B, la présence des gènes A et B provoque la formation des antigènes A et B, l'absence de gènes A et B, donc la seule présence de la substance H définit le groupe O. Les sujets dépourvus de gène H donc de génotype hh n'ont pas la possibilité de transformer la substance précurseur en substance H, même en présence des gènes A et B, Ils ne formeront aucun antigène, ces sujets sans aucun groupe sanguin sont dits de phénotype "Bombay" [2].

Le groupe A comprend plusieurs variantes antigéniques A₁, A₂, A₃, Ax...ect. Il est reconnu que 90% des sujets de groupe A sont de type A₁ et près de 10% de type A₂ [1].

3-1-5-2- Les anticorps de système ABO

Les anticorps de système ABO se divisent en:

- anticorps réguliers encore appelés " naturels".
- anticorps irréguliers encore appelés " immuns".

. Les anticorps naturels réguliers

Ils permettent de compléter la définition du système. En effet les premier anticorps naturels sont toujours présents, les seconds plus exceptionnellement.

- les anti-A chez les individus B.
- les anti-B chez les individus A.
- les anti-AB chez les individus O.

Les anticorps naturels appartiennent à la classe M, on peut observer par ailleurs chez les personnes A2 (2% des cas) et A2B (25% des cas) des anticorps anti-A1, ce qui n'a pratiquement pas d'importance transfusionnelle mais doit cependant être su (difficulté de détermination du groupe sanguin ABO) [1].

. Les anticorps immuns

- * Ils apparaissent à la suite de stimulations antigéniques variées.
- Soit lors d'allo immunisation (grossesse ABO incompatible principalement: mère O, enfant A ou B par exemple).
- Soit lors d'hétéro immunisation, les substances AB étant très répandues dans la nature.
- * Les anticorps immuns anti-A et/ou B, le plus souvent présents chez les personnes de groupe O [1].

3-2- Le système rhésus

3-2-1- Historique

En 1939, Philip Levine examine le sérum d'une femme qui vient d'accoucher d'un enfant atteint d'une maladie, mystérieuse à l'époque, appelée érythroblastose fœtale. Il trouve un anticorps contre les globules rouges du nouveau-né et du père et il explique le mécanisme de la maladie par une allo immunisation contre un nouvel antigène de groupe sanguin auquel, dans l'euphorie de sa découverte, il ne prend pas la peine de donner un nom.

L'année suivante, Landsteiner et Wiener, injectant des globules rouges de singe Macacus Rhésus à un cobaye, provoquent chez ce dernier la formation d'un anticorps anti-Rhésus. Cet anticorps du cobaye agglutine aussi les globules rouges de 85% des individus caucasiens de New York, ceux-là même qui sont aussi agglutinés par l'anticorps de la femme découvert l'année précédente par Levine, on pense donc tout naturellement qu'il s'agit du même antigène. C'est donc 1940, un an après la découverte de Levine, que l'antigène reçoit le nom de Rhésus et il est défini depuis lors par les anticorps trouvés chez les femmes allo immunisées [20].

3-2-2 Définition

Système de groupe sanguin érythrocytaire défini par la présence ou l'absence d'un Ag dit Ag Rh standard, ce système a une grande importance de point de vue transfusionnel [16], il est le plus important après le système ABO, car ses Ag sont les plus immunogènes [13].

3-2-3- La génétique du système rhésus

Le système rhésus est codé par 3 gènes présents sur le chromosome 1 regroupés sur un même locus: D, C ou son allèle c, E ou son allèle e.

La présence de ces gènes conditionne les spécificités antigéniques correspondantes: D (ou Rh+) E, \bar{e} , C, \bar{c} et donc le phénotype rhésus qui s'écrit par exemple: D+C+c+E-e⁺.

Les sujets Rh négatif se définissent par l'absence de l'antigène RH-D: ce phénotype correspond à un allèle amorphe récessif appelé conventionnellement d.

Il existe plusieurs nomenclatures pour désigner les haplo types (Fischer, race et Wiener).

La fréquence des différents haplotypes, et donc des différents phénotype (tableau 3), est variable: le polymorphisme est plus grand chez les sujets Rh positif que les sujets Rh négatif qui sont dans la majorité des cas D-C-c+E-e⁺. Le phénotype D+C-c+E-e⁺ est très fréquent chez les sujets de race noire [17].

Tableau3: Principaux phénotype du système Rhésus [17].

Phénotype	Génétique probables nomenclature		Fréquence approssimative (France)	Rhésus standard
	Fisher -Race	Wiener		
D + C + E - \bar{c} + \bar{e} +	DC \bar{e} /dc \bar{e}	R ₁ r	35%	+
D + C + E - \bar{c} - \bar{e} +	DC \bar{e} /Dc \bar{e}	R ₁ R ₁	20%	+
D + C + E + \bar{c} + \bar{e} +	DC \bar{e} /D \bar{c} E	R ₁ R ₂	13%	+
D + C - E + \bar{c} + \bar{e} +	D \bar{c} E/d \bar{c} e	R ₂ r	12%	+
D + C - E - \bar{c} + \bar{e} +	D \bar{c} e/d \bar{c} e	R ₀ r	2%	+
D - C - E - \bar{c} + \bar{e} +	d \bar{c} e/d \bar{c} e	r r	15%	-

Désignation des haplo type :

$R_1=DC\bar{e}$; $R_2=D\bar{c}E$; $R_0=D\bar{c}\bar{e}$; $R=DCE$; $r=d\bar{c}\bar{e}$; $r'=dC\bar{e}$; $r''=d\bar{c}E$.

3-2-4- Les antigènes et les anticorps du système rhésus

3-2-4-1 - Les antigènes du système rhésus

Les antigènes Rh sont spécifiquement érythrocytaires, contrairement aux antigènes ABO; ils sont synthétisés très tôt dans la vie fœtale [17].

L'antigène D c'est le rhésus standard dans le langage courant. C'est L'antigène le plus immunogène injecté à un individu rhésus (-); Il provoque l'apparition d'AC anti-D avec une très grande probabilité.

Ainsi la prévention de l'allo immunisation D est devenue la règle en transfusion la détermination du groupe D est obligatoirement associée au groupage ABO standard [18].

3-2-4-2- Les anticorps du système rhésus

Tous les anticorps du système Rh sont des anticorps d'allo immunisation par grossesse ou transfusion il n'y a pas d'anticorps naturel. Le groupe Rh est de chef de file des systèmes immunogènes à l'intérieur de l'espèce humaine [20].

3-2-5- Les variantes des Ag du système rhésus

- Ag D faible ou Du

Ce sont des hématies dont l'Ag rhésus n'est pas mis en évidence par la majorité des anti-sérums anti-D utilisés avec des techniques d'agglutination standard, donc on va traiter les hématies par les enzymes pour faire apparaître des sites, soit on va utilisé 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 [9].

3-3- Les autres systèmes des groupes sanguins

On retrouve à la surface des hématies de nombreux autres antigènes n'appartenant pas aux groupes AB et Rhésus.

Ces antigènes sont en règle moins immunogènes mais peuvent parfois susciter, en cas d'incompatibilité transfusionnelle, une allo immunisation avec risque d'hémolyse [9].

3-3-1- Le système Kell

Le système Kell est probablement le plus important du fait de ses conséquences pratiques: l'antigène Kell est très immunogène et l'allo immunisation correspondante est fréquente, soit à la suite de transfusion répétées, soit lors de grossesses incompatibles. Selon une conception simplifiée, les quatre antigènes principaux s'expriment selon trois couples d'allèles liés :K et k , Kp^a et Kp^b , Js^a et Js^b .Seul le premier présente ici un intérêt [16]

Tableau 4: Le système Kell [16].

Sérums- tests	phénotype	Génotype
Anti-K		
-	Kk	Kk
+	Kk	Kk
+	KK	KK

3-3-2- Le système Duffy

Le locus porteur des gènes Duffy a été le premier à être situé physiquement sur un chromosome 1. Deux gènes allèles principaux Fy^a et Fy^b s'associent pour former chez les blancs 3 phénotypes principaux :

- Fy (a+b-): de génotype Fy^a /Fy^a (fréquence 20%).
- Fy (a+b+): de génotype Fy^a /Fy^b (fréquence 46%).
- Fy (a-b+): de génotype Fy^b /Fy^b (fréquence 34%).

Dans la race noire par contre, un 4^{ème} phénotype Fy (a-b-) est fréquent (70% des sujets) mais ils ne s'immunisent pas [19].

Les anticorps anti-Fy sont des anticorps irréguliers que l'on doit dépister ou prévenir chez les transfusées [13].

3-3-3- Le système Kidd

Le système comporte deux antigènes produits par deux allèles JK^a , JK^b en proportions bien équilibrées dans toutes des populations humaines. En France, on observe 28% d'individus JK (a+b-), 22% de JK (a-b+) et 50% de JK (a+b+) [20].

Les anticorps anti-JK sont des anticorps irréguliers que l'on doit dépister ou prévenir chez les polytransfusés [13].

3-3-4- Le système MN Ss

Ce système peut schématiquement expliquer l'existence d'au moins 2 loci liés: l'un pour les allèles M et N, l'autre pour les allèles S et s.

Quatre haplotypes principaux : MS, Ms, NS et Ns détermine en s'associant 2 à 2 les 9 phénotypes et 10 génotypes suivants:

MS: de génotype MS/MS (5,7%); MNs: de génotype Ms/Ns (22,6%).

MSs: de génotype MS/Ms (14%); Ns: de génotype Ns/Ns (15,6%).

Ms: de génotype Ms/Ms (10,1%); NS: de génotype NS/NS (0,3%).

MNS: de génotype MS/NS (3,9%); NSs: de génotype NS/Ns (5,4%).

MNSs: de génotype MS/Ns ou Ms/NS (22,4%) [19].

Les anticorps anti-S et anti-s sont actifs à 37c° (allo immunisation post-transfusionnelle ou dans les incompatibilités foeto-maternelles). Les anticorps anti-M et N sont naturels actif à 4 c°.

Sur le plan transfusionnel on retiendra que l'allo-immunisation anti-S est exceptionnelle, l'antigène étant peu immunogène et que l'immunisation anti-s est encore moins fréquente [1].

3-3-5- Le système P

Après immunisation des lapins par des GR humain, Landsteiner et Levine ont révélé un système P grâce à des Ac anti -P. A l'heure actuel trois sortes de déterminants antigéniques P1, P2, Pk ont été décrits (tableau 5). Ces antigènes définissent des

phénotypes dont le plus fréquent P1 et P2 . Ils sont incomplètement développés à la naissance. Les Ac anti -P1 des patient P2 sont naturels (IgM) actif à froid sans intérêt en transfusion et ne sont pas à l'origine de maladie périnatale [3]

Tableau 5: Fréquences de système P [16].

Groupes	Déterminants antigéniques			Fréquences (%)
	P ₁	P	P ^k	
P ₁	+	+	-	75 à 80
P ₂	-	+	-	20 à 25

Les sujets P₂ ont souvent anti-P₁ naturel et peu dangereux; les sujets P^k ou P peuvent avoir des anticorps dangereux naturels, respectivement anti-P, et anti-Tja (P, P₁, P^k) [13].

3-3-6- Le système Lewis

Le système Lewis n'est pas proprement dit un système de groupe érythrocytaire, mais un système de sécrétion (cellules des glandes muqueuse). Les antigènes Lewis sont donc présents dans le plasma ce qui explique leur présence éventuelle par adsorption sur la membrane des hématies. Ce qui explique également l'intérêt transfusionnel que peut présenter le système [1].

Deux sérums dits anti-le^a et anti-le^b déterminent, chez l'adulte, trois phénotypes érythrocytaire Lewis: le (a+b-) avec hématies porteuses du seul antigène le^a (20% des sujets), le (a-b+) avec des hématies porteuses du seul antigène le^b (70% des sujets) et le (a-b-) avec des hématies qui ne portent ni antigène le^a ni l'antigène le^b (10% des sujets) [19].

4- La réaction antigènes- anticorps

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

* 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 [2].

*** In vivo**

La réaction Ag – Ac en présence de complément conduit à l'hémolyse de globules rouges transfusés, ce-ci se passe lors transfusion d'un sang incompatible [2].

Chapitre II
L'incompatibilité
Foeto-maternelle

II- L'allo immunisation foeto-maternelle

1- Définition

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.

Le passage d'hématies, de leucocytes ou de plaquettes fœtales dans la circulation maternelle (transfusion foeto-maternelle) peut conduire, en effet, à la production d'anticorps correspondants chez la mère. En retour, le passage actif des immunoglobulines maternelles (de la classe des IgG) à travers le placenta, se traduira, chez l'enfant, par une hémolyse, un purpura ou une granulopénie selon la cellule immunisante. Il s'agit donc d'une conséquence très particulière du conflit antigène-anticorps in vivo [22].

2- Mécanisme de l'incompatibilité foeto – maternelle

Deux circonstances conduisent à l'allo – immunisation maternelle:

2-1- 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 [2].

2-2- La sensibilisation par transfusion sanguine

L'immunisation par voie transfusionnelle est encore parfois observée lors des injections de sang incompatible (exemple : sang rhésus positif injecté à une femme rhésus négatif) a un potentiel d'immunisation très élevé. Une seule injection provoque la formation d'anticorps dans presque 50% des cas [2].

3- 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 glyco-conjugaison maternelle, mais après la naissance les fonctions hépatiques du nouveau-né seront incapables d'éliminer la bilirubine libre [2].

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

Cet ictère survient en générale à partir du 2^{ème} on du 3^{ème} 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'immaturation hépatique de ce fait l'apparition de lésions nerveuses de l'ictère nucléaire [2].

4- L'incompatibilité foeto – maternelle dans le système ABO

4-1- Mécanisme physiopathologique

La maladie touche préférentiellement les enfants A et B de mère de groupe O. Chez celle-ci la formation des anticorps anti-A et anti-B de type immuns sont fréquente puisqu' on retrouve dans le sérum de 5 à 10% des sujets normaux [14].

4-2- 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 évidence à coté des anticorps naturels des anticorps anti-A (ou anti-B) dites de type immun . Ces anticorps sont relativement fréquents dans le sérum du 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 antérieur 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 groupe 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 [6].

5- L'incompatibilité foeto – maternelle dans le système rhésus

5-1- 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 femmes [14].

5-2- Physiopathologie

C'est l'Ag D qui est le responsable de l'immunisation foeto–maternelle, si la mère de Rh- et son mari sont de Rh+ [2].

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 5^{ème} mois) et ne portent que sur des volumes très faibles. De ce fait il n' y a habituellement pas d'immunisation décollable 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 a 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 anticorps anti-Rh D va se combiner à l'antigène Rh des hématies fœtales qui sont alors phagocyté dans la rate et le foie. Lorsqu'un enfant est Rh négatif, cette réactivation ne produit pas et le taux des Ac ne varie pas [6].

6- L'incompatibilité dans les autres systèmes

Beaucoup plus rare, 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'immunisation anti-Kidd (anticorps anti-JKa et JKb)

Rare et peu sévère. Elle sont autant résultat de transfusion que des grossesses.

- L'immunisation anti-Lutheran (anticorps anti-Lua et Lub), anti-M; anti-S et anti-s, anti-N et l'anticorps P₁

Seul les anticorps anti-M et anti-S ou s peuvent provoquer une hémolyse bénigne et rare.

- L'immunisation anti-Lewis

Aucune hémolyse n'est possible, car il s'agit d'IgM (Ne traverse pas la barrière placentaire) et que ces antigènes sont absents des hématies du fœtus et du nouveau-né [2].

7- La prévention de l'allo – immunisation foeto – maternelle

De nombreux travaux ont abouti à un traitement préventif de l'allo-immunisation rhésus D foeto maternelle, remarquablement efficace par l'injection d'immunoglobulines anti-D. Cette prévention constitue le fait fondamental actuel, sa réalisation pratique est simple et doit être répétée à chaque grossesse incompatible.

Son principe consiste à détruire après l'accouchement les globules rouges de l'enfant passés dans la circulation maternelle avant qu'ils n'aient le temps d'entraîner la formation d'anticorps.

L'efficacité de la méthode repose en effet sur la présence dans le sang maternel d'une concentration convenable d'anticorps.

L'injection aux femmes rhésus D négatif non immunisées d'anticorps anti-D sous forme d'immuno globulines préparées par fractionnement de plasma immun, à condition que cette injection soit faite aussitôt que possible et au plus tard 72 heures après l'accouchement d'un enfant rhésus positif ou rhésus D faible, réduit considérablement le risque d'apparition des Allo- anticorps anti-D dans les mois suivants.

Les critères de l'injection d'une dose efficace d'immunoglobulines anti-D à la naissance de l'enfant sont les suivants :

- mère rhésus D négatif, non immunisée vis-à-vis de l'antigène D et enfant rhésus positif, y compris les enfants rhésus D faible.

La dose standard injectée après un accouchement ou un avortement est de 200 à 300 µg d'anticorps par voie intramusculaire. Lorsque la voie intraveineuse est utilisée, cette dose peut être réduite à 85 µg. JOUVENCEAUX (1969) a montré que, dans ces conditions, il était possible d'éliminer 1 ml de sang rhésus positif, avec une demi-vie des hématies réduite à 90 minutes ce qui est beaucoup plus rapide qu'avec une dose de 300 µg introduite par voie intramusculaire.

L'efficacité immédiate de la dose d'immunoglobuline doit être vérifiée par un nouveau test de KLEIHAUER fait 12 à 24 heures après l'injection. La persistance d'hématies fœtales nécessite une nouvelle injection d'immunoglobulines. Une autre façon de vérifier si la posologie a été suffisante est de rechercher s'il persiste dans les 12 à 24 heures après l'injection des anticorps anti-D passifs en excès dans la circulation. Ces

anticorps "résiduels" persistent pendant plusieurs jours et leur présence permet de confirmer les résultats du test de KLEIHAUER.

Le mécanisme de cette immunodépression provoquée par l'apport passif d'anticorps reste encore mal connu. Le fait important reste l'élimination rapide des hématies rhésus positif de la circulation maternelle sous l'action des anticorps anti-D ceux-ci sensibilisent ces hématies, les quelles sont séquestrées et détruites au niveau du système réticulo-endothélial, en particulier dans la rate. Ainsi le passage ne parvient-il pas aux cellules immunologiquement compétentes.

Ce traitement préventif doit être appliqué à toutes les femmes rhésus D négatif qui sont soumises à un contact antigénique rhésus D [12].

Chapitre III
La transfusion sanguine

III – La transfusion sanguine

1- Définition

La transfusion sanguine est le passage du sang total ou l'un de ses composants, d'un sujet sain dit "donneur" à un sujet malade dit "receveur" [21].

2- Historique

La transfusion connaît un développement considérable dont les banques des sangs naissantes 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 (1945-1950).
- * l'époque du flacon (1949-1965).
- * l'époque de la poche plastique depuis 1965 [5].

3- Le don du sang

Le don de sang en France est volontaire, bénévole et anonyme. Toute personne n'ayant pas de contre-indication médicale peut donner son sang, de 18 à 65 ans pour le don de sang total, de 18 à 60 ans pour le don de plasma ou de plaquettes [17].

Le nombre de prélèvement de sang total par année ne doit pas excéder cinq chez les hommes, et trois chez les femmes, en raison essentiellement des pertes en fer lors des menstruations [13].

A l'occasion de chaque don, le donneur fait systématiquement l'objet d'un contrôle clinique, entretien médicale, examen général et mesure de la pression artérielle. Ces examens permettent de prendre en compte certaines contre-indications au don du sang. Il s'agit là, d'une étape essentielle en terme de sécurité transfusionnelle ; elle est définie comme l'ensemble des mesures visant à réduire ou éliminer les risques immunologiques ou infectieux liés à la transfusion de produits sanguins [13].

En outre, des contrôles biologiques obligatoires permettent de garantir la sécurité du receveur hémocrite et/ou taux d'hémoglobine, dépistage de la syphilis, détection de l'antigène HBs, dépistage des anticorps anti-VIH, anti-VHC, anti-HTLV-I/II, dosage des

L'évolution des techniques en immuno-hématologie pour la recherche des anticorps irréguliers
transaminases hépatiques de type ALAT, dépistage du génome du VIH du VHC et prochainement du VHB [13].

4- Le prélèvement

Le don de sang totale consiste en un prélèvement de 400 à 450 ml de sang sur une solution anticoagulante (CPDA) : la poche de sang totale prélevée est fractionnée par centrifugation en concentré de globules rouges, de plasma et de plaquettes.

Les dons de sang sélectifs, appelés aphérèses utilisent des séparateurs de cellules qui permettent de prélever spécifiquement certains composants du sang : plasma, plaquettes ou globules blancs [17].

Le volume maximal prélevé est de 8 ml/Kg. Cependant, quelque soit le poids du sujet. Un volume totale de 500 ml ne doit pas être dépassé [13].

5- Complication de la transfusion sanguine

La transfusion sanguine comporte trois types de danger majeur qui peuvent mettre en jeu la vie du malade : le risque immunologique, le risque infectieux et le risque de surcharge [13].

5-1- Risques immunologiques

Ils résultent généralement d'un conflit entre des anticorps produits par le receveur et des antigènes de donneur, ce conflit peut engendrer une hémolyse du GR par activation du complément [9]. L'hémolyse du GR est le résultat d'une incompatibilité dans le système ABO, ou par la présence des anticorps irréguliers lors d'allo immunisation (transfusion ou grossesses antérieures), parfois l'hémolyse peut se traduire par une atteinte splénique ou hépatique [18].

5-1-1- Les signes évocateurs des risques immunologiques

- > Frissons, une hyperthermie, une hémoglobinurie, un état de choc, un syndrome hémorragique surtout évocateur chez les patients anesthésiés, un malaise et des douleurs lombaires.
- > Un ictère aussi peut survenir, l'anémie hémolytique du nouveau-né.

—> Des réaction allergiques sont fréquentes chez les polytransfusés, le plus souvent sont; des urticaires, un prurit, une sensation d'inconfort, une oppression thoracique chez les asthmatiques ou allergiques, peut survenir une crise d'asthme, voir d'autre manifestations allergiques comme un bronchospasme et un œdème de Quincke [18].

5-2- Risques infectieux

Un choc septique ou endotoxinique peut être observé suite à une bactériémie chez le donneur une faute d'asepsie lors du don ou de mauvaises conditions de conservation des poches de sang [9]. La transmission de maladies infectieuse s'exprime, chez le receveur, de manière immédiate (paludisme, hépatite et VIH) [13].

5-3- Risques de surcharge

Peuvent s'observés en cas de :

- * Surcharge circulatoire : une transfusion rapide et massive avec risque hémorragique par dilution des plaquettes et des facteurs de coagulation [9].
- * Hémochromatose post – transfusionnelle par accumulation de fer dans les tissus avec ses expressions cliniques; insuffisance cardiaque, insuffisance endocrinienne et autres [9,13].

6- L'allo – immunisation transfusionnelle

C'est l'apparition d'un anticorps (allo–Ac) dans un organisme qui a reçu un antigène (allo–Ag) provenant d'un individu de même espèce mais dont il est lui même dépourvu; ce ci est dû au polymorphisme des groupes sanguins et l'immunogénicité des antigènes portés par les cellules sanguines qui sont les deux causes et conditions de l'allo – immunisation [5].

6-1- 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. L'anticorps présent dans le plasma du receveur et 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 [7].

6-1-1- 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 extravasculaire [6].

6-1-1-1-Hémolyse intra – vasculaire

Elle intervient en présence d'anticorps hémolysants, tels que ceux du système ABO, les anti-H, ou les anti-PP₁ P^k. L'anti-JK^a et parfois l'anti-Le^a peuvent également entraîner les mêmes dommages [6].

L'hémoglobine des hématies détruites est libérée dans le plasma ou elle se lie à l'haptoglobine le complexe étant ensuite capté par le système réticuloendothélial [7].

6-1-1-2-Hémolyse extra – vasculaire

C'est la plus fréquente : elle survient dans la rate et dans le foie. La phagocytose dans la rate concerne les anticorps à prédominance IgG qui ne fixent pas le complément in vitro, tels que l'anti-Rh, et la plupart des anti-Kell et des anti Fy^a; la disparition des hématies sensibilisées est plus lente que dans l'hémolyse intra – vasculaire. La phagocytose dans le foie s'observe avec les anticorps IgM fixant le complément, tels que l'anti-I [6].

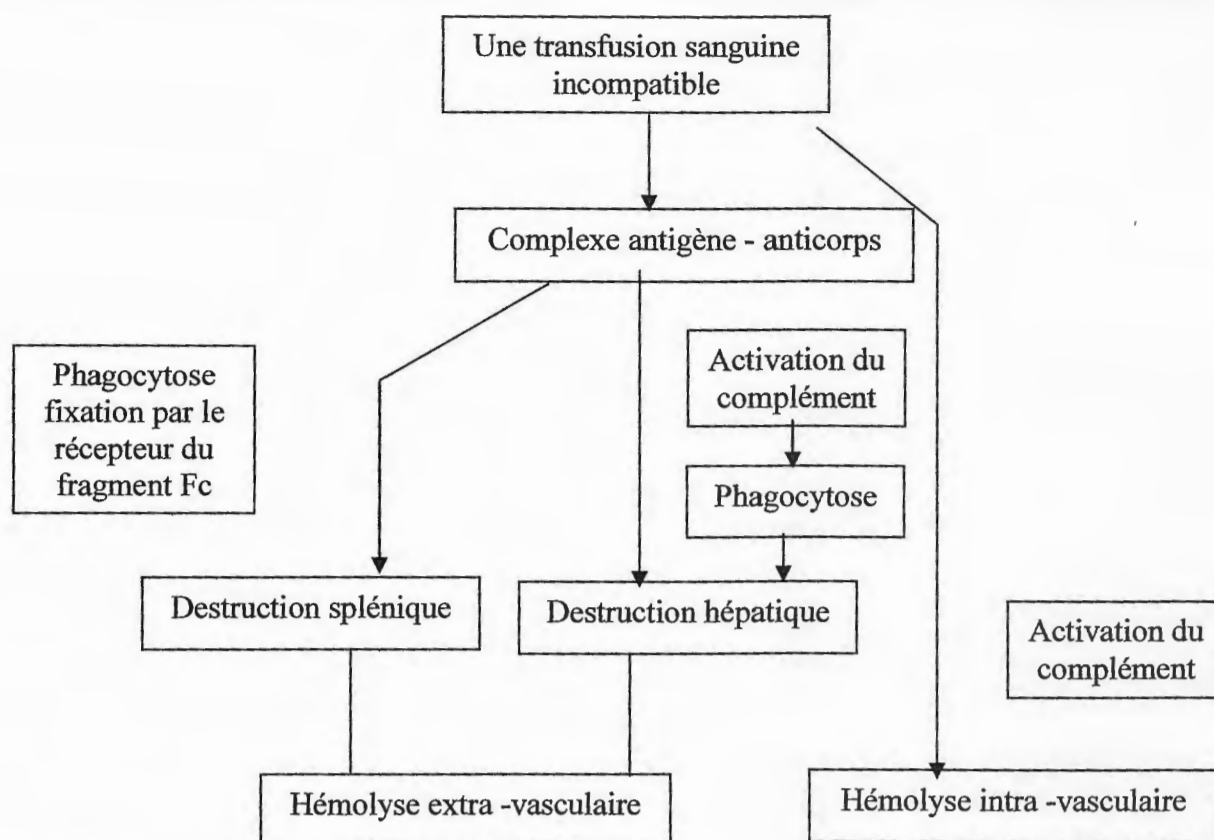


Figure 2 : Destruction in vivo des hématies sensibilisées par un anticorps [10].

6-2-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 poly spécifiques détruisant les cellules transfusées et ils sont une source d'inefficacité de transfusions chez le receveur [10].

6-3- Intolérance aux protéines plasmatiques

Ce sont des réactions fréquentes qui surviennent surtout chez les polytransfusés (10%) [6]. 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 l'anti-IgA et les IgA [10].

6-4- Prévention

La sécurité immunologique des transfusions sanguines ne peut être assurée sans la volonté et la participation active des cliniciens. Cette participation implique :

- . La prise de conscience par les infirmières de l'importance vitale de l'identification infaillible des prélèvements destinés au groupage sanguin, à la recherche d'agglutinines irrégulières et à l'épreuve de compatibilité au laboratoire.
- . Le contrôle ultime prétransfusionnel de la compatibilité ABO qui doit être correctement appris, exécuté et interprété.
- . La recherche d'agglutinines irrégulières systématique à l'occasion de chaque groupage sanguin et avant chaque épisode transfusionnel (une ou plusieurs unités), lorsque celui-ci est séparé du précédent par un intervalle d'au moins une dizaine de jours.
- . La surveillance médicale attentive et la déclaration à l'établissement transfusionnel de tout incident anormal observé pendant ou après la transfusion.
- . L'épreuve de compatibilité au laboratoire pour les unités transfusées aux receveurs déjà porteurs d'un ou plusieurs d'allo anticorps.
- . Le phénotypage systématique pour les Ag c, E et K chez toutes les jeunes filles/femmes et transfusion phénocompatible pour ces Ag [11].

Chapitre IV
L'évolution des techniques
en immuno-hématologie
pour la recherche des
anticorps irréguliers

IV- L'évolution des techniques en immuno-hématologie pour la recherche des anticorps irréguliers

1- Les tests utilisés pour la RAI

1-1- Les tests classiques (test en tube)

1-1-1- Test de COOMBS

Les anticorps incomplets sont capables de se fixer sur les hématies porteuses de l'antigène sans provoquer une agglutination en milieu salin.

Quand un anticorps non agglutinant en milieu salin se fixe sur son antigène à la surface de l'hématie (premier temps), la liaison antigène – anticorps est suffisamment solide pour que la globuline anticorps ne se détache pas de la surface de l'hématie, même après plusieurs lavages. Au contraire, les globulines ou autres protéines qui peuvent s'absorber de manière non spécifique à la surface de l'érythrocyte seront pour une grande part éluées par ces lavages et se retrouveront dans le surnageant. Dans un deuxième temps, on provoque l'agglutination des hématies ainsi sensibilisées en les mettant en présence l'antiglobuline, reconnaissant spécifiquement et donc se fixant sur l'anticorps lié aux antigènes globulaires [16].

Il existe deux variantes de la réaction de Coombs : le test de Coombs direct et le test de Coombs indirect.

1-1-1-1- Test de Coombs direct

Ce test s'applique aux cas où les hématies sont sensibilisées in vivo. C'est le cas dans les anémies hémolytiques à auto – anticorps ou dans la maladie hémolytique du nouveau né (sensibilisation des globules rouges du nouveau né par un anticorps maternel ayant traversé la barrière placentaire durant la grossesse). La mise en contact des hématies lavées avec l'antiglobuline entraîne l'agglutination en une seule réaction.

1-1-1-2- Test de Coombs indirect

Dans un premier temps, on sensibilise in vitro les hématies à l'aide de l'anticorps utilisé. Dans un deuxième temps, après lavage, l'adjonction d'antiglobuline provoque l'agglutination des hématies sensibilisées. On peut ainsi, soit identifier l'anticorps si on

utilise un antigène connu (recherche d'agglutinine irrégulière), soit identifier l'antigène si c'est l'anticorps qui est connu (phénotypage) [16].

1-1-2 Techniques utilisant les enzymes protéolytiques

La 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. Les enzymes utilisées couramment sont la papaïne, la trypsine, la broméline et la ficine.

Les techniques peuvent être variées, utilisant le soluté salé physiologique ou le sérum humain comme liquide de suspension des hématies, et combinant le test de Coombs avec le traitement par les enzymes (par exemple, test de Coombs trypsine détectant l'anti-JK^a). Enfin des tests rapides ont été mis au point, utilisant parallèlement la sensibilisation et le traitement par l'enzyme (par exemple, papaïne et broméline "un temps"). Les hématies doivent être très soigneusement lavées après l'action de l'enzyme, il n'est pas conseillé d'utiliser les hématies traitées par les enzymes au – délai de 24 heures après traitement, et entre – temps, elles doivent être conservées à +4°C. Des variations considérables dans la sensibilité des méthodes, peuvent être observées d'un lot d'enzymes à l'autre [16].

1-2- Les nouveaux tests

1-2-1- Introduction

Le gel – test a été créé en 1984, au laboratoire d'Immuno – hématologie du centre régional de transfusion sanguine de Lyon, par le Dr. LAPIERRE. Confronté à la lourdeur technique de la RAI pré – transfusionnelle et des épreuves de compatibilité directe au laboratoire, le Dr. LAPIERRE cherchait à les simplifier et à rendre plus objective la lecture des réactions. Pour ce faire, il recherchait en particulier un moyen de séparer les agglutinations des hématies libres.

Il testa de nombreux milieux séparateurs comme la gélatine, le polyacrylamide, le Ficoll, le percoll et finalement, le sephadex G25, un gel de dextran utilisé en chromatographie séparative. Les résultats étaient décevants jusqu'au jour où par erreur un technicien utilisa du sephadex G100 à la place du G25. Pour la première fois, LAPIERRE

réussit à séparer les hématies agglutinées des hématies non agglutinées. La suite est allée très vite : forme du tube, vitesse de centrifugation. [4].

1-2-2- Principe

Le gel de sephadex constitue un véritable tamis qui entrave la sédimentation des agglutinations. Sous l'effet de la centrifugation, les globules rouges non agglutinés migrent librement à travers le gel et se rassemblent en culot à la partie inférieure du gel [4].

1-2-3- Présentation

Sous forme de carte plastique réunissant 6 micro tubes contenant du gel et scellés par une languette aluminium. Deux types de gel sont utilisés pour la recherche d'anticorps irréguliers :

*** Le gel dit neutre**

Sur le plan de la réaction immunologique permettant d'effectuer :

- Un test en milieu salin à 20 c°.
- Un test utilisant des hématies traitées par la broméline.
- Un test utilisant des hématies traitées par la papaïne [4].

*** Le gel Coombs**

Gel imprégné d'antiglobuline polyvalente. Ce gel permet de sensibiliser la réaction tout en évitant les temps de lavage du test de Coombs classique.

Il existe également des cartes combinées comprenant des puits contenant du gel neutre. Ces cartes sont utilisées pour la phase de dépistage des anticorps irrégulier [4].

1-2-4- Autres techniques basées sur la filtration des agglutinats

- Une technique de filtration très proche du gel Diamed et donnant des résultats similaires et commercialisée par la société Diagast (chromatest).
- Une autre méthode importante de microfiltration des agglutinats a été développée par REIS EN 1992. Elle est basée sur la filtration des agglutinats par des billes de verre

(column agglutination technologie = CAT). Cette technique est aujourd'hui commercialisée en Europe sous le nom de "Biovue" par la société ortho diagnostics.

Le système est proche du gel Diamed et se présente également sous forme de 6 micro tubes contenant des microbille de verre. Deux types de supports, neutre et imprégné d'anti globuline excitent permettant d'effectuer les mêmes tests qu'avec les gels Diamed. Les volumes réactionnels sont différents et la centrifugation comporte deux phases (2 min à 794 rpm, puis 3 min à 1510 rpm) [4].

2- Comparaison des techniques manuelles et des techniques sur gel de filtration

2-1- Les techniques manuelles en tube

Le mécanisme le plus courant est la formation d'agglutinats par les hématies sensibilisées. Cette agglutination des hématies sensibilisées n'est pas un phénomène systématique. Elle dépend de nombreux paramètres dont :

- La classe des immunoglobulines impliquées,
- Les antigènes concernés et leur densité sur les hématies test,
- L'environnement où se déroule la formation des complexes. Il s'agit essentiellement du milieu de réaction.

L'agglutination directe des hématies sensibilisées ne concerne que peut d'anticorps. Il s'agit essentiellement d'anticorps de classe IgM. Les anticorps de classe IgG qui sont les plus préoccupants, aussi bien pour la sécurité transfusionnelle que pour le risque foeto-maternel, nécessitent habituellement une technique d'agglutination indirecte (technique de Coombs indirect) .Une agglutination directe peut être obtenue avec l'utilisation d'hématies traitées par des enzymes mais certaines antigènes sont détruites lors du traitement. Ce phénomène limite les performances de la technique qui ne peut pas être utilisées isolement.

Les connaissances fondamentales sur les mécanismes de formation des complexes antigènes/anticorps d'une part , et l'expérience d'autre part , ont permis d' établir des recommandations techniques pour la réalisation de cette RAI qui doit comporter au minimum l'association de deux techniques dont une correspond à un test de Coombs indirect ou un test de sensibilité équivalente .La deuxième technique retenue doit être réalisée sur des hématies traitées par un enzyme (le plus couramment utilisé est la

papaïne) . Les gammes d'hématie testées utilisées sont définies et doivent comporter un minimum d'antigènes de groupe sanguin (C , \bar{c} , D, E , \bar{e} , K , k, Fya, Fyb, Jka , Jkb, M, N, S, s, Lea, Leb, P1).

La technique de référence pour la recherche des agglutinines irrégulières est la technique de Coombs Indirect. (CID). Il s'agit d'une technique d'agglutination indirecte. La formation des agglutinats nécessite l'utilisation d'une anti globuline humaine.

Dans cette technique, le sérum testé est d'abord incubé avec les hématies de dépistage. Les cellules sont ensuite lavées pour éliminer toute trace d'anticorps libre. Ce lavage précède l'adjonction de l'anti globuline qui va permettre l'agglutination des cellules sensibilisées. Les cellules sont ensuite centrifugées puis l'échantillon est agité afin d'essayer de remettre les cellules en suspension :

- Si les cellules restent agglutinées, la réaction est alors considérée comme positive.
- Si les cellules se remettent en suspension, la réaction est négative.

Les performances de la RAI sont améliorées par l'utilisation conjointe d'une deuxième technique qui fait appel à des hématies traitées par les enzymes. On a utilisé pendant très longtemps la broméline. De bons résultats peuvent être obtenus avec une technique en deux étapes (les hématies sont traitées préalablement par l'enzyme) et une durée d'incubation longue (deux heures) ce qui rend cette technique difficilement utilisable pour la gestion des urgences. La technique en une étape (les hématies test, l'enzyme et le sérum sont incubés ensemble) est peu sensible. La papaïne est l'enzyme la plus performante mais ses conditions d'utilisation (température, temps d'incubation) doivent être respectées de façon stricte pour éviter des résultats non spécifiques. La ficine est un enzyme irritant et il faut donc utiliser des hématies prétraitées pour éviter ces inconvénients. Les performances de cet enzyme sont proches de celles de la papaïne. La trypsine est un enzyme peu utilisé mais il peut s'avérer utile pour la détection de certains anticorps difficiles à mettre en évidence tels que les anticorps dans le système KIDD.

Quelle que soit la technique utilisée, lorsque les tests sont réalisés manuellement et en tube , la sensibilité de la technique peut varier d'un individu à un autre du fait des nombreux paramètres mis en jeu [8].

2-2- Technique de filtration en gel

La technique de filtration est plus simple que la technique manuelle :

- Dans la technique manuelle l'incubation du sérum avec les hématies est suivie d'au moins trois lavages. Ils peuvent éventuellement favoriser la dissociation des complexes formés suivie de l'élimination des anticorps fixés sur les hématies test. Ces lavages sont supprimés dans la technique de filtration .

- En technique manuelle. L'anti globuline est ajoutée secondairement sur le culot lavé après lavage. Dans le milieu de filtration ce qui évite toute erreur par omission de l'anti globuline.

- Enfin, dans la technique manuelle la recherche des agglutinats se fait par agitation des tubes. Une agitation trop forte peut entraîner la dissociation de faibles agglutinats, une agitation trop faible après une centrifugation très rapide ou prolongée peut donner une image de faux agglutinats. Dans la technique en gel la lecture est directe sans agitation des support de réaction. Au cours de la centrifugation les hématies descendent dans la milieu de filtration .Si elles sont sensibilisées elles forment alors des agglutinat au contact de l'anti globuline .Ces agglutinats sont retenus par le gel ou la suspension de microbilles de verre.

- Les systèmes de filtration permettent l'établissement d'un score de la réaction.

Lorsque toutes les hématies restent trappes à la surface du milieu de filtration la réaction est cotée ++++. Lorsque les cellules restent dans la partie haute la réaction est cotée +++ . Lorsque les hématies se situent dans la partie moyenne de la colonne de filtration de la réaction est cotée ++et lorsque les hématies restent dans le tiers inférieur de la colonne, la réaction est cotée +. Dans une réaction négative toutes les hématies sédimentent au fond de la colonne .les scores obtenus dans une technique de filtration ne sont pas superposables à ceux des techniques manuelles. Un anticorps de faible titre peut donner une réaction ++++ dans une technique de filtration.

Les différences de score sont importantes pour détecter et identifier des mélanges d'anticorps [8].

Chapitre v
Discussion

V- DISCUSSION : ASPECTS POSITIFS DE LA TECHNIQUE DE FILTRATION

1- Meilleure reproductibilité des résultats

La standardisation de plusieurs étapes de la technique de la RAI que se soit en technique de Coombs- indirect ou sur hématies traitées par les enzymes, permet d'obtenir une meilleure reproductibilité des résultats .Cette reproductibilité concerne aussi bien les situations où l'analyse est réalisée par des laboratoires différents que celles où le test est réalisé dans le même laboratoire par des techniciens différents. Cette reproductibilité est importante pour les faibles immunisations et de façon plus générale pour les réactions se traduisant par une faible agglutination. Dans ces situations, le facteur agitation est responsable d'une importante variation des résultats et des Ac de faible titre peuvent ne pas être détectés avec des techniques manuelles non sensibilisées. L'expérience est un facteur important dans la reproductibilité et donc la fiabilité des résultats.

Dans les services de garde polyvalents, l'expérience du personnel en immuno-hématologie peut être très limitée. L'utilisation d'un test en filtration permet de limiter les conséquences de cette inexpérience.

-B. Lamy 1994 rapporte son expérience sur 21365 RAI effectuées en tube et par la technique de filtration (Bio Vue), 51 (RAI) sont trouvées (+) par Bio Vue et (-) en tube.

La technique Bio Vue utilisant les hématies traitées par les enzymes permet dans cette même étude de détecter 7 Ac non identifiés par la technique Coombs (3 anti- \bar{c} é, 3 anti-E et 1 anti Kell) justifiant le maintien de cette technique.

-En 1995 C- trophiline a réalisé une étude comparative sur deux séries de 20.000 sujets ; l'une avec identification en tube et l'autre en gel-test, l'analyse des spécificités identifiées montre dans (4,3 %) , essentiellement au profit des anti -Rh et une baisse des Ac naturels , la sensibilité du gel-test pour l'identification d'Ac immuns , permet une meilleur sécurité transfusionnelle [8].

2- Augmentation de la sensibilité de l'analyse

Le principe même de la filtration est à l'origine d'une augmentation de la sensibilité de la technique de recherche des agglutinines irrégulières. Elle se traduit par une amélioration du seuil de détection des anticorps. Plusieurs études ont confirmé la plus grande sensibilité de la technique de filtration.

L'expérience faite en 1991 dans le centre hospitalier général en France sur 33207 échantillons testés comparativement en technique manuelles (CID et test sur hématies papainées) et dans la technique de filtration sur cassettes (BioVue), dans cette étude, 174 Ac ont été détectés et identifiés uniquement avec la technique de filtration [8].

3- Diminution des erreurs techniques

La présence de l'antiglobuline dans le support de réaction permet d'éviter les erreurs liées à l'oubli de ce réactif. D'autre part, la quantité d'antiglobuline est identique pour tous les tests.

Lorsque le lavage après incubation est automatisé, un dysfonctionnement temporaire (bouchage des injecteurs ...) du laveur automatique utilisé peut modifier le résultat final. Si le lavage n'a pas eu lieu ou s'il est insuffisant, l'antiglobuline pourra se fixer sur des Ac libres et le résultat sera modifié (plus faible, voire négatif). Dans les tests en filtration, la suppression des lavages rend ces incidents impossibles [8].

4- Diminution du temps nécessaire à l'analyse

La suppression des étapes de lavage permet de diminuer le temps nécessaire pour l'obtention du résultat. Ce gain de temps est important lorsque l'analyse se déroule dans le contexte d'une transfusion urgente. Une expérience faite en 1996 dans le domaine de la gestion des urgences hospitalières a montré qu'il était possible d'obtenir un résultat en CID en moins de 20 minutes. Les résultats du test en papaine sont obtenus en 25 minutes [9].

5-Relecture différée des résultats

Les réactions obtenues sont stables. Les cassettes peuvent être conservées plusieurs heures et le résultat peut être vérifiés à distance. La durée de conservation de ces résultats est plus longue lorsque le support de réaction est conservé à +4°C [8].

6- Sécurité dans l'attribution des résultats

Les supports utilisés pour les RAI en gel sont identifiés par un numéro dont la lecture peut être automatisée (système de numérotation de type code à barres). Lorsque la distribution des échantillons et des réactifs est réalisée sur un automate et la lecture faite par un lecteur automatique, l'attribution des résultats est sécurisée [8].

7- Faible volume d'échantillon nécessaire

Le volume de sérum nécessaire est de 40 µL par puits soit un total de 240 µL pour un dépistage sur 3 hématies et dans les deux techniques. Cette faible quantité permet de réaliser une RAI de façon répétée sans spoliation sanguine pour le patient. Le test peut même être réalisé sur des échantillons pédiatriques [8].

8- Temps de formation des personnels réduit

Le temps de formation nécessaire pour qu'un technicien puisse réaliser seul cette technique est très court. Cela permet son application rapide au laboratoire même par un personnel peu expérimenté dans les techniques manuelles correspondantes [8].

9- Limitation des risques de contamination du personnel et de l'environnement

Cet aspect très positif de la technique en filtration n'est pas assez souvent souligné.

La suppression des manipulations intermédiaires permet de limiter les risques de contamination du personnel. Ces risques ne concernent pas que le VIH mais toutes les maladies transmissibles par les échantillons biologiques, y compris certaines bactéries résistantes que l'on retrouve, en particulier, dans les échantillons hospitaliers. Les différents supports proposés pour l'analyse en filtration permettent tous une distribution automatisée des réactifs et des échantillons limitant l'activité manuelle au chargement et déchargement des tubes et des cassettes. Certains de ces supports (BioVue, Chromatest ...) ont un format (séparation des puits de filtration) identique à celui des microplaques. Ce format permet alors l'utilisation des différents automates disponibles sur le marché sans avoir recours à l'acquisition d'un automate spécifique [8].

Conclusion

Conclusion

Il est maintenant clairement établi que les techniques de filtration en gel permettent d'améliorer les performances de la détection des agglutinines irrégulières aussi bien en terme de sensibilité que de reproductibilité des résultats.

Ces techniques sont également plus rapides, plus simple sur le plan technique, plus standardisées et de lecture aisée et objective.

Il est donc temps que nos laboratoires en Algérie adoptent ces techniques qui sont plus performantes pour assurer, une meilleur prise des polytransfusés et une bonne surveillance des femmes enceintes rhésus négatif.



Bibliographie

Bibliographie

- [1] Andreu. G ; Bidet J. M ; Genet .B (1991). Aide –mémoire de transfusion. 2Ed : Médecine –science Flammarion pp 152-162.
- [2] Ansart pirenne.H ; Ronger .P ; Noizet pirenne .F (2005). L'allo immunisation anti-érythrocytaire : Mécanisme cellulaire, TCB, vol 12.p 135-141.
- [3] Bernard . J ; Goudemand .M et Salimon. C (1980) .Immuno –hématologie et immunogénétique. Ed : Flammarion médecine science p14.
- [4] Blancher. A; Roubinet .F (1997) .Immunohématologie .Ed : Feuillet de biologie, V.XXXVIII .N: 216 pp 43-49.
- [5] Bouderbien . K; Boulouf . M ; Gourissi . H (2006). Préparation d'un panel d'hématie teste locale et recherche des anticorps irréguliers anti-érythrocytaire chez les polytransfusés.
- [6] Carton. J.P ; Rouger .Ph ; Salmon .Ch (1991). Les groupes sanguins chez l'homme .2^eédition Masson .Paris Milan .Barce lone Bonn pp 387-396.
- [7] Chassaing. (1984) transfusion pratique. Ed:Doin Editeurs p : 84.
- [8] Cheikha .L ; Lamy .B ; Tissot. C (1997). Immunohématologie feuillets de biologie, v.xxxvIII .N:219 p19-21.
- [9] François.L (2006).Hématologie et transfusion .Ed: Eestem p 199.
- [10] Genetet .B ; Maroni .p (1979) .La transfusion .Ed: Flammarion médecine science.
- [11] Habibi .H (1981) .la sécurité immunologique des transfusion sanguines.Ed:Masson, Paris p 250.
- [12] Hammoun .Z (1988). Contribution à l'étude de l'incompatibilité foeto-maternelle dans le système rhésus.
- [13] Jean – Jaques .L ; Philippe .R (2003).Pratique nouvelle de la transfusion sanguine. Ed: Masson, Paris pp 10-127.
- [14] Le penec .P.Y (2000) .Evolution des réactifs en immunohématologie érythrocytaire .Transfus Biol.7.40s.43s.
- [15] Le penec .P.Y; Tissier. A.M ; Noizate –Prenne (1996). L'accident immuno-hemalytique transfusionnel TCB vol 3 N^o3.
- [16] Marcelli .A; Daveau .M; Fine .J.M; Homberg.J.C; Muller .A; Rivat.Péran .L (1981). .Les examens de laboratoire de technique en immunohématologie 6^{ème} ed : Flammarion médecine science pp 39-56.

- [17] Marie .J-P; Samama .M-M; Zittoun .R (1998) .Manuel d'hématologie .5^{ème}ed: Doin éditeur initiative santé, Paris pp 145-154.
- [18] Patrick. D (1996). Abrégé théorique et pratique de la transfusion sanguine. Ed : Hospitaliers pp 26-30.
- [19] Reviron .J et Reviron. M (1984). Les groupes sanguins érythrocytaires humains. Ed : Encycl. Méd .Chir pp2-7.
- [20] Salmon .C (1997). Les groupes sanguins ou l'écriture des gènes .Ed : Masson- Paris pp 7-106.
- [21] Smaili. F (2005). Abrégé d'hématologie Ed : Office des publications universitaires pp 257-273.
- [22] Sylvain .C (2002). Hématologie. Ed: Ellipses Marketings .A p 571.
- [23] [http://www.Groupes sanguins et transfusion-htm](http://www.Groupes_sanguins_et_transfusion-htm).

Soutenance : /10/2007	Heure :
Réalisé par	
<ul style="list-style-type: none"> • Bettira Fatma • Bouabsa Soumia • Boukhhbib Meriem 	
Thème : L'évolution des techniques en immuno-hématologie pour la recherche des anticorps irréguliers	
Résumé	
<p>La RAI constitue une analyse biologique indispensable dans la sécurité transfusionnelle et de la surveillance obstétricale.</p> <p>Les techniques classique manuelles ont été standardisées au cours de cette dernière décennie la technique gel est aujourd'hui la plus répandue du fait de sa facilité d'utilisation, de sa sensibilité et de sa robustesse.</p> <p>Notre travail consiste en une étude comparative entre les techniques traditionnelles et les nouvelles techniques sur gel de filtration.</p>	
Summary	
<p>The RAI constitutes an essential biological analysis in transfusion safety and of the monitoring obstetrical.</p> <p>The manual techniques traditional have are standardized during this last decade the technique freezing is most widespread today because of its facility of use, its sensitivity and its robustness.</p> <p>Our work consists of a comparative study between the traditional techniques and the new techniques on freezing of filtration.</p>	
ملخص:	
<p>إن البحث عن الأجسام المضادة غير المنتظمة هو تقنية بيولوجية ضرورية لضمان الحماية خلال عملية نقل الدم وعند الولادة .</p> <p>كانت التقنيات الكلاسيكية اليدوية معمة خلال العقد الأخير ، أما حالياً فإن تقنية الترشيح في وسط هلامي هي الأكثر استعمالاً نظراً لسهولة استخدامها بالحساسية والفعالية .</p> <p>يرتكز عملنا هذا على الدراسة المقارنة بين التقنيات الكلاسيكية والتقنيات الحديثة التي تعتمد على الترشيح في الوسط الهلامي .</p>	
Proposé par :	
Bouhafs Leila	