3.9.2008


*République Algérienne Démocratique et Populaire*
*Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique*
*Centre Universitaire Abdelhak Ben Hamouda de Jijel*
*Institut des Sciences de la Nature*

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المركز الجامعي عبد الحق بن حمودة -جيجل-
معهد علوم الطبيعة



المكتبة


# Mémoire

**De fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'étude supérieur**
**en biologie moléculaire et cellulaire**

**Option :** ***Biochimie***

01/03

# Thème

# Intérêt immunologique du test de COOMBS dans l'incompatibilité Rhésus foeto-maternelle

**Jury :**

| | | |
|---|---|---|
| Dr | : MAIZA M. | **Président** |
| Dr | : BOUHAI A. | **Encadreur** |
| Mr | : ANNANI F. | **Examinateur** |


**Présenté par :**

*-BOUDJADJA Ibtissem*
*-MEZOUED Hanane*


**Promotion 2000-2001**

**N° d'ordre :.....**

# *Remerciements*

*De par le nom de dieu tout- Miséricordieux, tout- Compatissant durant notre travail, on a cessé de rendre grâce à dieu qui nous a guidé sur sa voie droite et nous a aider a finalisé ce modeste travail.*

*Nos remerciements les plus sincères à notre encadreur Dr. BOUHAI Ahcène qui nous a apporté son aide pour la réalisation de ce mémoire.*

*Nos remerciements à tous le personnel du CTS au niveau de l'hôpital de Jijel.*

*Nous tenons à exprimé notre vifs remerciements, profonde gratitude et immense respect à nos parents pour leurs soutient durant toute nos années d'étude.*

*« Puisse dieu prolonger leurs vies dans le bonheur, en témoignage de gratitude et de sincère affection ».*

*Hanane & Ibtissem*

# *Sommaire*


Introduction ..... 1

**Chapitre I :Analyse bibliographique**

I-1-Hypersensibilité ..... 2

I-1-1- Hypersensibilité de type II ..... 2

I-1-2-La cytopénie allo – immune néonatale ..... 2

I-1-3-maladie hémolytique du nouveau-né ..... 3

I-2-L'immunisation ..... 3

I-2-1-Définition de l'immunisation ..... 3

I-2-2-Maladie hémolytique du nouveau-né Rhésus ..... 4

I-3-De la notion d'antigène à la notion d'épitope ..... 7

I-3-1-L'antigéne ..... 7

I-3-2-L'épitope ..... 7

I-4-Les groupes sanguins ..... 8

I-4-1- Système des groupes sanguins..... 9

I-4-1-1- Système ABO ..... 9

I-4-1-2- Système Rhésus..... 11

I-4-2- Les antigènes responsables de l'immunisation au système Rhésus 12

I-4-2-1- L'antigène D ..... 13

I-4-2-2- Autres antigènes ..... 14

I-5- Mécanisme de l'immunisation au système Rhésus ..... 15

I-5-1- Réponse primaire..... 16

I-5-2- Réponse secondaire..... ..... 16

I-5-2-1- Structure des immunoglobulines ..... 17

I-5-2-2- Classe et sous classe d'immunoglobuline ..... 23

I-5-2-3- La production d'anticorps ..... 27

I-5-2-4- Interaction antigène- anticorps ..... 30

I-5-2-5- Le complément ..... 36
I-6- Diagnostic biologique ..... 40
I-6-1- Avant l'accouchement ..... 40
I-6-2- Après l'accouchement ..... 41
I-7- Traitement et prévention ..... 42
I-7-1- Traitement ..... 42
I-7-2- La prévention ..... 43
I-7-2-1- Le principe immunologique de la prévention ..... 44
I-7-2-2- La sérothérapie ..... 45
I-7-2-3- L'immunoprophylaxie Anti-D..... 46
**Chapitre II : Patients, matériels et méthodes** 50
II-1- Patients et matériels ..... 51
II-1-1- Patients ..... 51
II-1-2- Matériels utilisés..... 54
II-2- Méthodes ..... 54
II-2-1- Agglutination..... 54
II-2-2- Groupage sanguin..... 55
II-2-3- Phenotypage..... 56
II-2-4- Test de KLEIHAUER..... 57
II-2-5- Test de COOMBS..... 58
**Chapitre III : Résultats** 61
**Chapitre IV : Discussion** 69
Conclusion ..... 73
Bibliographie
Annexes

**Abréviation**

| | |
|---|---|
| **Ac** | : Anticorps |
| **Ag** | : Antigène |
| **Ag*** | : Antigène marqué |
| **Ac-Ag** | : Complexe anticorps-antigène |
| **E.D.T.A** | : Ethyle diamine tétra- acétique |
| **g** | : gramme |
| **GR** | : globule rouge |
| **I/M** | : Intra musculaire |
| **Ig** | : Immunoglobuline |
| **K.cal** | : Kilo- calorie |
| **K. Da** | : Kilo- Dalton |
| **mg/l** | : milligramme par litre |
| **ml** | : millilitre |
| **µl** | : Micro-litre |
| **RAI** | : Recherche d'agglutinine irrégulière |
| **Rh** | : Rhésus |
| **CTS** | : Centre de transfusion sanguine. |

# Introduction

**Introduction :**

Il y a vingt ans, quand commençait a se développer la médecine néonatale, la maladie hémolytique du nouveau-né était un drame redouté par beaucoup de futures mères.

L'incompatibilité entre les groupes sanguins de la mère et de l'enfant peut en effet aboutir, en absence des précautions médicales, à la destruction des globules rouges du fœtus et mettre sa vie en danger. L'injection d'immunoglobulines anti- agglutinines a transformé cette situation et on prévient maintenant parfaitement les complications. Il vous sera utile d'en connaître les mécanismes.(12)

La mère Rhésus négatif fabrique des Ac contre les globules rouges de son bébé Rhésus positif si les sangs sont en contact. Tel que le passage des hématies fœtales à travers le placenta vers la circulation maternelle au cours de la grossesse ou au moment de l'accouchement. Les globules rouges ne sont pas compatible, la mère s'immunise.
Le premier enfant ne court généralement aucun danger, mais lors de la grossesse suivantes, si le foetus est de nouveau Rhésus positif, la production d'agglutinines irrégulières peut être importante et dangereuse pour le fœtus.

La prévention de l'immunisation qui repose sur l'injection intramusculaire ou intraveineuse de gamma- globulines anti- Rhésus (Anti- D) a titre préventif. Efficace à 100 % . Cette prévention se heurte pour l'instant à certains obstacles.(24)

C'est pour cette raison, qu'il était nécessaire de notre part de vouloir bien présenter dans ce mémoire l'une des techniques capables de contrôler l'efficacité de la sérothérapie Anti-D chez la mère Rhésus négatif, et répondre sur la question qui se pose toujours :

Pourquoi la mère Rhésus négatif s'immunisé malgré l'administration de l'injection d'anti-D toute en respectant les normes standards ?.

En tant que biologistes, notre recherche consiste a connaître, a dépisté et a prévenir cette affection qui se répond encore dans notre commune chez les femmes Rh (-) qui ont des maris Rh (+) toute en se basant sur le mécanisme immunologique de l'affection.

# Chapitre I
# Analyse Bibliographique

## I.1. Hypersensibilité :

Lorsque des réponses adaptatives se font de façon exagérée ou inappropriée et provoquent des lésions tissulaires, on parle d'hypersensibilité. Ce type de réponse n'est pas général et caractéristique de l'individu et apparaît seulement lors d'un deuxième contact avec un antigène donné (allergène).

La classification de COOMBS et GELL répartit l'hypersensibilité en quatre types (I,II,III et IV), cependant, du point de vue clinique, ceux-ci sont rarement individualisés et ne se développent pas séparément l'un de l'autre. Les trois premiers sont médiés par les anticorps, le quatrième par les cellules T et les macrophages.(5)

### I.1.1. Hypersensibilité de type II :

Les réactions d'hypersensibilité de type II et III sont dues toutes deux aux IgG et IgM. La différence essentielle réside dans l'antigène qui, dans le type II, est membranaire ( des cellules ou tissus donnés) alors que, dans le type III, il est soluble mais les complexes immuns qu'il forme peuvent être inflammatoires là où ils se déposent. Ceci apparaît nettement dans le rein où les dépôts d'immunoglobulines diffèrent selon qu'il s'agit d'hypersensibilité de type II ou de type III.

Les réactions de type II interviennent aussi dans l'auto-immunité et la transplantation. L'exemple de l'hypersensibilité de type II est la maladie hémolytique du nouveau-né.(14)

### I.1.2. Cytopénie allo- immune néonatale :

La grossesse est une transfusion particulière durant laquelle des cellules sanguines traverse le placenta et peuvent immuniser la mère contre des antigènes hérités du père.

L'allo- immunisation n'est pas grave en soi pour la mère mais peut prédisposer à des complications immunitaires lors d'une transfusion ou greffe tissulaire ultérieure. Cependant, les IgG maternelles formées par cette voie sont transportées activement au travers du placenta dans la circulation fœtale.

Les effets cliniques dépendent de la spécificité de l'anticorps. Même si des anticorps anti-HLA sont souvent formés durant la grossesse, ils ne semblent pas induire des lésions fœtales. D'un autre côté, chacun des anticorps cellules-spécifiques provoquer une maladie caractéristique :

- Les anticorps anti- érythrocytaires causent la maladie hémolytique du nouveau- né.
- Les anticorps plaquette spécifiques des thrombocytopenies allo-immunitaires néonatales,
- Les anticorps contre granulocyte spécifique induisent des neutropénies allo-immunitaire néonatales.

Même si ces affections sont appelées « néonatales » la destruction des cellules immunitaires débute in-Utéro au cours du deuxième trimestre et peut endommager le fœtus avant la naissance.(14).(8).

### I.1.3. Maladie hémolytique du nouveau-né :

La maladie hémolytique du nouveau-né est la conséquence d'un conflit immunologique entre un anticorps maternel et un antigène érythrocytaire foetal. Cette maladie est une forme d'anémie hémolytique touchant le fœtus et le nouveau-né. La maladie hémolytique du nouveau-né peut être due à cause de nombreux antigènes tel que :

- A, B ou O : elles sont plus rares, généralement moins dangereuses et ne peuvent pas être prévenues ;
- Kell, C et E, et d'autres encore : Elles peuvent provoquer des icterès important chez le nouveau-né.(12)

## I.2. l'immunisation :

### I.2.1. Définition de l'immunisation :

C'est le fait de provoquer de manière de libérée une réponse immune adaptative par l'introduction d'un antigène.(15)

### I.2.2. Maladie hémolytique du nouveau-né Rhésus :

Les anticorps anti-D donnent la forme la plus grave de la maladie hémolytique du nouveau-né. Celle ci se produit lorsqu'une mère Rhésus négatif (dd) porte un fœtus Rhésus positif (D).

Une personne Rh négatif fabrique des anticorps contre les globules rouges d'une personne Rhésus positifs si les sangs sont en contact. Lors d'une transfusion de sang Rhésus positif, elle détruit ces globules rouges. De même, les globules rouges du bébé peuvent passer dans le sang de la mère au cours de la grossesse ou au moment de l'accouchement, si les globules rouges ne sont pas compatibles les cellules de la mère produisent des (agglutinines irrégulières anti-Rhésus ) contre les globules rouges du bébé : elle s'immunise.

Le premier enfant ne court généralement aucun danger, car la mère ne fabrique pas suffisamment d'anticorps anti-Rhésus pour détruire les globules rouges de ce premier enfant. Mais lors de la grossesse suivante, si le fœtus est Rhésus positif, la production d'agglutinines irrégulières peut être importante et dangereuse pour le fœtus. (4) .(12)

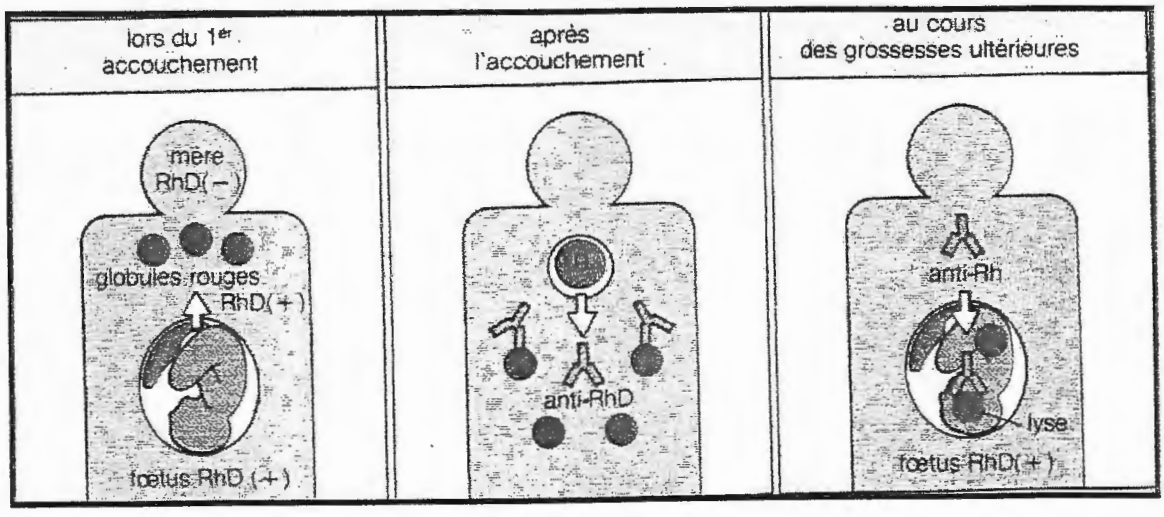
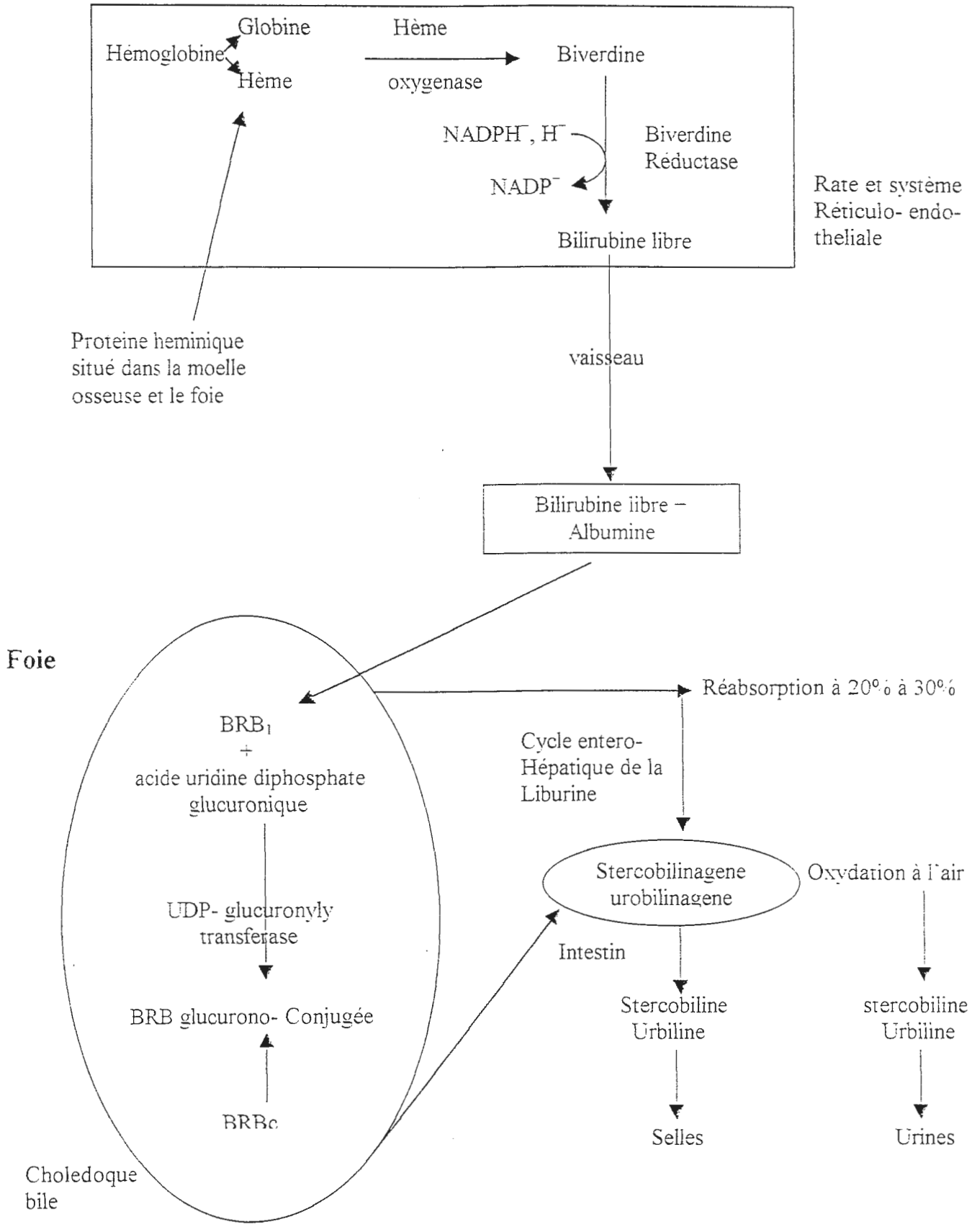



Fig 1 - **Maladie hémolytique du nouveau-né** (18)

- **Les conséquences sur le fœtus** : quand les globules rouges d'un fœtus Rhésus positif sont attaqués par les anticorps d'une mère Rhésus négatif, le fœtus développe une anémie in-utero accompagnée, si l'incompatibilité s'est manifestée précocement, d'une défaillance cardiaque et d'œdème. C'est à dire que le traitement est urgent, car la vie du bébé est en jeu.

- **Les conséquences sur le nouveau-né** : si la mère n'a produit des anticorps qu'en fin de grossesse, c'est le nouveau-né qui sera en péril. La destruction de ses globules rouges libérera un pigment jaune, la bilirubine, et il sera atteint d'une jaunisse (ictère) qui dépassera rapidement les limites normales pour un nouveau-né. La bilirubine se fixant électivement sur le cerveau, le nouveau-né qui n'en serait pas débarrassé à temps risquerait un handicap cérébral (Ictère Nucléaire).(23)




**Localisation des étapes du métabolisme de la bilirubine. (23)**

## I.3. De la notion d'antigène à la notion d'épitope :

### I.3.1. L'antigène :

Un agresseur- micro-organisme, cellule cancéreuse- dés lors qu'il est capable d'être reconnu comme non- soi par les éléments du système immunitaire porte le nom d'ANTIGENE. Il s'agit d'une définition dynamique puisque liée à l'activation du processus de défense et ayant pour finalité l'élimination de l'agent causal. L'antigène est ainsi une espèce moléculaire d'origine biologique, naturelle ou synthétique, qui engendre une réponse immunitaire chez le sujet. Si la molécule biologique naturelle appartient à la même espèce que ce sujet, elle sera désignée Allo- antigène. Si elle appartient à une autre espèce, elle sera appelée Hétéro ou Xéno-antigène. Enfin si elle est partie constituante de ce sujet, elle sera dénommée Auto-antigène. Ces diverses distinctions ne présentent qu'un intérêt modeste à ceci près qu'elles témoignent que les agresseurs du soi biologique peuvent être extrêmement divers, ce qui peut expliquer la grande complexité du réseau biologique qui est le système immunitaire. Sur le plan chimique les antigènes sont en règle générale des macro- molécules que l'on peut distinguer en antigènes naturels et en antigènes artificiels. Seuls les premiers présentent un intérêt dans un manuel de physiologie immunitaire. Par contre, les seconds ne seront pas décrits. Les antigènes naturels sont les protéines et leurs dérivés lipidiques ou glucidiques, les polypeptides, les polyosides simples ou complexes (liés à des protéines, des peptides, des lipides) donc en fait les constituants majeurs des organismes micro biologiques et cellulaires vivants.(7).(22)

### I.3.2. L'épitope :

Un antigène, quelle que soit sa nature chimique est toujours un édifice complexe présentant sur sa surface un nombre plus ou moins grand des motifs structuraux distincts. N.JERNE a donné le nom d'épitopes à ces structures encore par ailleurs désignées sous le nom de sites ou déterminants antigéniques.

L'épitope est la plus petite configuration structurale d'une substance antigénique capable de se combiner avec une partie correspondante, paratope, d'un TCR

(Récepteur de l'antigène des cellules T) ou d'un BCR (Récepteur de l'antigène des lymphocytes B) ( ou d'une immunoglobuline ). Chaque épitope est formé par des groupements d'acides aminés, constituants des configurations tridimensionnelles séparés ou contiguës à la surface de l'antigène. (15).(22)

**I.4. les groupes sanguins :**

Les systèmes sanguins, vaisseaux et cellule sanguine, se mettent en place très précocement, au fur et à mesure de l'édification de l'embryon. Une étape cruciale est la mise en place des cellules souches de la moelle osseuse qui assurent, chez l'adulte, la production continuelle des globules rouges, les globules blancs et les plaquettes. Les biologistes du développement tentent de cerner les circonstances de l'apparition de cette catégorie de cellule.

Dés les premiers jours de la vie embryonnaire, avant l'individualisation des organes, se met en place l'ébauche de système sanguin. Les premiers vaisseaux se forment dans les quels circulent d'abord des globules rouges, puis des globules blancs. A l'origine de cette mise en place se trouvent deux populations de cellules qui apparaissent simultanément et en étroite association dans l'embryon : les cellules endothéliales, qui donneront le revêtement interne des vaisseaux, et les cellules souches hématopoïétiques. Ces dernières logées dans la moelle osseuse, chez l'adulte, fourniront des descendantes qui se différencieront pour assurer la production continuelle des différentes cellules sanguines (11)

- **Détermination des groupes sanguins :**

Les groupes sanguins sont déterminés par la présence des protéines spécifique à la surface des globules rouges. Leur apparition, lors de la formation des globules rouges, est déterminée génétiquement ; elles se comportent comme des antigènes. Ce ci veut dire que si l'on injecte des globules rouges à une personne, et que son organisme ne connaît pas ces protéines (dans le cas d'un groupe sanguin différent), il peut réagir en produisant des substances qui sont complémentaires vis-à-vis de ces protéines, et qui lors d'une deuxième injection, feront coaguler le sang

transfusé. Ces substances sont des anticorps. Il existe de nombreuses variétés de protéines membranaires déterminant plusieurs systèmes de groupes sanguins.(13)

### I.4.1. Système des groupes sanguins :

Les antigènes des globules rouges sont répartis en systèmes de groupes sanguins, les plus importants étant ABO, Rh, Lewis, Kell et Duffy.(5)

Presque tous les gènes des groupes sanguins sont exprimés comme antigènes codominants de sorte que, avec l'expression d'allèles silencieux, les deux gènes sont exprimés chez un hétérozygote.(5)

L'importance d'un antigène des groupes sanguins lors des transfusions sanguines dépend de la fréquence de la survenue des anticorps correspondants et de leur capacité d'hémolyse des globules rouges in vivo. Sur la base de ces critères, le système ABO est le plus important, suivi par celui du Rh dans le quel l'antigène- D est un immunogène fort.(6)

#### I.4.1.1. Le système ABO :

Il a été découvert par LANDSTEINER en 1900.

✷ **Les antigènes ABO :**

Ils constituent le système majeur de l'immunologie transfusionnelle selon la présence ou l'absence des antigènes A et B, quatre phénotypes sanguins ont été décrit : groupe A,B, AB et O. Ils sont définis par l'antigène présent sur le globule rouge et l'anticorps non dirigé contre cet antigène dans le sérum.(3)

| Groupe sanguin | Antigène GR | Anticorps sériques |
|---|---|---|
| A | A | Anti B |
| B | B | Anti A |
| AB | A et B | Aucun |
| O | Ni A ni B | Anti A et anti B |

✷ **Les anticorps du système ABO :**

**Les anticorps «naturels » anti-A et anti-B :**

Ce sont les anticorps naturels et réguliers : ils apparaissent chez l'enfant entre 0 et 6 mois.

Chaque sujet a dans son plasma les anticorps correspondants aux antigènes qu'il ne possède pas sur ses hématies. Il n'y a pas d'anticorps anti-O ; les sujets AB n'ont donc pas d'anticorps naturels a l'opposé les sujets de groupe O ont un anticorps à réaction croisée anti A+B.(25)

**Les anticorps immuns :**

Contrairement aux anticorps naturels, immédiatement neutralisés,après transfusion du sang qui en contient, par les antigènes présents partout. Ils sont responsables d'accidents transfusionnels s'ils sont présents dans le sang de donneur O immunisé dit «donneur universel dangereux » transfusé à un sujet A (ou B). Les anticorps anti- A immuns sont responsables de la maladie hémolytique du nouveau-né par incompatibilité foeto-maternelle ABO. (25)

Ils sont heureusement inconstants, apparaissant, en supplément des anticorps naturels, à la suite d'allo-immunisation foeto-maternelle, de transfusion incompatible- heureusement rares-, ou plus souvent d'hétéro- immunisation (vaccination, sérothérapie ou injection d'extrait tissulaire) .(22)

✷ **Biochimie et génétique des antigènes ABO :**

Le système ABO est codé par trois gènes allèles, A, B, O. les gènes A et B sont codominants, le gène O récessif. Il existe donc six correspondant à quatre phénotypes. Les groupes A et O sont beaucoup plus fréquents que les groupes B et AB. (25)

**Tableau N° 01 : Génotype et phénotype du système ABO.** (25)

| Génotype | Phénotype | Antigène globulaire | Anticorps naturels sérique | Fréquence p.100 |
|---|---|---|---|---|
| OO | O | Ni A ni B | Anti A+B | 43 |
| AO ou AA | A | A | Anti B | 45 |
| BO ou BB | B | B | Anti A | 9 |
| AB | AB | A et B | Absence | 3 |

### I.4.1.2. Le système Rhésus :

C'est le plus important car le plus souvent en cause dans les accidents par allo- immunisation.

C'est un système, indépendant du système ABO. Il comporte 35 antigènes connus, de fréquence et d'importance variable. L'antigène Rh standard ou classique est l'antigène D, présent chez 85% des individus et responsable de la majorité des accidents. Il est codé par le gène D, transmis selon les règles mendéliennes; les 15% des sujets Rh négatif, dd, sont défini négativement : non-agglutination des hématies par sérum anti-D. Il n'y a pas, en effet, d'anticorps anti-d.(26)

✷ **Les antigènes du système Rhésus :**

Cinq antigènes principaux D,C,$c^-$,E et $e^-$ sont couramment déterminés dans le système Rh grâce à des allo-anticorps spécifiques. Ils correspondent Avec d, à trois couples de gène allèles étroitement liés. Ces couples sont Dd, $Cc^-$, $Ee^-$ .(25)

**Tableau N°02 : principaux phénotypes du système Rhésus.** (25)

| Phénotype | Génotypes probables Nomenclature | | Rhésus standard |
|---|---|---|---|
| | Fisher Race | Wiener* | |
| DC $\overline{ce}$ | DCe/dce | R1r | + |
| DC$\overline{e}$ | DCe/DC$\overline{e}$ | R1R1 | + |
| DC$\overline{c}$ E$\overline{e}$ | DC$\overline{e}$ /D$\overline{c}$ E | R1R2 | + |
| D$\overline{c}$ E$\overline{e}$ | D$\overline{c}$ E/d$\overline{ce}$ | R2r | + |
| D$\overline{ce}$ | D$\overline{ce}$/ d$\overline{ce}$ | R0r | + |
| d$\overline{ce}$ | d$\overline{ce}$/d$\overline{ce}$ | rr | - |

* R1 : DC$\overline{e}$ – R2 : D$\overline{c}$E -R0 : D$\overline{ce}$ –. r : d$\overline{ce}$.....(25)

✷ **Les anticorps du système Rhésus :**

Il n'y a pas d'anticorps naturels de système Rh, les anticorps anti-Rh sont toujours acquis, immuns, à l'occasion de transfusion des globules rouges portant un antigène Rh à un sujet qui en est dépourvu, de grossesse, ou d'anémie hémolytique auto-immune.(3)

**I.4.2. Les antigènes responsables de l'immunisation au système rhésus :**

L'allo- immunisation foeto-maternelle est, dans la majorité des cas, le fait d'antigène Rh, et là encore plus particulièrement de l'antigène - D.

Néanmoins, les immunisations aux antigènes E-C-e-c ne sont plus exceptionnelles au fur et à mesure qu'elles sont mieux recherchées et que la prévention de la maladie hémolytique néonatale par les gamma-globulines anti-D diminue la fréquence de l'immunisation anti-D.(22)

### I.4.2.1. L'antigène D :

On parle de Rh positif, les sujets dont les hématies sont agglutinées par l'allo- anticorps anti-Rh, l'antigène ainsi défini par convention appelé D, produit par le gène D. (16)

On parle de Rh négatif, les sujets dont les hématies ne sont pas agglutinées par cet anticorps. Ces sujets manquent du gène D.

Les deux phénotypes ainsi définis de manière très simple sont en effet génétiquement transmis ; les deux gènes D ou non D (appèle aussi d) représentent un système allélique Mendélien :

- Des parents Rh négatif ont toujours des enfants Rh négatif.
- Par contre, des parents Rh positif peuvent avoir un enfant Rh négatif.
- Enfin, un sujet Rh positif issu d'une mère Rh négatif, marié à une femme Rh négatif peut avoir des enfants Rh positif et d'autres Rh négatif.(17)

**Tableau N° 03 : Le phénotype Rhésus Standard.** (17)

| Phénotype rhésus standard | Génotype | Fréquence |
|---|---|---|
| Rhésus positif (D) | DD (homozygote)<br>Dd (hétérozygote) | 85 p. 100 |
| Rhésus négatif (d) | dd (homozygote) | 15 p. 100 |

Contrairement au système ABO, il n'existe pas d'anticorps anti-Rhésus naturel.

Par contre toute transfusion de sang Rhésus positif chez un sujet Rhésus négatif comporte un risque élevé d'apparition d'un anticorps immun anti-Rhésus, qui sera très dangereux en cas de transfusion ultérieure de sang Rhésus positif.(21)

### I.4.2.2. Autres antigènes :

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

De même que les antigènes du système Kell, du système Duffy, du système Kidd, du système MNS…(22)

| Système et antigènes | Anticorps | Impact |
|---|---|---|
| - Kell<br>K,k,Kpa,Kpb | Anti K, anti Kpa<br>Immuns, incomplet, chauds | AT ++<br>MHNN ++ |
| - Duffy<br>Kya, Fyb | Anti Fya<br>Immuns, incomplet, chauds | AT +<br>MHNN :exceptionnelle |
| - Kidd<br>Jka,KKb | Anti Jka<br>Immuns, incomplet, chauds | AT+<br>MHNN + |
| - MN | Anti M et anti N :<br>Humaine ou animale<br>Complet ou incomplet | AT : rares peu graves<br><br>MHNN : O |

AT : accident transfusionnel.

MHNN : maladie Hémolytique nouveau-né.

En effet chaque fois que l'enfant est porteur d'un antigène que ne possède pas sa mère, les conditions de telle immunisation sont théoriquement réunies.

Ces immunisations qui étaient jusqu'à ces dernières d'une fréquence faible tout au moins par rapport aux immunisations au seul antigène D, doivent être recherchées avec beaucoup d'attention.

Par contre à l'immunisation liée à l'antigène D qui est diminuée grâce à la prévention par les immunoglobulines anti-D ; l'immunisation à autres antigènes, risque d'être la cause la plus nombreuse de maladie hémolytique du nouveau-né par manque de prévention.(16)

**Exp :**

Père : Rhésus négatif Mère : Rhésus négatif

Phénotype : $K^+ c^- c^- dd e^- e^-$ Phénotype : $K^- c^- c^- dd e^- e^-$

Donc, il y aura immunisation dans le système Kell (présence d'immunoglobuline anti-K chez la mère).

## I.5. Mécanisme de l'immunisation au système Rhésus :

Le mécanisme de l'immunisation au système Rh comporte deux étapes :

- Pénétration de l'antigène Rh dans l'organisme maternel,
- Puis fabrication des anticorps et l'activation du complément. Ce dernier temps est le plus obscur d'autant que ce type d'immunisation présent des particularités en rapport probable avec un comportement immunologique habituel de la femme enceinte.

Quoi qu'il soit, il faut bien distinguer et même opposer la réaction primaire (le déclenchement de l'immunisation) à la réaction secondaire (simple activation)

C'est sur la première que peuvent parler les efforts de pénétration de la maladie hémolytique.(21)

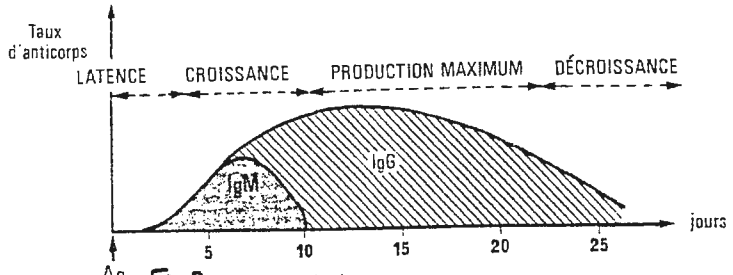



Fig2 - Réponse primaire

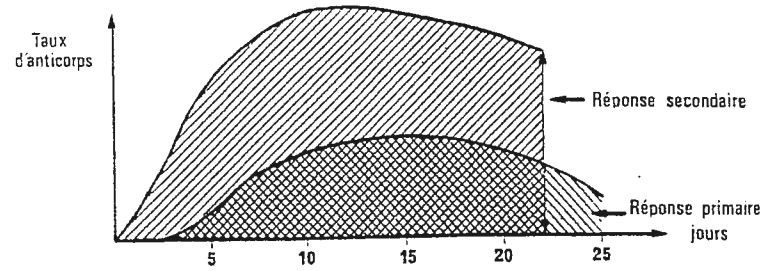



Fig3 - Réponse secondaire comparée à la réponse primaire

### I.5.1. Réponse primaire : ( Pénétration de l'antigène)

Dés 1941, LEVINE postulait l'existence de passage des hématies fœtales dans la circulation maternelle pour expliquer l'immunisation Rh, il fallut attendre en 1954 avec CHORON pour avoir la preuve absolue de tel passage.

C'est seulement à partir de 1960 que la technique hautement sensible de KLEIHAUER permettrait la reconnaissance des passages les plus minimes des hématies foetales, ces passages sont fréquents dans certaines séries :

Ils peuvent survenir dés le deuxième mois de grossesse. Ils sont notamment augmentés au moment de l'accouchement, surtout si celui ci est l'objet de manoeuvres obstétricales.(22)

La persistance des hématies après l'accouchement est en fonction de compatibilité mère-enfant en point de vue système ABO.

Ces hématies sont à l'origine d'une réponse immunitaire primaire, et tardive, car les anticorps ne sont décelables que plusieurs mois plus tard dans le sérum de la mère.(22)

### I.5.2. Réponse secondaire : ( Fabrication des anticorps)

Le terme mémoire immunologique exprime le fait qu'un organisme qui à rencontré antérieurement un antigène (après pénétration des hématies foetales au cours du 1er geste) et le rencontre à nouveau, va réagir la seconde fois d'une manière plus rapide et plus efficace par rapport à la première. Cet organisme en quelque sorte se « rappelle » .

L'hémolyse immunitaire peut servir de modèle pour illustrer les mécanismes de la destruction immunitaire des cellules sanguines (Globules rouges). Cette hémolyse dépend de :

→ La classe des immunoglobulines, à la fois les IgM et les IgG sont impliquées.

→ La capacité de l'Ac à activer le complément

→ L'interaction avec le système mononuclée : La cellule la plus importante dans l'hémolyse immunitaire est le macrophage agissant surtout dans la rate.(10)

### I.5.2.1. Structure générale des Immunoglobulines :

Les anticorps sont des protéines a molécules globulaires appelées globulines. Il s'agit le plus souvent de γ -globulines, par fois de B-globulines.

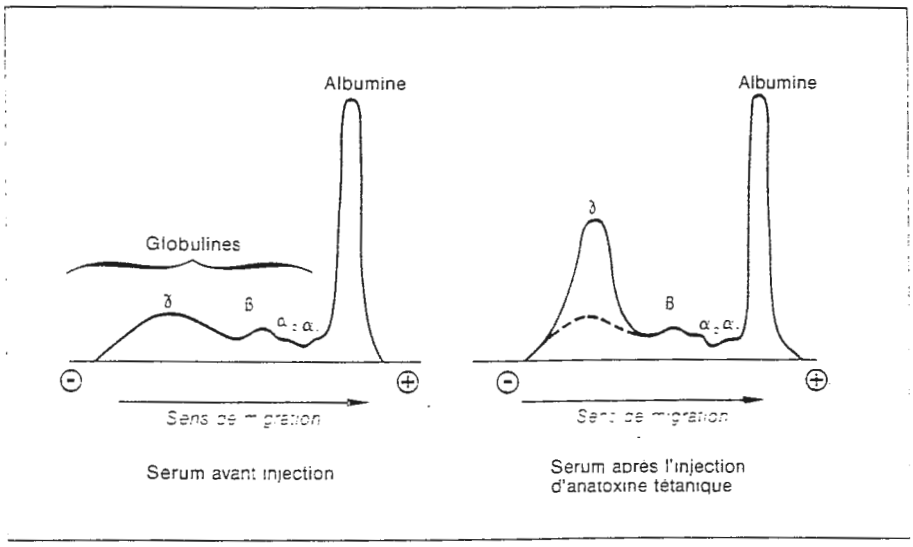



Fig5- **Modification de la composition chimique du sérum d'un animal immunisé(19)**

Tous les anticorps sont des protéines constituées par la réunion de quatre chaînes polypeptidiques, et le terme génétique d'immunoglobuline est employé pour toutes ces protéines. Dans cette ensemble d'immunoglobuline, on peut cependant distinguer cinq classes d'anticorps IgM, IgD,IgG, IgA et IgE qui diffèrent biochimiquement et fonctionnellement, tandis que des différences plus subtiles, siégeant au niveau de leurs régions variables. Définissent la spécificité de leur liaison à l'antigène.(19)

✱ **Structure de Base :**

L'unité structurale de base d'un anticorps appelée monomère d'Ig, comporte 4 chaînes polypeptidiques. Quand les traite avec des agents qui clivent les ponts dissulfures . On obtient deux sous-unité :

L'un d'elle, est appelée la chaîne lourde ou chaîne H « Heavy » et l'autre appelée la chaîne légère ou chaîne L « Light » . Les deux chaînes sont présentes dans le rapport équimoléculaire et chaque molécule contient deux chaînes lourdes

et deux chaînes légères. Les deux chaînes lourdes sont liées l'une a l'autre par les ponts dissulfures, et chaque chaîne lourde est reliée à une chaîne légère par un pont dissulfure intracaténaire qui s'établit entre l'extrémité C- terminal de la chaîne légère et une zone flexible de la chaîne lourde appelée **la zone charnière** située à mi-distance environ entre les extrémités de la chaîne lourde. De nombreuse interactions non covalentes s'établissent également entre chaque chaîne lourde et chaque chaîne légère.(10)

Toutes ces liaisons confèrent à la molécule $H_2L_2$ une grande stabilité et une parfaite cohésion, la région charnière des chaînes lourdes présente cependant une grande flexibilité. Ce qui permet à la molécule d'immunoglobuline, dont l'angle d'ouverture des bras peut aller de 60° à 180°, d'établir une interaction optimale avec l'antigène. Dans chaque molécule d'immunoglobuline, les deux chaînes lourdes et les deux chaînes légères sont identiques, de sorte que la molécule montre un double axe de symétrie. (10)

→ **Les chaînes lourdes** : varient selon la classe et la sous-classe d'Ig, elles comportent une séquence d'environ 450 résidus d'acides aminés, ce que leurs conféré une masse moléculaire approximative de 50 Kda . Elles sont reliées entre elles par les liaisons covalentes (un ou plusieurs ponts dissulfures) et par de nombreuses interactions non covalentes (liaisons hydrogène, liaisons de VAN DER WAALS, liaisons hydrophobes et liaisons ioniques) . (10)

Il y a cinq classes de chaînes lourdes ou isotypes principaux, ce sont elles qui détermines l'activité fonctionnelle de la molécule (IgM, IgD, IgE, IgG, IgA), leurs chaînes lourdes sont identiques par les lettres minuscules grecques correspondantes ($\mu$ , $\sigma$ , $\gamma$, $\alpha$ et $\varepsilon$ ) chaque isotype remplit une fonction particulière au cours des réponses immunes et leurs propriétés fonctionnelles distinctives sont définies par la partie carboxy- terminal de la chaîne lourde qui n'est pas associée à la chaîne légère.(10)

→ **Les chaînes légères** : il n'existe que deux types de chaînes légères, qui sont appelées lambda ($\lambda$) et Kappa (k) . Aucune différence fonctionnelle n'a été

trouvée entre les anticorps ayant des chaînes λ ou k, le rapport des deux types de chaînes légères varie selon les espaces, chez la souris, le rapport k/λ et de 20/1, tandis que chez l'homme il est de 2/1 et chez le Bovin il est de 1/20. Dans une Ig, les chaînes légères sont toujours identiques entre elles : Elles sont soit de type k, soit de type λ mais jamais des deux types à la fois, les chaînes légères sont constituées d'environ 220 Acides Aminés et une masse moléculaire approximative de 25 kDa . (14); (19)

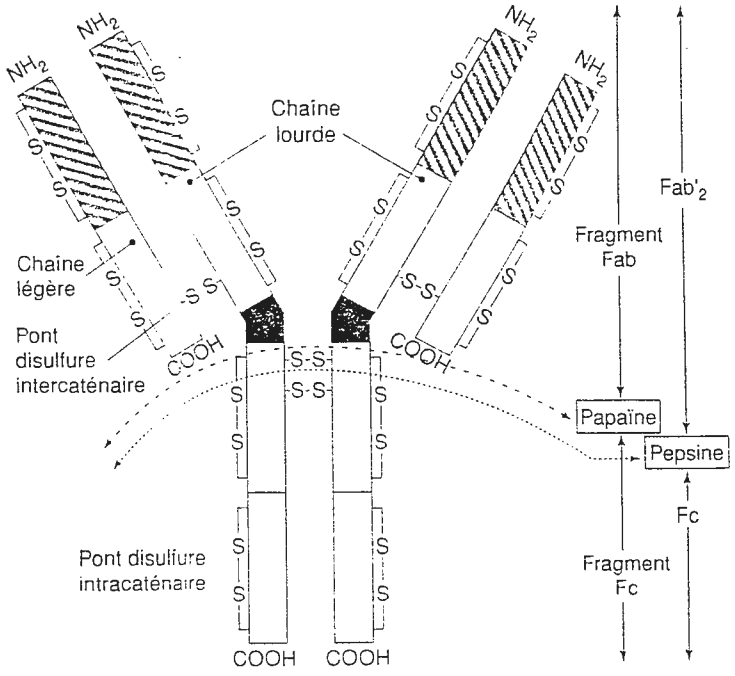



Fig 6 - **Schéma d'une molécule d'immunoglobuline (19)**

En hachure : zone variable

En noir : zone charnière

En blanc : zone constante

✷ **Notion de domaines :**

Outre les ponts dissilfure intracaténaires qui unissent les 2 chaînes lourdes entre elles et chaque chaîne lourde à une chaîne légère, il existe également sur chaque chaîne lourde légère des ponts dissulfures intracatenaires. Ces ponts dissulfures intracaténaires créent des boucles peptidiques de 60 à 70 résidus d'acides aminés dont la comparaison des séquences a révélé l'existence d'un haut degré d'homologie. En fait, chacune de ces boucles peptidiques représente la partie centrale d'une région globulaire comportant 110 résidus d'acides aminés, région que l'on a appelé domaine. Chaque chaîne lourde présente ainsi selon la classe d'Ig 4 à 5 domaines, tandis que chaque chaîne légère d'Ig ne comporte que 2 domaines. (10)

L'étude de la structure primaire des chaînes d'Ig a montré que, au sein des chaînes de même type, les séquences en acides aminés partiellement différente, les différences sont observées entre chaîne légère d'une part et entre chaîne lourde d'autre part sont localisées dans la région N-terminal des chaînes polypeptidiques, ces régions sont en conséquence dénommés régions variables (V), en revanche, les régions C-terminales des chaînes de même type ont une structure relativement conservée et sont de ce fait appelées régions constantes (C).

Chaque chaîne légère apparaît ainsi constituée de 2 types de domaines de longueur équivalente : Un domaine variable, appelé $V_L$(V= variable, L=light), situé à l'extrémité N-terminal de la chaîne, et un domaine constant, appelé $C_L$(C :Constant, L :Light) situé à son extrémité C-terminal. (10)

Dans une chaîne légère donnée (K ou λ), l'appariement des domaines ne se fait pas au hasard : au sein d'un même type de chaîne, la région $V_k$ s'apparie toujours à la région $C_k$, de la même façon, la région $V_\lambda$ s'apparie toujours à la région $C_\lambda$. Il n'y a donc pas de structures hybrides de type $V_k$ - $C_\lambda$ ou encore $V_\lambda$-$C_k$. La plupart des chaînes lourdes comportent 4 domaines de longueurs similaires : un domaine variable $V_H$(V : variable, H : Heavy) correspondant au quart N-terminal de la chaîne, et trois domaines constants $C_H$ (C : constant, H : heavy)

appelés respectivement $C_H1$, $C_H2$, $C_H3$ localisés dans la partie C-terminal de la molécule. (10)

C'est le domaine variable d'une chaîne légère qui associe au domaine variable de la chaîne lourde correspondante qui détermine le site de liaison à l'antigène, les domaines constants des chaînes lourdes, principalement $C_H2$ et $C_H3$ sont eux responsables des autres propriétés biologiques de la molécule d'Ig. (4)

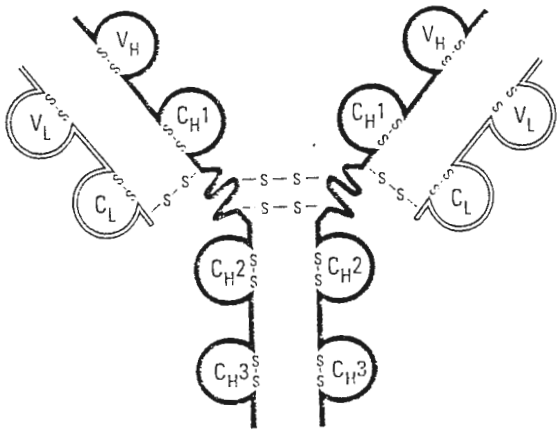



Fig 7 - **Organisation des chaînes d'immunoglobuline en domaines.(15)**

**Tableau 04 : propriétés physico-chimiques principales des différentes classes d'immunoglobulines Humaines .**(19)

| Classe | | IgG | IgA | IgM | IgD | IgE |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Nature des chaînes lourdes | | γ | α | μ | σ | ε |
| Sous-classes éventuelles et chaînes lourdes associées | | IgG1 : γ1<br>IgG2 : γ2<br>IgG3 : γ3<br>IgG4 : γ4 | IgA1 : α1<br>IgA2 : α2 | ? | ? | ? |
| Nature des chaîne légères | | K ou λ | K ou λ | K ou λ | K ou λ | K ou λ |
| Nombre de monomères | | 1 | 1 ou 2 | 5 | 1 | 1 |
| Nombre de domaines dans la chaîne lourde | | 4 | 4 | 5 | 4 | 5 |
| Nombre de déterminants antigéniques (valence) | | 2 | 2 ou 4 | 10 | 2 | 2 |
| Masse moléculaire moyenne | | 150000 | 160000<br>400000 | 950000 | 185000 | 190000 |
| Coefficient de sedimentation | | 7s | 7s<br>11s | 19s | 7s | 8s |
| Teneur en sucres (%) | | 2 à 3 | 7 à 11 | 10 à 12 | 9 à 14 | 12 |
| Teneur moyenne dans le sérum sanguin (g/l) | | 8 à 16 | 2 à 4 | 0,5 à 2 | 0,05 à 0,40 | 0,0001 à 0,001 |
| Taux moyen de synthèse (mg/kg/j) | | 30 à 40 | 20 | 5 | 0,5 | 0,02 |
| Demi-vie plasmatique moyenne (j) | | 21 | 6 | 5 | 4 | 2 à 3 |
| Nombre d'unité de base | | 1 | 1 à 5 | 5 | 1 | 1 |
| Fixation du complément | | + (sauf IgG4) | (sauf forme dimère d'IgA) | + | - | - |
| Fixation aux monocyles | | + (sauf IgG2 et IgG4) | - | - | - | - |
| Fixation aux mastocytes | | - | - | - | - | + |
| Transfert placentaire | | + | - | - | - | - |
| Présence dans les secretions | Active | - | + | - | - | - |
| | Passive | + | - | - | - | + |

### I.5.2.2. Classes et sous classes d'Ig :

Chez tous les individus de la même espèce, les Ig d'une même classe et même sous classe possèdent des caractéristiques communes sous le non d'isotype.

Ces caractéristiques d'espèce sont reconnues comme étrangères par des individus d'une autre espèce et à l'origine d'immunisation: production d'anticorps anti- isotypiques dirigés contre les déterminants propres à une classe ou sous classe d'Ig (exp: anti-IgG humaines préparées chez le lapin). Tous les individus d'une même espèce assurent la biosynthèse de toutes les classes et sous classe d'Ig. Les chaînes lourdes des Ig diffèrent entre elles par leurs masse moléculaire, leurs composition en acides aminés et en sucre, ainsi que par leurs charge électronique.(4)

Au sein d'une même classe d'Ig, il peut exister des sous-classes qui correspondent à des variations structurales de la chaîne lourde à l'intérieur d'une classe, les différences entre sous-classes d'une même classe sont moindres qu'entre Ig de classes. C'est ainsi qu'on décrit chez l'homme et certaines mammifères supérieurs quatre sous-classes d'IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) contenant respectivement des chaînes lourdes ($\gamma_1$, $\gamma_2$, $\gamma_3$, $\gamma_4$), et deux classes d'IgA (IgA1 avec des chaînes lourdes $\alpha_1$ , et IgA2 avec des chaînes lourdes $\alpha_2$). (4)

✷ **Les classes des IgG :**

Elle représente environ 75% de l'ensemble des Ig du sérum humain normal, soit une concentration de 8 à 12 grammes par litre de sérum. Leur constante de sédimentation est 7S, leur poids moléculaire de 150 kDa environ, des variations des chaînes lourdes gamma et plus précisément du fragment Fc, ainsi que des différences de séparer 4 sous classes d'IgG, dénommées IgG1 (66%), IgG2 (23%), IgG3 (7%), IgG4 (4%). Elles ont le pouvoir, grâce à l'interaction de leurs fragment Fc avec différents récepteurs, de traverser la barrière placentaire, de fixer le complément (sauf les IgG4), de se fixer (sauf les IgG2) sur des cellules d'espèce différente, leur demi- vie est de 21 jours, sauf pour les IgG3 ou elle est de 7 jours,

peut être en raison de la longueur particulière de la région charnière qui est très sensible à la prolcolyse. (4)

Les structures primaires des domaines constants des chaînes lourdes présentent entre elles un degré élevé d'identité dans les différentes sous-classes d'IgG : il va de 93 à 100 %. Les différences de structures les plus significatives portant sur la région charnière, sur les ponts dissulfures intracatenaires, sur la liaison entre chaîne lourde et chaîne légère, ainsi que sur les fréquences respectives des chaînes K et des chaînes λ ces différences se traduisent sur le plan fonctionnel par des propriétés effectrices qui varient d'une sous-classe à l'autre- mais la propriété principale de l'anticorps qui est de se lier spécifiquement à l'antigène n'est pas affectée par ces différences de structure qui ne concernent que les domaines constants de chaînes lourdes, et pas le site de liaisons à l 'antigène. (15)

**La région charnière :**

La région charnière qui sépare les domaines constants $C_H1$ et $C_H2$ des chaînes lourdes possède un nombre de résidus d'acides aminés qui varie selon les sous-classes.

La composition particulière en acides aminés (richesse en cystéine,11 résidus Cys, et en proline, 21 résidus pro) donne a cette région charnière d'IgG3 une structure en double hélices assez rigides. De plus, du fait de la longueur de leur zone charnière, les deux groupes Fab sont plus éloignés du groupe Fc dans les IgG3 que dans les trois autres sous-classes d'IgG. (10)

**Le nombre des ponts dissulfurés entre les chaînes lourdes :**

Dans les IgG1 et IgG4, le nombre des ponts dissulfures entre les deux chaînes lourdes est de 2. Il est de 4 dans les IgG2 et de 11 à 15 dans les IgG3. (15)

**La liaison entre chaîne lourde et chaîne légère :**

Le pont dissulfure qui lier chaque chaîne légère a une chaîne lourde s'établit entre le dernier acide aminé de la chaîne légère (résidu Cys 213) et un résidu cys localisé différemment sur la chaîne lourde selon la sous-classe d'IgG : dans les IgG1, il s'agit du résidu Cys 220 située du coté carboxy -terminal du domaine $C_H1$, dans les IgG2, IgG3, IgG4 ; il s'agit du résidu Cys 131 situé du coté amino-terminal du domaine $C_H1$. (10)

✷ **Les séquences Hypervariables :**

La variabilité de séquence n'est pas distribuée de manière égale tout au long des régions variables. Beaucoup d'acides aminés sont conservés, particulièrement ceux qui sont importants pour déterminer la structure de domaine v. La distribution des résidus peut clairement se voir en faisant une répartition de variabilité qu'on appelle un diagramme de WU et KABAT, dans lequel les séquences de nombreuses régions variables d'anticorps sont comparées, en gros entre les résidus 28 à 35, 49 à 59 et 92 à 103. On les appelle les régions hypervariables et elles sont désignées Hv1, Hv2 et Hv3.

La partie la plus variable dans le domaine est la région Hv3, le reste du domaine v présente moins de variabilité et les segments entre les régions hypervariables, qui sont relativement invariants sont appelées les région de charpente « Framework ». Les régions sont au nombre de quatre, désignées par FR1, FR2, FR3 et FR4. (18)

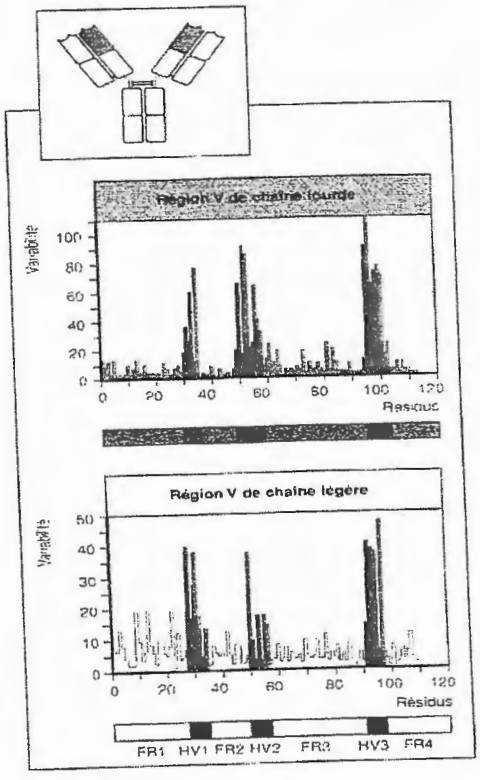



Fig 8 - **Les séquences hypervariables(18)**

### I.5.2.3. La production d'anticorps :

✸ **Les cellules responsables :**

La réponse des cellules B à l'injection d'un immunogène, est d'habitude mesurée par la recherche d'anticorps spécifique produit au cours d'une réponse immune humorale. Cela fait le plus facilement par le dosage de l'anticorps qui se trouve dans la phase liquide du sang ou plasma.(19)

Les caractéristiques les plus importantes de la réponse d'anticorps sont la spécificité, la concentration, l'isotype (classe) et l'affinité des anticorps produits. La spécificité détermine la capacité de l'anticorps a distingué l'immunogène des antigènes du soi ou de tout autre antigène. La concentration de l'anticorps peut être déterminée de différentes manières, elle donne une idée du nombre de cellule B qui

répondent de leur capacité de synthèse et de la persistance de l'anticorps après sa production. La persistance de l'anticorps dans le plasma et des liquides extracellulaire baignant les tissus dépend des isotypes produit, la composition d'isotype d'une réponse anticorps conditionne aussi les fonctions biologiques que ces anticorps assumeront et les endroits où ils pourront être retrouvés. Par exemple une réponse anticorps au cours de laquelle les anticorps IgE dominent, produira une réaction allergique lorsque l'antigène sera réintroduit. (19) (4)

La force avec laquelle l'anticorps se lie à l'antigène est appelée son affinité, cette force de liaison est importante, car plus l'affinité de l'anticorps est élevée, moins il en faudra pour éliminer l'antigène, les anticorps de plus haute affinité pouvant fixer des concentrations plus faibles d'antigène. (10)

✷ **Fabrication des anticorps :**

L'antigène est fixé sur la membrane des hématies (il existe environ 12000 sites antigéniques sur une hématie Rh positif d'après HUGNES-JONES et MOLLISON) .

Le premier temps va être la captation de l'hématie Rh positif par une cellule macrophagique du système réticulo-endothélial de la rate. Elle phagocyte l'hématie et la détruit libérant ainsi les sites antigéniques Rh avec identification du caractère Rh positif en temps qu'élément étranger, puis l'élaboration à partir de cet élément d'une information antigénique qui va être transmise à un deuxième élément cellulaire chargé d'y répondre par la formation des anticorps. (10)

Cette deuxième cellule appartient à une variété très différente du macrophage, il s'agit d'une cellule lymphocytaire, une fois l'information reçu, le lymphocyte va subir des transformations :

1- Il ce multiple très activement.

2- Il met en place, puis en activité toute une chaîne à synthèse des protéines chargées d'élaborer des globulines spécifiquement « adaptées » à l'antigène, c'est à dire des anticorps anti-Rhésus.

Ces transformations modifient profondément l'aspect du lymphocyte qui prend un aspect « **blastique** » et lorsqu'il est en pleine synthèse des anticorps se présentait comme un plastocyte.

Les anticorps fabriqués sont habituellement un mélange de deux types (IgM-IgG) avec large prédominance des gamma-immunoglobulines qui sont capables de traverser le placenta par opposition aux IgM.

3- Il enregistre et mémorisé ce premier rapport avec l'antigène qui est nécessaire pour la réaction secondaire. (21)

✷ **Mode d'action des anticorps :**

L'action des anticorps anti- système Rhésus apparaît principalement à partir de la deuxième ou la troisième grossesse ultérieure où le foetus est de nouveau Rhésus positif, le passage des hématies Rhésus positif provoque une réaction rapide et massive avec production des grandes quantités d'immunoglobulines anti-Rhésus (type IgG) douées d'un pouvoir de traverser le placenta.(16)

En arrivant dans la circulation du fœtus, ces anticorps maternels se fixent sur les hématies fœtales Rhésus positif d'une part, et activent le complément d'autre part, entraînent aussi une destruction rapide des hématies au niveau de la rate d'ou une splénomégalie, une anémie et une hyper- hématopoïèse se traduisent par l'apparition d'un foie volumineux avec présence d'érythroblastes et une hyper-réticulocytose dans le sang, la mort fœtal in- utero puisse survenir. A la naissance une intense hémolyse se développe, dont la dégradation de l'hémoglobine produit la bilirubine qui s'accumule dans le plasma, le foie du nouveau-né étant immature est incapable de stimuler cette bilirubine par défaut d'enzyme adéquate de glycarono- conjugaison, ce qui conduit à des conséquences graves : la mort, anasarque foeto- placentaire, ictère néonatal, mais la forme la plus grave reste bien l'ictère nucléaire. (16) (21)

✷ **Leur synthèse a l'echillons cellulaire :**

C'est la même cellule qui fabrique à la fois, mais indépendamment, les chaînes légères et les chaînes lourdes constituant la molécule d'Ig : on a montré

l'existence d'ARN messager et de poly ribosomes spécifiques de chaîne. Chaque cellule productrice d'anticorps semble produise un seul type d'Ig spécifiques du même déterminant antigénique et allotype données, ainsi, chez un sujet hétérozygote pour un marqueur allotypique, les anticorps produits par la cellule ne possèdent qu'une seule des deux spécificités (phénomène d'exclusion allélique).(10)

La synthèse des Ig se fait selon le schéma général de la synthèse protéique. Les chaînes légères sont formées par des poly ribosomes lourds formés de 12 à 16 ribosomes. L'assemblage des chaînes s'effectue de façon très rapide dans le réticulum endoplasmique, la fixation des glucides sur la chaîne est beaucoup plus lente, elle s'effectue dans différents compartiments de la cellule avant l'excrétion de l'immunoglobuline. C'est au moment de l'excrétion lors du passage de la membrane cytoplasmique que s'effectue la polymérisation des molécules existantes sous forme polymérisée.

Enfin au cours de la réponse primaire la même cellule est capable de synthétiser d'abord des IgM puis des IgG (communication de classe) . (10)

### I.5.2.4. Interaction antigène-anticorps :

La fonction biologique des anticorps est de se lier aux pathogènes et leurs produits et de faciliter leur élimination de l'organisme. Les anticorps qui se lient à des protéines natives entrent en contacte avec une surface de la protéine plus importante que ce qui trouver place dans une fente ménagée entre les domaines $V_H$ et $V_L$. Le détail des interactions moléculaire entre l'antigène et l'anticorps protéique à aussi été étudié par l'analyse cristallographique aux rayons X de complexes formés par anticorps et des antigènes protéiques. (10)

L'étude de la réaction immunologique qui se produit in vitro entre antigène (Ag) et un anticorps (Ac) peut être entrepris sous deux aspects, l'un théorique, l'autre pratique.

Dans le premier cas, la réaction Ag-Ac est considérée comme une réaction à la fois, spontanée et réversible, obéissant tout comme une réaction purement

chimique, à la loi d'action de masse, elle se schématise selon la réaction ci-dessous :

$$Ag + Ac \underset{K_2}{\overset{K_1}{\longleftrightarrow}} Ag - Ac \qquad [1]$$

Dans laquelle $K_1$ et $K_2$ représentent les constantes de vitesses de la réaction

Le traitement mathématique de la réaction mentionnée permet d'en évaluer les facteurs physico-chimiques (vitesse, constantes d'équilibre, constantes thermodynamiques,..etc) et de définir certains caractères propre à la réaction, telle l'affinité de l'anticorps pour l'antigène par exemple.

Le second aspect, de la réaction Ag-Ac, se limite volontairement et essentiellement à la mise en évidence du système [1], c'est à dire à une détermination qualitative de sa nature. Cette recherche qualitative permet souvent aussi une approche quantitative des deux réactifs (que sont l'Ag et l'Ac) aboutissant à la formation du complexe Ag-Ac (4)

✷ **Réversibilité/ spécificité :**

La réaction qui a lieu entre un anticorps (AC1) et l'antigène correspondant (Ag1) se produit selon la réaction ci-dessous.

$$Ag1 + Ac1 \longleftrightarrow Ag1 - Ac1$$

Qui suit la loi d'action de masse, ce qui autorise d'écrire :

$$\frac{(Ag1 - Ac1)}{(Ag1)(Ac6)} = \frac{K1}{K2} = Ka$$

avec :

- Ka comme constante d'association de la réaction à l'équilibre.
- (Ag1 –Ac1), (Ag1) et (Ac1) les concentrations respectives du produit et des réactifs. (15)

Le système est donc réversible ; il suffit qu' ait l'équilibre, que l'antigène marqué (par radioactivité ou fluorescence) Ag1* soit ajouté au système. On constatera alors Ag* déplace l'antigène non marqué, Ag1, pour donner lieu à la formation d'un complexe marqué. La réaction de déplacement est :

Ag1 +Ab1 ◄---------► Ag1 –Ab1

Ag1* ◄---------► Ag1* –Ab1

Par ailleurs, l'addition d'un antigène différent (Ag2) du premier au système ne déplacera pas Ag1 à Ac1 est spécifique.

La considération de l'équilibre entre deux températures distinctes, T1 et T2 pour un quelconque système apparenté au système permettent, d'une part, la détermination des constantes thermodynamiques et d'autre part, de préciser la nature des forces de la liaison qui s'établit entre Ag1 et Ab1. (10)

✷ **Les forces de liaison :**

Il à été noté que l'antigène (Ag) suscite, chez l'animal, la production d'anticorps spécifiques (Ac) qui vont se lier à lui pour former des complexes antigéniques (sites d'antigénicité) sur lesquels les anticorps vont s'attacher par leur structure Fab, la liaison Ag-Ac se fait par complémentarité stérique entre les motifs antigéniques et les domaines variables de l'anticorps. (10)

Cette liaison est fondamentalement spécifique, la spécificité de cette combinaison est un caractère tout à fait essentiel des immunoglobulines.

Les forces qui lient l'antigène à l'anticorps dans le complexe Ag-Ac sont nombreuses, mais toutes de nature non covalente elles appartiennent :

- Aux liaisons hydrogènes, celles ci se forment entre un atome d'hydrogène (charge positif) et des atomes électronégatifs, tels l'oxygène (O) ou l'azote (N) .
- Aux forces électrostatiques qui ont lieu entre groupement carboxyliques chargés négativement ($-COO^-$) et le groupe aminé à chargés positivement ($-NH_2^+$).
- Aux interactions hydrophobes induites entre groupes non polaires hydrophobes, tels les acides aromatiques.
- Aux liaisons de VAN DER WAALS : Ces derniers sont dus aux mouvements des couches électroniques de différentes molécules voisines. (19)

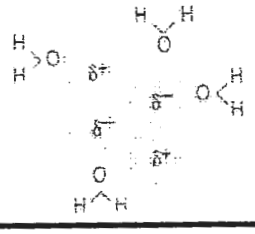
Toutes ces forces sont à faible énergie moins de 10K cal. $Mol^{-1}$ néanmoins, le nombre de ces forces est tellement important qu'il compose largement leur

faiblesse. L'ensemble de ces forces d'attraction assure une réaction antigène-anticorps de type exothermique (de l'ordre de 40 K cal) qui aboutit à la formation du complexe Ag-Ac. Ainsi, on observe que les forces de nature électrostatique jouent un rôle prédondérant dans la combinaison Ag-Ac. (15)

Plusieurs expériences se basant sur la méthode des modifications chimiques des sites de liaison d'une protéine à son ligand confirment cette prépondérance des forces de faible énergie. Par exemple, la propriété précipitation de certains anticorps est perdus, lorsque ces anticorps sont acétylés. Cette même propriété est conservée après guanidation de ces anticorps.

Par ailleurs, la modification chimique sélective de la tyrosine conduit immédiatement à l'inactivation de la combinaison de l'anticorps : le groupement phénalique possède donc une fonction majeure dans les sites de liaison. (10)

**Tableau 6 : les forces non covalentes qui assurent la cohésion du complexe Ag-Ac** (10)

| Forces non-covalentes | Origine | |
|---|---|---|
| Forces electrostatiques | Attraction entre charges opposées | $\overset{\oplus}{\text{—NH}_3}$ $\overset{\ominus}{\text{OOc}}$— |
| Liaisons hydrogène | Hydrogène pontagé entre des atomes électronégatifs (N O) | —N— H— O = C<br>$\delta^-$ $\delta^+$ $\delta^-$ |
| Forces de Van der Waals | Les fluctuations des nuages d'électrons autour des molécules polarisent de façon opposée les atomes environnants | $\delta^+ \longrightarrow \delta^-$<br>$\delta^- \longrightarrow \delta^+$ |
| Forces hydrophobes | Les groupes hydrophobes rejettent toute interaction avec l'eau et tendent à se rapprocher en excluant les molécules d'eau. L'attraction comporte aussi des forces de Van der Waals |  |

✷ **Affinité et Avidité :**

Le complexe Ag-Ac formé d'autant plus stable que la résultante des forces à faible énergie liant Ag à Ac est grand.

La résultante pour un site donné de l'anticorps représente l'affinité de ce site pour l'antigène.

Au cours de la partie précédente, il a été noté d'une part que l'IgG possède deux sites de liaison : Deux fragments Fab (antigène binding) pour l'antigène, et que d'autre part, l'IgM pentamérique constituée de cinq molécules (semblables en structure, chacune d'elle et de façon globale à celle de l'IgG . (10)
L'$(IgM)_5$, possède dix sites de liaisons (2 x5 ). Par ailleurs comme il a été rapporté, les antigènes naturels sont souvent multivalent.

Les antigènes sont donc formés de plusieurs épitopes (antigènes multivalents). Lorsqu'un tel antigène rencontre son anticorps, il y a formation d'un complexe Ag-Ac, où plusieurs site anticorps est lié aux déterminants antigéniques.
La force globale de liaison de tous les sites occupés dans cette combinaison de l'antigène à l'anticorps représente l'avidité de cet anticorps pour cet antigène.

Dans le cas où les deux réactifs (Ag-Ac) seraient monovalents, la constante d'association à l'équilibre Ka, représente l'affinité de l'anticorps. Dans le cas plus complexe ou les deux réactifs sont multivalents, la constante Ka définit l'activité de l'anticorps.(4)

Il est évident que cette définition implique. Par elle-même, que l'avidité dépend de l'affinité de chacun des sites anticorps, elle dépend également d'autres facteurs régissant les conditions de la mesure, En d'autres termes, si l'avidité représente théoriquement la somme des affinités pour une liaison Ag-Ac multivalente, de façon pratique, elle manifeste l'affinité fonctionnelle de l'anticorps. (14)

Les notions d'affinité et d'avidité des immunoglobulines vis-à-vis de leurs antigènes ont une importance non seulement d'un point de vue théorique (étude des sites actifs), mais aussi et surtout d'un point de vue pratique. (18)

En effet, l'efficacité d'une immunisation peut être testée en suivant la mesure (augmentation ou non) de l'avidité des anticorps protecteurs. Dans la majorité des cas, l'affinité augmente, lorsque l'immunisation a pratiqué en associant un adjuvant à l'antigène injecté et en répétant plusieurs fois l'injection dans le temps. (14)

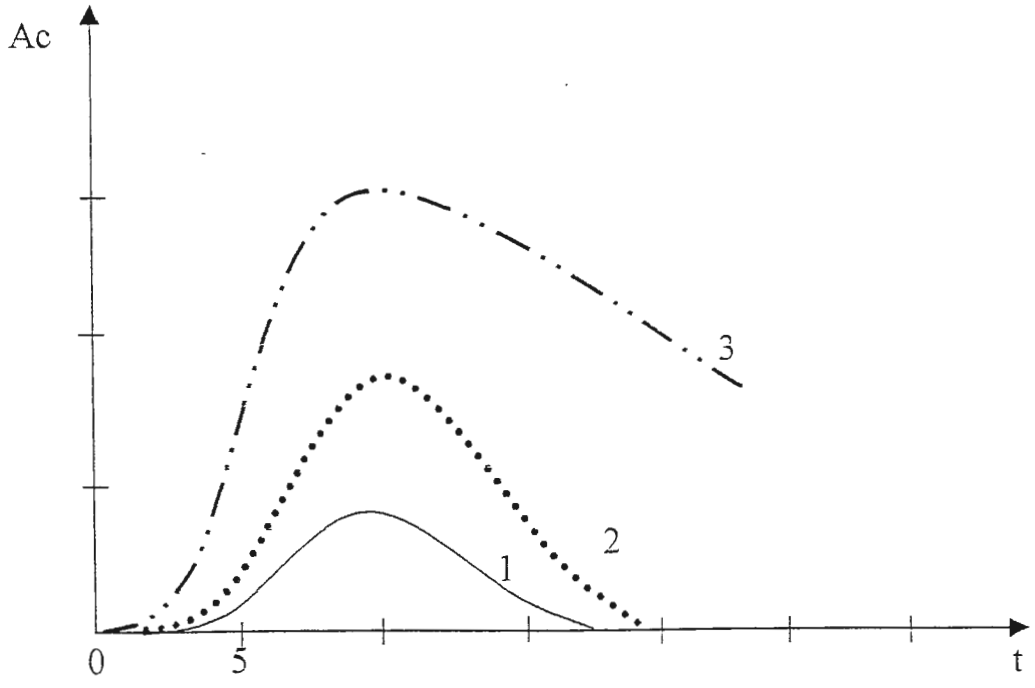



Fig 9 - **Les adjuvants** (4)

Une souris reçoit 2,0 µg d'albumine sérique bovine (bSA) sans aucune association (1) ou conjointement avec de l'alun (2) ou encore avec de l'adjuvant complet de Freund-CFA (3). A différents temps (1) la quantité d'anticorps (AC) produite est déterminée. On observe sur le graphique obtenu, que l'immunogénicité la (bSA) est nettement augmentée en présence de CFA. (14)

Des études on montré que l'affinité est d'autant plus forte que la maturation des cellules immunocompétentes (lymphocytes B) est développée. Cela impliqué

avéré constitué de trois sous-fractions et qu'à partir de $C_3$. On a isolé cinq nouveaux composants.(22)

**Tableau n°06 : Principales propriétés des fractions du complément.** (22)

| Fraction | | Constante de sedimentation | Poids moléculaire (en dalton) | Migration electrophorétique | Concentration serique (mg/l) | Thermolabilité 56°C – 30 mm | Lieu de synthèse |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| C1 | $C_1q$ | 11s | 400000 | Gamma-2 | 100 à 200 | + | Foie, cellules de l'intestin, macrophages |
| | $C_1r$ | 7s | 170000 | Bêta | 30 | + | |
| | $C_1s$ | 4s | 80000 | Alpha-2 | 40 à 100 | + | |
| C2 | | 6s | 115000 | Bêta-2 | 30 | + | Foie |
| C3 | | 9,5S | 185000 | Bêta-1-c | 1200 | O | Foie, macrophages |
| C4 | | 10S | 230000 | Bêta-1-E | 400 | O | Cellules de l'intestin |
| C5 | | 8,7 S | 185000 | Bêta-1-F | 80 | + | Rate |
| C6 | | 6S | 125000 | Bêta-2 | 10 à 60 | O | Foie |
| C7 | | 6S | 140000 | Bêta-2 | - | O | - |
| C8 | | 8S | 150000 | Gamma-1 | 10 | + | Foie |
| C9 | | 4S | 79000 | Alpha-2 | 2 à 5 | + | foie |

✸ **Processus d'activation du complément :**

Les facteurs protéiques constituent le complément sont sous forme inactive dans le sérum. Leur activation se fait selon un ordre détermine selon deux séquences : dans l'une,voie classique, l'activation se fait a partir de $C_1$ ,dans

l'autre, voie alterne, l'activation se fait de $C_3$ .Ces 2 voies se remissent ensuite pour suivre le même ordre d'activations.(19)

**Voie classique :**

L'activateur est constitue par des complexes antigène-anticorps. Cette voie est comme depuis longtemps, ses différentes étapes ont été précisées a partir de la réactions d'hémolyse.(22)

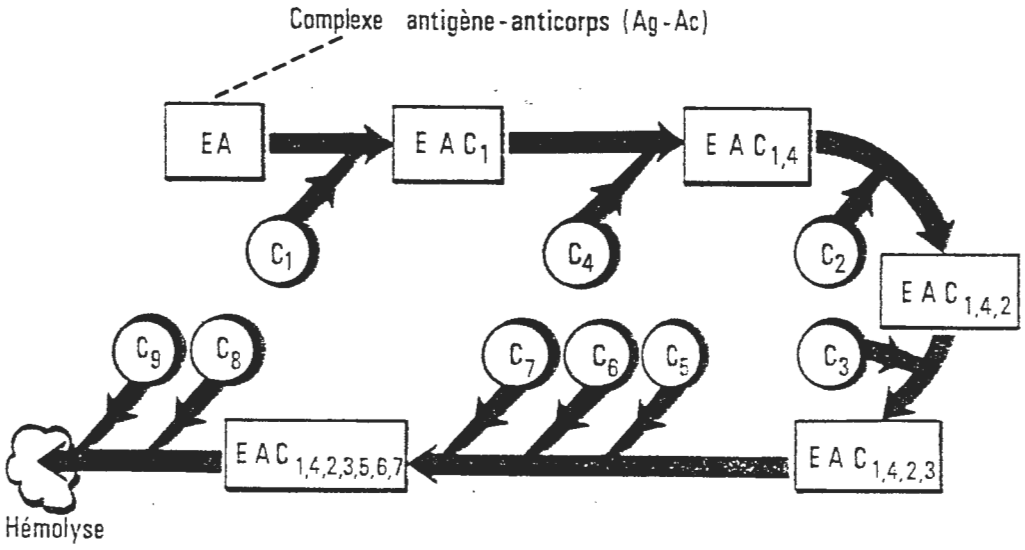
Si E désigne l'érythrocyte, A l'anticorps et EA le complexe Antigene-Anicorps, la séquence est la suivante : sur ce complexe immun (EA) se fixe le composant $C_1$ du complément. Ces fixations se font sur le fragment Fc de Ig (IgM. IgG). $C_1$ se transforme alors en un facteur actif appelé $C_1A$ . Cette phase exige la présence du calcium. Le complexe EA est donc devenu $EAC_1$ lequel devient $EAC_{1.4}$ , $C_2$ active a son tour, Se fixe et le complexe formé ($EAC_{1.4.2}$) est instable. Il peut redonner $EAC_{1.4}$ en laissant un composé $C_2$ inactif. Mais il peut aussi, par son activité enzymatique de type convertase (d'ou son nom de $C_3$ convertase) agir sur $C_3$.(22)

Le composant $C_3$ a est clivé par la –$C_3$- convertase en 2 fragments :

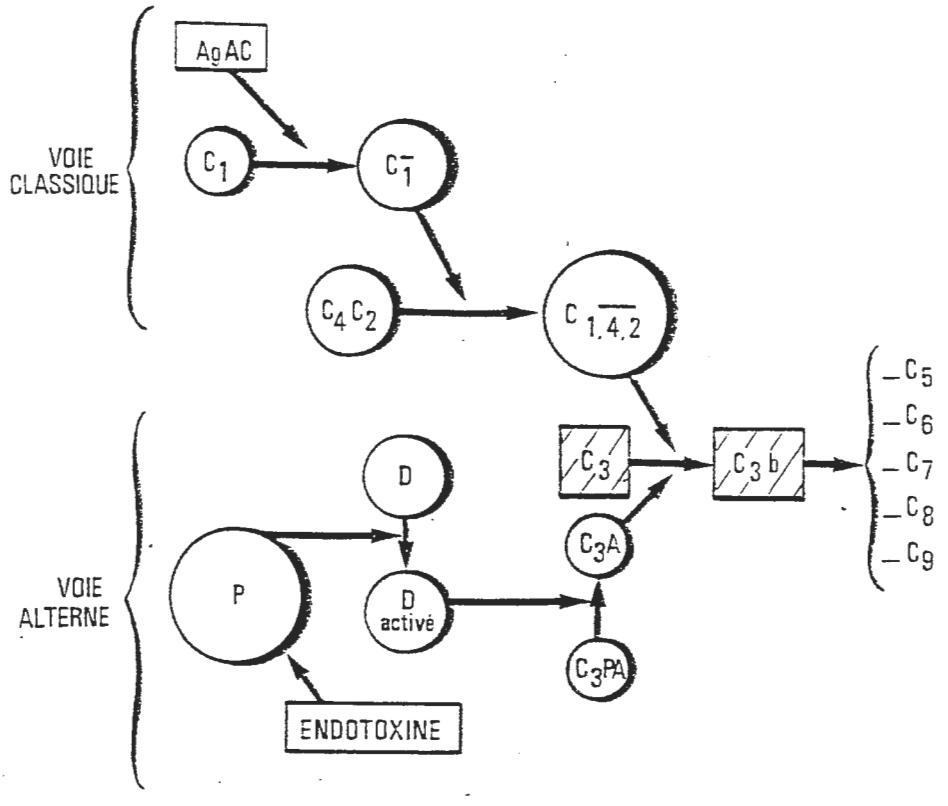
Une première fraction C3A, elle possède une activité d'anaphylatoxine c'est-à-dire qu'elle est capable de se fixer aux mastocytes, de provoquer leurs dégradations. Une deuxième fraction,$C_3B$, volumineuse. Se fixe pour constituer le complexe $EAC_{1.4.2..3}$ (22)

L'étape suivante est marquée par la fixation simultanée de $C_5$- $C_6$ et $C_7$, le clivage de $C_5$ donne naissance à un fragment $C_5A$ possédant, comme $C_3a$ une activité d'anaphylatoxine. Le complexe $C_5$ $C_6$ $C_7$ exerce une action chimiolactique vis-à-vis des polynucléaires. (22)

Enfin, $C_8$ puis $C_9$ se fixent à leurs tours donnant lieu a un complexe d'attaque de la membrane. La fixation de ces deux facteurs produit des lésions irréversibles de la membrane cellulaire, responsables par exemple de la lyse du globule rouge. $C_8$ est le composant cytolytique. Mais $C_9$ accroît son activité.(14)




a.-Voie classique




b. Les deux voies d'activation

Fig 10 - **Les voies d'activation du complément** (19)

✸ **Métabolisme des protéines du complément :**

La synthèse est essentiellement hépatique mais il existe une synthèse minime monocytaire et macrophagique de certains composants (ensemble des facteurs de la voie alterne et $C_2$, $C_3$ et $C_4$) dont l'importance locale aux sites d'inflammation est certaine. Le $C_1$ est synthétisé par les cellules épithéliales des tissus thymiques, intestinaux et par fibroblastes. Les protéines du complexe lytique sont en partie synthétisées par les lymphocytes. La synthèse est accrue lors de l'inflammation et est sous contrôle hormonal stéroïdien (augmentation par les endogènes). Le catabolisme, peu connu, est excessivement rapide comparé à celui des autres protéines plasmatiques, peut être dû à une activation permanente à bas bruit.(10)

## I.6. Diagnostic Biologique :

Vu l'importance du diagnostic, ce dernier doit être porté en extrême urgence. Il ne peut être que sérologique, pratiqué d'une part chez la mère et d'une autre part chez l'enfant, aussi bien avant la naissance qu'après.(21)

### I.6.1. Avant l'accouchement :

Le diagnostic repose sur les points suivants :

✸ **Dépistage de l'immunisation :**

Dés la constatation d'anticorps anti-Rhésus, on peut affirmer l'iso-immunisation maternelle.

Mais comment affirmer l'atteinte de l'enfant à naître ? car il ne suffit pas que la mère ait des anticorps, encore faut-il que l'enfant soit Rhésus positif ? il convient donc d'étudier :

1- **Les Antécédents :** cas de maladie hémolytique chez les enfants précédents pour apprécier la gravité de l'immunisation.
2- **La détermination des groupes sanguins de la mère et du père :** qui est d'une très grande valeur dans la recherche de la spécificité
3- **Phénotypage Cc, D, Ee de la mère et du père :** permet d'évaluer les chances que l'enfant soit Rhésus positif ou Rhésus négatif.

**Probabilité d'avoir l'antigène D**

| Père / Mère | D | d |
|---|---|---|
| d | Dd | dd |
| d | Dd | dd |

50% d'enfant Rh positif

| Père / Mère | D | D |
|---|---|---|
| d | Dd | Dd |
| d | Dd | Dd |

Tous les enfants Rh positifs

4- **Surveillance du titre d'anticorps chez la mère :** par le test de dosage des anticorps au 3$^{eme}$ mois de la grossesse ainsi que dans les mois qui suivent si c'est possible,est un bon argument sur l'état du fœtus.(21)

✷ **Examen du liquide amniotique :**

Avec report du taux du bilirubine sur un diagramme de Liley (en fonction de l'âge) et évaluation de la maturité fœtale pour programmer un accouchement prématuré.(27)

**I.6.2. Après l'accouchement :**

✷ **Chez la mère :**

Mise en évidence des hématies fœtales dans le sang maternel par la méthode ou le test de KLEIHAUER qui est effectué afin d'évaluer l'importance du transfert d'hématies fœtales (ou bien afin d'ajuster la dose d'anti-D à injecter après accouchement). (21)

Recherche d'agglutinines irrégulières, on associera au moins une technique de COOMBS indirect et une technique enzymatique pour dépister et identifier les anti-corps immuns. (21)

Recherche d'hémolysine anti-A et anti-B dans le cas de risque d'incompatibilité ABO.

✷ **Chez le nouveau-né :**

On étudie 2 bilans.

**1. Bilan hématologique qui montre :**

- **Une Anémie :** hémoglobine inférieur à 15g/dl, pouvant atteindre des taux de 5g/dl dans les formes sévères.(21)

- **Un Frottis Sanguin :** révèle des signes de régénération réticulocytes, érythroblastose parfois myélémie, une thrombopénie s'installe dans les formes graves. (21)

- **Surveiller le taux de bilirubine et celui d'hémoglobine** pour juger de l'intérêt d'une exsanguino transfusion.(21)

**2. Bilan immunologique :** il consiste à :

- Déterminer le groupe sanguin ABO et Rhésus.

- Mettre en évidence les anticorps maternels fixés sur les globules rouges foetales révélés par la technique de COOMBS indirect.(21)

**I.7. Traitement et prévention :**

**I.7.1. Traitement :**

Il est identique quel que soit le type de l'iso- immunisation

✷ **Pendant la grossesse :**

**Des formes légères et moyennes :**

- Surveillance régulière avec dosage des RAI et de la bilirubine afin de dépister une souffrance fœtale.

- On proposera alors une césarienne ou surtout un accouchement par voie basse. (1)

**Des formes sévères :**

- La transfusion in- utero soit :

  1- intra péritonéale (80% succès, mais risque de traumatisme pour le fœtus).

  2- Intra ombilicale ( par cathétérisme de la veine ombilicale)

  3- Par exsanguin transfusion (1)

✷ **A la naissance :**

a- En absence d'anémie majeure : mesure régulière de la bilirubinémie et photothérapie.

b- En présence d'une anémie moyenne et d'un ictère franc :

* Exsanguins – transfusions :

1- d'emblée si la bilirubinémie est très élevée

2- secondaire dés que le taux de bilirubine devient supérieur à 300 mg/L ( dosage à répéter eventuellement)

* dosage de la bilirubine intra- érythocytaire (1)

**I.7.2. La prévention :**

**Introduction :**

La connaissance de plus en plus précise du mécanisme de l'érythroblastose fœtale a permis de mettre au point la première méthode de prévention.

On sait, en effet, qu'il s'agit d'une anémie hémolytique frappant l'enfant Rhésus positif d'une femme Rhésus négatif précédemment immunisée contre l'antigène Rhésus. Les circonstances de l'immunisation sont exclusivement transfusionnelles, il est exceptionnel qu'il s'agisse maintenant d'hétérohémothérapie ou de transfusion effectuées au moyen de sang Rhésus positif, mais il faut incriminer les microtransfusions transplacentaires qui se produisent au cours des grossesses et surtout des accouchements, d'autant plus fréquentes et abondante que les manœuvres obstétricales ont été plus agressives.(18)

C'est a partir de ces constatations que furent élaborées les premières tentatives thérapeutiques. Les essais visant à prévenir la maladie hémolytique des enfants de mères immunisées se sont soldées par des échecs car aucune méthode n'a pu être trouvée pour s'opposer à l'action des agglutinines maternelles sur un fœtus positif.(4)

Par contre une certaine diminution de la fréquence des immunisations a été obtenue.

Plus récemment la limitation maximum des manœuvres obstétrical de toute nature a joué un rôle analogue non négligeable.

Cette double prophylaxie demeure cependant très insuffisante car les saignements fœto-maternels sont si fréquents au cours des accouchements même les plus entociques que l'on peut presque les considérer comme physiologique, ils sont responsables de la quasi-totalité des immunisations actuelles. C'est à ce stade initial du processus immunisant que FINN et CLARKE ont proposé d'intervenir.(4)

### I.7.2.1. Le principe immunologique de la prévention :

LEVINE avait remarqué qu'une femme Rhésus négatif ne pouvait s'immuniser après la naissance d'un enfant Rhésus positif que si celui ci avait un groupe ABO compatible avec celui de sa mère.

Selon l'interprétation admise, les hématies Rhésus positif ayant fait intrusion dont l'organisme maternel ne pourraient y induire une immunisation qu'après un séjour suffisamment prolongé. La présence éventuelle d'anticorps anti- A ou anti-B permettrait l'élimination rapide des hématies A ou B Rhésus positif assurant ainsi une prévention naturelle de l'immunisation anti- Rhésus.(7)

Dans cette perspective, un traitement préventif de l'immunisation est concevable par l'élimination des hématies fœtales Rhésus positif ABO compatible, transfusées à l'organisme maternel, FINN et CLARKE ont imaginés de détruire par l'injection à la mère d'anticorps anti- Rhésus ( anti- D), mais le mécanisme exact de la prévention reste encore discuté, les hématies fœtales sensibilisées par les anticorps anti-Rhésus injectées sont rapidement éliminées de la circulation et captées par les cellules du système réticulo-endothélial qui les détruisent.(7)

L'absence de transmissions de l'information antigénique par les macrophages aux cellules immunologiquement compétentes résulterait de la saturation des sites antigéniques Rhésus par les anticorps correspondants, il est donc important d'injecter une quantité suffisante d'anticorps pour obtenir la saturation de l'antigène, sous peine de voir au contraire de trop faibles quantités

d'anticorps favoriser l'immunisation. Les modalité de préparation et d'utilisation de ces gamma globulines sont maintenant précisées.(7)

### I.7.2.2. La Sérothérapie :

La sérothérapie est un apport passif d'anticorps spécifique puisqu'elle n'agit que par les anticorps du donneur et n'amène pas le receveur à en fabriquer, elle permet un effet de neutralisation, donc protection contre l'agent pathogène pendant un temps relativement court : deux semaines avec le sérum hétérologue et un mois ou plus avec le sérum humains, son avantage est d'être immédiatement efficace, aussi permet-elle d'attendre, lorsque l'incubation de la maladie en cause est prolongée, que le malade fabrique lui même des anticorps obtenus par une vaccination pratiquée simultanément.(9)

On distingue la sérothérapie préventive,ou séroprophylaxie et la sérothérapie curative, selon que le sérum est administré avant ou après l'infection. Néanmoins, après une plaie supposée tétanigène, le sérum est dit préventif et devant une angine supposée diphtérique, le sérum est dit curatif.

✷ **Les moyens :**

La sérothérapie est née à la fin du XIXème siècle avec le traitement de la diphtérie par des injections de sérum de cheval hyper immunisé avec de faible dose de toxine diphtérique : L'injection au cheval dans des conditions déterminées, du germe ou de la toxine antigénique suscitait l'apparition d'anticorps dans son sang, à partir du quel on préparait le sérum. Le cheval est longtemps resté la principale source des sérums utilisés en thérapeutique, ce type de sérum dit hétérologue car provenant d'une autre espèce, a été abandonnée du fait des accidents allergiques (choc anaphylactique, maladie sérique) qu'il risque de provoquer. Il est remplacé par les immunoglobulines (gamma globulines) purifiées, d'origine humaine, les immunoglobulines peuvent être polyvalentes ou spécifiques et sont obtenues par séparations du plasma des globules de sang (plasmaphérèse ) chez les convalescents ou chez des donneurs immunisés.(13)

✸ **Administration du sérum :**

Une sérothérapie est d'autant plus efficace qu'elle est précoce, elle doit être administrée aussitôt que le diagnostic de la maladie est établi ou immédiatement après l'envenimation (piqûre du serpent par exemple). Le sérum est généralement injecté par voie sous cutanés ou intramusculaire.(20)

### I.7.2.3. Immunoprophyloxie anti- D :

Depuis longtemps il est possible de prévenir l'allo- immunisation foeto-maternelle due à l'antigène D. Cette prévention consiste à injecter des immunoglobulines anti- Rhésus (85–100 mg/ampoule) lors de chaque accouchement d'un enfant Rhésus positif par de mère Rhésus négatifs. Cet apport passif d'anticorps anti- Rhésus interdit à l'organisme maternel de s'immuniser. L'on peut supposer que les anticorps anti- D injectés viennent bloquer les sites Rhésus positifs, ces sites bloqués ne seront plus accessibles au système immunitaire de la mère, l'on peut imaginer également que les anticorps anti- D injectés détruisent immédiatement les hématies fœtales, mais deux sortes de problèmes s'imposent :

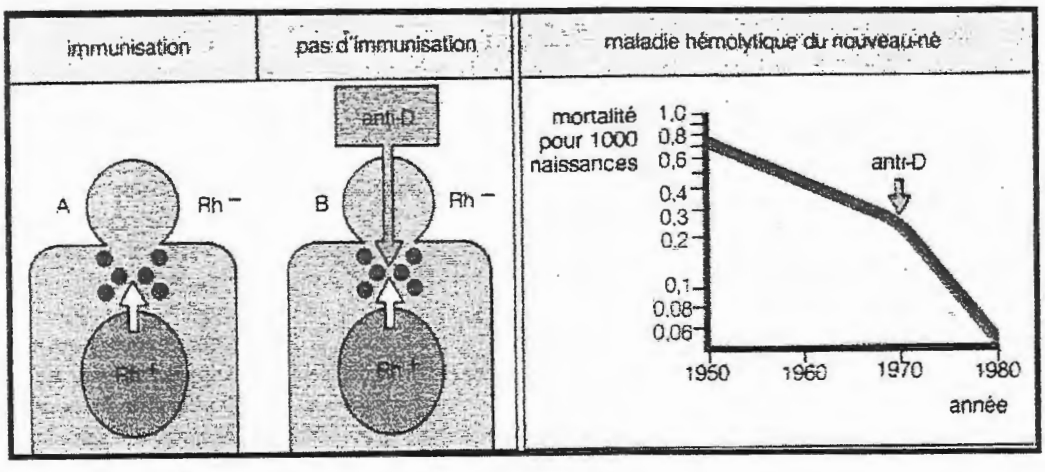



Fig M. **Prophylaxie de la maladie hémolytique du nouveau-né.** (18)

✷ **Problèmes théoriques :**

Si l'efficacité de cette prévention est bien certaine, l'ensemble des phénomènes mis en jeu n'est pas parfaitement clair et bien des points ne sont pas élucidés.

Les passages transplacentaires d'hématies fœtales étant fréquents durant la plupart des grossesses, on s'explique mal pourquoi l'immunisation n'apparaît qu'après la naissance et non au cours de la première gestation d'un enfant Rhésus positif.(24)

L'incompatibilité ABO de l'enfant avec sa mère explique la disparition des hématies fœtales de la circulation maternelle, mais non que l'antigène Rhésus n'y soit source d'immunisation, cette remarque s'applique également au traitement préventif par l'injection d'anti- D dont le mécanisme intime demeure hypothétique.

L'abondance de la transfusion foeto- maternelle joue un rôle déterminant, l'immunisation étant d'autant plus fréquente que le saignement est plus important, on se demande alors pourquoi la majorité des parturientes ayant reçu du sang fœtal Rhésus positif ABO compatible échappe à l'immunisation. (24)

✷ **Problèmes pratiques :**

De nombreux problèmes pratiques sont posés par une extension de ce traitement, ils sont tous liés au fait que l'anti- D utilisé est exclusivement d'origine humaine, ce qui le rend particulièrement rare.

Alors comment se procurer les gamma globulines nécessaires ?, Sachant que ces immunoglobulines anti- Rhésus doivent être préparés à partir de sérum contenant des anticorps de titre élevé ( supérieur à 1/500 par la réaction de COOMBS indirects et puisque actuellement les immunisations transfusionnelles soit supérieur ou égale à 1/512 selon la méthode indirect de COOMBS). C'est à dire que les donneurs sont peu nombreux et que des titres élevés, rarement atteints, ne sont guère durables, les prélèvements sont faits par plasmaphérèse. Ce qui permet de les rendre beaucoup plus abondants et fréquents que l'habituel don du sang. Néanmoins, les quantités de plasma ainsi recueillis sont loin de pouvoir satisfaire les besoins, il faut noter que les sérums tests destinés à l'identification

des groupes sanguins ont la même origine et constituent une utilisation qui doit rester prioritaire.(24)

En outre, dans la mesure ou la thérapeutique préventive sera étendue, cette source va être appelée à disparaître, il est donc impérieux de promouvoir rapidement une politique d'immunisation de volontaires, hommes ou femmes ménopausées ou stérilisées, mais la difficulté consiste à recruter des donneurs acceptant de courir les risques transfusionnels et surtout l'hépatite, liés aux techniques d'immunisations. (24)

Un autre problème dû à l'origine humaine des anti- D réside dans le danger de transmissions de l'hépatite virale, lorsqu'on utilise du plasma ou du sérum, il est possible d'y pallier par la transformation du plasma en gamma globulines.

Malheureusement, l'acquisition de cette sécurité s'accompagne de grandes pertes en cours de fractionnement, un titre de plasma titrant 1/1024 en méthode de COOMBS ( ce qui est loin d'être fréquent) pourrait fournir 30 doses de 750 µg s'il était utilisé tel quel, après extraction des gamma globulines on peut espérer en obtenir13 dans les meilleurs cas.(16)

✸ **Solutions actuelles :**

En attendant que la production d'anti- D puisse satisfaire tous les besoins, nous nous trouvons dans l'impossibilité d'étendre à toutes les accouchées le bénéfice du traitement préventif, cette pénurie doit conduire à l'utilisation la plus judicieuse des gamma- globulines actuellement disponibles.

Il faut d'abord déterminer la dose minimum efficace en fonction du volume de l'hémorragie fœtale, la plus part des posologies injectées jusqu'ici semblent avoir été excessif, en général on injecte les immunoglobulines anti- D à une dose de l'ordre de 1oo µg d'anticorps lorsque l'hémorragie foeto- maternelle est inférieur à 5 ml, par voie intraveineuse dans les 48 heures ou au plus tard dans les 72 heures qui suivent l'accouchement ou bien par voie intramusculaire, mais nécessite alors des doses de 200 à 250 µg. (21)

Dans les cas rares, 1% où l'hémorragie foeto- maternelle évaluée par le test de KLEIHAUER, est plus importante, la posologie devra être nettement augmentée, on se basera pour considérer que celle ci a été suffisante sur l'existence, 24 heures après l'injection d'un accès d'anticorps anti- Rhésus libre dans le sérum.

Il est nécessaire d'opérer une sélection pour ne traiter que les femmes présentant le plus grand risque d'immunisation.(21)

On sait en effet que ce danger ne devient notable que lorsque l'enfant est ABO compatible avec sa mère et que le risque augmente avec le volume de la transfusion foeto- maternelle, de 8% lorsque le saignement est inférieur à 0,1 ml de sang fœtal, il atteint 20% si la transfusion est supérieure à 0,1 ml

L'un des principaux critères de la sélection se trouve dans l'abondance du saignement foeto- maternel. On peut le détecter et le mesurer grâce à la méthode de KLEIHAUER. (21)

**Introduction**

L'immunohématologie est issue de la sérologie des globules rouges. La découverte par LANDSTEINER en 1900 du système de groupe sanguin ABO a suscité le concept du système d'antigènes polymorphes des cellules sanguins. Ceci marqua le début de la pratique moderne de la transfusion sanguine. La contribution majeure suivante dans le domaine de la sérologie des erythrocytes, et de l'immunologie en général, a été l'introduction par COOMBS, MOURANT et RACE en 1945 de la technique des antiglobulines humaines pour la détection anticorps « incomplet » (non agglutinants). En plus de son application au problème de l'alloimmunisation associée à la transfusion et la grossesse. (5)

Des anticorps anti- immunoglobulines ont été préparés la première fois par ROBIN COOMBS pour étudier la maladie hémolytique du nouveau-né ou erythroblastose fœtale, le test qu'il mit au point est d'ailleurs appelé le test de COOMBS. La maladie hémolytique du nouveau-né apparaît lorsque la mère fait des anticorps IgG spécifique du facteur Rhésus ou antigènes de groupe sanguin RH exprimé sur les globules rouges du fœtus.

La recherche d'anticorps irréguliers est indiquée chez la femme enceinte de phénotype Rh négatif, cette recherche est systématique au moins a quatre reprises :

Avant la fin du troisième mois, au cours du sixième mois, dans les quinze premiers jours du huitième mois et a l'accouchement ou dans les huit semaines suivantes.

La (RAI) est un examen de réalisation difficile et d'interprétation souvent complexe. Cet examen, réalisé dans de bonnes conditions, est la base de la prévention et de la détection des accidents d'allo-immunisation foeto- maternelle.(25)

Les RAI sont essentiellement pratiquées selon des techniques manuelles. Trois techniques exécutées conjointement sont souhaitables pour mettre en évidence la totalité des anticorps irréguliers :

→ le test d'agglutination en saline a la température du laboratoire.

→ le test de COOMBS indirect.

→ un test au enzyme. (25)

# II. Patients, matériels et méthodes :

## II.1. Patients et matériels :

### II.1.1. Patients :

Notre études est portée sur 8 femmes Rhésus négatif, primipares ou multipares qui ont déjà subi a l'immunoglobuline anti-D, et dont leur COOMBS indirect effectué ( au 3ème mois, 5ème mois ou 9ème mois de grossesse) a montré un résultat négatif en ce qui concerne la recherche des anticorps irréguliers de type anti- Rhésus (D standard).

**Antécédents :**

Se sont tous les renseignements donnés sur les patientes pouvant aider à notre étude.

Ces antécédents ou renseignements sont notés sous forme d'une fiche de renseignement de sorte (2):

**Femme :** **Mari**

Nom : Groupage :

prénom : phénotype :

age :

adresse :

Groupage :

Phenotype :

Nombre de grossesse :

Avortement :

Transfusion :

Nombre d'enfant :

| N° | Groupage |
|---|---|
| | |

- Sérothérapie à l' anti-D :

  Dose injectée :

  Voie d'introduction :

**Prélèvement :**

Le prélèvement doit être assuré selon des règles bien précises. La personne ayant effectué le prélèvement porte sur l'étiquette les indications suivantes, concerné le sujet prélevé :

- Nom (complété s'il y a lieu par le nom marital) .
- Prénom
- Le sexe
- La date et lieu de naissance
- La date de prélèvement, et si possible le lieu.

La vérification directe d'identité doit être réalisée par la personne effectuant le prélèvement.

Si l'on prélève du sang à plusieurs personnes comme s'est souvent le cas en milieu hospitalier, les étiquettes ne doivent jamais être fixées d'avance sur les flacons ou les tubes. C'est immédiatement après chaque prélèvement, et après contrôle d'identité que l'étiquette doit être remplie puis placée sur le flacon ou le tube.(28)

Une dernière vérification doit être effectué en faisant relire par le patient l'étiquette collée.(28)

Les contrôles doivent être particulièrement vigilants chez les sujets comateux, chez les nouveau-nés et plus généralement chez tout sujet in-interrogeable.

Dans tous les cas, il convient de joindre au flacon étiqueté une fiche d'accompagnement, sur la quelle figureront outre les mentions déjà portées sur l'étiquette :

- La nature d'examen demandé ;
- Le nom, la qualité et la signature de la personne ayant effectué le prélèvement.

Les prélèvements du sang utilisés dans notre étude sont effectués sur des tubes propres contiennent l'anticoagulant (E.D.T.A). (28)

La voie d'accès est la veine superficielle du plaie de coude. Pour déterminer les femmes Rhésus négatif prises en considération un COOMBS indirect effectue au 3ème mois, 5ème mois ou au 9ème mois de la grossesse doit être négatif dont le nouveau-né est rhésus positif avec un COOMBS direct négatif.

Pour le contrôle de l'efficacité de l'anti-D injecté chez ces femmes, un prélèvement est effectué après 12 à 24 heures de l'injection, sur un tube propre pour effectuer un autre test de COOMBS indirect.(17)

### II.1.2. Matériels utilisés :

- Tubes propres
- Pipettes : 50µl , 1000 µl.
- Centrifugeuse.
- Bain-marie à 37C°.

## II.2. Méthodes :

### II.2.1.L'agglutination :

La réaction d'agglutination est provoquée par la fixation d'anticorps a des antigènes de surface (cellules, bactéries) ou a des antigènes solubles fixés à des particules de grande taille (billes de latex). L'agglutination est un phénomène complexe qui met en jeu des modifications des charges électriques à la surface des particules. (29)

Deux forces antagonistes interviennent dans l'interaction des particules entre elle, la tension inter-faciale qui tend à agréger les particules entre elles, et la force de répulsion qui a un effet opposé provenant des charges électriques des particules. Les anticorps doivent donc former un nombre suffisant de liaisons entre les particules pour surmonter les forces de répulsion., Aussi avidité des anticorps multivalents de type IgM, plus forte que celle des IgG fait que les IgM sont de très bons anticorps agglutinants. Dans ce cas la réaction anticorps-Antigène se traduit par la formation d'un agglutinant visible à l'œil nu.(29)

**a. l'agglutination directe ou active :**

On parle d'agglutination directe ou active lorsque l'antigène est naturellement présent à la surface d'une particule ou d'une cellule. Le mélange sur plaque de verre, en tube ou en microtitration. Des particules en suspension avec l'anticorps en solution permettent la formation d'un agglutinant. Cette réaction est très largement appliquée à la détermination des groupes sanguins sur les globules rouges.(29)

**b. L'agglutination indirecte ou passive :**

Dans ce cas l'antigène qui est sous forme soluble a été préalablement fixé sur un support figuré inerte par une liaison mettant en jeu des structures n'intervenant pas dans la réaction Antigène- Anticorps. Cette technique est très utilisé pour la recherche d'anticorps anti-globules rouges réalisé par le test de COOMBS.(29)

**II.2.2. Groupage sanguin ABO-Rh (D) :**

a. Une détermination du groupage ABO incluant une épreuve globulaire : c'est la méthode de BETH-VINCENT.

La détermination des antigènes mise en présence des globules rouges du sujet à grouper (antigènes inconnus) et d'un anticorps connu (sérum test) anti A, anti B, anti A+B. (6)

**Tableau n° 07 : Détermination des groupes sanguins par l'épreuve globulaire** (6)

| | Sérum anti A | Sérum anti B | Sérum anti A+B |
|---|---|---|---|
| **A** | ◍ | ○ | ◍ |
| **B** | ○ | ◍ | ◍ |
| **AB** | ◍ | ◍ | ◍ |
| **O** | ○ | ○ | ○ |

◍ Hématies agglutinées

○ Hématies non agglutinées

b. Une détermination du groupe Rh(D). Cet examen comprend la recherche du phénotype D faible dans le cas des examens prénataux et post- natals de la mère et de l'examen des nouveaux-nés de mères Rh (D) négatif.(6)

*** Recherche de D faible ($D^u$) :**

- Faire 3 lavage à l'eau physiologique à 37 C° des hématies.
- Faire une suspension à 3-5% des hématies lavées.
- Mettre dans un tube à hémolyse propre :

  100µl de la suspension et 2 gouttes de l'anti- D type IgG.
- Incuber 30-45 min à 37 C° au bain-marie.
- Faire 3 lavages à l'eau physiologique.
- Au dépôt du dernier lavage, rajouter :

1 goutte d'anti-globuline humaine

- Centrifuger pendant 1 min à faible tour 1500 t/min
- Lecture :
  - Si agglutination → $D^u$.
  - Si pas d'agglutination → Rhésus négatif.

### I.2.3. Phénotypage :

Détermination des phénotypes Rh (hors antigène D) antigène C,c,E,e et Kell (K). Pour cela on utilisant les réactifs suivants : Anti C, Anti c , Anti E, Anti e , Anti K. (6)

**Exemple :**

Anti K Anti C Anti c Anti E Anti e

Le phénotype est : $K^- C C^- \bar{e} \bar{e}$

Dont :

: Hématies agglutinées

: Hématies non agglutinées

## II.2.4. Test de KLEIHAUER :

### a. Principe :

Il a pour but de mettre en évidence, sitôt l'accouchement la présence d'hématies fœtales dans la circulation maternelle en se basant sur le caractère de résistance à la dénaturation acide de l'hémoglobine fœtale.

### b. Technique :

- **Réactifs :**

  - Solution tampon : phosphate- acide citrique, PH = 3.
  - Solution A : $PO_4HNa_2$ anhydre 28,4 g,

    $H_2O$ distillé qsp 1000 ml
  - Solution B : acide citrique mono hydraté 19,2 g.

    $H_2O$ distillé qsp 1000 ml
  - Mélange extemporanément A : 28,5 ml

    B : 71,5 ml.
  - Alcool éthylique 80°.

- **Mode opératoire :**

Faire sur les frottis fins et réguliers du sang maternel les opérations suivantes :

- Fixation 5 minutes dans l'alcool.
- Séchage à l'air
- Incubation dans la solution tampon PH=3 pendant 7 minutes.
- Rinçage à l'eau distillée.
- Coloration à :

  1- l'hemalun 10 minutes

  2- la safranine à 1% 10 minutes.

### c. Lecture :

Les hématies fœtales apparaissent nettes et colorées tandis que les hématies maternelles sont presque invisibles.

Etablir le pourcentage d'hématies fœtales en comptant de 20000 à 30000 hématies maternelles.

Une hématie fœtale pour $10^4$ hématies maternelles correspond à l'introduction d'environ 0,5 ml de sang fœtal dans la circulation de la mère, quantité suffisante pour provoquer l'immunisation.

**Remarque :** par manque de réactif au niveau des laboratoires de Jijel, ce test était impossible à effectuer.

### II.2.5 Test de COOMBS :

**Principe du test de COOMBS :**

Certains anticorps anti-hématies est non agglutinants dans les conditions habituelles des réactions d'agglutination. Ils peuvent être mis en évidence grâce au test de COOMBS. La recherche d'une incompatibilité foeto-maternelle dans le système Rhésus constitue un exemple classique d'utilisation de ces tests. Deux techniques sont alors possible, selon que le prélèvement a lieu chez le nouveau-né ou chez la femme enceinte Rhésus négatif.(15)

- **Chez un nouveau-né Rhésus positif :**

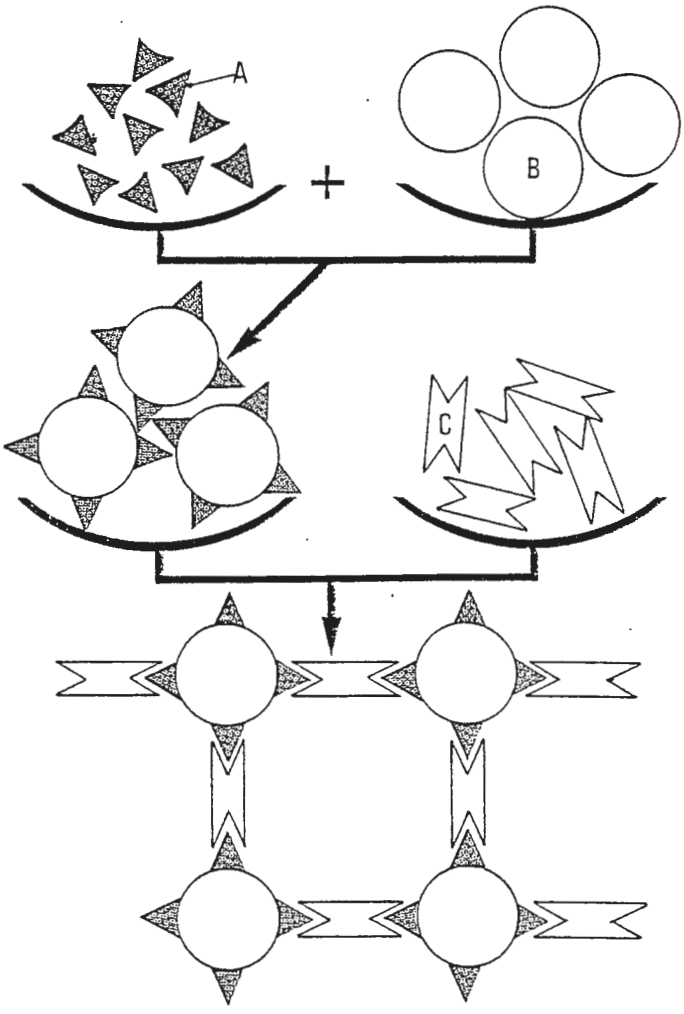
Des anticorps anti- Rhésus d'origine maternelle risquent de se fixer sur les globules rouges, si la mère est Rhésus négatif on ajoute a ces hématies suspectes un sérum anti-gammaglobulines. Ce sérum n'agglutine pas des hématies normales, en revanche il provoque l'agglutination des globules rouges ayant a leur surface des anticorps anti- Rhésus : c'est le test de COOMBS direct.

- **Chez une femme enceinte Rhésus négatif :**

Il existe aussi un test de COOMBS indirect qui sert a détecter des anticorps anti-RH non agglutinants qui sont libres dans un sérum.(15)

**Principe du test de COOMBS indirect :**

Il repose sur la fixation in vitro de l'anticorps spécifique sur l'hématie, puis dans un second temps, la révélation de cette fixation par une anti-globuline. C'est une des méthodes qui sert a démontrer la présence dans un sérum d'anticorps capable de se fixer sur des hématies.(19)




**Test de COOMBS indirect**

A. Anticorps Anti-Rhésus
B. Globules rouges Rhésus positif
C. Anticorps Anti-gammaglobulines

**Réalisation du test de COOMBS indirect :**

**a. Réactifs :**

- Sérum à étudier : prélever sur un tube propre, contient l'anticoagulant 5 ml de sang, après rétraction du caillot sanguin, recueillir le sérum dans un autre tube propre.
- Hématies O Rhésus positif lavées 3 fois en eau physiologique et diluées à 5% (une suspension).
- Anti- globuline polyvalent.

**b. Mode opératoire :**

- Mettre dans un tube propre :

  1v de suspension de globules rouges + 1v de sérum de la malade (de la femme).

- Incuber 45 min à 37 C° .
- Faire 3 lavages à l'eau physiologique à 37 C°.
- Au dépôt du dernier lavage, rajouter :

  1 goutte d'anti-globuline polyvalent (= 20µl)

- Faire une Centrifugation rapide.

**c. Lecture :**

1- test positif : présence d'agglutination → présence d'anticorps anti-D.

2- test négatif : absence d'agglutination → absence d'anticorps anti-D.

Ou le taux d'anti- D injecté et celui des hématies fœtales Rhésus positif sont égaux.(19)

**1er cas :**

**Femme :** **Mari**

Nom : D née N Groupage : $O^+$

prénom : Dalila

age : 23 ans

adresse : Jijel

Groupage : $O^-$

Phenotype : $K^-$ $cc^-ee^-$

Nombre de grossesse : 1

Avortement : /

Transfusion : /

Nombre d'enfant : 1

| N° | Groupage |
|---|---|
| 1 | $O^+$ |

- Sérothérapie à l'anti-D : 1 fois

  Dose injectée : 250 µl.

  Voie d'introduction : I/M

  Examen immunologique (RAI) : /

- Coombs indirect (avant l'injection d'anti-D) : négatif
- Coombs indirect (après l'injection d'anti-D) : négatif

**2ème cas :**

**Femme :** **Mari**

Nom : L née B Groupage : $B^+$

prénom : Amel

age : 23 ans

adresse : Tassoust –Jijel.

Groupage : $O^-$

Phenotype : $K^- Cc^-ee^-$

Nombre de grossesse : 2

Avortement : /

Transfusion : /

Nombre d'enfant : 2

| N° | Groupage |
|---|---|
| 1 | $B^+$ |
| 2 | $B^+$ |

- Sérothérapie à l'anti-D : 2 fois

  Dose injectée : 250 µl.

  Voie d'introduction : I/M.

  Examen immunologique (RAI) : /

- Coombs indirect (avant l'injection d'anti-D) : négatif
- Coombs indirect (après l'injection d'anti-D) : négatif

**3ème cas :**

**Femme :** **Mari**

Nom : B Groupage : $AB^+$

prénom : Nacera

age : 32 ans

adresse : Setif.

Groupage : $A^-$

Phenotype : $K^-$ CCee

Nombre de grossesse : 3

Avortement : 1 fois à 3 mois

Transfusion : /

Nombre d'enfant : 2

| N° | Groupage |
|---|---|
| 1 | $AB^+$ |
| 2 | $AB^+$ |

- Sérothérapie à l'anti-D : 3 fois

  Dose injectée : 250 µl.

  Voie d'introduction : I/M.

  Examen immunologique (RAI) : /

- Coombs indirect (avant l'injection d'anti-D) : négatif
- Coombs indirect (après l'injection d'anti-D) : positif

**4ème cas :**

**Femme :**

Nom : Mme L née H

prénom : Razika

age : 37 ans

adresse : Jijel.

Groupage : $A^-$

Phenotype : $K^-$ $cc^-ee^-$

Nombre de grossesse : 6

Avortement : /

Transfusion : /

Nombre d'enfant : 4

**Mari**

Groupage : $A^+$

| N° | Groupage |
|---|---|
| 1 | $A^-$ |
| 2 | $A^-$ |
| 3 | $A^-$ |
| 4 | $A^+$ |
| 5 | $A^+$ |
| 6 | $A^+$ |

- Sérothérapie à l'anti-D : 3 fois

  Dose injectée : 250 µl.

  Voie d'introduction : I/M.

  Examen immunologique (RAI) : /
- Coombs indirect (avant l'injection d'anti-D) : négatif
- Coombs indirect (après l'injection d'anti-D) : négatif

**5ème cas :**

**Femme :** **Mari**

Nom : Mme N née K Groupage : $A^+$

prénom : Hanane

age : 32 ans

adresse : Jijel.

Groupage : $O^-$

Phenotype : $K^- cc^-e^-e^-$

Nombre de grossesse : 3

Avortement : /

Transfusion : /

Nombre d'enfant : 3

| N° | Groupage |
|---|---|
| 1 | $A^+$ |
| 2 | $O^-$ |
| 3 | $A^+$ |

- Sérothérapie à l'anti-D : 2 fois

  Dose injectée : 250 µl.

  Voie d'introduction : I/M.

  Examen immunologique (RAI) : /

- Coombs indirect (avant l'injection d'anti-D) : négatif
- Coombs indirect (après l'injection d'anti-D) : positif

**6ème cas :**

**Femme :** **Mari**

Nom : B Groupage : $B^+$

prénom : Hafida

age : 23 ans

adresse : Selma Jijel.

Groupage : $B^-$

Phenotype : $K^-$ cc ee

Nombre de grossesse : 1

Avortement : /

Transfusion : /

Nombre d'enfant : 1

| N° | Groupage |
|---|---|
| 1 | $B^+$ |

- Sérothérapie à l'anti-D : /

  Dose injectée : /.

  Voie d'introduction ; /.

  La sérothérapie n'a pas été fait par manque d'anti-D

  Examen immunologique (RAI) : /

- Coombs indirect (avant l'injection d'anti-D) : négatif

**7ème cas :**

**Femme :** **Mari**

Nom : H Groupage : $O^+$

prénom : sihem

age : 26 ans

adresse : Kaous Jijel.

Groupage : $A^-$

Phenotype : $K^-$ cc ee

Nombre de grossesse : 1

Avortement : /

Transfusion : /

Nombre d'enfant : 1

| N° | Groupage |
|---|---|
| 1 | $O^+$ |

- Sérothérapie à l'anti-D : 1 fois (après 72 heures)

  Dose injectée : 250 µl.

  Voie d'introduction : I/M

  Examen immunologique (RAI) : /

- Coombs indirect (avant l'injection d'anti-D) : négatif
- Coombs indirect (après l'injection d'anti-D) : négatif

**8ème cas :**

**Femme :** **Mari**

Nom : K Groupage : $AB^+$

prénom : Khadidja

age : 36 ans

adresse : Jijel.

Groupage : $O^-$

Phenotype : $K^-$ cc ee

Nombre de grossesse : 4

Avortement : /

Transfusion : /

Nombre d'enfant : 4

| N° | Groupage |
|---|---|
| 1 | $A^+$ |
| 2 | $O^-$ |
| 3 | $A^+$ |
| 4 | $B^+$ |

La femme n'a jamais reçu l'anti-D

Les anticorps irréguliers- erythrocytaires sont actuellemet responsables d'accidents foeto- maternels qui sont d'autant plus regrettables qu'une bonne organisation de détection de ces anticorps a montré que ces accidents pouvaient être évités, la recherche d'anticorps irréguliers est indiquée chez la femme enceinte de phénotype Rh négatif. Par manque des réactifs, l'application de cette technique au niveau du laboratoire du CTS à l'hôpital de Jijel est impossible. Le test de COOMBS est le plus important des trois tests de la technique du RAI, donc, il est suffisant dans cette étude (recherche).

D'après le résultat du test de COOMBS indirect (après l'injection de l'anti-D), la sérothérapie est suffisante dans deux cas seulement (le cas 3 et 5) où le test est positif se qui explique la présence d'anticorps Anti-D. les autres résultats (cas 1, 2, 4, 6, 7 et 8), sont négatifs malgré l'injection d'une dose d'anti-D, cette dernière peut être insuffisante a cause de :

1. La non application du test de KLEIHAUER pour la détermination de la dose d'anti-D qui doit être administré pour la femme. Ce test n'a jamais été appliqué c'est la raison pour laquelle toutes les femmes reçoivent la même dose (250µg). et rencontrent des complications qui se traduisent soit par la mort in -utero ou par la naissance d'un bébé atteint d'ictère ou d'autre complications très graves (exemple : ictère nucléaire).

2. Il faut toujours éliminer une prise médicamenteuse concomitante qui peut être la cause d'une anémie hémolytique sévère ou modéré et peut être fausser dans ce cas l'interprétation du test de COOMBS et une mauvaise orientation sur l'efficacité de l'anti-D

**Exemple :**

Au cours de la fin de la grossesse suite à un traitement antibiotique ou autre qui peut provoquer une lyse cellulaire (lyse des globules rouges). (18)

Divers actions immunitaires envers les cellules sanguines (dont les erythrocytes) peuvent développer à la suite d'une prise de médicament. Trois mécanismes peuvent être en cause. La plupart du temps, la réaction est dirigé contre le

peuvent être en cause. La plupart du temps, la réaction est dirigé contre le médicament ou ses métabolites. La présence simultanée des anticorps et du médicament est donc nécessaire à la réaction. ACKROYD a rapporté une observation de Purpura thrombocytopénique médicamenteux après administration d'apronalide (Sedormid). Des anémies hémolytiques ont depuis été décrites après la prise de toutes sortes de médicament, en particulier la quinine et les sulfamides.(18)

Les médicaments sont parfois responsables des réactions immunitaires en induisant des auto- anticorps contre les auto- antigènes érythrocytaires. Ces réactions s'observent chez 0,3% des malades traités par α-méthyl-dopa. Les anticorps produits ressemblent aux anticorps « chaud » observés chez les anémies hémolytiques auto-immunes idiopathiques mais, à la différence de ces dernières, les cytopénies médicamenteuses régressent rapidement à l'arrêt du traitement.(18)

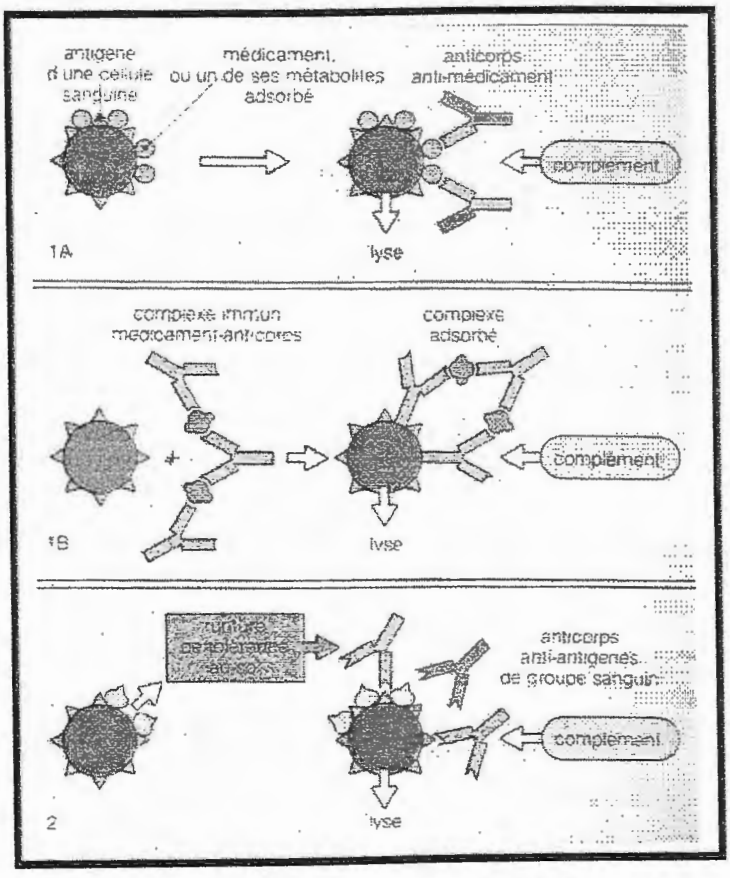



Fig 12 - **Cytopénie médicamenteuse d'origine immunitaire(18)**

Dans cette figure sont schématisés les trois mécanismes par lesquels un traitement médicamenteux peut induire une réaction conduisant a la lyse des éléments figurés du sang.

1A : les substances médicamenteuses (ou leur métabolites) sont adsorbées sur la membrane cellulaire. Si des anticorps sont produits contre ces substances, ceux ci se lient aux cellules qu'ils lisent en présence de complément.

1B : des complexes immuns anticorps- médicaments sont adsorbés sur les érythrocytes. La liaison se fait par l'intermédiaire de C3 (adhérence immune) et/ou des récepteurs pour la région Fc des Ig. La destruction cellulaire est du a une lyse mettant en jeu le complément.

2 :les médicaments, vraisemblablement adsorbés sur la membrane cellulaire, produisent une rupture de tolérance au soi (par stimulation des cellules Th ?). il en résulte la formation d'anticorps contre les antigène de groupe sanguin.

On remarque qu'en 1A et 1B, l'anticorps est dirigé contre le médicament lui même, alors qu'en 2 il est dirigé contre des antigènes normaux de la membrane cellulaire. Dans ce cas, l'anticorps est capable de détruire les cellules, qu'elles portent ou non le médicament a leur surface. (18)

3-Le non contrôle de la date de péremption et les conditions deconservation du vaccin.

4- L'éducation sanitaire des femmes Rhésus négatif quelque soit leur niveau intellectuelle (l'ignorance du cas N°. 8 la méconnaissance de son groupage et le sens du mot Rhésus ).

La non immunisation des femmes Rhésus négatif qui n'ont pas reçu l'anti-D et leurs enfants sont Rhésus positif. Nous pouvons expliquer ce cas dans l'incompatibilité dans le système Rhésus est liée à une autre incompatibilité au système ABO.

**Exemple :**

Mère O Rhésus négatif ⟶ bébé A ou B Rh positif.

Mère A Rhésus négatif ⟶ bébé B Rh positif.

Mère B Rhésus négatif ⟶ bébé A Rh positif.

Cette non immunisation est expliquer par la présence des anticorps naturels anti-A et anti-B (dans le sérum de la mère) qui éliminent les hématies fœtales dans la circulation maternelle.

# CONCLUSION

L'injection de Gamma- globuline spécifique anti-D aux femmes Rhésus négatif venant de données naissance a un enfant Rhésus positif réalise une prévention efficace de l'allo- immunisation maternelle afin de pouvoir généraliser ce traitement et l'étendre aux femmes venant de présenter une fausse couche, il faut multiplier au moins par 100 la production d'anti- D seulement l'immunisation de volontaire. Rhésus négatif, permettra d'atteindre ce but, et on pourra envisager une large prévention et par conséquent, l'éradication de la maladie hémolytique néo-natale.

Malheureusement, cet objectif, d'un immense intérêt, paraît assez loinain. A l'heure actuelle, la pénurie d'anti-D rend inéluctable un choix parmi les candidates au traitement, il n'est encore possible d'en faire bénéficier que la minorité ayant le plus grand risque de s'immuniser.

# Bibliographie


(1)- AUBERT.F, GUITTARD.P : « L'essentiel médical ».
Edition ELLIPES- Paris, 1991.

(2)– BATES.B.m.d : « Guide des examens cliniques »
Edisem INC, 1980

(3)– BELHANI.M : « Hématologie ». - Tome II
Réimpression, 1989.

(4)– BENZAIR.A.B « Immunologie », 1995.

(5)– BROSTOFF.J, SCADDING.G, MALE.D, ROITT.I:« Immunologie clinique»
Fiona- Foley, 1991.

(6)– CAQUET.R : « Guide pratique des examens de laboratoire », 1994.

(7)– CHARPIN.J : « Allergologie »
2ème édition Flammarion, 1986.

(8)– CONTANT.A : « Guide médical pratique », 1989.

(9)– DELMARE.J : « Dictionnaire des termes de médecine ».
24ème édition Maloine, 1989.

(10)– DEPELCHIN.A : « Immunobiologie »
2ème édition, 1997.

(11)- DIETERLEN.F : « La recherche spécial (le sang) »
Mensuel N° 254, Mai 1993.

(12)- EDWINGE.A : « Attendre mon enfant aujourd'hui »,
Décembre 1994.

(13)- Encyclopédie médicale pratique : Copyright C 1994.
The learing company. TLC- Edusoft.

(14)- FONTANEL. M, MARTIN J, THOMAS. R: « Biologie terminale D »
Edition Fernand, 1983.

(15)- GENET.N : « Immunologie ».
3ème édition, 1997.

(16)- GOUDEMAND. M, DELAMAS, MARSELET.y :
« Elément d'immuno- hématologie »
3ème édition Flammarion, 1974.

(17)- GOUDEMAND.M, SALMAN.CH : « Immuno-hématologie et immuno-génétique » Flammarion, 1980.

(18)- JONATHAN.B, ROITT.I, MALE.D : «Immunologie fondamentale et appliquée » Edition Française. Paris, 1985.

(19)- LETONTURIER.P : « Immunologie générale »
6ème édition, 1998.

(20)- MORIN.Y, GILLOT.C : « Larousse médical (en 4 volume) »
Edition compète, 1995.

(21)- POULAIN.M, DAVID.G : « La vie médicale (l'iso- immunisation Rhésus : mécanisme, diagnostic, traitement) », 1968.

(22)- RABHI.H : « Immunologie générale »
Réimpréssion, 1991.

(23)- SCHAPIRA.G : « Elément de Biochimie clinique et physiologique »
Paris, 1981.

(24)- STOPPARD. M : « Le livre de la naissance »
1ère édition, 1993.

(25)- ZITTOUN.R, BERNADOU.A, SAMAMA.M: « Manuel hématologie », 1984

(26)- www.leucémie-unle.org

(27)- www.neufmoisetplus.com

(28)- www.refer.org

(29)- www.perso.wanadoo.fr

**Annexes :**

## I. La recherche d'agglutinines irréguliers (R.A.I) :

Parmis les méthodes manuelles disponibles, trois semblent essentielles pour réaliser actuellement une recherche d'anticorps irréguliers faibles. Ces trois méthodes sont réalisées conjointement à la fois au cours du dépistage et de l'identification éventuelle. Les méthodes suivantes sont conseillées et leurs détails techniques donnés à titre d'exemple.

### 1- Le test d'agglutination en « Saline » :

**1er lavage :** laver à trois reprises au minimum en « saline » les hématies de la gamme d'hématies- tests.

**2ème lavage :** mettre dans un microtube une goutte d'hématies en suspension à 3% et une goutte de sérum à tester. Laissez incuber une heure trente à 20 plus ou moins 2C°, puis effectuer une lecture à l'aide d'un microscope ou de tout autre dispositif grossissant.

### 2- Le test de COOMBS indirect

C'est la réaction essentielle de l'immunohématologie. Il en existe plusieurs formes qui ont des avantages propres :

**Le test de COOMBS indirect normal :**

**-Lavage :** les hématies de la gamme d'hématies- tests doivent être lavées trois fois en « Saline ». Mettre les hématies en suspension à 2% en « Saline ».

**Sensibilisation :** mettre dans un tube à hémolyse un volume de sérum à tester et un volume de la suspension globulaire (un volume = une ou deux gouttes).

Laisser incuber à 37°C durant 40 minutes à l'étuve ou 35 minutes au bain-marie.

**-Lavage :** les hématies sensibilisées doivent de nouveau être lavées au moins trois fois en « Saline ».

**-Phase anti-globuline :** ajouter une goutte d'anti-globuline, puis centrifuger pendant une minute à faible tours (100 tours par minute) puis faire la lecture.

**3- Le test aux enzymes protéolytiques :**

les enzymes protéolytiques comme la broméline et la papaïne peuvent permettre de détecter de nombreux anticorps irréguliers. A titre d 'exemple le test à la papaïne 37° C est décrit :

**- Traitement des hématies lavées de la gamme d'hématies – tests par la solution de papaïne :** les conditions de ce traitement sont précisées sur la notice du producteur.

**- Lavage :** laver à trois reprises en « Saline » les hématies ainsi traitées puis remettre en suspension à 2% saline.

**- Test :** ajouter à un volume de sérum un volume d'hématies papaïnées. Laisser incuber 40 minutes à 37°C à l'étuve ou 35 minutes au bain-marie puis effectuer une lecture à l'aide d'un microscope ou de tout autre dispositif grossissant.

Par manque des moyens, ce test n'a jamais été fait à l'hôpital de Jijel.

## II. Test de COOMBS direct :

### a. Principe :

C'est la recherche des anticorps incomplets fixés en in vivo par l'anti-globuline poly-spécifique.

### b. Technique :

( sang prélevé sur anticoagulant ou sans)

- lavage en eau physiologique 3 fois
- faire une dilution à 7% des hématies lavées.
- Sur une plaque d'opaline, déposer une goutte d'hématies diluée et une goutte d'anti-globuline
- Mélanger et faire la lecture.

### c. La lecture :

Agglutination ⟶ COOMBS direct positif

Pas d'agglutination ⟶ COOMBS direct négatif.

## III. Préparation de l'anti- coagulant EDTA :.

La formule chimique d'E.D.T.A est la suivante :

$$C_{10}\,H_{14}\,N_2\,Na_2\,O_8\,.2\,H_2O$$

Le poids moléculaire (EDTA poudre) : 372,24 g/mol.

**Préparation :**

-E.D.T.A poudre : 4,45 g

-NaOH 1N : 7,5 ml

-qsp 100 ml de l'eau distillé

-Faire une filtration à ce mélange.

*Noms & Prénoms :*
**BOUDJADJA Ibtissem**
**MEZOUED Hanane**

*Date de soutenance*
**Le 08/10/2001**

## *Titre*

***Intérêt Immunologique du test de COOMBS dans l'incompatibilité Rhésus foeto-ma***

***Nature du diplôme : Diplôme d'études supérieurs (D.E.S) en Biochimie***

***Résumé :***

Le facteur Rhésus, qui tire son nom du fait que sa découverte fut faible en 1940, désigne l'ant protéine pouvant se trouver à la surface des globules rouge du sang.

L'incompatibilité au système Rhésus entre les groupes sanguins de la mère et de l'enfant (mère enfant Rh(+) ) peut donner lieu a l'hémolyse des globules rouges du fœtus. C'est ce qu'on appelle la malad hémolytique du nouveau- né.

Chez les bébés souffrants de cette maladie, la destruction des globules rouges libère un pigment jaune, la bilirubine, qui sera à l'origine d'un ictère à partir de 80 à 100mg/l ( 8h après la naissance) .

Cette situation est devenue rarissime aujourd'hui, on peut généralement la prévenir grâce à une injection d'immunoglobuline anti-D dés la première naissance d'un bébé rhésus positif. L'incompatibilité Rhésus ne se manifeste que lorsque la femme était déjà en contact avec des globules Rhésus positif, transfusion du sang Rhésus positif, précédente grossesse... etc. dans toutes ces situations, l'injection des gammaglobulines anti-D les 72 heures qui suivent la mise en contacte possible de l'organisme avec les globules rouge Rhésus positif évite la femme de devenir immunisée.

***Summary :***

The mailman Rhesus, that extricates ... its name of the fact that its discovery was weak in 1940, designate the D antigen, a protein can be to the surface of the blood globules red.

The incompatibility to system Rhesus monkey between the blood groups of the mother and the child (Rh mother (-), child Rh(+)) can give place has the hemolytic of the red globules of the fœtus. It is what one calls illness hemolytic of the new - been born.

At the suffering babies of this illness, the red globule destruction frees a yellow pigment, the bilirubine, that will be to the origin of an icter from 80 to 100 mgs/l (8h after birth).

This situation became rarissime today, one can generally warn it thanks to an injection of immunoglobuline anti-D die a baby's first birth positive rhesus monkey. Incompatibility Rhesus monkey only appears when the woman was already in contact with globules positive Rhesus monkey, transfusion of blood Rhesus monkey positive, previous pregnancy... etc. in all these situations, the injection of gamma-globulineses anti-Ds the 72 hours that follow the stake contact some possible of the organism with the globules red positive Rhesus monkey avoids the woman to become immunized.

*ملخص :*

عامل الريزوس الذي أخذ تسميته منذ إكتشافه حوالي سنة 1940، يعين مضاد الجينات " D " أحد البروتينات الذي يمكن إيجاده على جدار الكريات الحمراء للدم.

عدم التماثل في نظام الريزوس بين الزمر الدموية لكلا من الأم و الإبن (للأم ريزوس سالب و للإبن ريزوس موجب) يمكن أن ينتج تحلل كريات الدم الحمراء (هيموليز) الكبدية و هذا ما نسميه مرض الهيموليز (فقر الدم) عند الأطفال حديثي الولادة.

عند الأطفال الذين يعانون من هذا المرض يحدث تحطم الكريات الحمراء تحرير صبغة صفراء " البيروبين" الذي يتحول إلى ictèr بعد تجاوز حجد ال80مغ إلى 100مغ/ل بعد 8سا من الولادة. هذه الحالة أصبحت محدودة التأثير في يومنا هذا إذ يمكن تجاوزها عن طريق حقنه من الغاماغلوبين ضد "D" تعطي للأم عند ولادة الطفل جديد يحمل الريزوس الموجب.

عدم تطابق الريزوس لن يؤثر إلا في حالة ما إذا كانت الأم قد سبق و أن حدث لها حالة إتصال مع ريزوس موجب، مثلا: عند حدوث ولادة قصرية لمولود يحمل الريزوس الموجب(+)، حقنها بدم يحمل الريزوس الموجب، عند الحمل السابق...الخ.

في كل هذه الحالات، الحقن بالغاماغلوبين ضد ال « D » في 72 ساعة التي تلي الإتصال المحتمل للجسم مع الكريات الحمراء ذات الريزوس الموجب(+) تعطي للمرأة المناعة الكافية.

**Mots clés :**-Test de COOMBS –Incompatibilité foeto-maternelle –Rhésus – Immunoglobuline – Anti-D