

Travaux pratiques d'interface système immunitaire- microorganismes

Master I Microbiologie Appliquée

TP N° 2 : Réponse immunitaire (Réaction anticorps-antigène) : cas de groupage sanguin

Introduction

Un **groupe sanguin** est une classification de sang reposant sur la présence ou l'absence de substances antigéniques héritées à la surface des globules rouges (hématies). Ces antigènes peuvent être des protéines, des glucides, des glycoprotéines ou des glycolipides, selon le système de groupe sanguin, et certains de ces antigènes sont également présents à la surface d'autres types de cellules de différents tissus.

Les divers groupes sanguins sont regroupés en systèmes. Appartiennent à un même système de groupes sanguins l'ensemble des épitopes ou phénotypes résultant de l'action des divers allèles d'un même gène ou de gènes étroitement liés.

Les antigènes sont des molécules qui couvrent la surface de toutes les cellules de l'organisme et participent à son identité. Elles sont les cibles des anticorps lorsqu'elles sont identifiées comme étrangères. Mais les antigènes concernent aussi bien des substances extérieures à l'organisme et contre lesquelles réagissent les anticorps : le pollen, la poussière, certains aliments ou médicaments, ou les poils léchés d'animaux.

Les anticorps sont des molécules produites par les lymphocytes B du système immunitaire qui réagissent avec les antigènes n'appartenant pas à l'organisme. Elles attaquent le non-soi. Certains anticorps sont fabriqués « à la demande » (défense contre les bactéries...), d'autres existent naturellement dans l'organisme (ce qui fut découvert avec le système ABO).

Lorsqu'un anticorps se fixe spécifiquement à un antigène situé à la surface des globules rouges, il provoque l'**agglutination**, parfois l'hémolyse (destruction), de ces derniers. Cette agglutination peut être soit immédiate, et c'est ainsi que le système ABO a été découvert, soit « aidée » par une technique d'agglutination artificielle.

1. Groupe sanguin

Les principaux groupes sanguins sont ceux qui définissent les systèmes ABO et Rhésus, mais il en existe beaucoup d'autres. Ces deux systèmes sont les plus importants, en pratique. Le premier, ABO, car il entraîne un accident transfusionnel immédiat en cas de transfusion incompatible, et de ce fait a été le premier découvert. Le second, Rhésus, car l'immunogénicité de deux de ses antigènes (D, et c, surtout) entraîne très fréquemment des immunisations sources d'accidents ultérieurs et d'incompatibilités fœto-maternelles.

1.1. ABO et RH, modèles de groupes sanguins érythrocytaires

Ces deux systèmes sont les plus importants, tant dans la pratique médicale, que pour leur intérêt historique, car ils ont fourni les bases génétiques, immunologiques pour toutes les études ultérieures des autres systèmes.

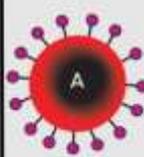
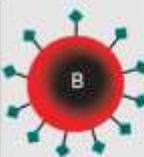
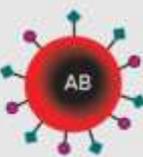
1.1.1. Le système ABO

Découvert en 1900 par Landsteiner, le système ABO permet de classer les différents groupes sanguins selon :

- La présence ou non d'antigènes A ou B à la surface des globules rouges.

Ainsi les globules rouges du groupe sanguin A possèdent des antigènes A, ceux du groupe B des antigènes B, ceux du groupe AB des antigènes A et B alors que ceux du groupe O ne contiennent pas d'antigènes de type A ni de type B.

- La présence ou non d'anticorps anti-A ou anti-B dans le sérum. La présence d'antigènes d'un certain type impliquant l'absence d'anticorps de cette spécificité (sous peine de formation d'un complexe anticorps-antigènes !).
- Ces deux recherches, d'antigènes définissant l'épreuve de Beth-Vincent, et d'anticorps définissant l'épreuve de

	Groupe A	Groupe B	Groupe AB	Groupe O
Globule Rouge				
Anticorps	 Anti-B	 Anti-A	Aucun	 Anti-A et Anti-B
Antigène	 Antigène A	 Antigène B	 Antigène A et B	Pas d'antigène

Simonin-Michon sont obligatoires et doivent être concordantes pour établir un groupe sanguin ABO. Une exception toutefois chez le nouveau-né de moins de six mois dont les anticorps ne sont pas bien développés, et chez lequel ne sont donnés que des résultats non définitifs.

1.1.2. Le système Rhésus

Ce système, expliquant certains problèmes indépendants du système ABO, accidents transfusionnels et la maladie hémolytique du nouveau-né, fut découvert en 1940 par Landsteiner et Wiener.

Le système Rhésus permet de classer les groupes sanguins selon la présence ou non d'antigène D à la surface des globules rouges (rhésus est le nom d'une espèce de macaque, *Macaca mulatta*, qui a permis de mettre en évidence ce système de groupe sanguin).

Dans la pratique médicale courante, on distingue les individus rh- qui ne portent pas l'antigène D, ou RH1 dans la nomenclature internationale, sur la surface de leurs hématies et les individus Rh+, qui présentent l'antigène D. En règle générale, les sujets rh- n'ont pas d'anticorps anti-D dans leur plasma. Une transfusion est alors possible sans conséquence immédiate.

Cet anticorps n'apparaît qu'après une transfusion non iso-rhésus (transfusion d'un sang D+, RH1, à un sujet D-) ou une grossesse après la naissance d'un enfant Rh+ chez une femme rh-. On dit alors qu'il s'agit d'un anticorps irrégulier. Dans ce dernier cas, la transfusion d'un sang Rhésus positif D+ entraîne une réaction hémolytique (qui détruit les hématies) par incompatibilité Rhésus.

La notion de groupe sanguin érythrocytaire est très simple à définir. Le terme "groupe" représente un ensemble d'individus qui ont un caractère en commun et se distinguent ainsi des autres. L'adjectif "sanguin" qui lui est adjoint signifie que ce caractère concerne une cellule présente dans notre sang. Le terme érythrocytaire précise la spécificité au niveau des globules rouges.

Le groupage sanguin érythrocytaire consiste donc à trouver l'ensemble des antigènes allotypiques, génétiquement induits et déterminés, des globules rouges d'un individu pour le

faire appartenir à un groupe. Ce terme est surtout utilisé pour le système ABO qui donne donc les groupes A, B, AB et O. Le phénotypage consiste aussi à rechercher les antigènes à la surface des globules rouges afin de définir le phénotype du patient pour ce système.

Pour déterminer le groupage ou le phénotypage, il faut rechercher les antigènes à la surface des globules par l'intermédiaire d'anticorps qui sont le plus souvent des anticorps monoclonaux. Le principe consiste à mettre en contact un sérum contenant l'anticorps spécifique à l'antigène (anti-sérum) aux globules rouges du patient, après un temps d'incubation plus ou moins long qui permet de laisser le temps aux anticorps de venir à la rencontre des antigènes et de s'y fixer. Si l'anticorps se fixe à l'antigène, alors le patient possède l'antigène correspondant à l'anticorps. Par exemple, si l'on utilise un antisérum anti-A et qu'on le met en contact avec les hématies du patient, et qu'il y a formation du complexe immun antigène-anticorps, alors le patient possède l'antigène A. Il sera de groupe A ou AB.

La réaction antigène-anticorps est appelée **agglutination**. Celle-ci peut être soit visible à l'oeil (essentiellement produit par les anticorps anti-IgM), soit elle doit être mise en évidence par un anticorps anti-anticorps (antiglobuline). Cet anticorps a la capacité de se fixer aux fractions Fc des immunoglobulines afin de faire un réseau entre les globules rouges et ainsi faire apparaître l'agglutination. Cette antiglobuline est essentiellement utilisée afin de mettre en évidence des réactions de sensibilisation par des anticorps IgG.

2. Le groupage ABO-RHD

Pour définir à quel groupe ABO appartient un individu, il existe deux techniques complémentaires : l'**épreuve globulaire** et l'**épreuve sérique**. Cela pour éviter toute erreur transfusionnelle.

Pour définir le RHD, seule la technique globulaire est utilisée.

❖ Epreuve globulaire (test de BETH-VINCENT)

Cette épreuve consiste à mettre en évidence les antigènes à la surface des globules rouges du patient à l'aide d'anticorps spécifiques par agglutination des globules rouges (hémagglutination) afin de déterminer le groupesanguin du patient.

❖ **b) Epreuve sérique (test de SIMONIN)**

Cette épreuve consiste à mettre en évidence les anticorps contenus dans le plasma du patient à l'aide de globules rouges de groupe sanguins connus, également par hémagglutination.

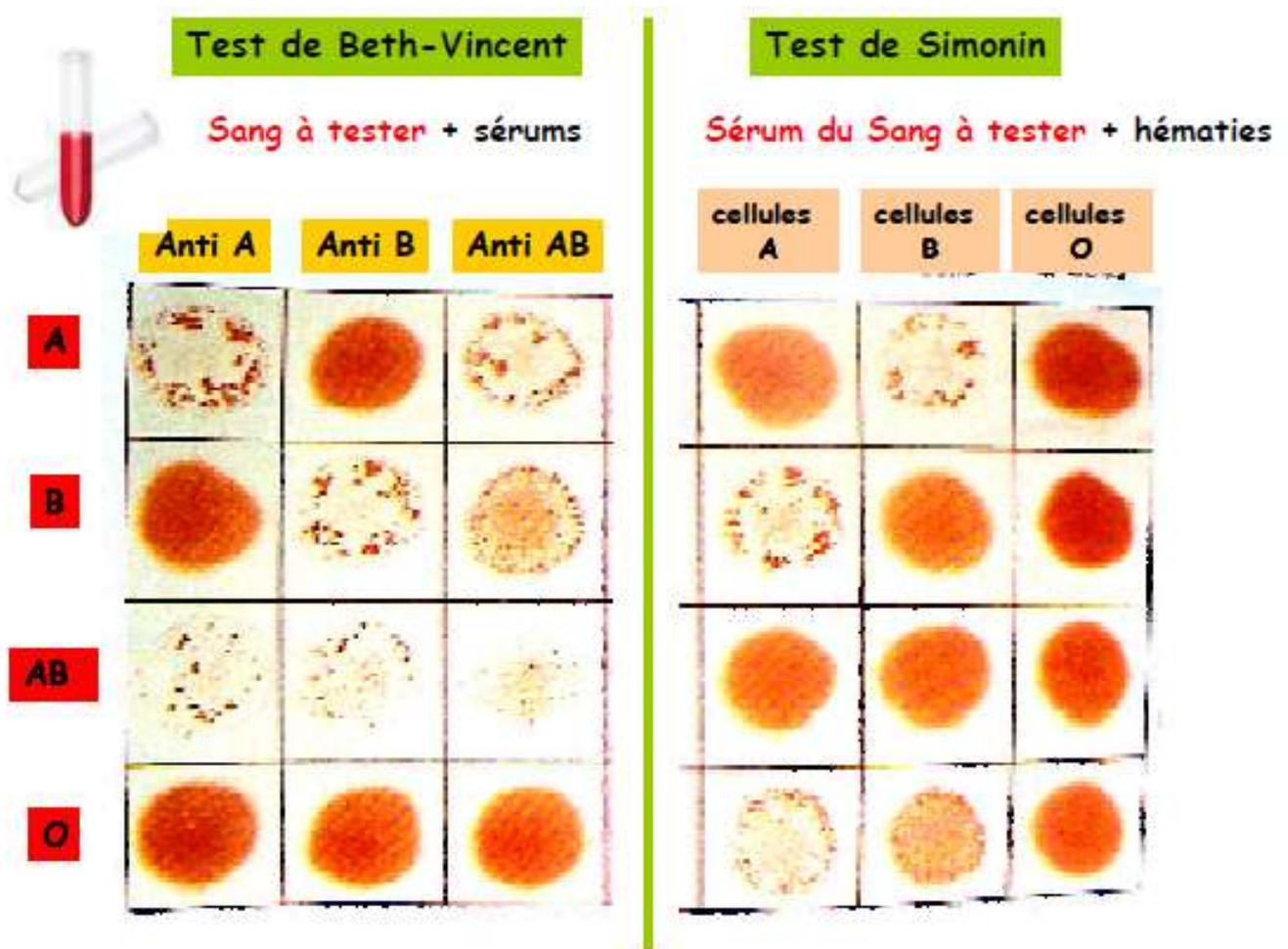


Figure 02 : Epreuve de BETH-VINCENT versus de SIMONIN.

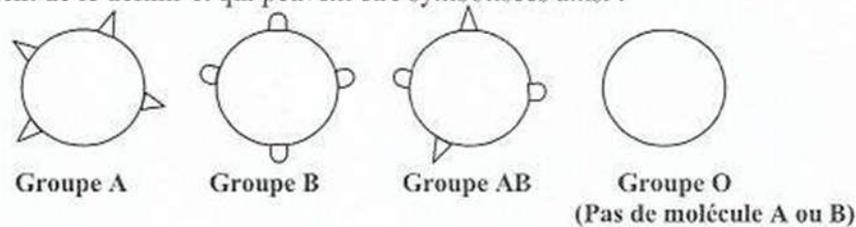
Afin qu'un groupage et qu'un phénotypage soient valides, il faut que ceux-ci aient été réalisés sur deux prélèvements distincts.

3. Protocol à suivre

Réponse immunitaire : Réaction antigène-anticorps

Objectifs : Comprendre le principe de la détermination des groupes sanguins
Comprendre l'importance de cette détermination pour la transfusion sanguine fondée sur des règles de compatibilité qui s'appuient sur la réponse immunitaire.

Rappels : Dans le système ABO de classement des globules rouges, il existe 4 groupes sanguins : [A], [B], [AB] et [O]. Les globules rouges portent à leur surface des molécules qui permettent de le définir et qui peuvent être symbolisées ainsi :



Dans le système Rhésus, le groupe sanguin est positif si les globules rouges possèdent des molécules notées Rh symbolisées par un carré \square . Il est négatif si ces molécules sont absentes.

Une personne A+, aura donc des globules avec 2 types de molécules, A (Δ) et Rh (\square). Toutes ces molécules A, B, et Rh sont des moyens d'identification des globules rouges par le système immunitaire.

Principe de la détermination des groupes sanguins :

On met en présence le sang à identifier contenant notamment des globules rouges avec différents sérums qui contiennent des anticorps spécifiques qui vont reconnaître et se fixer sur ces molécules si elles sont présentes. Dans le cas où la reconnaissance de l'antigène se fait par l'anticorps, des points apparaissent, c'est la réaction d'agglutination des globules rouges.

Exemple : si le sang fait une réaction d'agglutination avec un sérum contenant des anticorps contre les molécules A notés anti-A, le groupe sanguin est A.

3.1. Produits utilisé

- Lames
- Cure-dents
- Chaque lame correspondra à un sang différent : noter à l'aide d'un marqueur sur les lames.
- Flacons du sang des étudiants (samples).
- 1 flacon de sérum anti-A: il contient des anticorps dirigés contre les antigènes A portées par les globules rouges.

- 1 flacon de sérum anti-B: il contient des anticorps dirigés contre les antigènes B portées par les globules rouges.
- 1 flacon de sérum anti-AB: il contient des anticorps dirigés contre les antigènes AB portées par les globules rouges.
- 1 flacon de sérum anti-D (= Facteur Rhésus): il contient des anticorps dirigés contre les antigènes D portées par les globules rouges.
- Alcool chirurgicale.
- Coton.

3.2. Manipulation

- Versez une goutte du sang dans chacun des quatre puits (A, B, AB et D) de la lame.
- Versez une goutte du sérum anti-A dans le puits A de la lame.
- Versez une goutte du sérum anti-B dans le puits B de la lame.
- Versez une goutte du sérum anti-AB dans le puits AB de la lame.
- Versez une goutte du sérum anti-D dans le puits D de la lame.
- Utilisez les cure-dents pour mélanger chaque puits pendant 1 seconde après avoir mis les 2 gouttes (sang + sérum) dans chaque cupule (un cure-dent différent par puits)
- Observez les résultats (agglutination ou pas) et puis notez-les.
- Seules les fortes agglutinations seront considérées comme positives.
- Observer les résultats et remplir la table en annexe.
- Seules les fortes agglomérations sont considérées comme des positifs.
- Laver soigneusement les lames et cure-dents qui pourront servir à nouveau pour un autre TP.

4. Activité à faire

La réaction antigène-anticorps : exemple des groupes sanguins

Rappelez ce que l'on appelle antigène :

Rappelez ce que l'on appelle anticorps :

La détermination des groupes sanguins est fondée sur le principe de la réaction antigène-anticorps

On met en présence le sang à identifier avec différents sérums contenant des anticorps spécifiques des différents marqueurs des groupes sanguins.

Composition des sérums

Sérum anti-A anticorps dirigés contre les marqueurs A présents à la surface des globules rouges

Sérum anti-B anticorps dirigés contre les marqueurs B présents à la surface des globules rouges

Sérum anti-Rh anticorps dirigés contre les marqueurs Rh+ présents à la surface des globules rouges

Si les anticorps se fixent sur les antigènes, on observe des points qui apparaissent, c'est la réaction d'agglutination

Ex : si le sang fait une réaction d'agglutination avec le sérum anti-A (contenant des anticorps contre les marqueurs A) alors le groupe sanguin est A

Remplir le tableau suivant inscrire oui ou non

Type de sang	Agglutination avec anti-A	Agglutination avec anti-B	Agglutination avec anti-Rh+
A+			
A-			
B+			
B-			
AB+			
AB-			
O+			
O-			

Détermination du groupe sanguin d'un échantillon de sang

Dans la plaquette prévue à cet effet, disposer dans chacun des puits une goutte de chacun des trois sérums en faisant attention de bien les repérer et de ne surtout pas les mélanger.

Déposer dans chacun de ces puits une goutte du sang à déterminer.

Mélanger lentement à l'aide du pic en plastique. Attention utiliser un pic différent pour chaque puit !

Résultats : complétez le tableau suivant inscrire + si il y a agglutination et - si il n'y a pas

Sérums	Anti-A	Anti-B	Anti-Rh+
Résultats			

Donner le groupe sanguin en justifiant votre réponse :

Etude de cas

Dans la nuit un intrus a fracturé une fenêtre de la salle de SVT, s'est introduit et a dérobé les copies élèves.

En partant le voleur s'est coupé à un morceau de verre brisé. Vous faites partie de la police scientifique et trouvez une trace de sang sur les lieux du crime.

Plus tard dans la journée des témoignages de voisins indiquent que Monsieur Coussy serait le coupable. Vous l'interrogez. Il nie les faits mais n'a pas d'alibi solide.

Que faites-vous ? Décrire votre démarche et indiquez vos conclusions

.....

.....

.....

.....

.....