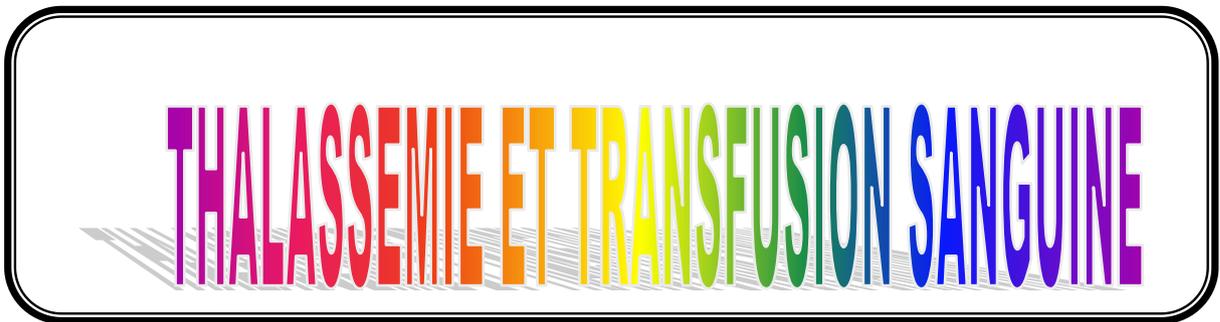




**UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH  
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES – FES  
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA VIE**



**PROJET DE FIN D'ETUDES  
Licence en Sciences & Techniques :  
Sciences Biologiques appliquées et Santé**



**Présenté par :                      ALLAOUI AMINE**

**Encadré par :**

**Pr. ELABIDA KAOUAKIB                      : FST Fès  
Dr. OUBENCHIKER KAMAL                    : CRTS Fès**

**Soutenu le :    17 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

Pr. El Abida Kaouakib	: Présidente
Dr. Oubenchiker Kamal	: Encadrant
Pr. Tlémçani Rachida	: Examinatrice

**Année Universitaire : 2014-2015**

# REMERCIEMENTS

La réalisation de ce modeste travail doit beaucoup à l'aide précieuse et conseils reçus des enseignants qui ont beaucoup contribué par leurs suggestions et critiques. Ainsi je tiens à exprimer ma gratitude et présenter mes chaleureux remerciements à:

Professeur El Abida Kaouakib, mon encadrante de la FST, pour sa disponibilité, sa générosité, son encouragement et son soutien. C'est avec un réel plaisir que j'ai effectué ce stage sous sa direction.

Docteur Benyesrhi Abderrahim, le Directeur du Centre Régional de Transfusion Sanguine de Fès, pour son accueil chaleureux qui m'a donné l'opportunité d'effectuer mon stage dans de bonnes conditions. Qu'il trouve ici l'expression de mon profond respect et de ma gratitude.

Docteur Oubenchiker Kamal, mon encadrant au sein du centre de transfusion sanguine, qui n'a pas cessé de me prodiguer ses conseils et qui n'a épargné aucun effort pour contribuer à la réussite de ce travail.

Au Professeur Tlemçani Rachida d'avoir accepté de juger ce travail.

A toute l'équipe du CRTSF Qui a contribué en fonction de ses moyens à affermir ma formation.

"Mes remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année Universitaire !"

# SOMMAIRE

Abréviations.....	4
Résumé.....	5
Introduction.....	6
Présentation du lieu de stage.....	7-8

## Partie bibliographique

<b><u>Chapitre I. Transfusion sanguine</u></b> .....	9
I. Définition .....	9
II. Historique.....	9
III. Chaîne transfusionnelle.....	10
1/ Réception.....	10
2/ Service médical.....	10
3/ Prélèvement.....	10
4/ Préparation.....	10
5/ Qualification biologique des dons.....	10
6/ Distribution.....	11
IV. Immuno-hématologie et sécurité transfusionnelle.....	11
1/ Groupes sanguins ABO.....	11
2/ Système rhésus.....	12
3/ Système Kell (K).....	12
4/ Phénotype étendu.....	12
a) Le système DUFFY (FY).....	12
b) Le système KIDD (JK).....	13
c) Le système MNS.....	13
<b><u>Chapitre II. Les thalassémies</u></b> .....	13
I. Définition.....	13
II. Epidémiologie.....	14
III. Généralité sur l'hémoglobine .....	15

III.1 L'hème .....	15-16
III.2 La globine.....	16
III.3 Les gènes de la globine .....	16
III.3.1 Organisation.....	17
III.3.2 Expression .....	17-18
IV. types de thalassémies .....	18
IV.1. Beta -thalassémie.....	18
IV.1.1 physiopathologie.....	19
IV.1.2 Beta-thalassémie mineure.....	19
IV.1.3 Beta-thalassémie majeure.....	19
IV.2. Alpha-thalassémie.....	19
IV.2.1 Physiopathologie.....	19-20
IV.2.2 Alpha-thalassémie mineure.....	20
IV.2.3 Hémoglobinoase H.....	20
IV.2.4 Alpha-thalassémie silencieuse.....	20

## Partie pratique

I. Les examens immuno-hématologiques pré transfusionnels.....	21
I.1. Matériel du laboratoire.....	21
a) Microplaque.....	21
b) Centrifugeuse.....	21
c) Appareil d'agitation.....	21-22
d) L'étuve.....	22
e) Les réactifs.....	22-23
f) L'échantillon.....	23
I.2. Mode opératoire.....	24
I.2.1 Détermination du groupe ABO Rhésus.....	24-25-26
I.2.2 Recherche d'anticorps irréguliers (RAI).....	26-27
I.2.3 Déleucocytation du sang.....	27-28
II. Prise en charge des thalassémies au niveau du CRTS Fès.....	28
II.1. Résultats.....	29
II.2. Discussion .....	29-30
Conclusion.....	31
Références.....	32

# **LISTE DES ABREVIATIONS**

- **CRTSF** : Centre Régional de Transfusion Sanguine Fès
- **IHD** : Immuno-Hématologie Donneurs
- **IHR** : Immuno-Hématologie Receveurs
- **AG** : Antigène
- **AC** : Anticorps
- **Rh** : Rhésus
- **RAI** : Recherche d'Anticorps Irréguliers
- **PSL** : Produits Sanguins Labiles
- **FY** : Duffy
- **JK** : Kidd
- **K** : Kell
- **HbA** : Hémoglobine Adulte
- **HbF** : Hémoglobine Fœtale
- **CGR** : Concentré de Globules Rouges

# Résumé

Les syndromes thalassémiques sont des affections génétiques, Ils entraînent une réduction de la synthèse des chaînes de globine, soit alpha (alpha-thalassémies), soit bêta (bêta-thalassémies). Le déséquilibre de synthèse entre chaînes alpha et non-alpha provoque la précipitation des chaînes non appariées, une érythropoïèse inefficace et une anémie.

En fonction du degré de l'anémie et des besoins transfusionnels, on distingue :

- **Les thalassémies intermédiaires** avec production spontanée d'hémoglobine entre 7 et 9 g/dl et besoins transfusionnels modérés.
- **Les thalassémies majeures** pour lesquelles des transfusions régulières sont vitales.

Le pronostic de ces formes a été amélioré par les programmes transfusionnels et une chélation du fer ; étant donné la lourdeur du traitement, une greffe de moelle osseuse avec donneur apparenté HLA compatible est proposée aux enfants atteints de la maladie.

# INTRODUCTION

La transfusion sanguine est une discipline aux confins de l'hématologie et de l'immunologie : elle implique la médecine, la biologie, la bio-industrie et la sociologie ; elle repose sur l'éthique. Elle consiste à administrer le 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 « receveurs ». [1]

Sans cette forme de médecine, il y aurait beaucoup de pertes en vies humaines dans les maternités à causes des hémorragies obstétricales, en Pédiatrie à cause des anémies, et en Chirurgie à cause des accidents. Aussi, dans les pays développés, les progrès enregistrés dans la chirurgie cardiaque et le traitement des cancers seraient limités si la transfusion sanguine n'existait pas. [2]

Parmi les patients qui ne peuvent vivre sans transfusion sanguine ceux qui ont des anomalies héréditaires dans la production des chaînes de l'hémoglobine (thalassémies). La prise en charge de ce type de maladies dites thalassémies repose notamment sur des transfusions sanguines itératives qui visent à obtenir une hémoglobine fonctionnelle en concentration suffisante afin de corriger l'anémie. Cependant, la prise en charge transfusionnelle de ces patients est souvent compliquée du fait de la diversité génétique entre donneurs de sang et patients. En transfusion sanguine, les incompatibilités érythrocytaires entre un donneur et un receveur se traduisent par des allo-immunisations pouvant aller jusqu'à engager le pronostic vital du receveur.

Dans le présent travail qui a été effectué au sein du Centre Régional de Transfusion Sanguine de Fès (CRTSF) du 06 Avril au 31 Mai 2015, j'étais amené à suivre tous les tests pré et post transfusionnel faits au laboratoire d'Immuno-Hématologie Receveur pour prévenir ce type d'immunisations, réalisation d'une étude rétrospective sur 10 patients atteints de thalassémie. Un classement a été réalisé en fonction de type de thalassémie et la nature de traitement prescrit aux patients.

# PRÉSENTATION DU LIEU DE STAGE

Le CRTS de Fès est une banque de produits sanguins labiles et stables, soumise sous le service du Ministère de la Santé publique , chargé de collecter les dons du sang, de les qualifier biologiquement et de satisfaire les besoins de tous les malades hospitalisés dans les établissements de soins publics ou privés de Fès et ses régions.

## Composition du centre

Le centre de transfusion comporte :

- ✓ Salle d'accueil
- ✓ Salle de prélèvement
- ✓ Bureau de médecin
- ✓ Buvette pour les donneurs
- ✓ Laboratoire de production des PSL
- ✓ Laboratoire de sérologie
- ✓ Laboratoire d'immuno-hématologie donneur (IHD)
- ✓ Laboratoire de contrôle qualité
- ✓ Laboratoire d'immuno-hématologie receveur (IHR)
- ✓ Salle de livraison des PSL

## Ressources humaines

Le personnel du réseau national de transfusion sanguine est pluridisciplinaire :

- ✓ Médecins
- ✓ Cadres scientifiques (biologistes et chimistes)
- ✓ Administrateurs
- ✓ Techniciens de laboratoire
- ✓ Infirmiers polyvalents

- ✓ Secrétaire
- ✓ Chauffeurs formés pour le transport du sang

### Les activités du CRTS Fès

- ✓ Sensibiliser l'importance de la régularité des dons du sang
- ✓ Organiser des collectes et recruter des donneurs de sang
- ✓ Assurer le prélèvement de sang total
- ✓ Produire des produits sanguins labiles
- ✓ Assurer les qualifications biologiques des dons de sang
- ✓ Réaliser le contrôle de qualité des produits sanguins labiles
- ✓ Assurer les analyses immuno-hématologiques chez le receveur
- ✓ Constituer des réserves de sécurité en groupes sanguins rares
- ✓ Participer à la collecte de toute information relative aux incidents et accidents transfusionnels pour les prévenir (hémovigilance).

## *Chapitre I : Transfusion sanguine*

### I. Définition :

La transfusion sanguine consiste à transférer, au moyen d'une injection par intraveineuse, un produit sanguin dans l'organisme d'un patient. Le sang et ses dérivés proviennent généralement d'un donneur anonyme, mais peuvent également provenir du patient lui-même. La transfusion sanguine permet de transmettre une partie du sang, du même **groupe sanguin** que le patient, à savoir des **plaquettes**, du **plasma** ou des **globules rouges**.

La transfusion sanguine est préconisée dans le cadre de **perte sanguine** importante ou de pathologies. [3]

### II. Historique :

La transfusion du sang ou de ses composants est à l'heure actuelle une pratique courante. Mais, que de longues tentatives, depuis la découverte en 1628 par l'anglais WILLIAMS HARVEY du principe de la circulation sanguine, avant de parvenir à la sécurité dont bénéficie maintenant cette opération.

En 1900, LANDSTEINER, fait une découverte capitale. Il constate la possibilité d'incompatibilité entre divers sangs humains, expliquant ainsi les succès et les échecs des transfusions. Il démontre que le sang contient deux sortes de substances particulières: les agglutinogènes dans les globules rouges et les agglutinines dans le sérum.

Les études de HECKTOEN, de SCHULTZ, et surtout celles d'OTTENBERG en 1911, démontrent qu'il faut tenir compte des groupes d'isoagglutination pour injecter du sang aux malades. Les groupes I, II, III, IV sont déterminés. Aujourd'hui, ils sont appelés AB, A, B, O. [4]

### III. Chaîne transfusionnelle :

#### 1/ Réception :

Cette première étape permet de recueillir les renseignements nécessaires pour constituer le dossier administratif du donneur (nom et prénom, CIN, date de naissance).

#### 2/ Service médical :

Confidentiel et couvert par le secret médical, l'entretien médical préalable constitue une des étapes capitales du processus de don de sang (ou de la sécurité transfusionnelle).

Avant chaque don, le médecin vérifie que le donneur est en condition physique lui permettant de donner du sang, il contrôle :

- ✓ Le poids qui doit être supérieur à 50 kg.
- ✓ La tension artérielle :  $10 \leq TA \leq 18$ .

#### 3/ Prélèvement :

Une fois déclaré apte, le donneur passe dans la salle de prélèvement où il est pris en charge par un(e) infirmier(e) spécialement formé(e) qui prélève quelques tubes échantillons sur lesquels seront effectués des analyses et des tests de dépistage au sein des laboratoires d'immuno-hématologie donneur (IHD) et de sérologie virale.

#### 4/ Préparation :

Chaque poche prélevée est dirigée vers un plateau de préparation où elle sera filtrée (enlever les globules blancs), puis centrifugée afin d'en séparer les composants (globules rouges, plasma, plaquettes issus d'un don du sang total). en effet on ne transfuse jamais au malade du sang total, mais uniquement le composant dont il a besoin.

#### 5/ Qualification biologique des dons :

Au début du prélèvement, on recueille des tubes échantillons qui sont ensuite transmis à un plateau technique pour passer une série de tests (virologiques, hématologiques et sérologiques). Si les résultats présentent une anomalie, la poche de sang correspondante est bien évidemment écartée et le donneur averti.

## 6/ Distribution :

Préparés et qualifiés, les produits sanguins labiles (PSL) sont distribués aux hôpitaux et cliniques qui en font la demande.

Les PSL ont une durée de vie différente :

- 5 jours pour les plaquettes.
- 42 jours pour les globules rouges.
- 12 mois pour le plasma, qui se congèle.

## IV. Immuno-hématologie et sécurité transfusionnelle :

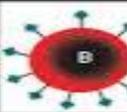
### 1/ Groupes sanguins ABO

Le système ABO se caractérise par :

- La présence ou l'absence des antigènes A et/ou B à la surface des globules rouges.
- La présence ou l'absence des anticorps « naturels » anti-A et /ou anti-B dans le plasma.

La double caractéristique est à la base des caractéristiques de détermination des groupes sanguins ABO qui reposent sur l'étude de ces deux propriétés. Un groupe sanguin est réalisé selon deux tests :

- La recherche des antigènes érythrocytaires à l'aide de sérums tests (anti-A, anti-B, anti-D) : la méthode de BETH-VICENT.
- La recherche des anticorps plasmatiques à l'aide des hématies tests (A et B) : la méthode de SIMONIN. [5]

	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	Bas d'antigène

*Figure 1 : Ag et Ac naturels pour chaque hématie.*

## 2/ Système rhésus

C'est un système complexe de groupe sanguin porté uniquement par les globules rouges, il se définit par ses antigènes. Actuellement près de 50 antigènes différents ont été mis en évidence.

Nous insisterons essentiellement sur les antigènes RH1 (D), RH2 (C), RH3 (c), RH4 (E), RH5 (e) et leurs anticorps correspondants et qui sont le plus souvent impliqués dans le domaine transfusionnel. [5]

## 3/ Système Kell (K)

C'est le second système derrière le système rhésus, il possède 2 antigènes principaux : K (KEL1) et k (KEL2, Cellano), portés par une glycoprotéine membranaire dont l'expression se trouve restreinte à la lignée érythrocytaire.

Les anticorps anti-K (KEL1) fréquents et dangereux, occasionnent des accidents hémolytiques post transfusionnels, des anémies fœtales sévères et des maladies hémolytiques du nouveau né.

Les anticorps anti-k (KEL2) très rares, aussi dangereux que l'anti-KEL1, peuvent conduire à des situations d'impasse transfusionnelle. [6]

## 4/ Phénotype étendu

### a) Le système DUFFY (FY)

Il s'agit également d'un système immunogène. Il comprend 2 antigènes principaux : Fya (FY1) et Fyb (FY2). Il existe théoriquement 3 phénotypes possibles : Fy (a+b-), Fy (a+b+) et Fy (a-b+). Le phénotype Fy (a-b-) est très rare.

Une recherche d'anticorps irréguliers demeure indispensable pour détecter ces anticorps avant toute transfusion de globules rouges. Leurs présences imposent la recherche d'une unité de globules rouges immunologiquement compatible.

Les anticorps anti-Fya (FY1) et anti-Fyb (FY2) peuvent être impliqués dans des accidents transfusionnels immunologiques ou dans des problèmes d'incompatibilité fœto-maternelle. [6]

### b) Le système KIDD (JK)

Représenté par 2 antigènes principaux : Jka (JK1) et Jkb (JK2) aussi immunogènes que les antigènes du système Duffy. Deux allèles codominants localisés sur le chromosome 18, JK1 et JK2, déterminent l'expression des antigènes. Il s'agit d'un système diallélique équilibré.

Les anticorps anti-Jka (JK1) et anti-Jkb (JK2), très dangereux et relativement fréquents, doivent être systématiquement dépistés avant la transfusion. [6]

### c) Le système MNS

Ce système doit prendre en compte deux antigènes principaux :

- S (grand S = MNS3)
- s (petit s = MNS4)

Les anticorps anti-S (MNS3) et anti-s (MNS4) peuvent être responsables de réactions hémolytiques transfusionnelles et de maladies hémolytiques du nouveau né. De ce fait, ils doivent également être recherchés dans un contexte transfusionnel ou lors du suivi d'une grossesse. [6]

## *Chapitre II. Les thalassémies*

### I. Définition :

Les thalassémies sont des formes d'anémies héréditaires associées à une hémoglobinopathie (défiance dans la synthèse d'une ou de plusieurs des quatre chaînes formant l'hémoglobine des globules rouges). Cela se traduit par une anémie assez importante. On observe également une hypertrophie de la rate et des déformations du crâne et des os longs. Même s'il existe deux sortes de thalassémie (alpha et bêta), du fait de la rareté de la première, les thalassémies « sans précision » correspondent, en fait, à des bêta thalassémies.

Cette pathologie, due à un **défaut de synthèse de l'hémoglobine**, se rencontre essentiellement dans les populations du bassin méditerranéen

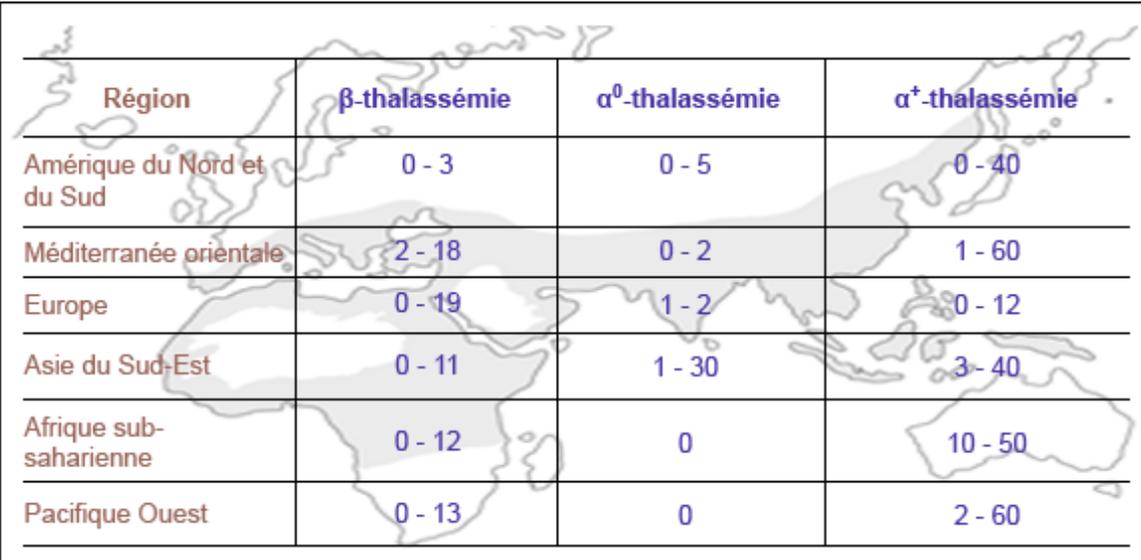
Elle est transmise le plus souvent selon un mode autosomique récessif (il est nécessaire que les deux parents portent l'anomalie génétique sur un chromosome non sexuel pour que

l'enfant présente l'affection), autrement dit, le gène en cause, doit être reçu du père et de la mère pour que l'enfant développe la maladie. [7]

## II. Épidémiologie :

La thalassémie affecte aussi bien les hommes que les femmes et touche environ 4,4 naissances sur 10 000. L' $\alpha$ -thalassémie est plus répandue chez les individus originaires d'Afrique et d'Asie du Sud-Est, tandis que la  $\beta$ -thalassémie touche plus souvent les individus originaires du pourtour méditerranéen, d'Afrique et d'Asie du Sud-Est (cf. tableau 1). Près de 5 % de la population mondiale présente une variante des chaînes de globine, mais seul 1,7 % est porteur du trait  $\alpha$ - ou  $\beta$ -thalassémique.<sup>1</sup> Le trait thalassémique touche 5 % à 30 % de ces groupes ethniques.

*Tableau n °1 : Épidémiologie de la thalassémie*



Région	$\beta$ -thalassémie	$\alpha^0$ -thalassémie	$\alpha^+$ -thalassémie
Amérique du Nord et du Sud	0 - 3	0 - 5	0 - 40
Méditerranée orientale	2 - 18	0 - 2	1 - 60
Europe	0 - 19	1 - 2	0 - 12
Asie du Sud-Est	0 - 11	1 - 30	3 - 40
Afrique sub-saharienne	0 - 12	0	10 - 50
Pacifique Ouest	0 - 13	0	2 - 60

La prévalence de la  $\beta$ -thalassémie est plus élevée dans les régions où la malaria est (ou était) endémique.

Comme la  $\beta$ -thalassémie, l' $\alpha$ -thalassémie est très présente dans les régions tropicales et subtropicales où la malaria était ou est encore endémique. On pense que les porteurs d'hémoglobinopathies sont mieux protégés contre la malaria, bien que le mécanisme exact de protection soit inconnu. [8]

### III. Généralité sur l'hémoglobine:

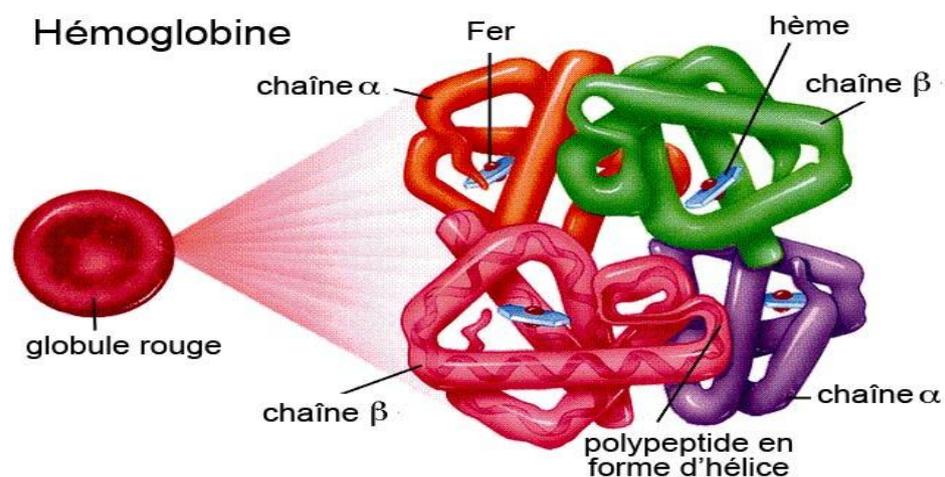
L'hémoglobine est une chromoprotéine constituée d'une partie protéique = la globine, et d'une partie non protéique = l'hème.

Dissoute dans le cytosol aqueux des érythrocytes en une solution très concentrée, l'Hb assure le transport du dioxygène des poumons vers les tissus.

Un globule rouge humain de 7  $\mu\text{m}$ , contient 280 millions de molécules d'hémoglobine.

Il existe 3 types d'hémoglobine :

- Hb A1 : 2 chaînes  $\alpha$  et 2 chaînes  $\beta$  = représente 98% de l'Hb de l'adulte.
- HbA2 : 2 chaînes  $\alpha$  et 2 chaînes  $\delta$  = représente 2 à 3%.
- Hb F : 2 chaînes  $\alpha$  et 2 chaînes  $\gamma$  = représente 60 à 80% à la naissance et disparaît au cours de la 1ère année. [9]

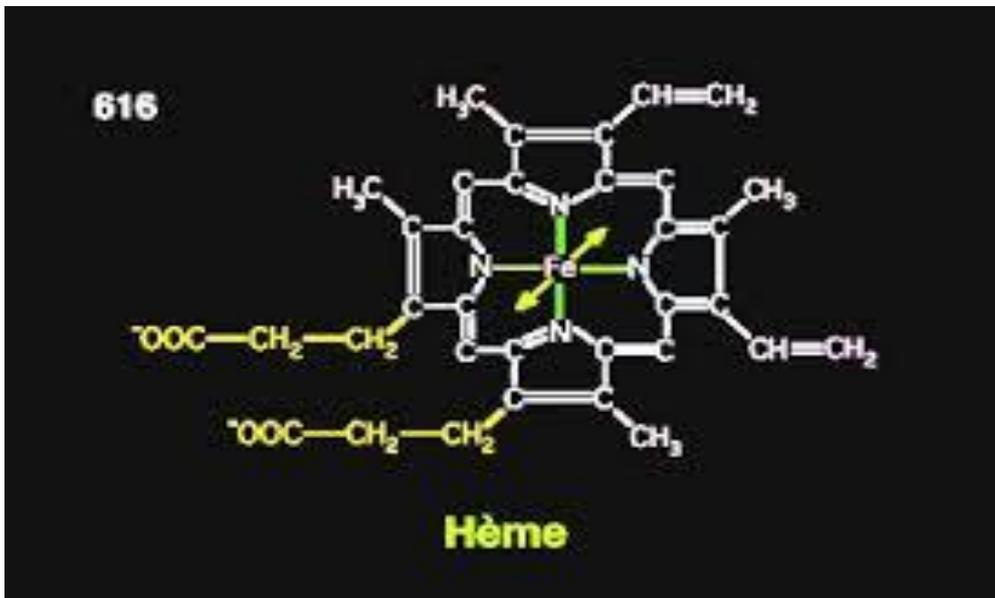


*Figure 2 : structure de l'hémoglobine.*

#### III.1 L'hème

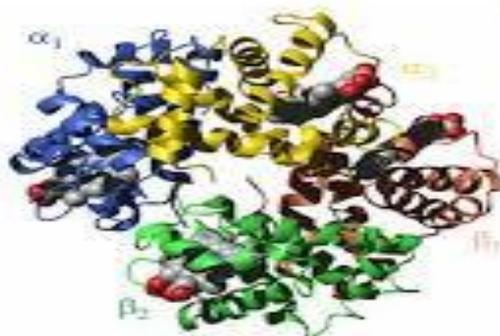
- L'hème est une partie non protéique formée d'une structure aromatique et d'un atome de fer.
- Cette structure aromatique ou porphyrine est constituée de quatre noyaux pyrrole, comprenant chacun un atome d'azote et 4 de carbone. Les carbones périphériques de

ces noyaux sont substitués par des chaînes latérales courtes qui lient la porphyrine aux radicaux des acides aminés de la protéine. [10]



*Figure 3 : structure de l'hème.*

### III.2 La globine



La structure tertiaire se rapporte aux relations dans l'espace des différentes structures secondaires, hélices et feuillets.

Ainsi, la globine bêta de l'hémoglobine humaine est une protéine globuleuse formée de 8 hélices reliées par des coudes. Un hème porteur d'un atome de fer logé au fond d'une profonde poche hydrophobe assure le transport du dioxygène.

*Figure 4 : structure de chaînes de la globine.*

### III.3 Les gènes de globine

#### III.3.1 Organisation

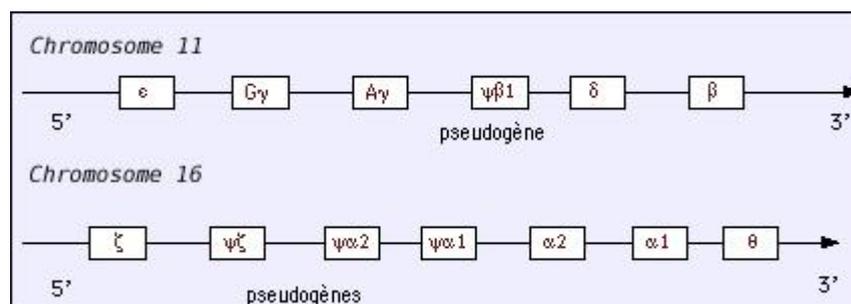
##### Localisation des gènes

###### **Chromosome 11 : localisation en 11p15.5.**

- Gènes issus d'une duplication ancienne (existence de séquences homologues), ayant dérivés par mutation et recombinaison
- Les gènes  $G\gamma$  et  $A\gamma$  codent pour la chaîne  $\gamma$ , avec 1 acide aminé différent en 136. Existence d'un pseudo gène  $\psi\beta$ , apparenté aux gènes normaux mais présentant des mutations telles qu'il ne code pour aucune protéine.
- Duplication plus récente des gènes  $\alpha$  et  $\alpha$  qui présentent des séquences nucléotidiques proches et une séquence codante identique. Le gène  $\theta$  est faiblement exprimé.

###### **Chromosome 16 : localisation en 16p13.3.**

- Duplication plus récente des gènes  $\alpha$  et  $\alpha$  qui présentent des séquences nucléotidiques proches et une séquence codante identique. Le gène  $\theta$  est faiblement exprimé.



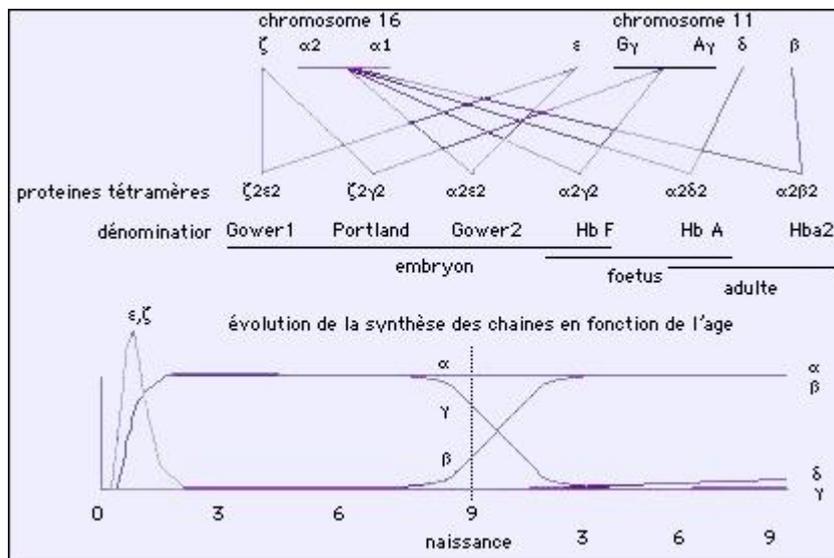
**Figure 5: localisation des gènes de chaînes sur les chromosomes 11 et 16.**

- Chaque gène est formé de 3 exons (séquences codantes) séparés par 2 introns (séquences non codantes).

### III.3.2 Expression

Les gènes de la globine se répartissent la tâche: certains s'expriment chez l'embryon, d'autres prennent la relève chez le fœtus, d'autres enfin chez l'adulte. L'expression séquentielle correspond, de plus, à l'emplacement physique des gènes de 5' vers 3'. Nous verrons aussi qu'un gène "fœtal" peut compenser un gène "adulte" défaillant (persistance héréditaire de l'hémoglobine fœtale):

- Chez l'embryon, tétramères:  $\alpha 2 \epsilon 2$ ,  $\zeta 2 \epsilon 2$ ,  $\zeta 2 \gamma 2$  et  $\alpha 2 \gamma 2$  ;
- Chez le fœtus:  $\alpha 2 \gamma 2$  (et  $\alpha 2 \beta 2$ );
- Chez l'adulte, en majorité, tétramère:  $\alpha 2 \beta 2$  (mais aussi  $\alpha 2 \delta 2$  et  $\alpha 2 \gamma 2$ ). [11]



**Figure 6:** évolution de la synthèse des chaînes en fonction de l'âge.

## IV. types de thalassémies :

### IV.1. Beta -thalassémie

#### IV.1.1 physiopathologie

Les beta-thalassémies sont définies par un déficit total ou partiel en synthèse de chaînes beta de l'hémoglobine. On distingue la beta 0-thalassémies (absence de synthèse) et la beta+-thalassémie (présence d'une synthèse diminuée).

En raison de l'absence ou de la diminution de synthèse des chaînes beta, le tétramère hémoglobinique normal est peu ou pas formé et les chaînes beta non appariées, moins solubles, précipitent et altèrent l'érythroblaste provoquant sa destruction.

Les troubles sont davantage liés à la dysérythropoïèse qu'à l'hémolyse. La précipitation des chaînes libres s'effectue dès les étapes précoces de l'érythrogenèse. Il s'en suit une érythropoïèse inefficace ainsi qu'une prolifération du tissu érythroïde.

Cependant dans les hématies du sang périphérique, la précipitation des chaînes beta libres conduit à des altérations membranaires et à une hémolyse. [12]

#### **IV.1.2 Beta-thalassémie mineure**

##### **- Diagnostic biologique et clinique**

La bêta-thalassémie mineure est due à la mutation d'un seul des deux gènes bêta. Généralement, cette forme n'a pas de conséquence sur la santé, puisque l'autre gène est capable de compenser l'anomalie et de fabriquer suffisamment de chaîne bêta pour produire un taux d'hémoglobine normal ou proche de la normale. Cependant, les globules rouges sont de taille inférieure à la normale (on parle de microcytose), ce qui se voit lors des analyses de sang. La thalassémie mineure peut être confondue avec un manque de fer qui entraîne également une microcytose. Une prise de sang permet facilement au médecin de différencier les deux situations. [12]

#### **IV.1.3 Beta-thalassémie majeure**

##### **- Diagnostic biologique et clinique**

La bêta-thalassémie majeure est due à la mutation des deux locus bêta.

La maladie apparaît au cours des premiers mois de la vie lorsque s'effectue la commutation entre hémoglobine fœtale et hémoglobines adultes. Elle se traduit par un syndrome anémique très sévère, une hépato-splénomégalie, un retard de croissance.

Non traitée, la maladie évolue spontanément vers le décès en quelques mois ou années dans un tableau d'anémie parfois aggravé par des infections intercurrentes. Cette pathologie nécessite des transfusions sanguines régulières accompagnées d'un traitement chélateur du fer et généralement d'une splénectomie en attendant une greffe de moelle. [13]

## IV.2. Alpha-thalassémie

### IV.2.1 Physiopathologie

Les alpha-thalassémies traduisent un défaut d'expression d'un ou de plusieurs gènes codant pour les chaînes alpha de globine. Le mécanisme moléculaire le plus souvent incriminé est la délétion des gènes alpha. Des mutations ponctuelles affectant la transcription ou la traduction de la chaîne alpha ont été également décrites. [13]

### IV.2.2 Alpha-thalassémie mineure

#### - Diagnostic biologique et clinique

Dans ce cas, l'hémogramme montre des globules rouges microcytaires et hypochromes. Le taux d'hémoglobine est normal ou très légèrement abaissé (anémie très modérée). Les analyses biochimiques ne révèlent pas la présence d'une hémoglobine anormale et la confirmation du diagnostic peut faire appel aux analyses génétiques. [14]

### IV.2.3 Hémoglobinoses H = Alpha – thalassémie intermédiaire

#### - Diagnostic biologique et clinique

Dans l'**Hémoglobinoses H**, l'hémogramme montre que la quantité de globules rouges et d'hémoglobine est généralement diminuée. Dans ce cas, le taux d'hémoglobine est généralement voisin de 7 à 9 (g/dl) alors que, chez une personne saine, il est compris entre 13 et 16 g/dl (les valeurs sont plus faibles chez l'enfant que chez l'adulte). Une étude au microscope d'un échantillon de sang permet de voir que les globules rouges microcytaires et hypochromes. Les analyses biochimiques révèlent la présence de l'hémoglobine anormale H, dont la proportion peut atteindre 30% de l'hémoglobine totale. [14]

### IV.2.4 Alpha thalassémie silencieuse

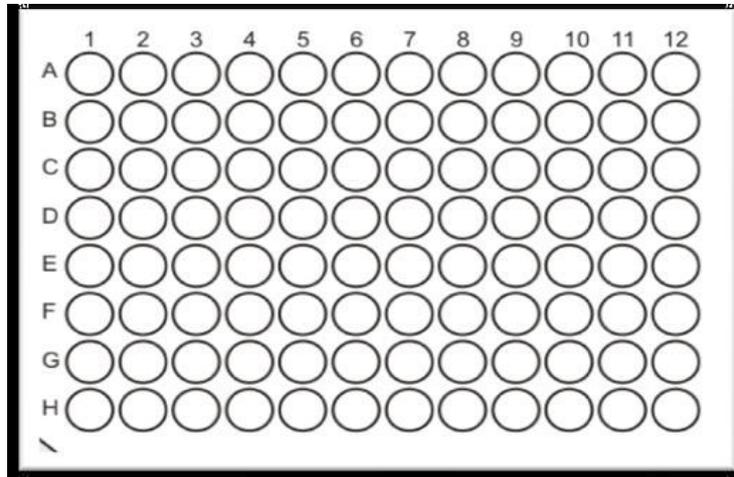
#### - Diagnostic biologique et clinique

Dans ce cas, l'hémogramme est normal (pas d'anémie, globules rouges de taille et de coloration normales) et les analyses ne montrent aucune anomalie de l'hémoglobine. Elle ne peut donc être diagnostiquée (si besoin) que par les analyses génétiques. [14]

## I. Les examens immuno-hématologiques pré transfusionnels

### I.1. Matériel du laboratoire

a) **Microplaque** : Elle sert au dépôt d'échantillons et des réactifs.



**Figure 1: Plaque-96-puits**

b) **Centrifugeuse** :

On utilise une centrifugeuse de tube, modèle «AWEL C-20 R». Elle permet de centrifuger en même temps 12 tubes de sang.



**Figure 2: Centrifugeuse (AWEL C-20R)**

c) **Appareil d'agitation** :

Il permet de mélanger les composants contenus dans les puits de la microplaque (2 microplaques en maximum).



Figure 3: agitateur de microplaque

d) L'étuve :

Il permet l'incubation des tubes à hémolyse à une température de 37°C.



Figure 4: étuve

e) Les réactifs :



Figure 5a: réactifs du groupe sanguin



Figure 5b: réactif de coombs



**Figure 5c: réactifs du phénotype rhésus.**

**f) L'échantillon :**

Pour chaque sujet malade, un prélèvement du sang a été effectué dans un flacon sec et stérilisé. Chaque prélèvement doit être accompagné d'une fiche d'identification qui comprend : (Nom et prénom, numéro d'entrée (IP) dans son établissement de soin).



**Figure 6a: Tube sec (tests sérologiques)**



**Figure 6b: Tube EDTA  
(Tests immuno- hématologiques)**

**AUTRES MATERIEL :**

- ◇ Micropipette
- ◇ Cônes jaunes et bleues
- ◇ Portoir de tube
- ◇ Pissette remplie d'eau physiologique
- ◇ Tubes à hémolyse

## I.2. Mode opératoire

### I.2.1 Détermination du groupe ABO Rhésus :

Les épreuves de BETH-VINCENT et de SIMONIN sont réalisées selon 2 techniques : sur la plaque d'opaline et sur une microplaque, mais cette dernière est la plus utilisée.

#### ➤ Technique de détermination du groupe ABO – RH sur microplaque.

Les étapes de cette technique sont décrites ci-dessous :

#### ✚ **Dépôt des échantillons et des réactifs :**

Dans ce travail, nous avons utilisé une microplaque de 12 puits, pour le dépôt des échantillons et des réactifs, nous procédons de la manière suivante :

#### ✓ **Epreuve globulaire de BETH-VINCENT :**

- On dépose 25 µl des réactifs : anti- A, anti-B, anti-AB et anti D respectivement dans les 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9,10.
- On rajoute 25 µl de la suspension d'hématies obtenue dans les puits 1, 2, 3, 7, 8, 9 pour l'épreuve globulaire, et les puits 4 et 10 pour la détermination du rhésus.

#### ✓ **Epreuve sérique de SIMONIN :**

- On dépose 25 µl d'hématies tests connus A et B dans les puits 5 et 6.
- On rajoute 25 µl du sérum du patient.

#### ✓ **Autocontrôle :**

- Dans le puit 11 ; on dépose 25µl du sérum du patient.
- On rajoute 25 µl de suspension globulaire du même patient.

#### ✚ **Mélange des réactions :**

- Après cette première étape de dépôt, la microplaque est centrifugée pendant 1 min, suivie d'une agitation pendant 30 secondes.

## Résultats :

- ✓ Pour l'épreuve globulaire :
  - Réaction positive = présence d'antigènes sur les hématies.
  - Réaction négative = absence d'antigènes sur les hématies.
- ✓ Pour l'épreuve sérique :
  - Réaction positive = présence d'anticorps dans le sérum.
  - Réaction négative = absence d'anticorps dans le sérum.

**Tableau montrant les différentes agglutinations par les 2 méthodes d'identification du groupe sanguin**

Groupes	BETH-VEINCET			SIMONIN		Rhésus
	Sérums tests			Hématies tests		Sérums tests
	Anti-B	Anti-A	Anti-AB	A	B	Anti-D
A	-	+	+	-	+	+ /-
B	+	-	+	+	-	+ /-
AB	+	+	+	-	-	+ /-
O	-	-	-	+	+	+ /-

Figure 7: les différentes agglutinations par les 2 méthodes d'identification du groupe sanguin.

### ➤ Technique de détermination du système KELL et phénotype sur microplaque :

Permet de déterminer la présence ou l'absence de ces antigènes sur les hématies du patient à l'aide des sérums tests : anti-C, anti-c, anti-E, anti-e et anti-K. Pour cela cette détermination se fait sur une microplaque.

#### ✚ Protocole :

- Sur une nouvelle microplaque, on dépose 25 µl des sérums tests anti-C, anti-c, anti-E, anti-e et anti-K respectivement dans les puits 1, 2, 3, 4, 5.
- On rajoute 25 µl de la suspension d'hématies dans les mêmes puits.
- On centrifuge pendant 1 minute et agiter pendant 25 secondes.

- On lit des résultats obtenus.

### Résultats :

- ✓ Réaction positive = présence d'antigènes sur les hématies.
- ✓ Réaction négative = absence d'antigènes sur les hématies.

**Tableau montrant les différentes agglutinations du système Kell et phénotype**

Phénotypes	C	c	E	e	K
Sérums tests	Anti-C	Anti-c	Anti-E	Anti-e	Anti-K
Résultats	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-

**Figure 8 : les différentes agglutinations du système Kell et Phénotype.**

### **I.2.2 Recherche d'anticorps irréguliers (RAI) :**

La RAI a pour objectif la mise en évidence et l'identification des anticorps anti érythrocytaires en mettant en présence le sérum avec une gamme d'hématies-tests O phénotypées dans la plupart des systèmes de groupes sanguins. La présence d'anticorps se traduit classiquement par une réaction d'agglutination.

#### **✓ Technique avec l'anti globuline :**

Dans 3 tubes marqués A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, on mettra respectivement :

- 50 µl d'hématies O<sub>1</sub> + 100 µl de sérum à tester.
- 50 µl d'hématies O<sub>2</sub> + 100 µl de sérum à tester.
- 50 µl d'hématies O<sub>3</sub> + 100 µl de sérum à tester.

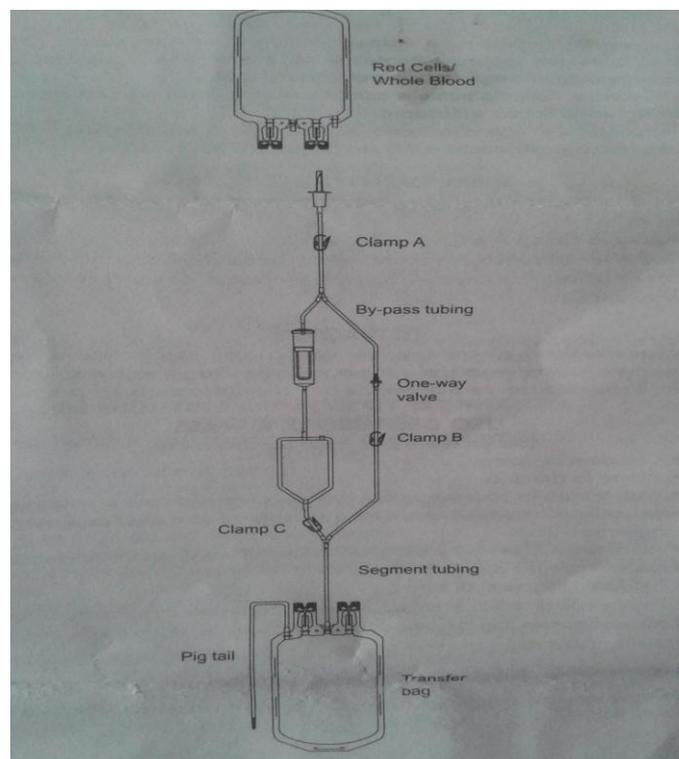
- On incube 30 à 45 min à 37°C.
- On lave 3 fois avec l'eau physiologique.
- On ajoute dans chaque tube 2 gouttes d'anti globuline (réactif de COOMBS).
- On centrifuge ces tubes à 1000 rpm pendant 2 min.
- On lit en agitant légèrement les tubes.

### Résultats :

- ✓ Réaction positive : présence d'agglutinats témoignant de la présence d'anticorps.
- ✓ Réaction négative : absence d'agglutinats témoignant de l'absence d'anticorps.

### **I.2.3 Déleuocytation du sang :**

Cette méthode permet d'éliminer les micro-aggrégats et les leucocytes (globules blancs).



**Figure 7: Filtre (Leuconlab LCG2b/LCG4)**

### ✓ *Préparation du kit de filtration et de la poche de sang*

- On ferme les clamps A, B et C.
- On connecte le perforateur avec la poche de CGR en perforant le port de sortie par un mouvement rotatif.
- On homogénéise bien la poche de CGR.
- On suspend le système de façon à ce que la poche de recueil de CGR déleucocyté soit positionnée à 60 cm sous le filtre LCG2b/LCG4.

### ✓ *Filtration*

- On laisse couler le concentré globulaire dans la poche de recueil par gravité jusqu'à ce que le flux soit arrêté dans la chambre compte-gouttes.
- On laisse suffisamment de temps pour obtenir un taux de récupération de globules rouges maximal

### ✓ *Utilisation de la tubulure de dérivation*

- On ferme le clamp C.
- On ouvre le clamp B.
- On tient la poche de recueil verticale, à l'endroit. La presser pour en expulser l'air par la tubulure de dérivation jusqu'à ce que les globules rouges atteignent la ligne de dérivation.
- Pour obtenir une récupération des globules rouges optimale, on ouvre le clamp C et on laisse l'air vider le filtre.
- On soude et on sépare la tubulure d'arrivée.
- On mélange bien le concentré déleucocyté.

## II. Prise en charge des thalassémies au niveau du CRTS Fès

### II.1. Résultats

Pendant ce stage, la population étudiée est composée de 10 patients enfants atteints de thalassémie dont l'âge ne dépasse pas 10 ans et qui sont venus de différents services de soin de Fès, pour être consulter au CRTSF. Ces patients sont traités par des CGR déleucocytés. Le tableau n°2 résume l'ensemble de paramètres concernant ces patients à servir leur groupe sanguin, RAI, type de thalassémie, établissement de soin et nombre de poches de CGR déleucocyté :

**Tableau n°2 : tableau récapitulatif des différents paramètres des patients**

NUMERO DE PATIENTS	GROUPE SANGIUN	RAI	TYPE DE THALASSEMIE	ETABLISSEMENT DE SOIN	Nbr DE POCHE DE CGR DELEUCOCYTE
1	O +	-	$\beta$ (Bêta)	CHU HASSAN2 Fès	4 poches
2	A +	-	$\beta$ (Bêta)	CHU HASSAN2 Fès	3 poches
3	A -	-	$\beta$ (Bêta)	CHU HASSAN2 Fès	2 poches
4	A +	-	$\beta$ (Bêta)	CHU HASSAN2 Fès	3 poches
5	A +	-	$\beta$ (Bêta)	CHU HASSAN2 Fès	2 poches
6	O +	-	$\beta$ (Bêta)	CHU HASSAN2 Fès	1 poche
7	O +	-	$\beta$ (Bêta)	ALGHASSANI Fès	5 poches
8	O +	-	$\beta$ (Bêta)	ALGHASSANI Fès	5 poches
9	A +	-	$\beta$ (Bêta)	ALGHASSANI Fès	4 poches
10	A +	-	$\beta$ (Bêta)	TAZA	2 poches

## II.2. Discussion :

Dans le présent travail qui a été effectué au sein du Centre Régional de Transfusion Sanguine de Fès du 06 Avril au 31 Mai 2015, j'étais amené à suivre tous les tests pré et post transfusionnel faits au laboratoire d'immuno-hématologie receveurs pour prévenir ce type d'immunisations, réaliser une étude rétrospective sur 10 patients atteints de thalassémie. Un classement a été réalisé en fonction de type de thalassémie et la nature de traitement prescrit aux patients.

Notre étude a montré que 100% des patients ont une bêta thalassémie majeure, aucun cas d'alpha thalassémie n'a été enregistré dans notre échantillon d'étude. La bêta thalassémie est la pathologie la plus fréquente au Maroc. En effet, d'après l'OMS, il y a 5% de porteurs sains au Maroc, ce qui supposerait qu'il y ait 30.000 cas d'hémoglobinopathies majeures, et donc un problème de santé publique. C'est ce qui ressort d'un récent travail scientifique publié par Pr. Mohammed Khattab, chef du Service d'Hématologie Oncologie Pédiatrique à l'Hôpital des Enfants du CHU Ibn Sina de Rabat, où Un dépistage réalisé en 2005 sur 1000 naissances dans 3 maternités, Rabat-Souissi, Larache et Tétouan a donné un taux allant de 3 à 9% de porteurs de la maladie. Ce service est le seul au Maroc qui assure un suivi régulier et programmé des patients atteints de thalassémie depuis 1990.

Les résultats obtenus par notre étude montrent que nos patients sont traités uniquement par transfusion de Concentré Globulaire Rouge déleucocyté à raison de 3 poches/mois.

En revanche, l'étude de Pr.Khattab (2005) montre que 95% des malades reçoivent leur traitement sous forme de transfusion sanguine régulière mais que seulement 5% des malades sont sous chélation du fer. [16]. Nos résultats s'expliquent certainement par le faible échantillon d'étude.

# CONCLUSION

Le cout très élevé du traitement souligne l'importance de la prévention qui consiste :

- ✓ Le dépistage des hétérozygotes.
- ✓ Le conseil génétique.
- ✓ La détection des couples à risque et des grossesses à risque par dépistage des femmes enceintes.
- ✓ Le diagnostic prénatal par prélèvement du sang fœtal.

Un considérable effort communautaire des services médicaux, des laboratoires de recherches scientifiques, du gouvernement et de la population peut donner des résultats remarquables dans la diminution de l'incidence de ces maladies qui s'augmentent d'une manière grave pour la santé publique.

Mais l'avenir réside dans la greffe de moelle osseuse dont le succès dépend de plusieurs facteurs : (bas âge, facteur HLA, .....)

# REFERENCES

## BILIOGRAPHIQUES

[1] Mahdi Tazerout, Yolande Galinier Les clés d'hémovigilance manuel d'aide à la formation en transfusion sanguine, 2005.

[2] Kigali Document de politique nationale de transfusion sanguine, Mai 2006

[13] Hémoglobinopathies.pdf Nicole COUPRIE - Laboratoire Marcel Mérieux – Hématologie Spécialisée, 2000

[15] Association marocaine de thalassémie et drépanocytose

## WEBOGRAPHIQUES

[3] <http://sante-medecine.commentcamarche.net/faq/33115-transfusion-sanguine-definition>

[4] [http://www.lescahiersdhistoire.net/45eri/file/Historique\\_Transfusion.pdf](http://www.lescahiersdhistoire.net/45eri/file/Historique_Transfusion.pdf)

[5] <http://www.quali-bio.com/CahiersCd1/Cahier26.pdf>

[6] [http://hemovigilancecncrh.fr/formation/les\\_cles\\_hemovigilance/les\\_groupes\\_sanguins.pdf](http://hemovigilancecncrh.fr/formation/les_cles_hemovigilance/les_groupes_sanguins.pdf)

[7] <http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-medicale/thalassemie>

[8] <http://www.ironhealthalliance.com/fr/disease-states/thalassemia/epidemiology-and-pathophysiology.jsp>

[9] <http://www.everyoneweb.com/WA/.../Hémoglobine.doc>

[10] <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/SFbioch/POLY.Chp.3.2.html>

[11] <http://atlasgeneticsoncology.org/Educ/GenHemoglobID30014FS.html>

[12] <https://www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/BetaThalassemie-FRfrPub51.pdf>

[14] <https://www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/Alphathalassemie-FRfrPub50v01.pdf>