



**UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH  
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES – FES  
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA VIE**



## **PROJET DE FIN D'ETUDES**

**Licence en Sciences & Techniques :  
Sciences Biologiques appliquées et Santé**

# **La Qualification Immuno-Hématologique des dons de sang et sa contribution à la sécurité transfusionnelle**

**Présenté par : Hajam Imad**

**Encadré par :**

**Pr. Bencheikh Rachid :FST Fès**

**Dr. Zizi Soumia : CRTS Fès**

**Soutenu le : 17/06/2015**

Devant le jury composé de :

Pr. **Bencheikh Rachid** (FST Fès)

Pr. **Tazi Abdelali** (FST Fès)

Dr. **Zizi Soumia** (CRTS Fès )

**Année Universitaire : 2014-2015**

# *SOMMAIRE*

Abréviations.....

Présentation du lieu de stage.....

Introduction.....

Recherche bibliographique.....

    I.  
    .....



# Remerciement

Ce travail est le résultat du stage que j'ai effectué au centre Régional de Transfusion Sanguine de Fès. C'est le fruit de mes propres efforts, combinés à ceux des différentes personnes qui m'ont beaucoup aidé et suivie tout au long de mon stage. Ça serait de l'ingratitude de ma part, si je ne saisis pas l'occasion de ce projet de fin d'études, pour les remercier tous pour leur contribution fructifiant.

Mes remerciements les plus distingués s'adresseront :

A Dr. Zizi Soumia, l'encadrante de ce travail au sein du centre de transfusion sanguine, qui m'a fait bénéficier de son savoir-faire et son faire savoir. Elle n'a pas cessé de me prodiguer ses conseils et n'a épargné aucun effort pour contribuer à la réussite de ce travail.

A Pr. Bencheikh Rachid, mon professeur et encadrant à la FST, pour sa disponibilité, sa générosité, son encouragement et son soutien. C'est un honneur pour moi d'avoir effectué ce stage sous sa direction.

A Pr. Tazi Abdelali, professeur de la FST qui a voulu donner une autre valeur ajoutée à ce travail en acceptant de le juger.

A Dr. Benyasrhi Abderrahim, médecin chef du centre de transfusion sanguine de Fès, qui m'a donné cette chance de bénéficier d'une formation riche et particulière en acceptant le déroulement de mon stage au sein du CRTS.

A toute l'équipe du centre de transfusion sanguine notamment, Mr Lounis Abdelilah, major du service, Melle Salhi Souad responsable d'Immuno hématologie, Mr Lachkar Hassan responsable de sérologie, Mr Sarsi Benaissa responsable de production, d'avoir partagé avec moi leurs connaissances ; chacun dans son secteur d'activité ; et pour leurs conseils judicieux et soutiens permanents.

Enfin, je remercie du fond de mon Cœur, toute personne qui, de près ou de loin m'a aidé dans l'accomplissement de ce travail.



## SOMMAIRE

<i>Remerciement</i> .....	
<i>Introduction</i> .....	5
<i>Présentation du lieu du stage</i> .....	6
<i>I / La transfusion sanguine</i> .....	7
1/ <i>Définition</i> .....	7
2/ <i>Quelques événements historiques de la transfusion</i> .....	7
<i>II / La sécurité transfusionnelle</i> .....	9
<i>III / Le don du sang</i> .....	9
<i>IV/ La préparation des PSL</i> .....	11
<i>V/ La qualification biologique du don</i> .....	12
<i>VI/ Immuno-hématologie receveur et distribution des PSL</i> .....	13
<i>VII/ L'hémovigilance</i> .....	13
<i>VIII/ L'assurance qualité</i> .....	13
<i>IX/ Notions de base en immuno-hématologie</i> .....	14
1/ <i>Les antigènes</i> .....	14
2/ <i>Les anticorps</i> .....	14
✓ <i>Les anticorps « réguliers »</i> .....	14
✓ <i>Les anticorps « irréguliers »</i> .....	14
✓ <i>Agglutinine irrégulière</i> .....	14
✓ <i>L'allo-immunisation érythrocytaire</i> .....	14
3/ <i>Les réactions antigènes-anticorps</i> .....	14
4/ <i>Les groupes sanguins</i> .....	15
5/ <i>Les principaux groupes sanguins</i> .....	16
➤ <i>Le système ABO</i> .....	16
➤ <i>Le système Rhésus</i> .....	18
➤ <i>Le système Kell</i> .....	18
➤ <i>Les autres systèmes</i> .....	18



6/ Règles de compatibilité transfusionnelle.....	19
➤ Compatibilité ABO des transfusions de globules rouges.....	19
➤ Compatibilité ABO des transfusions de plasma.....	20
X /Matériel et méthodes.....	21
1/ Matériels utilisés.....	21
2/ Méthodologie.....	23
A/ Procédure de préparation des hématies.....	25
B/ Procédure de Groupage sanguin ABO-RH.....	27
C/ Procédure du phénotypage Rhésus-Kell.....	32
D/ Procédure du dépistage simplifié des agglutinines irrégulières (DSAI).....	33
1/ Réactifs.....	33
2/ Mode opératoire.....	33
3/ Interprétation des résultats.....	34
E/ procédures de recherche d'anticorps irrégulières (RAI).....	35
1/ Réactifs.....	35
2/ Technique a l'antiglobuline.....	35
3/ Technique enzymatique.....	35
4/ Interprétation des résultats.....	36
F/ Procédures de recherche des hémolysines.....	36
1/ Réactifs.....	36
2/ Dilution des échantillon a tester.....	36
3/ Distribution des échantillon dilués.....	36
4/ Interprétations des résultats.....	36
XI/ Résultats.....	37
1/ Le groupage ABO Rhésus et phénotypage.....	37
2/ DSAI et RAI.....	43
3/ Recherche d'hémolysine.....	44
Conclusion.....	46
Références.....	47



## Liste des abréviations

- CRTS** : Centre Régional de Transfusion Sanguine
- CNTS** : Centre National de Transfusion Sanguine
- CTS** : Centre de Transfusion Sanguine
- HCV** : Hépatites C Virus (Virus de l'hépatite virale C)
- HBsAg** : Antigène de surface du virus de l'hépatite B
- ALAT** : Alanines Amino Transférases
- VIH** : Virus de l'Immunodéficience Humaine
- GR** : Globules Rouges
- GB** : Globules blancs
- Rh+** : Rhésus positif
- Rh-** : Rhésus négatif
- IHD** : Immuno-Hématologie Donneur
- AG** : Antigène
- AC** : Anticorps
- DSAI** : Dépistage simplifié des anticorps irréguliers
- RAI** : Recherche des anticorps irréguliers
- BS** : Banques de Sang.
- PSL** : Produits sanguins labiles
- Pq** : plaquette.
- CGR** : Concentrés des globules rouges.
- CPS** : Concentrés de la plaquette standard.
- PFC** : Plasma frais congelé.



## Introduction

Depuis plusieurs années, les questions du sang et ses dérivés agitent l'opinion publique. Produit sensible et à charge hautement émotionnelle, le sang fait aujourd'hui partie des préoccupations quotidiennes non seulement des responsables de la santé, mais aussi des hommes politiques et de l'ensemble des citoyens marocains qui s'interrogent sur le geste même du don de sang, sur la disponibilité de l'or rouge au besoin et sur les garanties de sécurité fournies aux receveurs par les services de la transfusion sanguine nationale.

En dépit des notables efforts pour réduire le risque et la part du danger inhérent à l'usage thérapeutique de ce liquide biologique offert chaque année par des milliers de donateurs volontaires, le sang est une substance indispensable souvent salvatrice, parfois dangereuse et quelque fois mortelle. Une telle thérapie qui reste encore essentielle pour sauver la vie de beaucoup de patients pose des problèmes d'ordre politique, technique et organisationnel:

- ❖ Politique puisqu'elle suppose l'élaboration d'une politique nationale qui tienne compte des besoins spécifiques : rédiger des lois, moderniser les équipements, former le personnel des centres et accroître leur effectif et leur efficacité.
- ❖ Technique du fait de la nécessité d'équiper tous les CRTS et d'actualiser les techniques de prélèvement et de qualification en suivant l'évolution du progrès scientifique en médecine transfusionnelle.
- ❖ Organisationnel dans la mesure où il faut créer des structures nécessaires à la réalisation des activités transfusionnelles pour répondre aux nouveaux défis des aléas thérapeutiques

Objectif du stage :

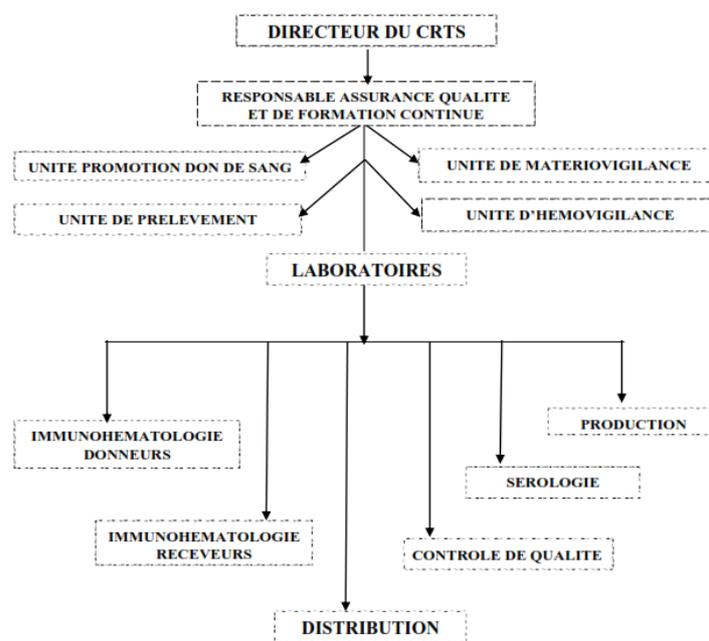
Etude rétrospective du profil immuno-hématologique des donateurs du sang au sein du centre régional de transfusion sanguine de Fès du mois de janvier au mois d'avril 2015 .



### Présentation du lieu du stage

C'est le centre régional de transfusion sanguine de Fès qui fait partie du réseau National de Transfusion Sanguine composé de 16 CRTS, de 13 Banques de Sang (BS) et 24 Antennes de Transfusion, tous sous la dépendance du Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS), placé sous la tutelle du Ministère de la santé et relevant hiérarchiquement de la direction des hôpitaux et des soins ambulatoires. Ses missions se résument ainsi (Cf. Organigramme) :

- ❖ Promouvoir le don du sang et organiser des collectes pour assurer l'autosuffisance en PSL de toute la région Fès-Boulemane.
- ❖ Garantir la qualité et la sécurité des produits via des processus codifiées et contrôlées dans tous les secteurs (Prélèvement, Préparation, Qualification biologiques, Distribution des PSL) et des produits suivis du donneur au receveur (Système d'hémovigilance) .
- ❖ Assurer, en collaboration avec le CNTS, une formation continue pour le perfectionnement de son personnel constitué de différents profils : Médecins, Ingénieurs, 2 Assistants médicaux (Doctorat ou DESA scientifiques), Administrateurs, Infirmiers, Techniciens et Secrétaires .



Organigramme du CRTS de Fès



## **I / La transfusion sanguine**

### **1-Définition**

La transfusion sanguine est l'injection intraveineuse de sang ou l'un de ses composants (globules rouges, plaquettes, plasma) provenant d'un ou plusieurs sujets appelés « donneurs », à un ou plusieurs sujets malades appelés « receveur ». C'est une thérapie vitale substitutive qui consiste à apporter à un patient les éléments du sang qui lui font provisoirement défaut en raison d'anémies constitutionnelles, d'hémopathies, de perte de sang d'origine hémorragique ou traumatique (traumatismes, intervention chirurgicale...) ou iatrogène (chimiothérapie...).

### **2- Quelques événements Historiques de la transfusion**

Ce sont les anciens égyptiens qui ont effectué les premières tentatives de la transfusion sanguine. Lors de ces tentatives, le sang employé était d'origine animale. Le sang transfusé représentait un grand risque puisque plusieurs patients sont décédés.

Au 17<sup>ème</sup> siècle, Jean Batiste Denis pratiqua la première transfusion en injectant à un malade du sang de mouton. Ce fut un échec total. Par la suite, quand le sang transfusé provint d'un homme, le receveur mourrait dans la plupart des cas en raison de l'incompatibilité sanguine.

Ce n'est qu'en 1818, avec les avancées des sciences de la médecine que les premières transfusions du sang humain ont lieu. On espérait alors mettre un terme aux accidents causés par le sang des animaux, mais ce ne fut pas le cas : coagulation du sang, nombreuses maladies propagées par le sang, décès... les recherches se sont poursuivies pour déterminer les causes et une nouvelle science est apparue : l'Hématologie ou science du sang.

Vers 1900 la notion du groupe sanguin a été découverte en Autriche. Cette découverte a permis d'éviter les problèmes dus à la lyse des globules rouges et de s'assurer de la compatibilité du sang du donneur et du receveur en ce qui concerne le groupe ABO et le facteur Rhésus. Les transfusions du sang sont devenues de plus en plus sûres.

C'est durant la deuxième guerre mondiale qu'a été baptisée la première banque du sang en grande Bretagne afin d'apporter le sang aux blessés soldats. De même, et partout dans le monde, sont ouverts des centres de transfusion sanguine afin d'aider les femmes en accouchement, les maladies graves et les hémophiles...

En 1960, on n'utilise plus le sang total, des méthodes de séparation sont mises au point.



Au fil des années, et afin de répondre aux besoins de plus en plus grandissants des demandes du sang et ses dérivés et composants, la recherche en hématologie connu un essor considérable afin d'améliorer la qualité des produits du sang (culot globulaire, plasma et plaquettes). Néanmoins, les techniques d'analyse, de contrôle et de transfusion sont toujours soumis à des recherches d'amélioration qualitative afin de livrer le produit sanguin débarrasse de tout élément nocif.

En 1985, l'apparition des tests de dépistage du sida et de l'hépatite permettra d'éviter des risques de transmissions virales.

C'est quoi alors ce sang qui manipule la vie ?

## **A. SANG ET COMPOSANTS**

Le sang est un tissu conjonctif spécialisé, bien qu'à l'œil nu le sang fraîchement prélevé paraisse totalement liquide. Il est en fait composé de cellules libres (éléments figurés) qui flottent dans une substance liquide jaune ambrée dont le plasma est la substance fondamentale.

### **1. Eléments figurés**

- ❖ Le globule rouge est une cellule anucléée dont la structure est adaptée à sa fonction essentielle. Sa forme discoïde et biconcave, la viscosité du contenu cellulaire et la membrane lui permettent de se déformer et traverser les vaisseaux. Cette déformabilité réversible est essentielle à sa survie. Tout défaut occasionnant une déformabilité irréversible entraîne la destruction de la cellule (cas de l'agglutination). Grace à l'hémoglobine qui lui confère sa couleur rouge, le Globule rouge (GR) assure les échanges gazeux de la cellule : apport de l'oxygène ( $O_2$ ) et évacuation du dioxyde de carbone ( $CO_2$ ).
- ❖ Les globules blancs défendent l'organisme contre les agressions microbiennes.
- ❖ Les plaquettes qui empêchent le saignement en colmatant les lésions des vaisseaux.

### **2. Le plasma**

Correspond à la portion du sang qui ne contient pas les cellules (55 %). Il est constitué de 91.5% d'eau, 7% de protéines (immunoglobulines, albumine, facteurs de coagulation, enzymes, hormones...), électrolytes ( $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  et  $Mg^{2+}$ , chlorure, sulfate, bicarbonate et phosphate) et Nutriments organiques (glucides, lipides, vitamines...). Il sert ainsi à transporter les cellules sanguines et tous ces composés indispensables aux processus vitaux de tous les tissus, et à évacuer les déchets vers les sites d'évacuation (intestins, reins, poumons).



## II / La sécurité transfusionnelle

Repose sur un ensemble de mesures visant à réduire voir éliminer les risques immunologiques et infectieux liés à la transfusion des produits sanguins.

Elle impose aux centres de transfusion, aux hôpitaux publics et aux cliniques privées de prendre des dispositions pour assurer le contrôle de tous les maillons de la chaîne transfusionnelle. Cette chaîne commence par un don qui subit systématiquement un ensemble d'examen et de transformations qui serviront à rendre le produit fini utilisable et à en garantir la sécurité. L'autre maillon de la chaîne qui ne manque pas d'intérêt est l'exploration du terrain immuno-hématologique du receveur afin de lui faire éviter toute immunisation ou conflit immunologique.

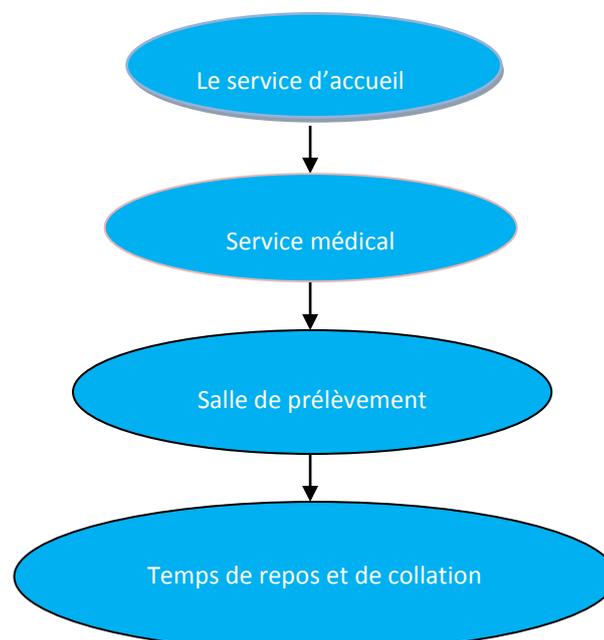
## III / le don du sang

Un don de sang est un processus par lequel un donneur de sang est volontaire pour se voir prélever du sang qui sera stocké dans une banque du sang avant d'être transfusé à un malade. Il est majoritairement bénévole (non rémunéré) sauf dans quelques pays comme les États-Unis et la Tanzanie où le sang est considéré comme un bien marchand.



**Fig 1** : le don du sang

Le don de sang se déroule en 4 étapes : (voir schéma ci-dessous) :





## 1. L'accueil du donneur :



Le donneur de sang est accueilli par une secrétaire. Il s'inscrit pour le don en fournissant des informations complètes sur son identité et ses coordonnées personnelles.

## 2. L'entretien médical :



La sélection médicale des donneurs qui se fait sur la base de :

- Leurs caractéristiques anthropométriques (âge, poids, tension artérielle).
- Leur état de santé (antécédents médicaux et chirurgicaux).
- La date du dernier don.
- Leur exposition aux divers facteurs de risque de contamination microbienne (soins dentaires, gestes médicaux invasifs, tatouage, piercing, toxicomanie, anamnèse sexuelle).
- Les voyages internationaux dans des zones impaludées et où culmine l'Ebola.

Les réponses sont associées au sang donné, mais l'anonymat reste garanti.

Les raisons pour donner du sang sont nombreuses tout comme les besoins qui sont bien diversifiés. Donner le sang c'est venir en aide :

- Aux malades (cancer, leucémie, sida...)
- Aux opérés,
- Aux grands brûlés,
- Aux femmes enceintes en cas d'accouchements difficiles ,
- Aux traumatisés lors d'accidents de la voie publique, collision de trains, accident d'avions, attentats, agressions, ou lors de catastrophes naturelles (tremblement de terre,



ouragans, typhons), catastrophes d'origine humaine (effondrement d'immeubles...), catastrophes technologiques (explosions, manutentions de substances chimiques, nucléaires...).

### 3. Le prélèvement



Consiste à prélever 450 ml à 500 ml de sang directement de la veine du donneur jusqu'à une poche de recueil qui contient l'anticoagulant. La poche de recueil rassemble tous les éléments du sang : globules rouges plaquettes et plasma. C'est un sac de plastique contenant une solution anticoagulante et conservatrice offrant toutes les garanties de sécurité à savoir :

- ❖ Le système clos : Risque de contamination très réduit lors du prélèvement et nul lors de la préparation et la conservation des produits sanguins.
- ❖ Perméabilité aux gaz (O<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub>) et imperméabilité aux germes.
- ❖ Solidité et souplesse d'emploi.
- ❖ Permet la préparation de dérivés (plaquettes, PFC) dans des poches satellites.

### 4. La collation :



Après le don, une collation (biscuits, jus et eau) est nécessaire au corps pour l'aider à régénérer le sang prélevé. C'est aussi une période de surveillance de l'état du donneur après le prélèvement, en crainte qu'il fasse un malaise.

## IV/ La préparation des PSL

C'est une série d'opérations de traitement des poches de sang matière première pour l'obtention du produit fini (CGR, PFC, CPS). Le principe fondamental étant la centrifugation différentielle et l'extraction sous pression



**Fig 2** : Image de la centrifugeuse.



**Fig 3**: Poche placée dans l'extracteur.



### **V/ La qualification biologique du don:**

Tous les dons sont soumis à des contrôles biologiques obligatoires. Les deux tubes issus du prélèvement subiront respectivement :

EXAMENS SEROLOGIQUES :

- Dépistage de la Syphilis par le TPHA
- Détection de l'Ag HBs
- Dépistage des antigènes et anticorps anti VIH1/VIH2
- Dépistage des antigènes et anticorps anti VHC
- Dosage des Alanines Amino-Transférases (ALAT)



## EXAMENS IMMUNO HEMATOLOGIQUES :

- Groupage sanguin et phénotypage rhésus Kell
- Dépistage des D-faibles
- Dépistage des hémolysines Anti-A et Anti-B
- Dépistage simplifié des agglutinines irrégulières

## **VI/ IMMUNOHEMATOLOGIE RECEVEUR ET DISTRIBUTION DES PSL**

Ce processus repose sur deux étapes importantes dont le respect est une obligation légale : L'ordonnance ou la prescription médicale et les informations obligatoires qu'elle doit inclure et le bilan pré transfusionnel qui comporte.

- ❖ 2 déterminations du groupe sanguin à 24 h d'intervalle. En situation d'urgence, 2 ponctions distinctes faites par 2 personnes différentes sur 2 tubes distincts.
- ❖ Une recherche d'agglutinines irrégulières = RAI datant de moins de 72 heures. Une RAI positive impose une transfusion de sang phénotypé et compatible.

## **VII/ L'HEMOVIGILANCE**

La maîtrise du risque transfusionnel par les centres de transfusion a lieu même en aval de la distribution des PSL via :

- ❖ L'instauration d'un contrôle post-transfusionnel des patients transfusés.
- ❖ Une surveillance permanente des effets indésirables pouvant survenir chez les receveurs de sang (analyses d'immuno-hématologie receveurs)
- ❖ La collecte et l'analyse des informations sur les transfusés.

## **VIII/ L'ASSURANCE QUALITE**

La collecte du sang des donneurs, la qualification biologique qui correspond à l'ensemble des tests biologiques auxquels sont soumis tous les dons pour vérifier leur innocuité, la préparation des PSL et leur distribution aux Etablissements de soins, répondent à de nombreuses exigences réglementaires et des normes fixées par le Ministère de la Santé.

En effet, le CRTS dispose d'un système d'assurance de qualité qui veille sur l'application des normes dictées par le référentiel technique et réglementaire « Bonnes pratiques transfusionnelles ». Celles-ci ont pour objectif d'éviter ou de rechercher toute erreur pouvant être commise dans le Processus de production, du sang et de ses dérivés, et d'apporter des preuves permettant de donner confiance.



## **IX/ Notions de base en immuno-hématologie**

### **1-Les antigènes**

Ce sont des Substances capables de provoquer une réaction immunitaire, puis de réagir spécifiquement avec le produit de cette réaction (anticorps).

### **2-Les anticorps**

Ce sont des molécules produites par les lymphocytes B du système immunitaire suite à l'exposition de l'organisme à des corps qui ne lui appartiennent pas (le non soi), pour réagir contre ces antigènes qui ont induit leur synthèse. Ils sont 2 types :

✓ **Les anticorps « réguliers » :**

Existent naturellement dans l'organisme sans aucune stimulation antigénique. Ils sont présents systématiquement et de façon constante chez un individu (exemple : Anti-A et Anti-B du système ABO) .

✓ **Les anticorps « irréguliers » :**

**Appelés aussi Agglutinines irrégulières,** sont des anticorps de nature IgG fabriqués suite à une stimulation antigénique ou allo immunisation par un antigène du groupe sanguin autre que le système ABO, pour défendre le corps. Ils sont présents irrégulièrement et de façon inconstante dans le plasma ou sérum d'un individu.

✓ **L'allo immunisation érythrocytaire**

L'allo-immunisation consiste à la formation d'anticorps par un individu d'une espèce contre un antigène d'un autre individu de la même espèce. Deux circonstances permettent l'apparition d'anticorps anti-érythrocytaires chez l'homme : la transfusion et la grossesse.

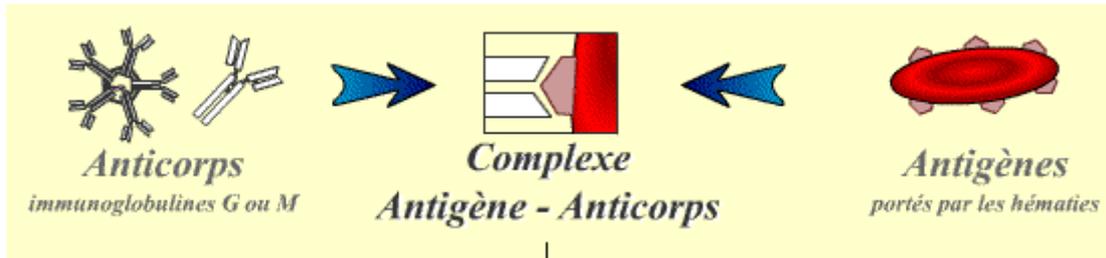
### **3- LES REACTIONS ANTIGENE-ANTICORPS :**

Toute réaction antigène-anticorps est caractérisée par sa spécificité à l'instar de celle de la clé et la serrure . En principe, les anticorps ne peuvent se combiner qu'aux antigènes qui ont provoqué leur synthèse. Cependant, certains anticorps sont capables de réagir d'une manière plus ou moins forte avec d'autres antigènes. C'est ce qu'on qualifie de réaction croisée. Ceci provient du fait que deux antigènes peuvent avoir un ou plusieurs déterminants antigéniques identiques ou très semblables.

Lorsqu'un anticorps se fixe spécifiquement à un antigène situé à la surface des globules rouges, il provoque leur agglutination ou même leur hémolyse. Cette agglutination peut



être directe ou indirecte, exigeant un amplificateur tel que l'antiglobuline ou le réactif de Coombs. Ce dernier, après avoir produit et utilisé cette antiglobuline, il a pu mettre en évidence et découvrir un grand nombre d'anticorps et de systèmes de groupes sanguins.



#### 4- LES GROUPE SANGUINS

Le sang est un tissu liquide que l'on peut facilement prélever sur un individu sain pour le transfuser à un individu malade. Or, malgré une compensation cellulaire identique de ce tissu, il existe une grande variabilité ou polymorphisme des divers éléments du sang entre les individus, Les antigènes des groupes sanguins sont très nombreux, plus de 320 antigènes dont plus de 280 ont pu être regroupés en 35 systèmes. Ils ont été donc classés en systèmes afin d'en faciliter leur recherche et leur exploitation. Pour appartenir à un même système, les antigènes doivent résulter de divers allèles d'un même gène ou d'ensemble de gènes contigus, dénommés haplotypes. Ces antigènes peuvent être des protéines, des glucides, des glycoprotéines ou des glycolipides.





comprendre pourquoi certaines transfusions sanguines étaient couronnées de succès, alors que d'autres se terminaient tragiquement.

Le système ABO permet de classer les différents groupes sanguins selon :

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

- Le groupe A possède des antigènes A
- Le groupe B possède des antigènes B
- Le groupe AB possède des antigènes A et B
- Le groupe O ne contient ni les antigènes A ni B

**b. La présence ou non d'anticorps Anti-A ou anti-B dans le sérum**

Dans le système ABO, on retrouve dans le sang de toutes les personnes, sauf chez le nouveau-né, des anticorps spécifiques des antigènes qu'ils ne possèdent pas sur leurs globules. Ce sont des immunoglobulines de classe IgM, naturels, réguliers, agglutinants, complets et agissant à froid. Ils apparaissent dans le système ABO, dès les premiers mois de la vie.

- Le groupe A possède des anticorps Anti-B
- Le groupe B possède des anticorps Anti-A
- Le groupe AB ne contient ni les anticorps Anti-A ni Anti-B
- Le groupe O contient les anticorps Anti-A et Anti-B



	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

**Fig5** : antigènes et anticorps du système ABO

✓ **Le système Rhésus**

Nouveau groupe sanguin indépendant du système ABO et se transmet comme un caractère Mendélien dominant. Il est déterminé par la présence ou l'absence de l'antigène D sur les globules rouges :

- ❖ si l'antigène D est présent, l'individu est RhD + (positif)
- ❖ si l'antigène est absent, l'individu est RhD – (négatif)

✓ **LE SYSTEME KELL**

Ce système se définit par 2 antigènes antithétiques (l'absence de l'un d'eux conduit obligatoire à la présence de l'autre) :

- Kell (K) ou KEL1
- Cellano (k) ou KEL2

Les anticorps du système Kell sont comme ceux du système rhésus, des IgG, irréguliers d'origine immune (la transfusion et la grossesse)

✓ **LES AUTRES SYSTEMES**

Ils sont nombreux et souvent importants en transfusion. Exemple :

- Système Duffy : Fya/Fyb (FY1/FY2)
- Système Kidd : JKA : Jkb (JK1/JK2)
- Système MNS : S(MNS3) et s(MNS4)
- Antigènes Lewis : Lea/Leab ( LE1/LE2)



## 6- Règles de compatibilité transfusionnelle

Le principe général en transfusion est de ne pas laisser se produire une réaction antigène - anticorps. Deux situations existent en pratique :

l'introduction d'antigène dans un organisme qu'il ne possède pas crée son allo-immunisation par la fabrication de l'anticorps correspondant

l'introduction d'antigène dans un organisme qui possède l'anticorps correspondant crée un conflit antigène-anticorps.

Cette situation idéale est respectée systématiquement en transfusion pour le système ABO - rhésus D et dans la mesure du possible pour les autres systèmes selon la disponibilité des PSL phénotypés et les indications.

Ces règles s'expriment différemment selon que l'on transfuse les CGR ou le PFC

### ✓ Compatibilité ABO des transfusions de CGR

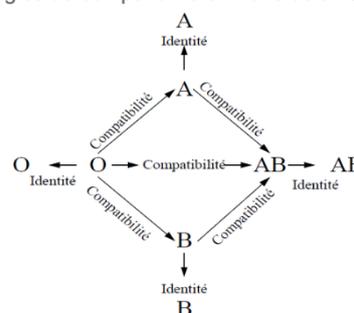
Le raisonnement ici se base uniquement sur le fait que les globules rouges à transfuser portent des antigènes et en cas de leur transfusion à un receveur, celui-ci ne doit pas posséder les anticorps correspondants :

- Le groupe O ne possédant pas les antigènes A et B peut donner aux receveurs de tous les groupes (O, A, B et AB). C'est donc le donneur universel
- Le groupe A possédant les antigènes A ne peut donner qu'aux receveurs A et AB.
- Le groupe B possédant les antigènes B ne peut donner qu'aux receveurs B et AB.
- Le groupe AB possédant les antigènes A et B ne peut donner qu'aux receveurs AB

Le groupe AB reçoit de tous les groupes, c'est donc le receveur universel

Type du donneur	Type de sang du receveur			
	O	A	B	AB
O	☺	☺	☺	☺
A		☺		☺
B			☺	☺
AB				☺

Règles de compatibilité en transfusion de GR



**Fig6 :** Règles de compatibilité ABO des transfusions de CGR

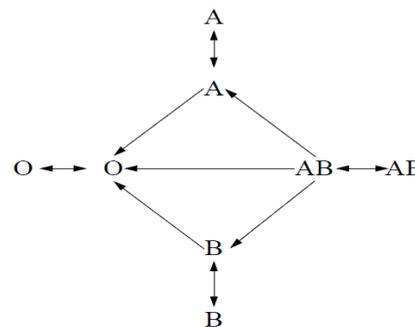


### Compatibilité ABO des transfusions de plasma

Le raisonnement ici se base sur le fait que le plasma à transfuser porte des anticorps et en cas de sa transfusion à un receveur, celui-ci ne doit pas posséder les antigènes correspondants. Les règles de compatibilité décrites pour les CGR s'inverseront donc :

- Le groupe AB ne possédant pas les anticorps anti-A et anti-B peut donner aux receveurs de tous les groupes (O, A, B et AB). C'est donc le donneur universel ici
- Le groupe A possédant les anticorps anti-B ne peut donner qu'aux receveurs A et O.
- Le groupe B possédant les anticorps anti-A ne peut donner qu'aux receveurs B et O.
- Le groupe O possédant les anticorps anti-A et anti-B ne peut donner qu'aux receveurs O. c'est le receveur universel

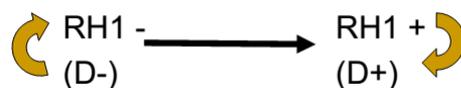
Type du receveur	Type de sang du donneur			
	O	A	B	AB
O	☺			
A	☺	☺		
B	☺		☺	
AB	☺	☺	☺	☺



**Fig7:** Compatibilité ABO des transfusions de PFC

### Compatibilité Rhésus

le rhésus négatif peut donner au rhésus positif, l'inverse peut induire une allo-immunisation anti-rhésus



La transfusion des CPS suit, généralement les mêmes règles de compatibilité que pour les CGR sans être aussi rigoureuses si l'urgence le nécessite.

Lorsque le sang transfusé est du même groupe ou rhésus que celui du receveur, on parle de transfusion isogroupe isorhésus, dans les autres cas c'est une transfusion compatible.



## X /MATERIEL ET METHODES

Durant ma période de stage au CRTS de Fès, j'ai eu l'opportunité d'apprendre les protocoles techniques des différents tests effectués au laboratoire d'immunohématologique donneur, dans le cadre de la qualification biologique des dons.

L'activité de ce service consiste à faire 5 tests pour chaque don :

- ❖ Groupage ABO-Rhésus
- ❖ Phénotypage rhésus Kell
- ❖ DSAI
- ❖ RAI
- ❖ Recherche d'hémolyse

### 1/Matériel utilisé

Centrifugeuse pour tubes



Centrifugeuse pour microplaques





## Agitateur des microplaques



- Micropipettes
- Cônes jaunes et bleus
- Tubes à hémolyse
- Portoirs
- Microplaques à fond ronds et à fond plat
- Plaque d'opaline
- Pissette remplie d'eau physiologique
- Récipient étanche pour le rejet des fongibles souillés
- Cristalliseur contenant de l'eau de javel pour le rejet des liquides de lavage

### Réactifs

Sérums tests de groupage :

- ✓ Anti-B
- ✓ Anti-A
- ✓ Anti-AB
- ✓ Anti-D



Kit de Marque Séraclone



### Sérums test de phénotypage :

- ✓ Anti-C
- ✓ Anti-c
- ✓ Anti-E
- ✓ Anti-e
- ✓ Anti-K.



### Kit de Marque DAIGAST

- Les hématies tests A et B.
- Les hématies de phénotypes connus = panel O1, O2 et O3.
- L'albumine
- La broméline
- La papaïne
- L'antiglobuline
- Sérum test anti-CDE

### 2- Méthodologie

Comme dans tous les laboratoires du CRTS la méthodologie de travail au sein du laboratoire d'immuno-hématologie est structurée en procédures et modes opératoires afin de respecter les normes du référentiel et de réduire au minimum les causes d'erreurs.

Le processus de qualification immuno-hématologique des dons commence par la gestion des échantillons sanguins, depuis leur prélèvement jusqu'à leur rejet.

### **Procédure de gestion des échantillons sanguins**

Pour chaque donneur, on fait le prélèvement de sang sur une poche triple pour sa séparation ultérieure en CGR, PFC et CPS et dans deux tubes, tube sec pour les tests sérologiques et tube EDTA pour ceux immuno-hématologiques.



### - Contrôle des prélèvements à leur réception au laboratoire :

Les tubes doivent émaner au laboratoire, bouchés, étiquetés et accompagnés d'une fiche de liaison comportant la date, les numéros et le nombre des tubes prélevés.

Le personnel du laboratoire dès réception se met à vérifier :

- ❖ La concordance du nombre de tubes reçus avec celui figurant dans la fiche de liaison.
- ❖ La concordance des numéros manquant dans la série de tubes avec ceux mentionnés sur la fiche comme numéro manquant ou non utilisés.

### - Centrifugation :

Les tubes bouchés subissent une centrifugation à 4000 RPM pendant 4min après quoi, le sang total se trouve séparé en deux phases :

- le culot constitué des composants cellulaires les plus denses, les globules rouges, recouvert d'une couche leuco plaquettaire constituée de globules blancs et de plaquettes.
- le surnageant constitué du sérum (plasma dépourvue de fibrinogène).



**Fig8** : Image d'un échantillon sanguin avant et après centrifugation.

### - Manipulation des tubes :

- Déboucher les tubes soigneusement en évitant les éclaboussures et jeter les bouchons dans des récipients étanches.
- Comme l'analyse se fait à partir des tubes primaires, classer les dans l'ordre dans un portoir adapté.

### - Conditions de conservation

La qualification des échantillons doit avoir lieu aussitôt que possible après prélèvement. Si le traitement est différé, conserver entre +2 et +8 C° sans dépasser le délai conseillé par le fournisseur des réactifs pour chaque type de test.



Le délai maximal de conservation est de 7 jours entre +2 et +8 C° pour d'éventuels contrôles.

#### **- Gestion des déchets :**

Les échantillons et les contenaires des fongibles utilisés seront éliminés dans le sac destiné à l'incinération selon la procédure d'hygiène et de sécurité.

#### **A/ Procédure de préparation des hématies test**

Les hématies test sont les hématies nécessaires pour le dépistage des différents anticorps anti érythrocytaires. On les utilise dans tous les tests immuno-hématologiques. Leur choix est en fonction du type d'anticorps à mettre en évidence :

##### **Hématies A et B**

Servent à détecter les anticorps anti-A et anti-B lors de l'épreuve sérique du groupage. Un pool de chaque hématie est préparé à partir des boudins de poches déjà étiquetées. Chaque pool doit contenir des hématies provenant d'au moins 4 poches différentes.

##### **Hématies du panel O1, O2, O3**

Ce sont des hématies de groupe O dont le phénotype élargie est connu (C, c, E, e, K, k, Lea...). Les trois lots **O1, O2, O3** représentent le maximum d'antigènes érythrocytaires du phénotype élargie. On les utilise pour la recherche des allo-anticorps dans le cas du groupage (témoins allo-anticorps), de la RAI et de la DSAI.

Ce panel est préparé par le laboratoire national de contrôle de qualité de Casablanca. Il est conditionné dans des tubulures qu'on clampe en petits boudins pour assurer leur bonne conservation, puis sont distribués à tous les CRTS et BS du Maroc avec une fiche où figure le phénotype élargie des hématies.





### a) Lavage des hématies :

Découper les boudins et verser leurs contenus dans des tubes bien identifiés

Un cycle de lavage consiste à :

- Ajouter 4 volumes d'eau physiologique pour 1 volume d'hématies à laver.
- Boucher le tube et mélanger le contenu doucement par retournement lent.
- Centrifuger les tubes à une vitesse de 3000 à 4000 RPM pendant 2 minutes.
- Décanter le maximum de surnageant par la micropipette de 1000. pour décanter le surnageant quand il s'agit de petits volumes d'hématies (100 µl), il suffit de retourner le tube dessus dessous, les hématies seront retenues par capillarité au fond du tube et complètement débarrassées du liquide de lavage.
- Refaire ce cycle de lavage 3 fois sauf si l'échantillon est de mauvaise qualité. Dans ce cas laver jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair.

### ▪ DILUTION DES HEMATIES

Le principe de préparation d'une dilution en quantité suffisante pour l'ensemble des tests à effectuer est le suivant :

Le facteur de dilution étant  $d/D$ .

Le numérateur ( $d$ ) correspond au volume d'hématies à diluer.

Le dénominateur ( $D$ ) correspond au volume total de la dilution.

La différence ( $D-d$ ) correspond au volume du diluant à ajouter.

Selon le volume désiré, il suffit de multiplier ( $d$ ) et ( $D-d$ ) par le même nombre  $n$ .

$n \times (D-d)$  correspond au volume du diluant à ajouter.

$n \times (d)$  correspond au volume d'hématies à prélever à partir du culot globulaire bien sédimenté .

**EXEMPLE** : préparation de 5 ml (5000 µl) d'une suspension d'hématies à 5 %

Le facteur de dilution étant 5 % =  $(5 / 100)$  µl

$(D) = 100 =$  volume total de la dilution.

$(d) = 5 =$  volume d'hématies à diluer.

$(D-d) = (100-5) = 95$  µl = Le volume nécessaire de diluant.

Puisque le volume final désiré = 5000 µl. Il faut donc multiplier par 50



$(D) = 100 \times 50 = 5000 \text{ (}\mu\text{l)}$  : volume total de la dilution.

$(d) = 5 \times 50 = 250 \text{ (}\mu\text{l)}$  : volume d'hématies à diluer.

$(D-d) = 95 \times 50 \text{ (}\mu\text{l)} = 4750$  : Le volume nécessaire de diluant .

## **B/ Procédure de Groupage sanguin ABO-RH**

### **❖ Préparation des réactifs:**

Sérums test Anti-B, Anti-A, Anti-AB et Anti-D pur pour la technique en plaque et dilués au 1/5 dans l'albumine 1% pour la technique en microplaque.

Hématies test A et B lavées et diluées dans l'eau physiologique à 10% pour la technique en plaque et 3% pour la technique en microplaque.

Hématies test O1, O2, O3 lavées, sensibilisées par les enzymes broméline ou papaine et diluées dans l'eau physiologique à 3% pour les témoins allo-anticorps de la technique en microplaque.

La sensibilisation des hématies par les enzymes consiste à les incuber ensemble pendant un temps précis puis les laver. Les proportions et le temps d'incubation sont indiqués sur la notice des enzymes.

### **❖ Mode opératoire:**

#### **1/Groupage en plaque :**

Sur une plaque d'opaline bien lavée, on déposera distinctement et dans cet ordre :

#### **Pour l'Epreuve de Beth-Vincent :**

- une goutte de sérum test Anti-B + 25 $\mu\text{l}$  du culot globulaire ou 1 goutte de sang total.
- une goutte de sérum test Anti-A + 25 $\mu\text{l}$  du culot globulaire ou 1 goutte de sang total.
- une goutte de sérum test Anti-AB + 25 $\mu\text{l}$  du culot globulaire ou 1 goutte de sang total.

#### **Pour l'Epreuve de Simonin:**

- une goutte de plasma à tester + une goutte d'hématies test A à 10%.
- une goutte de plasma à tester + une goutte d'hématies test B à 10%.

#### **Témoin auto anticorps :**

- une goutte d'hématies échantillon + une goutte de plasma du même échantillon.

#### **Rhésus :**

- une goutte de sérum test Anti-D + 25 $\mu\text{l}$  du culot globulaire ou 1 goutte de sang total.
- Mélanger les 2 gouttes de chaque réaction à l'aide du fond d'un tube par un mouvement en spirale de façon à dessiner une pastille régulière de 2 à 3 cm de diamètre.

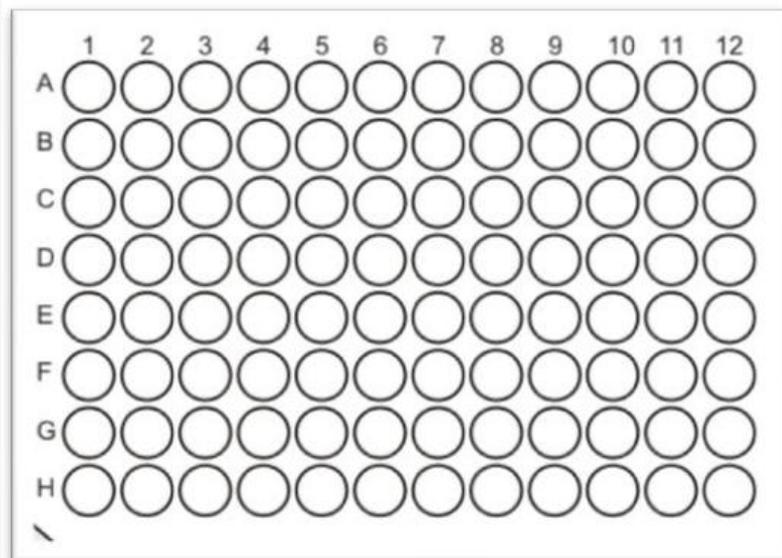


- Essuyer le fond du tube après chaque utilisation avec un coton.
- Prendre la plaque et lui donner un mouvement de roulis tout en observant l'apparition des agglutinations.



**Fig9** : Technique en plaque.

## 2/Groupage en microplaque :



**Fig10** : Image d'une microplaque.



- Répartir dans cet ordre 25µl de réactif Anti-B, Anti-A, Anti-AB, Anti-D, respectivement dans les puits 1, 2, 3, 6.
- Répartir 25µl d'hématies test A et B à 3% respectivement dans les puits 4, 5.
- Répartir 25µl d'hématies test O1, O2, O3 à 3% respectivement dans les puits 8, 9, 10
- Répartir 25µl de plasma dans les puits 4, 5, 7, 8, 9, 10.
- Dans les puits 12, on prépare la dilution des hématies des échantillons à 3 % : 10 µl d'hématies pour 290 µl l'eau physiologique.
- Répartir 25 µl de cette suspension dans les puits 1, 2, 3, 6, 7.

Les puits 1, 2, 3, = Epreuve globulaire Beth-vincent

Les puits 4, 5 = Epreuve sérique simonin

Les puits 6 = Rhésus

Les puits 7 = Témoin auto anticorps

Les puits 8, 9, 10 = Témoins allo-anticorps

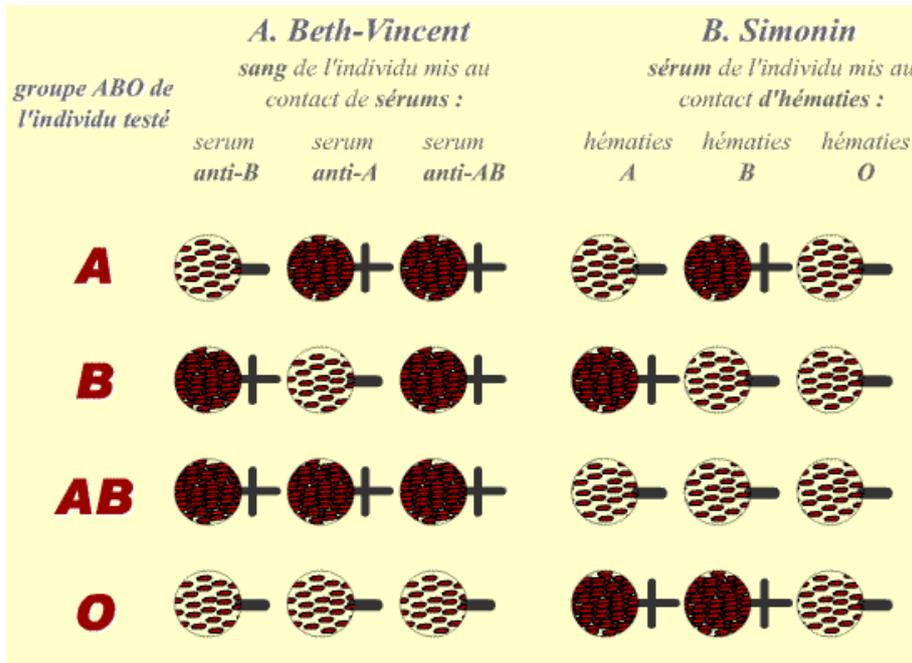
- Agiter la microplaque pendant 30 secondes
- Centrifuger pendant 2 minutes à 1000 RPM
- Refaire une autre agitation de 30 secondes pour décoller les sédiments



**Fig11** : Microplaques de groupage



### 3 /Interprétation des résultats:



**Fig12** : Résultats de groupage

**Tableau d'interprétation des résultats du groupage**

Groupes	Beth-vincent			Simonin		Rhésus
	Sérum test			Hématies test		Sérum test
	Anti-B	Anti-A	Anti-AB	A	B	D
A	-	+	+	-	+	+/-
B	+	-	+	+	-	+/-
AB	+	+	+	-	-	+/-
O	-	-	-	+	+	+/-

**Remarque** : les témoins doivent être négatifs et les deux épreuves beth-vincent et simonin doivent être concordant, sinon on se réfère à la procédure « conduite à tenir en cas d'anomalies de groupage » pour gérer cette anomalie

Le groupage sanguin n'est validé que s'il est fait :



En double détermination plaque et microplaque.

Par deux techniciens différents.

Par deux lots de réactifs différents.

Selon les deux épreuves Beth Vincent et Simonin.

### **RECHERCHE DU CDE**

Pour tout résultat rhésus D négatif, il faut rechercher systématiquement la réaction de cet échantillon au sérum test anti-CDE afin de mettre en évidence si les autres systèmes rhésus C et E sont aussi négatifs. Pour cela on procède comme pour la recherche du rhésus.

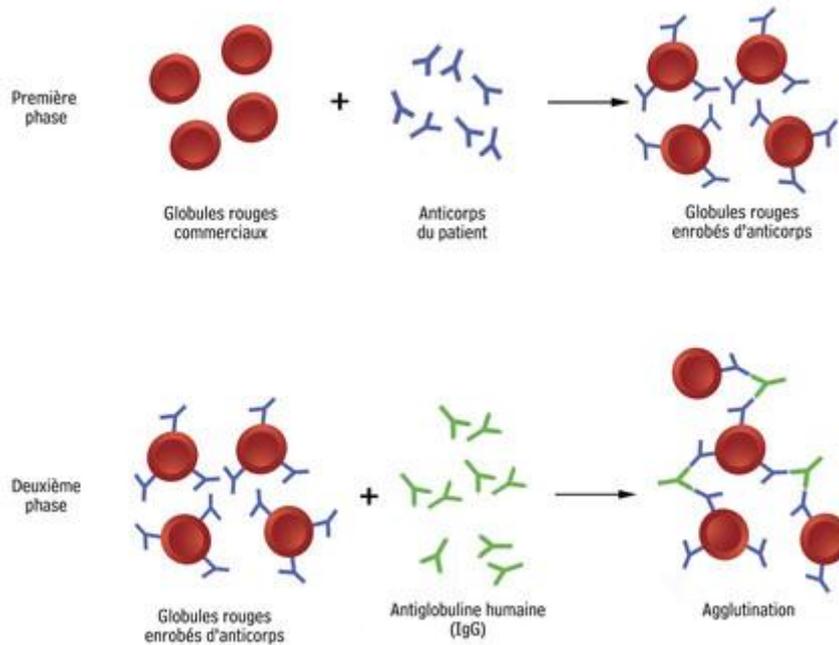
Sur une plaque d'opaline, mélanger une goutte de sérum test anti CDE à une goutte d'hématies échantillon à 10% et voir s'il y a agglutination ou non.

L'agglutination signifie que l'antigène C et/ou E sont positifs. Dans ce cas le rhésus est considéré négatif pour le donneur, mais la poche est étiquetée positive.

### **Recherche du D-faible (anciennement D.U)**

Le phénotype D faible est une forme atténuée de l'antigène D qui est faiblement exprimée. Le phénotype D faible est caractérisé par une réaction négative avec les réactifs standards anti-D et c'est pour cela qu'il est nécessaire de pratiquer un test spécifique pour détecter l'antigène D faible. De manière générale, ce test est effectué sur les femmes enceintes, les nouveau-nés et sur les donneurs de sang "négatifs" pour garantir qu'ils soient réellement "négatifs" afin d'éviter la formation d'anticorps anti-D chez les receveurs "négatifs".

Il est basé sur une réaction en deux phases. Dans la première phase on procède à une sensibilisation des hématies à tester par les anticorps du sérum test anti-D. Si les hématies à tester contiennent des antigènes D, les épitopes de ces derniers vont se fixer sur les paratopes des anticorps anti-D. Cette réaction est non visible. Dans la deuxième phase, si les globules rouges ont été sensibilisés, la réaction est rendue visible par l'addition d'un sérum antiglobuline humaine qui sert de lien entre les globulines IgG fixées à la surface des globules rouges qui sont ainsi agglutinés.



**Fig13** : Les réactions de recherche du D-faible.

**-Mode opératoire :**

- 50 µl hématies à tester lavées et diluées à 5% dans l'eau physiologique
- 50 µl de sérum test anti-D
- Incuber 45 min à 37°C
- Laver ces hématies sensibilisées 3 fois par l'eau physiologique
- Ajouter 50 µl de sérum de coombs (antiglobuline)
- Centrifuger 1 min à 1200 RPM
- Lire le résultat en secouant le tube délicatement

Si agglutination= D-faible ou DU (+)

**C/ Procédure du phénotypage Rhésus-Kell :**

Les réactifs Anti-C, Anti-c, Anti-E, Anti-e, Anti-Kell sont utilisés à l'état pur pour la technique en plaque ou dilués 1/2 avec l'albumine 1% pour la technique en microplaque.

❖ Mode opératoire:



### **1. Technique en plaque :**

- Sur une plaque d'opaline bien lavée,
- déposer séparément et dans l'ordre 1 goutte de sérum Anti-C, c, E, e, K.
- Ajouter à coté de chacune une goutte de sang total
- Mélanger à l'aide du fond du tube
- Essuyer le fond du tube après chaque utilisation, avec du coton
- Observer l'agglutination en appliquant à la plaque un mouvement de rotation lent pendant 2 minutes
- Eviter d'interpréter les résultats au-delà de 2 min pour ne pas confondre les traces du dessèchement en bordure avec des agglutinats.

### **2. Technique en microplaque :**

- Dans cinq puits adjacents, mettre respectivement 25µl de sérum Test Anti-C, c, E, e, K.
- Dans le sixième puits, diluer les hématies échantillon à 3-5% avec l'eau physiologique.
- Répartir 25µl de cette dilution d'hématies dans les 5 puits contenant les sérums tests.
- Agiter la microplaque pendant 30 secondes
- Centrifuger à 1000 RPM pendant 2 minutes
- Refaire une autre agitation de quoi homogénéiser le contenu des puits
- interprétation des résultats.

### **3. Interprétation des résultats :**

- Présence d'agglutinations = présence de l'antigène en question.
- Absence d'agglutination = absence de l'antigène en question.

### **D/ Procédure du dépistage simplifié des agglutinines irrégulières (DSAI)**

C'est un dépistage simplifié d'anticorps irréguliers, réalisé pour chaque don de sang. le principe est de confronter le plasma ou sérum à tester avec des hématies de phénotype connu.

#### **1-REACTIFS**

- La broméline ou la papaine (enzymes)
- Hématies O1, O2, O3 « diluées en solution physiologique à 5% »

#### **2-MODE OPERATOIRE**

- Distribuer 25µl de chaque sérum à tester dans trois puits adjacents selon l'ordre



A1, A2, A3      —————> échantillon 1  
B1, B2, B3      —————> échantillon 2  
C1, C2, C3      —————> échantillon 3

Et ainsi de suite jusqu'à :

H1 H2 H3      —————> échantillon 32

✚ Répartir 25 $\mu$ l d'hématies test :

- Les hématies O1 dans le 1er puits de chaque échantillon
- Les hématies O2 dans le 2ème puits
- Les hématies O3 dans le 3ème puits

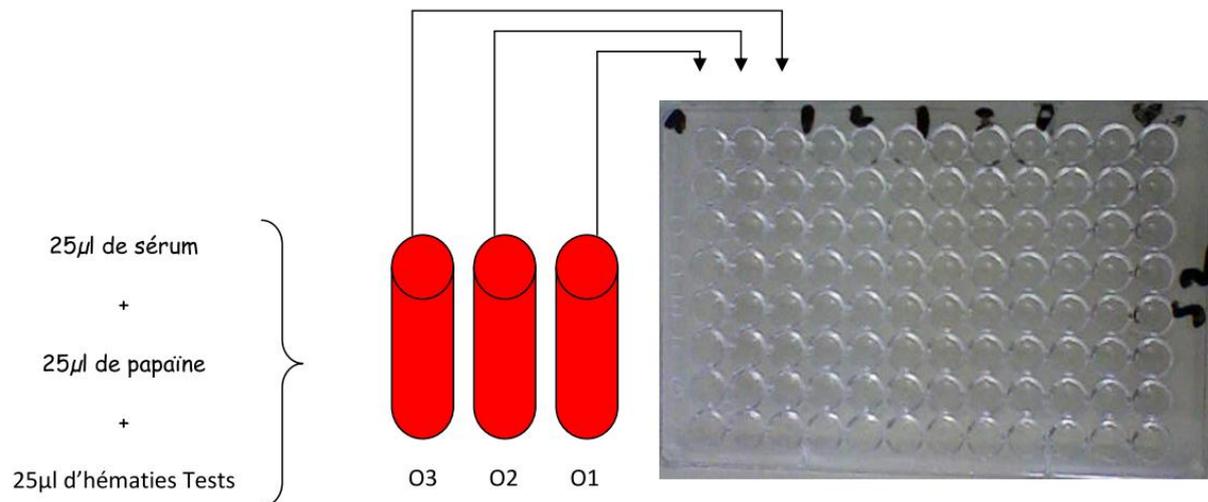
✚ Répartir 25 $\mu$ l de l'enzyme dans chaque puits.

✚ Incubation 30 minutes à 37°C

✚ Centrifugation pendant 2 minutes à 1000 RPM (150 x g)

✚ Observer l'agglutination

**Exemple :** échantillon 1



### 3-INTERPRETATION DES RESULTATS

- DSAI positive = présence d'agglutinats
- DSAI négative = absence d'agglutinats



## **E/ procédures de recherche d'anticorps irrégulières (RAI)**

Le principe et l'objectif de la RAI sont les mêmes que ceux de la DSAI. Il s'agit de détecter des anticorps anti-érythrocytaires irréguliers chez un individu en faisant réagir son sérum vis-à-vis des hématies du Panel selon le test de Coombs indirect en plus de la même technique enzymatique de DSAI.

D'ailleurs la RAI n'est réalisée pour le donneur que pour la confirmation d'un résultat de DSAI positif étant donné que le test de coombs fait à l'occasion de la RAI est plus spécifique que la technique enzymatique qui peut donner des faux positifs

A titre d'indication, la RAI est indiquée :

- Dans le cadre du bilan pré transfusionnel avant toute distribution de PSL.
- Pour le bilan post transfusionnel suite à un incident transfusionnel.
- Lors du suivi de la grossesse pour mettre en évidence une éventuelle incompatibilité fœto-maternelle .

### **1-REACTIFS**

- Hématies O1, O2, O3 salines de 3 à 5%.
- Antiglobuline humaine prête à l'emploi.
- papaine ou broméline (prêtes à l'emploi).

### **2-TECHNIQUE A L'ANTIGLOBULINE**

Dans 3 tubes marqués T1, T2, T3 et portant l'identification de l'échantillon, mettre respectivement :

- 50 µl d'hématies O1 + 100 µl de sérum à tester
- 50 µl d'hématies O2 + 100 µl de sérum à tester
- 50 µl d'hématies O3 + 100 µl de sérum à tester
- Incuber 30 à 60 min à 37 C°
- Laver 3 fois avec l'eau physiologique.
- Ajouter dans chaque tube 2 gouttes d'antiglobuline.
- Centrifuger pendant 2 min à 1000 RPM ou pendant 20 secondes à 3000 RPM.
- Lire en agitant légèrement les tubes.

### **3-TECHNIQUE ENZYMATIQUE**

- Dans 3 tubes marqués B1, B2, B3 et portant l'identification de l'échantillon, mettre respectivement :



- 50 µl d'hématies O1 + 100 µl de sérum à tester + 50 µl de broméline ou papaine
- 50 µl d'hématies O2 + 100 µl de sérum à tester + 50 µl de broméline ou papaine
- 50 µl d'hématies O3 + 100 µl de sérum à tester + 50 µl de broméline ou papaine
  - Incuber 10 min à température ambiante si broméline ou 30 min à 37 C° si papaine.
  - Centrifuger 2 minutes à 1000 RPM ou 20 secondes à 3000 RPM.
  - Observer l'agglutination en secouant le tube très doucement.

#### **4-INTERPRETATION DES RESULTATS**

- Réaction positive = présence d'agglutinats témoignant la présence d'anticorps.
- Réaction négative = absence d'agglutinats témoignant l'absence d'anticorps

#### **F/ Procédures de recherche des hémolysines**

##### **1 / Réactifs**

- Hématies test A et B ou AB salines à 5%

##### **2/ Etape 1= Dilution des échantillons à tester**

- ✚ Distribuer 315µl de sérum physiologique dans les puits d'une microplaque à fond plat, le nombre de puits à remplir correspond à celui des échantillons à tester.
- ✚ Distribuer dans l'ordre du plan de travail, 5µl de sérum de chaque échantillon par puits
- ✚ Agiter soigneusement pour homogénéiser.

##### **3/ Etape 2= Distribution des échantillons dilués**

- ✚ Prendre 25µl de la dilution préparé ci-dessus et la distribuer dans une microplaque à fond rond, en suivant le même ordre que l'étape de dilution.
- ✚ Ajouter 25µl d'hématies tests du groupe AB ou A et B.
- ✚ Agiter la microplaque soigneusement.
- ✚ Recouvrir et incuber à 37°C pendant 45 min.
- ✚ Centrifuger la microplaque à 2500 RPM.
- ✚ Agiter la microplaque sur un agitateur à rotation circulaire.

##### **4/ Interprétation des résultats**

- ✚ Réaction positive = présence d'agglutinats témoignant de la présence d'anticorps immuns anti- A et/ou anti-B.
- ✚ Réaction négative = absence d'agglutinats témoignant de l'absence d'anticorps immuns anti-A et/ou anti-B.



## VI/ Résultats

### I/ Groupage ABO-Rhésus et phénotypage

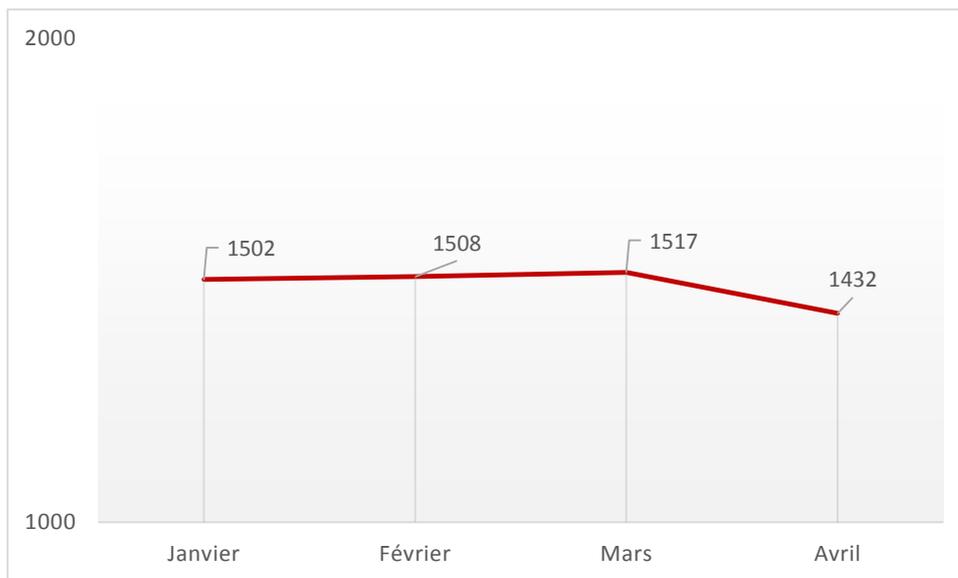
#### Groupage ABO-Rhésus :

Le tableau ci-dessous regroupe les résultats du groupage ABO-Rh recensé chez notre population d'étude.

Mois	<b>Tableau 1: Fréquences des différents groupes des système ABO et Rhésus D</b> <i>chez les donneurs du CRTS de Fès</i> <i>janvier - Avril 2015</i>									
		A+	O+	AB+	B+	A-	O-	AB-	B-	Total
<b>Janvier</b>	Nb	450	720	45	136	55	63	7	26	1502
	%	29,96	47,93	2,99	9,05	3,66	4,19	0,46	1,73	
<b>Février</b>	Nb	514	604	38	210	48	68	4	22	1508
	%	34,08	40,05	2,52	13,93	3,18	4,50	0,26	1,45	
<b>Mars</b>	Nb	440	620	55	234	51	82	6	29	1517
	%	29	40,87	3,62	15,42	3,36	5,40	0,59	1,91	
<b>Avril</b>	Nb	496	550	52	188	54	54	8	30	1432
	%	34,63	38,40	3,63	13,12	3,77	3,77	0,55	2,09	
<b>Total</b>	Nb	1900	2494	190	768	208	267	25	107	5959
		31,88	41,85	3,19	12,89	3,49	4,48	0,42	1,79	

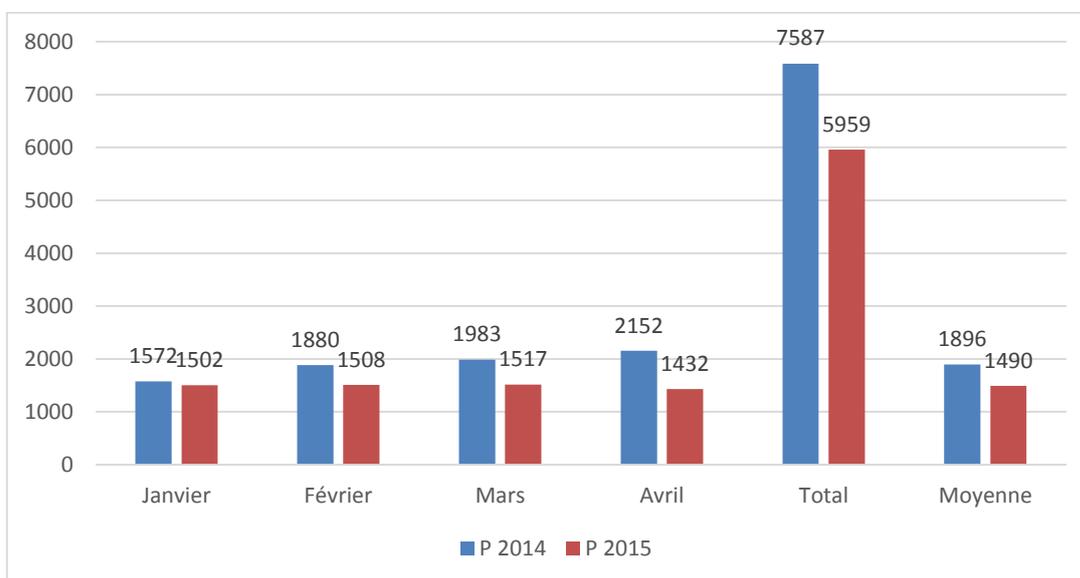
#### Analyse de l'effectif de la population étudiée

Le nombre d'échantillons traité en immuno-hématologie donneurs entre janvier et avril 2015 est de 5959. La moyenne de donneur par mois étant de 1490. Le nombre de donneur par mois était presque constant sauf pour le mois d'avril où il a chuté de 5,6%.



**Fig14 :** Suivi de l'évolution de nombre des donneurs du mois janvier au mois avril 2015

En comparant avec la même période de l'année précédente on note une chute de 21,4 % du nombre totale de don (5959 vs 7587) et de la moyenne mensuelle (1490 vs 1896).

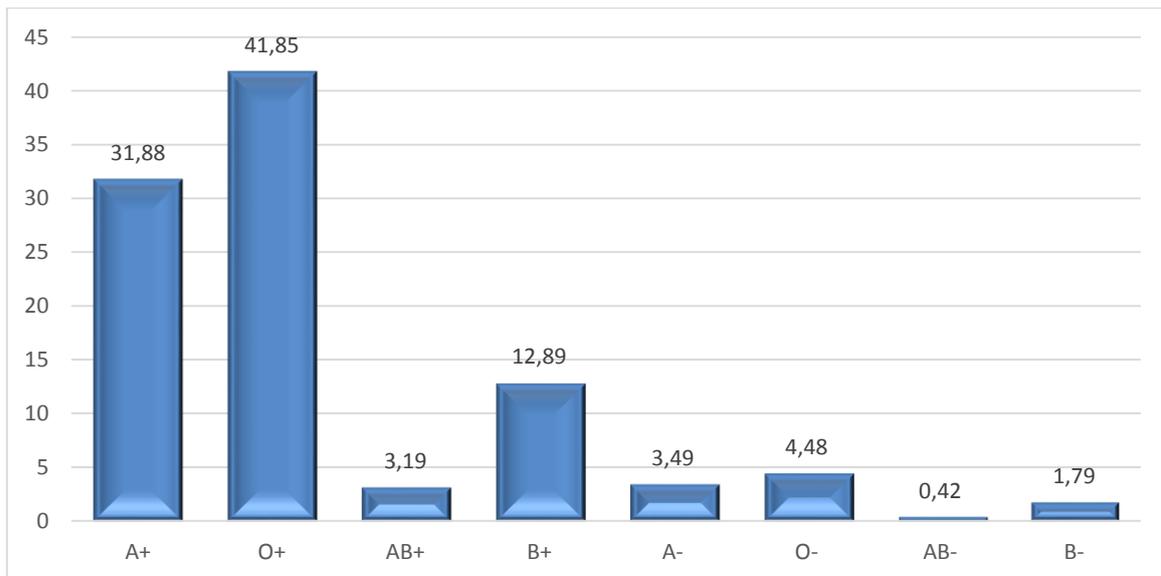


**Fig15 :** Comparaison du nombre de donneurs par rapport à la même période de l'année 2014



### Analyse du profil ABO-Rh de la population étudiée

Le graphe suivant montre la fréquence des différents groupes du système ABO et Rhésus-D chez les donneurs du CRTS de Fès .

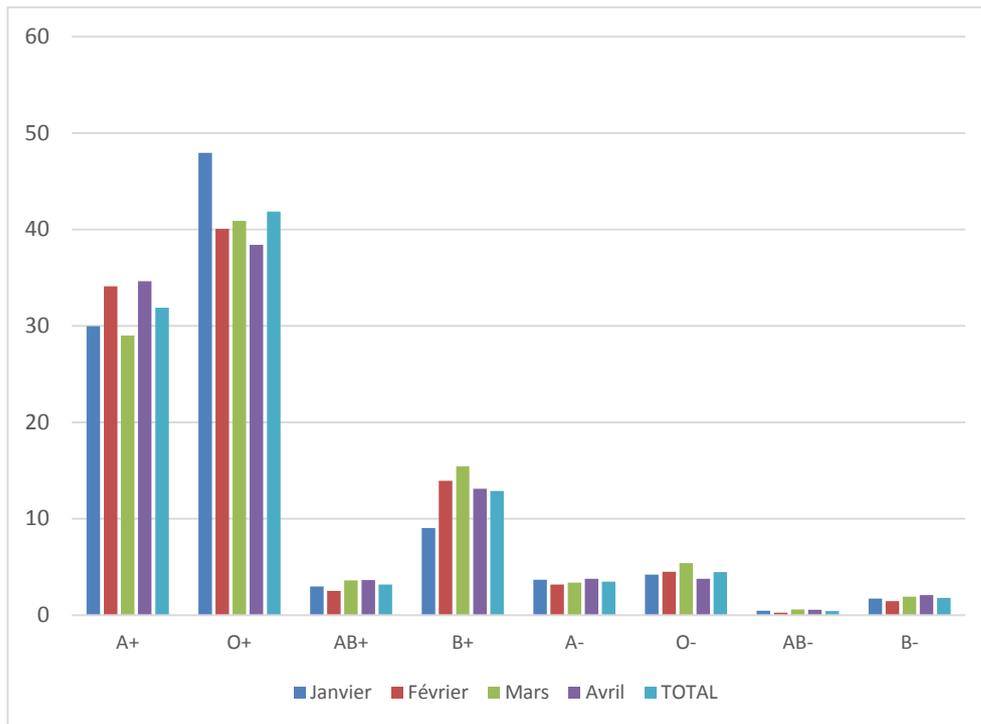


**Fig16 :** *Fréquences des différents groupes des système ABO et Rhésus D chez les donneurs du CRTS de Fès*

Le groupe le plus présent est O+ avec 41,85% suivi du A+ (31,88%), B+ (12,89), O- (4,48%), A- (3,49%), AB+ (3,19%), B- (1,79%). Le groupe le plus rare est AB négatif (0,42%). Cela signifie qu'il faut 238 donneurs de sang au moins pour trouver une poche AB négative.

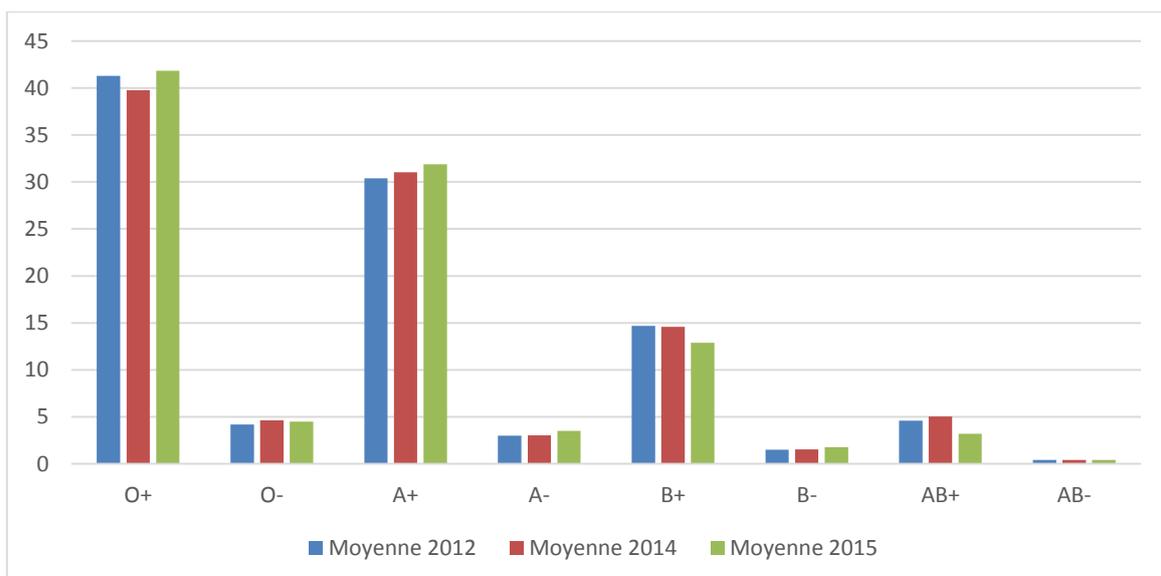
Le taux des groupes Rhésus négatif est de 10,18%

En analysant les résultats sur la base d'une Comparaison du pourcentage de groupe par mois (CF. graphe suivant), nous remarquons que la tendance est presque la même sur le plan prédominance des groupes.



**Fig17 :** Pourcentage des groupes sanguins par mois

En comparant avec les données de la même période des années 2012 et 2014 (Cf. graphe suivant), nous remarquons que la population garde toujours la même tendance. Cela signifie que c'est le profil de la population de Fès puisque à travers ces années, nous gardons la même répartition au sein des donneurs du CRTS. D'autres études faites au CRTS par des étudiants dans le cadre de master et licence ont abouti à la même conclusion



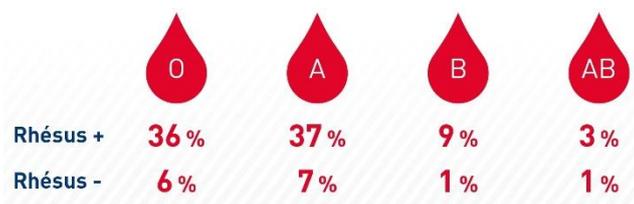
**Fig18 :** Comparaison de la fréquence des groupes ABO-Rh dans la population étudiée 2012-2014-2015



En comparant avec la population française, nous remarquons que le groupe O et A ont la même fréquence en France ; 36% et 37% respectivement, alors que dans notre population ils sont de 42% et 32% respectivement.

La fréquence des groupes négatifs est de 15% en France. Donc 1,5 fois plus que chez nous (10%).

**Tableau 2 . Fréquences des différents groupes des système ABO et Rhésus D dans la population française.**



### **Résultats du phénotypage :**

Le graphe suivant illustre le profil phénotypique de la population étudiée. On note un polymorphisme très évident.

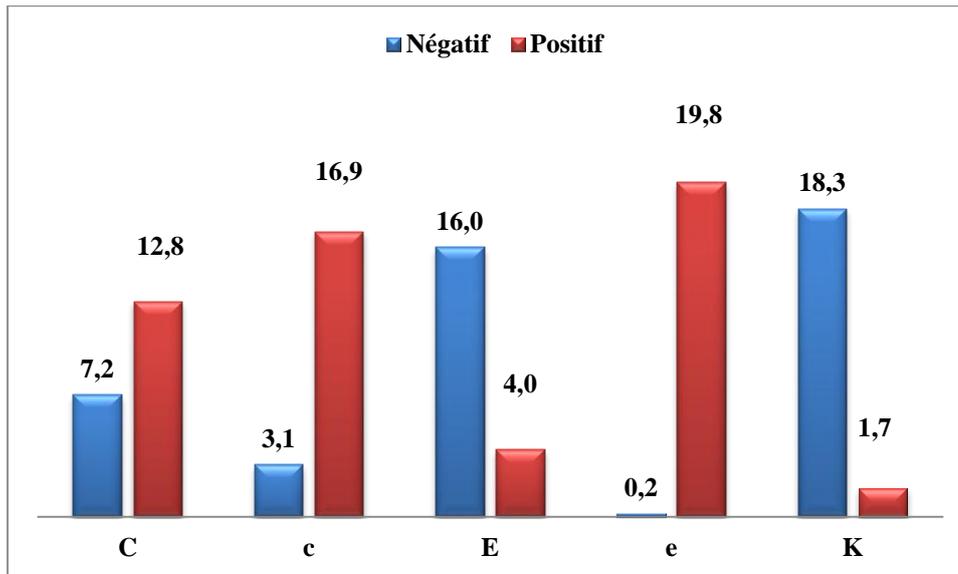
Le classement des antigènes selon leur fréquence dans la population donne la succession suivante :

$e+ > K- > c+ > E- > C+ > C- > E+ > c- > K+ > e-$

En transfusion c'est le phénotype négatif qui intéresse le plus car c'est lui qui ne présente pas de risque d'immunisation des receveurs. Il peut être transfusé en toute sécurité même aux receveurs positifs pour l'antigène en question.

Si on classe les données sur ce critère, les phénotypes négatifs les plus fréquents dans la population sont K et E avec 18,3 et 16% respectivement. Vient ensuite le C avec 7,2% et c avec 3,1%

Le phénotype le plus rare étant le (e) car il ne représente que 0,2%. Ce qui expose les patients possédant ce phénotype à la difficulté de trouver du sang qui leur est compatible car il faut analyser 1000 poches pour tomber probablement sur 2



**Fig19 :** Profil phénotypique de la population étudiée

Le graphe suivant illustre la prédominance des antigènes par rapport au critère positif et négatif :

Le (C+) l'emporte sur le (C-) (64% vs 36%)

Le (c+) l'emporte sur le (c-) (85% vs 15%)

Le (E-) l'emporte sur le (E+) (80% vs 20%)

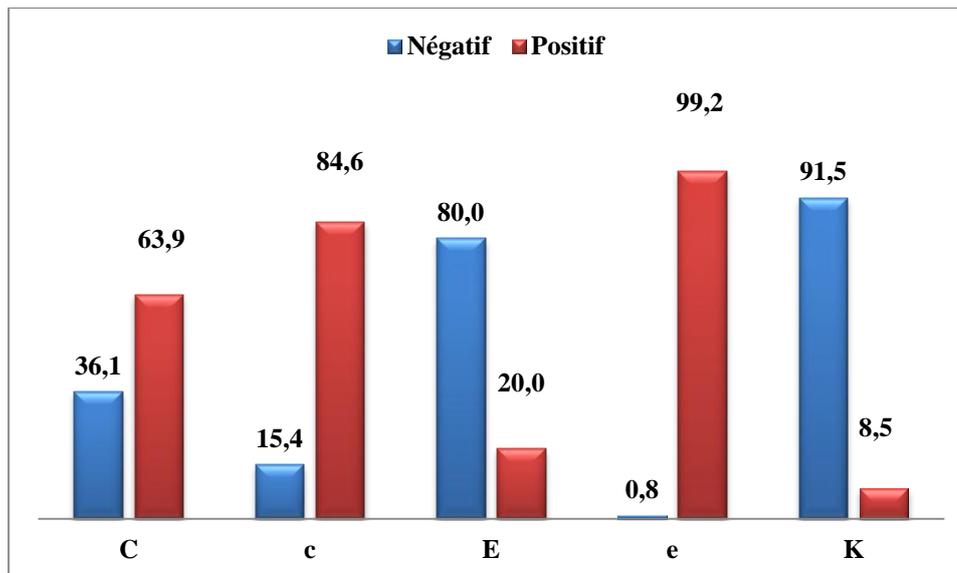
Le (e+) l'emporte sur le (e-) (99,8% vs 0,2%)

Le (K-) l'emporte sur le (K+) (92% vs 8%)

Il permet aussi la comparaison de la prédominance des antigènes antithétiques entre eux. Je rappelle que deux antigènes sont antithétiques si l'absence de l'un impose la présence de l'autre. Autrement dit, on peut avoir les deux antigènes présents ou au moins l'un des deux, mais jamais les deux sont négatifs ou absents à la fois :

Le (C) est plus absent que le (c) (36% vs 15%) ce qui impose que le (c) soit plus présent que le (C) (85% vs 64%)

Le (E) est plus absent que le (e) (80% vs 0,8%) ce qui impose que le (e) soit plus présent que le (E) (99% vs 20%) .



**Fig20 :** Représentation de la fréquence des antigènes antithétiques

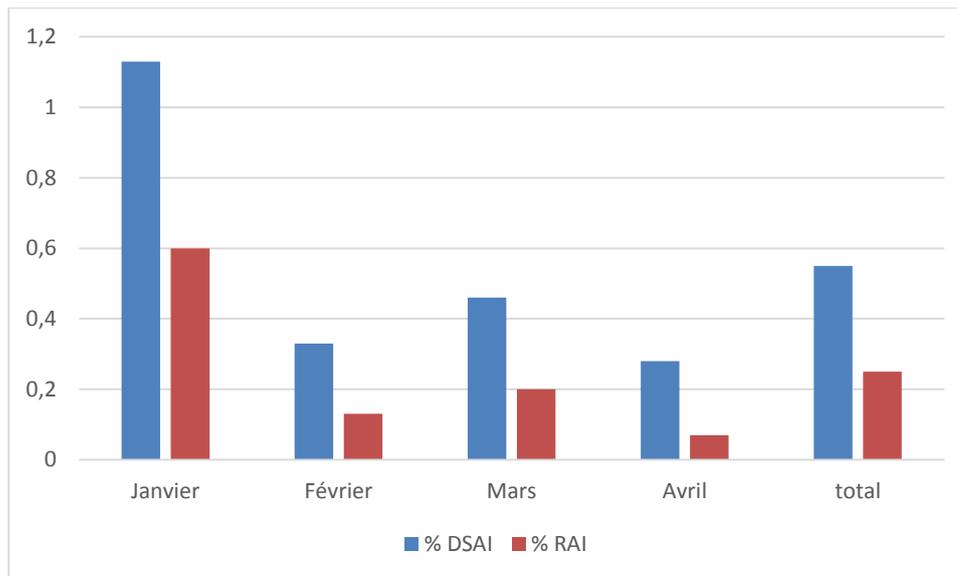
## 2- DSAI et RAI

Parmi les 5959 échantillons traités, 33 cas (0,55%) se sont révélés positifs en DSAI dont 15 cas (0,25%) confirmés par la RAI. Une étude similaire faite en 2012 dans le cadre d'un master a rapporté des valeurs similaires 0,5% de DSAI positifs, et 0,3% de RAI positifs.

**Tableau 3:** Cas du DSAI et RAI positifs au sein de la population étudiée

Mois		Janvier	Février	Mars	Avril	total
DSAI	Nb	17	5	7	4	33
	%	1,13	0,33	0,46	0,28	0,55
RAI	Nb	9	2	3	1	15
	%	0,60	0,13	0,20	0,07	0,25
Nb échantillons		1502	1508	1517	1432	5959

Ces résultats sont présentés dans le graphe suivant :



**Fig21 :** Taux de DSAI et RAI positifs

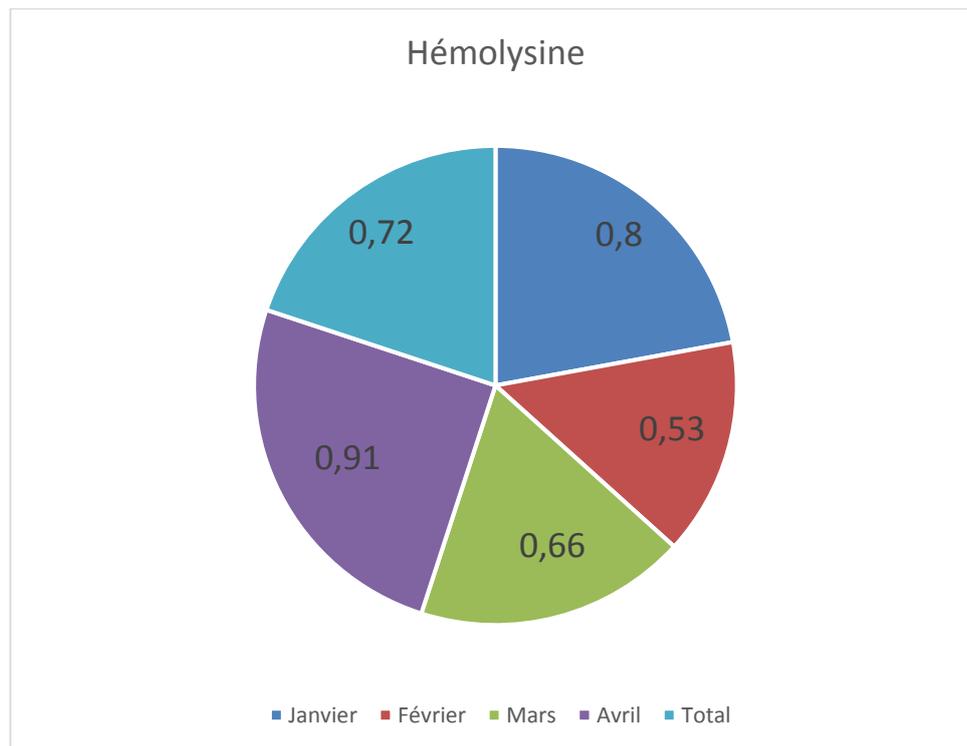
### 3- recherche d'hémolysine

Le taux d'hémolysines positives étant très faible, de l'ordre de 0,72%. La valeur trouvée dans l'étude de 2012 citée ci-dessus étant de 0,5%.

Les poches hémolysines positives ne peuvent faire l'objet que d'une transfusion isogroupe car ce sont des anticorps immuns anti A et anti B.

**Tableau 4 :** Cas d'Hémolysines positifs au sein de la population étudiée

Mois		Janvier	Février	Mars	Avril	Total
Hémolysine	Nb	12	8	10	13	43
	%	0,80	0,53	0,66	0,91	0,72
Nb échantillons		1502	1508	1517	1432	5959



**Fig 22** : Les Cas d'hémolysine positifs dans la population étudiée



## CONCLUSION

L'Etude rétrospective du profil immuno-hématologique des donneurs du sang au seins du centre régional de transfusion sanguine de Fès du mois de janvier au mois d'avril 2015 m'a permit de conclure :

- Le nombre des donneurs du sang
- La chute des nombres des donneurs par rapport aux années précédentes
- Le groupe le plus présent est O+ et le plus rare est AB-
- Le taux des groupes rhésus positif et négatif
- Le profil de la population de Fès garde toujours la même tendance
- Les phénotypes négatifs les plus fréquents dans la population sont : K et E et le phénotype le plus rare est : e
- En transfusion c'est le phénotype négatif qui intéresse le plus car c'est lui qui ne présente pas de risque d'immunisation des receveurs.
- Les cas du DSAI et RAI positifs
- Les cas d'hémolysine positifs.



### **Référence :**

- Référentiel Bonnes Pratiques transfusionnelles version 2006 du centre national de transfusion sanguine
- Les Groupes sanguins chez l'Homme, R. R. Race et R. Sanger, traduit par Ch. Salmon et A. Mourier, Masson 1970
- Immuno-hématologie et immunogénétique M. Goudemand et Ch Salmon, Flammarion Médecine-Sciences, 1980.
- <http://www.toutsurlatransfusion.com/securite-de-la-transfusion/immuno-hematologie-et-transfusion-et-don-du-sang.php>
- <http://fr.wikipedia.org/wiki/Antig%C3%A8ne>
- <http://fr.wikipedia.org/wiki/Anticorps>
- <http://www.toutsurlatransfusion.com/securite-de-la-transfusion/analyse-des-produits-sanguins-pour-la-transfusion.php>
- <http://www.hema-quebec.qc.ca/donner/don-de-sang/tout-sur-le-sang/groupes-sanguins.fr.html>
- <http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/gpes-sanguins/04regles.htm>