

Liste des abréviations :

Ac : Anticorps.

Ag : Antigène.

CGR : Culot globulaire rouge.

CPS : Concentré Plaquettaire Standard.

CQI: Red Blood Cells for the Internal Quality Control.

CRTS : Centre Régional de Transfusion Sanguine.

EDTA : Ethylène Diamine Tétracétique.

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay.

HCV : Hépatite C Virus.

IHD : Recherche d'Agglutinines Irrégulières.

K : Kell.

MT : Maladies Transmissibles.

PPP : Plasma Pauvre en Plaquettes.

PRP : Plasma Riche en Plaquettes.

PSL : Produits Sanguins Labiles.

QBD : Qualification Biologique du Don.

RAE : Recherche des anticorps anti-érythrocytaires.

RAI : Recherche d'Agglutinines Irrégulières.

Rh : Rhésus.

TPHA : Treponema Pallidum Hemagglutination Assay.

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

CTS HMM-V : Centre de Transfusion Sanguine de l'Hôpital Militaire Mohammed V.

Liste des tableaux:

Tableau 1	Les effets secondaires de la transfusion sanguine	Page 6
Tableau 2	Groupes sanguins selon le système ABO	Page 10
Tableau 3	Répartition des donneurs de sang selon les groupes du système ABO	Page 21
Tableau 4	La prévalence des phénotypes RH positif et RH négatif de la population étudiée	Page 23
Tableau 5	Système ABO combiné au système Rh-1	Page 23
Tableau 6	Prévalence des phénotypes Rh dans la population étudiée	Page 24
Tableau 7	La prévalence des antigènes C, c, E, e, du système Rh dans la population étudiée	Page 24
Tableau 8	La prévalence de l'antigène K dans l'échantillon étudié	Page 24

Liste des figures :

Figure 1	Centrifugeuse des tubes (Rotofix 32A)	Page 14
Figure 2	L'automate d'immuno-hématologie Qwalys 3	Page 15
Figure 3	Résultats de phénotypage rhésus associés au système ABO sur microplaque	Page 16
Figure 4	Microplaque de Duolys et solution MagneLys	Page 16
Figure 5	HEMA CQI (ABO, Rh-Kell)	Page 17
Figure 6	Hemalys A1 & B	Page 17
Figure 7	Carte gel Liss-Coombs	Page 18
Figure 8	Résultat de recherche de l'antigène D faible sur carte gel Liss-Coombs	Page 18
Figure 9	Représentation schématique d'une réaction d'agglutination directe	Page 19
Figure 10	Schéma illustrant le test du Coombs indirect à la recherche de l'Ag D faible.	Page 20

SOMMAIRE :

Présentation du lieu de stage

Introduction générale :.....	1
Chapitre I : Partie Bibliographique :.....	3
I. Historique de la transfusion sanguine :.....	3
II. Généralité sur la transfusion :	4
1. Définition :	4
2. Les produits sanguins labiles :	4
a) Définitions :	4
b) Mode de préparation :.....	4
c) Mode de conservation :.....	5
3. Effets secondaires de la transfusion sanguine :.....	5
III. Le Don du sang :	6
1. Types de don :	6
2. Déroulement du don de sang :.....	7
3. Contre-indications au don :	8
4. Qualification biologique du don du sang :	9
IV. Systèmes érythrocytaires :.....	10
1. Système ABO :.....	10
2. Système Rhésus :.....	11
3. Système Kell :	13
4. Autres systèmes :.....	13
I. Matériel :.....	14
1. Centrifugeuse (Rotofix 32A) :.....	14
2. L'automate QWALYS®3 :	15
Protocole de l'automate :.....	15
Interprétation des résultats :.....	16
3. Réactifs utilisés :	16
a. Duolys :.....	16
b. HEMA CQI (Red Blood Cells for the Internal Quality Control):	17
c. Hemalys :.....	17
d. Carte gel :	18
Interprétation des résultats :.....	18

II. Méthodes :.....	19
1. Tests d'agglutination directe :	19
a. Groupage sanguin ABO :	19
b. Recherche du système Rh-Kell :	19
2. Test indirect à l'anti-globuline (Recherche de l'antigène D faible) :.....	19
Protocole :.....	20
I. Résultats :.....	21
1. L'étude du système ABO :.....	21
2. L'étude du système Rhésus :.....	23
a. L'étude du Rh-1 :.....	23
b. L'étude du Rh-1 combiné au système ABO :.....	23
c. L'étude des phénotypes Rh :	23
3. L'étude du système Kell :.....	24
II. Discussion :.....	25
Conclusion :	26
Bibliographie et webographie :.....	27

Présentation du lieu de stage :

Le Centre Régional de Transfusion Sanguine (CRTS) de Fès, situé à côté de la Faculté de médecine et de pharmacie route Sidi Harazem, a été inauguré par le S.M. le Roi le 08 Mars 2013. Il fait partie des 16 CRTS au Maroc.

Rôles du Centre Régional de Transfusion Sanguine (CRTS)

- Assurer que le sang et ses dérivés soient à la disponibilité de tous les hôpitaux de sa zone.
- Garantir l'utilisation correcte du sang et ses dérivés.

Ressources humaines :

Le CRTS dispose d'un personnel pluridisciplinaire qui a pour objectif d'assurer le bon déroulement des activités du centre :

- 4 Médecins
- 3 Ingénieurs d'état
- 4 Assistants médicaux
- 1 Administrateur
- 11 Infirmiers
- 3 Techniciens de laboratoire
- 2 Secrétaires
- 1 Chauffeur
- 1 Agents de sécurité

Organisation du CRTS :

Circuit donneur :

Accueil	Salle de consultation pré-don :	Salle de prélèvement :
<ul style="list-style-type: none">• Accueil des donneurs et inscription de leurs informations personnelles (nom, prénom, numéro de téléphone..).• Remise des cartes contenant les résultats d'analyses et le groupe sanguin des donneurs.	<ul style="list-style-type: none">• Entretien médical et examination générale afin de sélectionner le donneur apte au don sanguin.	<ul style="list-style-type: none">• Prélèvement du sang total (450 à 500ml) dans une poche triple + 2 prélèvements.

Service technique:

Laboratoire de production :	Laboratoire de sérologie :	Laboratoire d'immuno-hématologie donneur :	Laboratoire de distribution et immuno-hémato receveur :
<ul style="list-style-type: none">• Production des produits sanguins labiles : culot globulaire rouge (CGR), plasma frais congelé (PFC) et culot plaquettaire standard (CPS) par la séparation du sang total.	<ul style="list-style-type: none">• Réalisation du dépistage du TPHA (Treponema Pallidum hemagglutination), du HCV (Virus de l'hépatite C), du Hbs (Virus de l'hépatite B) et du VIH1-2 (Virus immuno-déficience humaine).	<ul style="list-style-type: none">• Réalisation du groupage (système ABO) et phénotypage (Rhésus-Kell), de la RAE (Recherche d'agglutinine érythrocytaires) et Hémolysine.	<ul style="list-style-type: none">• Livraison des produits sanguins labiles et analyses immuno-hémato receveur (groupage phénotypage, RAI, test de Coombs, test de compatibilité et déleucocytation).

Introduction générale :

Le groupe sanguin est une classification du sang reposant sur la présence ou l'absence des antigènes (Ag) hérités à la surface des cellules hématopoïétiques; génétiquement transmises, détectées par des anticorps (Ac).

Il existe plus de 600 antigènes et plusieurs systèmes de groupes sanguins repartis en 33 systèmes dont les ABO, Rhésus (Rh) et KELL qui sont des systèmes érythrocytaires qui font l'objet notre étude.

Certains antigènes sont spécifiques d'un type de cellules : la distribution des groupes sanguins KELL, RHESUS, DUFFY, KIDD, LEWIS... est strictement limitée aux hématies ; d'autres beaucoup plus ubiquitaires sont présents sur plusieurs lignées (les antigènes des groupes sanguins ABO, HLA). Ces antigènes sont pour la plupart regroupés en systèmes génétiquement induits dont la connaissance est nécessaire dans plusieurs domaines : transfusion, allo-immunisation fœto-maternelle, transplantation des organes, études génétiques et médecine légale.

La transfusion sanguine est une thérapeutique dangereuse. Elle peut être à la base des accidents à risque mortel suite aux polymorphismes antigéniques d'origine génétique des individus et doit assurer pour se faire la sécurité du receveur pour deux missions: la compatibilité immunologique et l'absence de transmissions des maladies , La compatibilité immunologique est exigée entre le receveur et donneur du sang: iso-groupe et iso-rhésus .

Alors que le risque infectieux est aujourd'hui relativement bien maîtrisé, le risque immunologique ; bien que connu depuis longtemps est moins clairement maîtrisé ; la fréquence des accidents immunologiques estimée est entre 1 /6000 à 1/25000 unités transfusés; Ce risque immunologique résulte d'une incompatibilité érythrocytaire ou protéique qui est due à :

- ✓ une erreur ABO
- ✓ un donneur universel dangereux
- ✓ un allo anticorps immun
- ✓ ou encore un allo anticorps naturel; en particulier les sujets de groupe public négatif.

La seule façon d'améliorer la sécurité immunologique des transfusés, surtout dans les pays en voie de développement, est le phénotypage des donneurs et receveurs des produits sanguins (sang total, plasma, culot globulaire, sang déleucocyté, etc. ...) par les groupages sanguins érythrocytaires, essentiellement ABO et Rhésus. Ce geste pourrait permettre l'administration du sang compatible aux patients qui en auront besoin, Il sied de noter qu'une incompatibilité sanguine peut entraîner le décès.

C'est dans cette optique que le présent travail s'inscrit, il a pour objectifs d'une part de présenter de nouvelles statistiques de prévalences phénotypiques des systèmes ABO, Rhésus et

Kell chez les donneurs de sang au CRTS de Fès, ainsi que comprendre les différents tests utilisés pour la détermination des groupes et phénotypes sanguins.

Chapitre I : Partie bibliographique

I. Historique de la transfusion sanguine :

La première recherche sur la transfusion sanguine remonte au XVIIème siècle où le médecin Britannique William Harvey a amplement décrit la circulation et les propriétés du sang en 1628. Les premières transfusions sanguines ont été également essayées autour de ce temps, bien que c'aient été souvent mortels infructueux chez l'homme.

La première transfusion sanguine réussie enregistrée a été exécutée par le médecin Britannique Richard Plus Bas en 1665 quand il a saigné un toc presque à la mort et a alors rétabli l'animal en transfusant le sang d'un autre toc par l'intermédiaire d'une artère attachée.

En 1667, Jean-Baptiste Denis qui était médecin au Roi Louis XIV, exécutait la transfusion sanguine d'un animal à un être humain. Denis a transfusé le sang d'un mouton à un garçon de 15 ans et plus tard à un travailleur, dont chacun d'eux ont survécu à la transfusion.

En 1818, l'obstétricien Britannique James Blundell a avec succès transfusé le sang humain à une femme qui a eu une hémorragie pendant l'accouchement. En 1901, Karl Landsteiner, un médecin Autrichien a découvert les premiers groupes sanguins humains, qui ont aidé la transfusion pour devenir une pratique plus sûre. En mélangeant des prises de sang prélevées de son personnel, Landsteiner a découvert les groupes sanguins A, B et O et a déterminé les mandants de base de la compatibilité d'ABO. En 1907, un chirurgien Américain Ruben Ottenberg a proposé que le sang du patient doit être groupé et croisé avec celui du donneur avant une procédure de transfusion sanguine.

Entre 1914 et 1918, des anticoagulants tels que le citrate de sodium et la réfrigération se sont avérés être des moyens efficaces pour préserver le sang. Pendant les années 1920 et les années 30, les dons volontaires du sang pour la mémoire et l'utilisation ont été commencés.

Pendant La Deuxième Guerre Mondiale, La transfusion sanguine a été employée à grande échelle pour traiter les soldats blessés et est devenue réputée comme procédure de sauvetage.

II. Généralité sur la transfusion :

1. Définition :

La transfusion sanguine consiste à injecter au receveur la quantité prescrite selon le besoin, l'un des dérivés du sang : plasma, globules rouges ou plaquettes.

Ceci peut être effectué par le moyen d'injection intraveineuse du sang total ou de ses dérivés provenant d'un donneur anonyme ayant le même groupe sanguin que le receveur (transfusion homologue) ou du patient lui-même (transfusion autologue).

La transfusion sanguine est utilisée dans le cas de perte sanguine importante ou de pathologies, telles que la leucémie, les thalassémies ou les drépanocytoses.

2. Les produits sanguins labiles :

a) Définitions :

Un produit sanguin labile, PSL, est un produit à usage thérapeutique issu d'un don de sang.

Trois grands types de produits entrent sous cette dénomination :

- **Les concentrés érythrocytaires** : ou culot globulaire rouge (CGR)
- **Les concentrés de plaquettaire standard (CPS)** : Les plaquettes sont des composants du sang appelés également thrombocytes, elles ne sont pas à proprement parler des cellules, mais des petits sacs de dimensions plus importantes que les cellules habituelles, contenant des substances chimiques actives permettant le processus de la coagulation, et plus précisément de l'hémostase primaire (formation du caillot sanguin).
- **Les plasmas frais congelés (PFC)** : Partie liquide du sang qui représente environ 55 % de son volume. Le plasma est composé d'eau et contient des lipides (graisses), des hormones, des facteurs de coagulation et plus d'une centaine de protéines dont le principal est l'albumine.

b) Mode de préparation :

Centrifugation et séparation du Sang Total :

- Peser les poches du prélèvement et noter leur poids.
- Équilibrer les poches sur la balance d'équilibrage (2-2).
- Charger la centrifugeuse d'une façon équilibrée.
- Démarrer la centrifugeuse : Programme 1 : -3600 tour/min
-Pendant 4min
-20°C-21°C
- Extraire les plasmas plaquettaires à l'aide des extracteurs.

- Faire passer le SAG Mannitol (solution conservatrice et nutritive) dans la poche contenant le CGR.
- Séparer la poche contenant le CGR des 2 autres poches à l'aide d'une soudeuse.

Remarque :

- ❖ Toute poche du sang total dont le poids est :
 - <235g ne subit pas de séparation.
 - Compris entre 235g et 535g va être séparée en CGR, CPS et PFC.
 - >535g subit une décantation pour retirer le CGR.

Centrifugation et séparation du plasma riche en plaquettes (PRP) :

- Equilibrer les poches contenant le PRP à l'aide d'une balance d'équilibrage (4-4).
- Charger la centrifugeuse : Programme 2 :
 - 3600 tour/min
 - Pendant 10min
 - 20°C-21°C
- Extraire les plaquettes à l'aide d'un extracteur.
- Séparer les 2 poches à l'aide d'une soudeuse.

Après avoir pesé individuellement les poids des CGR, Plasma pauvre en plaquettes et Plaquettes, il faut transcrire les critères des PSL (poids, date, code à barre) dans un registre de traçabilité.

c) Mode de conservation :

- ✓ **Les CGR** sont conservés dans la chambre froide (4°C-8°C), leur date de péremption est de 42j, et sans SAG-Mannitol 21j.
- ✓ **Les Plasmas** pauvres en plaquettes (PPP) sont conservés dans le surgélateur (-80°C) ainsi ils deviendront des PFC. Puis, après 24h ils seront transportés vers la chambre négative (-30°C). Leur date de péremption est de 1An.
- ✓ **Les plaquettes** sont conservées dans l'agitateur-incubateur (20°C-24°C). Leur date de péremption est de 5j.

3. Effets secondaires de la transfusion sanguine :

Selon le taux d'hémoglobine du patient (taux normal entre 14 et 18 g / dl), le médecin procédera ou non à une transfusion sanguine. Cette dernière n'est malheureusement pas sans risque.

En effet, parmi ses effets secondaires on peut citer:

Tableau 1 : Les effets secondaires de la transfusion sanguine :

Accidents	Immédiats	A long terme
Immunologiques	- Choc hémolytique. - Réactions anaphylactiques : choc Œdème de Quincke urticaire - Réaction fébrile non hémolytique - Syndrome de détresse respiratoire aigue	Allo-immunisation
Infectieux	Choc toxi-infectieux	- VIH - hépatites virales C, B - syphilis
Métaboliques	- Surcharge volémique - Surcharge en citrate - Hyperkaliémie - hypocalcémie	- hémochromatose

III. Le Don du sang :

1. Types de don :

- **Don du sang total :**

On prélève entre 400 et 450ml de sang total, en fonction du volume sanguin du donneur.

Le corps régénère rapidement la petite quantité de sang prélevée, soit un peu moins d'un demi-litre (450 ml).

Ainsi sous condition d'un taux d'hémoglobine suffisant, un homme peut donner du sang jusqu'à 5 fois par an (3 fois pour une femme), tout en respectant un délai d'au moins 3 mois entre chaque don.

- **Don plaquettaire :**

Le don plaquettaire par aphérèse, ou thrombaphérèse consiste à acheminer le sang du donneur dans une tubulure jusqu'à l'intérieur de l'appareil d'aphérèse. Grâce à un processus de

centrifugation, l'appareil d'aphérèse ne retient que les plaquettes du donneur et les conduit dans un dispositif de prélèvement stérilisé. Le reste du sang est retourné au donneur par des tubulures.

Par cette méthode, on peut récupérer six fois plus de plaquettes que lors d'un don de sang total. En effet, on peut faire un don de plaquettes tous les 14 jours puisque l'organisme peut fabriquer des millions de plaquettes par minute. En revanche, on ne peut faire que 5 dons de sang total annuellement.

Les plaquettes récupérées n'ont qu'une durée de conservation de 5 jours.

Lorsqu'une maladie (leucémie, aplasie médullaire) ou des traitements lourds (chimiothérapie, radiothérapie) empêchent la fabrication de cellules sanguines par la moelle osseuse, la personne atteinte de cette maladie est dite en aplasie. La transfusion régulière de plaquettes permet alors d'éviter les risques d'hémorragies qui mettraient en péril sa vie.

- **Don du plasma :**

Similairement au procédé du don plaquettaire, le don du plasma comprend le prélèvement par aphérèse jusqu'à 750ml de plasma du donneur, tout en lui restituant ses autres composants (globules rouges et plaquettes). Il est possible de donner son plasma toutes les deux semaines, dans une limite de 24 fois par an.

Le plasma récupéré est souvent transfusé aux polytraumatisés (chirurgie dans les accidents graves), aux grands brûlés, aux hémophiles ou aux patients souffrants de troubles immunitaires graves.

2. Déroulement du don de sang :

Chaque don de sang respecte un protocole conforme aux bonnes pratiques transfusionnelles prévues dans un arrêté ministériel.

Les différentes étapes du don de sang sont :

Accueil et inscription

Une personne souhaitant donner son sang est tout d'abord accueillie par une secrétaire du CRTS qui procède à son enregistrement administratif en notant son nom et prénom, sa date de naissance, son numéro de téléphone et en lui attribuant un numéro de don.

Entretien médical

L'entretien est réalisé de manière confidentielle avec un médecin du CRTS. Cet entretien permet vérifier que le don de sang ne présente pas de risque pour la santé du donneur ni pour celle du

receveur (anémie, hypertension, risque de transmission d'une maladie infectieuse, etc.). Si le donneur est déclaré apte, il peut passer à l'étape du prélèvement.

Prélèvement

Le prélèvement de sang est effectué par une infirmière diplômée d'Etat. Cette étape commence par le prélèvement de quelques échantillons placés dans des tubes, destinés à des analyses d'immunologie et de sérologie. Le don de sang total dure une dizaine de minutes en moyenne. La quantité de sang prélevée est de 400 à 450 ml, en fonction de la masse sanguine du donneur. Le don de sang est indolore, et est réalisé avec du matériel stérile à usage unique.

Collation et repos

Un temps de repos et de collation de 10 à 15 minutes est prévu après chaque don, sous l'œil vigilant des infirmières. Il est recommandé de bien respecter cette étape, en s'hydratant et en mangeant, pour une surveillance post-don. Il est déconseillé de pratiquer un effort physique dans les heures suivant un don de sang. Un délai de 3mois est à respecter entre chaque don de sang.

3. Contre-indications au don :

Des mesures visent à protéger la santé du receveur et celle du donneur. C'est pourquoi une politique de prévention est appliquée. Elle s'appuie sur un concept de prudence extrême pour répondre à une exigence croissante de sécurité.

On peut classer ces contre-indications en :

Contre-indications temporaires: entraînant un délai avant un don : dont on peut citer :

- L'anémie. Délai à respecter : six mois.
- Une grossesse, un accouchement, ou une interruption volontaire de grossesse. Délai à respecter pour éviter les risques d'anémie : six mois.
- Une tension artérielle basse ou au contraire trop élevée. Délai à respecter : jusqu'à normalisation constatée par le médecin de l'équipe de collecte.
- Une infection ou une fièvre de plus de 38°. Délai à respecter : 2 semaines après la fin des symptômes.
- Des soins dentaires. Délai à respecter : 3 à 6mois.
- Après certains vaccins (rougeole, rubéole, oreillons, fièvre jaune, hépatite B). Délai à respecter : 4 semaines.
- Une intervention chirurgicale ou une endoscopie. Délai à respecter : 7 jours à 4 mois.
- La prise de certains médicaments. Un traitement n'est pas forcément incompatible avec le don du sang. Cependant, il faut le signaler au médecin de la collecte qui renseignera sur le délai à respecter.

Les contre-indications permanentes : entraînant un refus par le centre de transfusion sanguine

- Certaines maladies du cœur et des vaisseaux.
- Les troubles connus de la coagulation du sang.
- Les insuffisances respiratoires, parmi lesquelles l'asthme grave.
- Le diabète traité par l'insuline.
- Les infections connues comme transmissibles par le sang (hépatite virale non guérie, infection par le VIH ou le HTLV-I, la maladie de Chagas, un antécédent de crise de paludisme).
- Un antécédent de transfusion quelle qu'en soit la date.
- Un antécédent de greffe d'organes quelle qu'en soit la date.
- Un antécédent, même lointain, d'injection de drogues par voie intraveineuse ou intramusculaire.

4. Qualification biologique du don du sang :

La Qualification Biologique du Don (QBD) vise plusieurs objectifs :

- Assurer la sécurité du receveur vis à vis des risques liés à la compatibilité immuno-hématologique et aux maladies transmissibles par le sang.
- Participer à l'information du donneur lorsque des anomalies ou des particularités sont mises en évidence à l'occasion de ses analyses.
- Réaliser des enquêtes sur les résultats anormaux de donneurs.
- Participer au moyen des résultats biologiques recueillis à des missions de santé publique (épidémiologie).

Le laboratoire de QBD réalise sur les échantillons, plusieurs analyses. Il est divisé en 2 secteurs :

- Le laboratoire de sérologie virale (Maladie transmissible (MT))
- Le laboratoire d'immuno-hématologie donneur (IHD)

Le laboratoire de sérologie a pour but de rechercher les anticorps produits par le donneur à la suite du contact d'un agent pathogène (VIH, Hbs, TPHA, HCV). Ces anticorps sont recherchés par des tests immunoenzymatiques (ELISA).

Le laboratoire IHD détermine les groupages sanguins par deux méthodes (Beth Vincent et Simonin) et le phénotype Rh-Kell des donneurs ainsi que la réalisation de la recherche des anticorps anti-érythrocytaires (RAE), et des hémolysines.

Tous ces laboratoires travaillent en simultané, afin d'obtenir les résultats dans les 24 heures, et ainsi qualifier les produits sanguins labiles pouvant être transfusés. Avec la préparation, ils constituent la deuxième étape de sécurisation de la transfusion sanguine après le prélèvement en collecte. Ils permettent donc de garantir l'absence de maladies transmissibles par la transfusion et connues à ce jour (dans la limite de détection des tests).

IV. Systèmes érythrocytaires :

1. Système ABO :

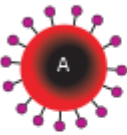
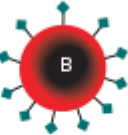
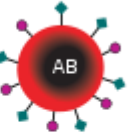




Définition :

Ce système est donc défini par :

- La présence ou non d'antigènes A ou B à la surface des globules rouges. Ainsi les globules rouges du groupe sanguin A possèdent des antigènes A, ceux du groupe B des antigènes B, ceux du groupe O aucun antigène, alors que ceux du groupe AB contiennent des antigènes de type A et de type B.
- La présence ou non d'anticorps anti-A ou anti-B dans le sérum.
- La présence d'antigènes d'un certain type implique l'absence d'anticorps de cette spécificité (sous peine de formation d'un complexe anticorps-antigènes).

Deux types de recherches, respectivement d'antigènes (épreuve de Beth-Vincent) et d'anticorps (épreuve de Simonin-Michon), sont obligatoires et doivent être concordantes pour établir un groupe sanguin ABO. Une exception toutefois chez le nouveau-né de moins de six mois dont les anticorps ne sont pas bien développés, et chez lequel ne sont donnés que des résultats non définitifs.

Tableau 2 : Groupes sanguins selon le système ABO

	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

Compatibilité système ABO des culots globulaires rouges entre donneur et receveur :

Dans le cadre de la transfusion sanguine, les donneurs O peuvent donner aux receveurs O, A, B et AB ; les donneurs A peuvent donner aux receveurs A et AB ; les donneurs B peuvent donner aux receveurs B et AB ; les donneurs AB ne donnent qu'aux receveurs AB.

Ce fait qualifie, uniquement dans le système ABO bien sûr, les donneurs O comme donneurs universels.

Inversement, les receveurs O ne peuvent recevoir que d'un donneur O ; les receveurs A, de donneurs O ou A ; les receveurs B, de donneurs O ou B ; et les receveurs AB, de donneurs O, A, B, ou AB.

Ce fait qualifie, uniquement dans le système ABO bien sûr, les individus de groupe AB comme receveurs universels.

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

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

Génétique :

Les gènes codant pour ABO sont localisés sur le chromosome 9 (bras long) sur 2 locus homologues.

Sur chaque locus se trouve un gène de la série allélique A, B (Co-dominant) et O (récessif) donc :

- Le phénotype A correspond au génotype AA ou AO
- Le phénotype B correspond au génotype BB ou BO
- Le phénotype O correspond au génotype OO
- Le phénotype AB correspond au génotype AB.

2. Système Rhésus :

Le système Rhésus est, avec le système ABO, un des principaux systèmes de groupes sanguins. Les antigènes appartenant au système Rhésus, parfois appelés à tort « facteurs Rhésus », sont

nombreux, mais, dans la pratique, 5 seulement sont réellement importants (susceptibles d'entraîner la formation d'anticorps lorsqu'ils sont transfusés à un sujet ne possédant pas l'antigène en cause) : les antigènes D(Rh1), C(Rh2), c(Rh4), E(Rh3) et e(Rh5).

Les sujets qui possèdent l'antigène D sont dits Rhésus positif, ceux qui ne le possèdent pas sont dits Rhésus négatif. Certaines personnes présentent une forme affaiblie de l'antigène D, dite D faible. Les globules rouges sont en outre porteurs des antigènes C, E, c et e, différemment associés selon des lois déterminées : toute globule rouge ne portant pas l'antigène C est nécessairement porteur de l'antigène c et réciproquement. Il en va de même pour les antigènes E et e. En revanche, il n'existe pas d'antigène d : un individu non porteur du D ne porte donc rien à la place.

La détermination du caractère Rhésus ou présence de l'antigène D, fait partie intégrante de la détermination du groupe sanguin et s'effectue en même temps que le groupage ABO.

Il s'effectue seulement par une épreuve globulaire, c'est-à-dire par la recherche de l'antigène à l'aide de sérums tests anti-D.

Compatibilité Rhésus :

- Si un patient est Rh + on peut lui transfuser du Rh+ ou du Rh-.

- Si un patient est Rh- ; il est fortement conseillé de lui transfuser du Rh-. Si ça n'est pas possible on lui transfuse du Rh+ mais dans ce cas on l'immunise contre l'antigène D. En effet un Rh- ne possède pas d'antigène D, si on lui en transfuse il va fabriquer des anticorps anti-D (dans 50-70 % des cas) ce qui créera un haut risque d'hémolyse lors d'une deuxième transfusion de sang Rh+.

⇒ Cas de grossesse: Lors de l'accouchement des globules rouges du bébé peuvent passer la barrière placentaire pour se mélanger aux globules rouges de la mère.

Si une mère est Rh- et le père Rh+ (homozygote), l'enfant sera Rh+ ; la mère risque alors après l'accouchement de fabriquer des anticorps anti-D. S'il y a une nouvelle grossesse avec un père Rh+, et donc un bébé Rh+ les anticorps anti-D de la mère risquent de provoquer une hémolyse chez le bébé toujours au moment de l'accouchement. Pour prévenir ce risque 72 heures (maximum) après un accouchement d'un bébé Rh+ on injecte à la mère une dose de gammaglobuline anti-D qui va neutraliser les globules rouges porteurs de l'antigène D (Rh+) du bébé, ainsi la mère ne fabriquera donc pas d'anticorps anti-D.

Remarque :

On tient toujours compte des antigènes C, E, c et e pour une demande de sang phénotypé.

Il ne faut jamais apporter d'antigènes que le receveur ne possède pas déjà.

3. Système Kell :

- Il s'agit du système le plus immunogène après le système Rhésus. Le système Kell possède 2 antigènes principaux : K (KEL1) et k (KEL2, Cellano).
- Ces antigènes sont bien développés à la naissance, leur expression se trouve restreinte à la lignée érythrocytaire.
- Le système Kell ne se limite pas à ces deux antigènes. C'est un système complexe de pseudo-allèles.
- Les anticorps anti-Kell résultent généralement d'une allo-immunisation par transfusion sanguine.
- La recherche des antigènes de Kell est basée sur la technique de l'agglutination directe sur plaque.
- Les hématies pourvues de l'antigène K agglutineront en présence du réactif contenant Ac anti-K en revanche les hématies dépourvues de l'antigène n'agglutineront pas.

4. Autres systèmes :

LE SYSTEME DUFFY :

- Les antigènes sont propres à l'hématie : Fy a+, a- et Fy b+ et b-.
- Les anticorps sont immuns.
- Duffy a est immunogène, il est donc recherché s'il y a une demande de sang phénotypé.

LE SYSTEME KIDD :

L'antigène Jk+ est immunogène, il est donc recherché s'il y a une demande de sang phénotypé.

LE SYSTEME LEWIS :

- Les antigènes ne sont pas synthétisés par les GR mais absorbés par leur membrane.
- Il existe 3 antigènes dans ce système : Le (a, b, x).
- Les anticorps sont naturels, il y a donc un danger dès la première transfusion.

Chapitre II : MATERIEL ET METHODES

Cette étude a été effectuée au Centre Régional de Transfusion Sanguine de Fès.

C'est une étude prospective qui s'est déroulée du 02 Avril 2018 au 21 Mai 2018 soit une durée d'un mois et demie.

La population d'étude, est constituée de l'ensemble des donneurs de sang ayant effectué un don en site fixe et en collecte mobile.

Les prélèvements sont effectués dans des tubes contenant l'EDTA : Ethylène Diamine Tétracétique.

Si ces échantillons ne sont pas traités immédiatement ou dans l'heure qui suit le prélèvement, ils doivent être conservés bouchés à une température entre +2 et +8°C pendant 24h. Les tests immunologiques sont effectués sur des tubes centrifugés, en utilisant des kits appropriés à l'aide de l'automate Qwalys3.

I. Matériel :

Les techniques d'analyses immuno-hématologiques doivent faire l'objet de procédures adaptées au matériel et aux réactifs suivants.

1. Centrifugeuse (Rotofix 32A) :



Figure 1 : Centrifugeuse des tubes (Rotofix 32A).

La centrifugeuse (Rotofix 32A) est utilisée pour la centrifugation des tubes EDTA.

Sa capacité est de 68 tubes.

Après la centrifugation des tubes EDTA à 4000 RPM pendant 2 min, on obtient 2 phases : plasma et culot globulaire qui sont la matrice des différents tests. (Figure 1).

2. L'automate QWALYS®3 :

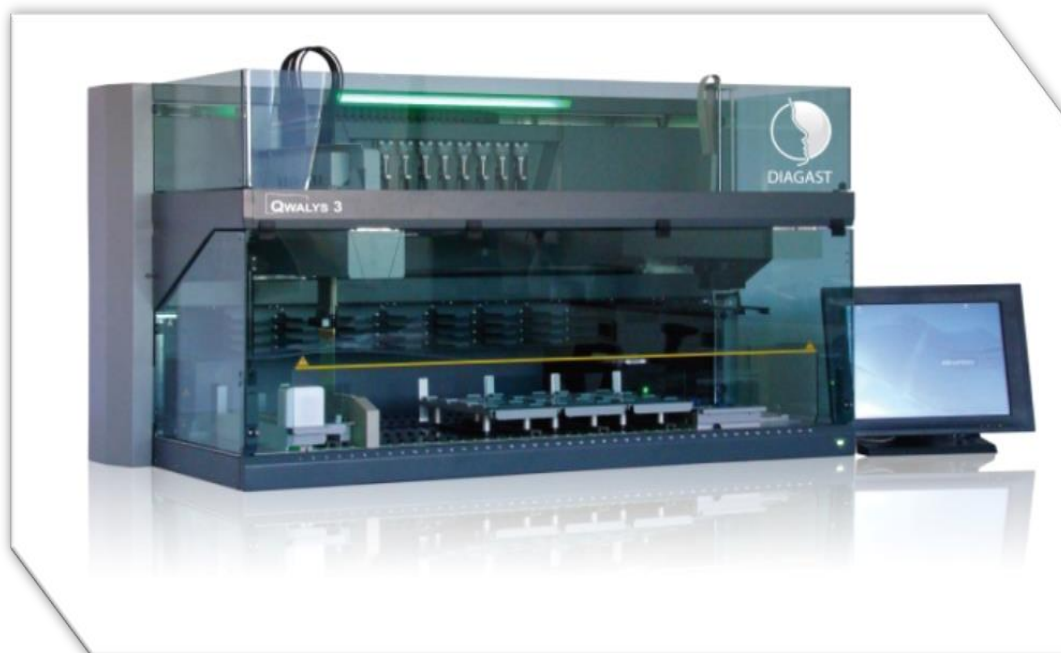


Figure 2 : L'automate d'immuno-hématologie Qwalys 3

C'est un automate complet, nouvelle génération, utilisé en hématologie-immunologie (groupage, phénotypage, Recherche d'Agglutinines Irrégulières : RAI).

QWALYS®3 est le seul automate utilisant la nanotechnologie innovante basée sur la magnétisation des hématies. (Figure 2)

Protocole de l'automate :

- Se référer impérativement au manuel d'utilisation QWALYS pour procéder à la mise en marche de l'automate et pour exécuter les opérations préalables de maintenance et de vérification des équipements et de décontamination.
- Sélectionner la configuration des analyses à effectuer. Cette configuration déterminera le positionnement des réactifs sur l'automate.
- Déposer sur l'automate les dispositifs et les échantillons sanguins, dépourvus de bouchons, en positionnant correctement le code à barres par rapport au faisceau de lecture.
- Déposer les microplaques dépourvues d'emballage dans leur magasin de stockage.
- Suivre les instructions demandées par l'automate.

Interprétation des résultats :

La lecture des résultats du groupage et du phénotypage est réalisée par l'automate QWALYS. Le technicien de laboratoire valide l'interprétation en visualisant les images réactionnelles puits par puits. (Figure3)

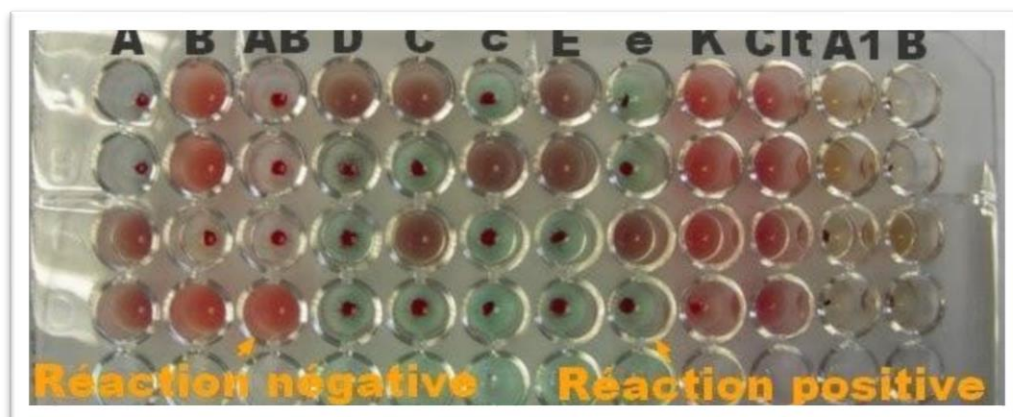


Figure 3: Résultats de phénotypage rhésus associés au système ABO sur microplaque

Les résultats sont interprétés de la manière suivante :

- ✓ La présence d'agglutination indique que l'échantillon testé possède l'antigène correspondant.
- ✓ L'absence d'agglutination avec le réactif constitue un résultat négatif et indique que l'échantillon testé est dépourvu de l'antigène correspondant.

3. Réactifs utilisés :

Seuls les réactifs présentant un certificat de conformité d'un organisme agréé par les instances internationales, reconnus pour la validation des réactifs destinés à la transfusion sanguine sont utilisés.

Pour cette étude, nous avons utilisé les coffrets prêts à l'emploi suivants :

a. Duolys :



Figure 4 : Microplaque de Duolys et solution MagneLys

Duolys est un coffret composé de :

- ✓ 12 microplaques avec des réactifs pré-distribués, chaque microplaque contient 8 puits d'anti-A, d'anti-B, d'anti-AB, d'anti-D, d'anti-C, d'anti-c, d'anti-E, d'anti-e, d'anti-K, de témoin négatif et 2x8 puits vides.
- ✓ Un flacon de 40 ml de solution magnétisante MagneLys (Figure 4).

Ce coffret est utilisé pour le groupage ABO-D et le phénotypage Rh-Kell.

b. HEMA CQI (Red Blood Cells for the Internal Quality Control):



Figure 5: HEMA CQI (ABO, Rh-Kell)

HEMA CQI est un dispositif médical de diagnostic in vitro d'origine humaine pour usage professionnel.

Il s'agit d'un contrôle de qualité interne ajouté aux séries de groupage (épreuve globulaire et épreuve plasmatique) ABO-Rh1 ou de phénotype Rh-K, son utilisation permet de déceler les anomalies inhérentes à la manipulation, aux réactifs, au matériel et à l'environnement de travail afin de mettre en œuvre les actions correctives. (Figure 5).

c. Hemalys :



Figure 6: Hemalys A1 & B

C'est un pack composé de 2 réactifs, Hemalys A et Hemalys B : Hématies A et B magnétisées préparées in vitro. Ces Hématies tests sont utilisées pour la recherche des anticorps A et B en test sérique. (Figure 6)

d. Carte gel :



Figure 7: Carte gel Liss-Coombs

Carte gel Liss-Coombs est composée de six micro-tubes remplis de gel qui est imprégné d'une anti-globuline polyspécifique anti-IgG/C3d (complément).

La carte gel a pour objectif de détecter des anticorps et du complément (dans le cas de la recherche de l'antigène D faible), par l'intermédiaire de l'anti-IgG et C3d. (Figure 7).

Interprétation des résultats :

La lecture des résultats de la recherche de l'antigène D faible se fait à l'œil nu par le technicien de laboratoire. (Figure 8)

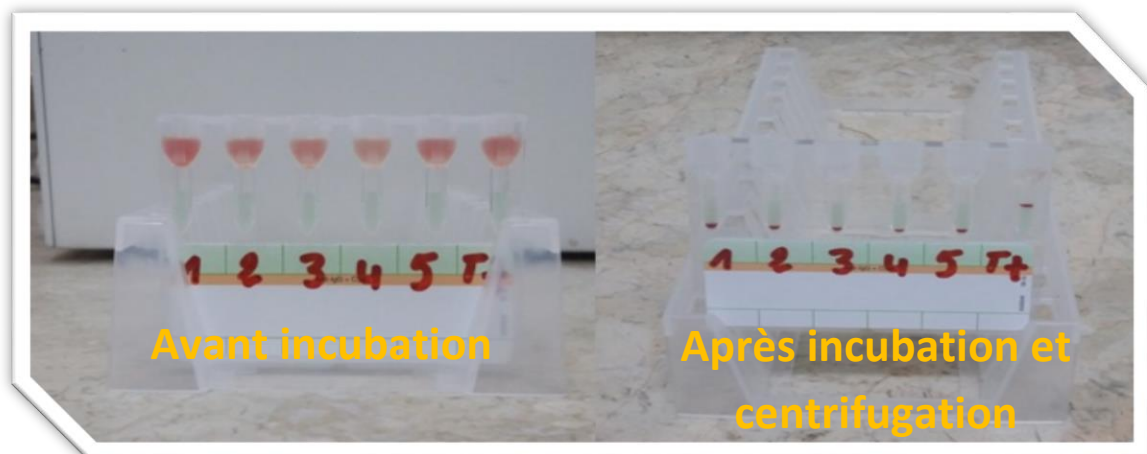


Figure 8: Résultat de recherche de l'antigène D faible sur carte gel Liss-Coombs

- ✓ **Résultat positif** : hématies agglutinées formant une ligne rouge à la surface du gel ou des agglutinats dispersés dans ce dernier.
- ✓ **Résultat négatif** : hématies en culot compact au fond du microtube.

II. Méthodes :

La qualification biologique du don en immuno-hématologie désigne l'ensemble des analyses biologiques pratiquées au laboratoire qui permettent d'établir les caractéristiques immuno-hématologiques du don. Ces techniques sont basées sur deux principes différents : le test d'agglutination directe et le test indirect à l'anti-globuline (en cas de rhésus négatif).

1. Tests d'agglutination directe :

a. Groupage sanguin ABO :

Cette méthode fait appel à deux épreuves :

- Une globulaire ou épreuve de BETH-VINCENT correspondante à une technique de recherche d'Ag globulaires à l'aide d'Ac connus appelés sérums tests.
- Et une autre sérique ou technique de SIMONIN qui correspond à la recherche des Ac naturels à l'aide d'Ag connus appelés globules rouges tests.

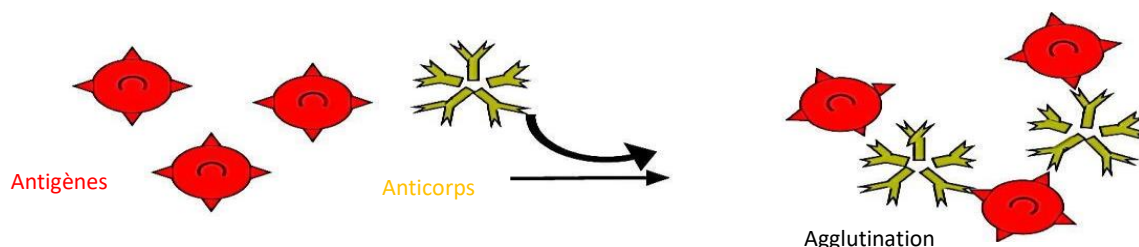


Figure 9 : Représentation schématique d'une réaction d'agglutination directe

Les résultats des deux épreuves doivent être concordants pour valider un groupe sanguin ABO.

b. Recherche du système Rh-Kell :

De la même façon que pour le groupe ABO, dans le système Rh-Kell, on recherche des antigènes, qui sont : Ag D, C, c, E, e et Kell à la surface des hématies.

La technique d'agglutination directe entre ces antigènes portés sur les hématies à tester et les sérums test spécifiques est utilisée.

2. Test indirect à l'anti-globuline (Recherche de l'antigène D faible) :

La recherche de l'Ag D faible se fait chez les donneurs ayant un phénotype Rh1 négatif, par une technique sensible : test indirect à l'anti-globuline ou le test du Coombs indirect à l'aide de la carte gel Liss-Coombs.

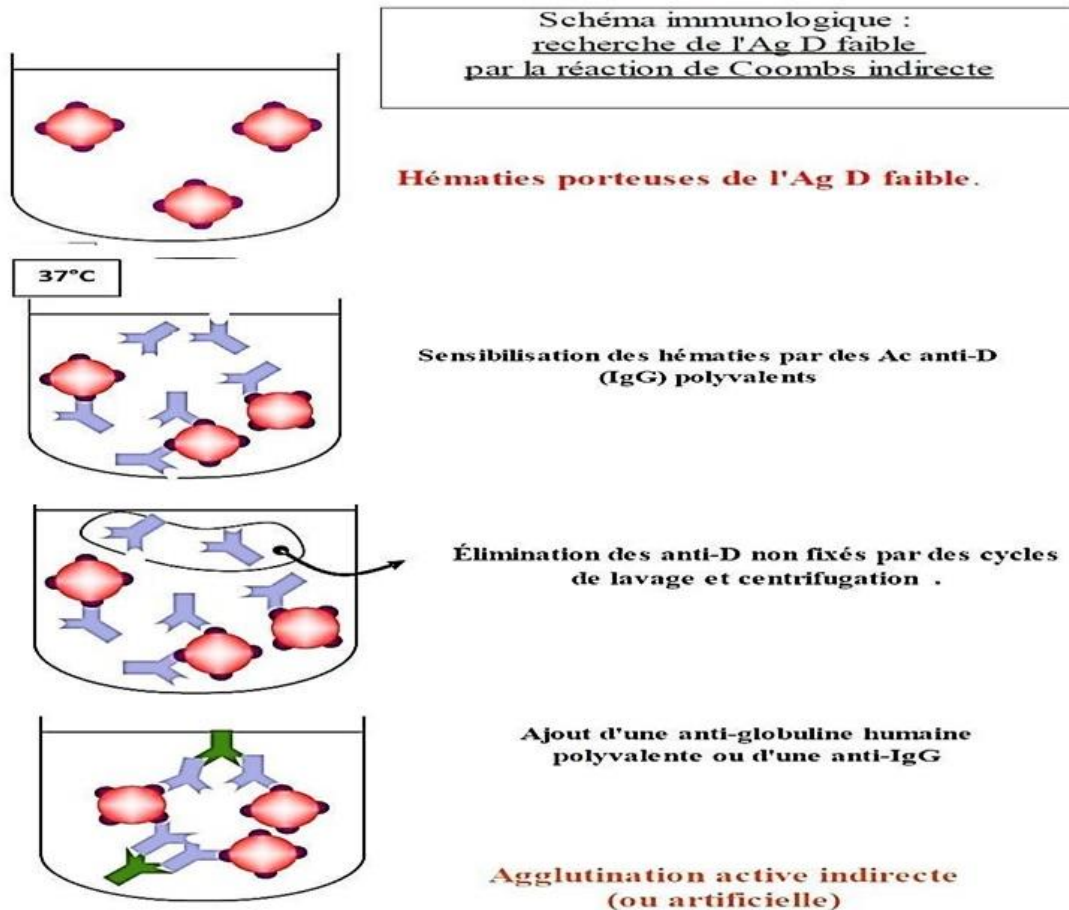


Figure 10: Schéma illustrant le test du Coombs indirect à la recherche de l'Ag D Faible.

Protocole :

- Identifier les microtubes appropriés sur la carte gel par le numéro de l'échantillon du donneur.
- Enlever la languette de protection des microtubes en tenant la carte gel en position verticale.
- Préparer une suspension d'hématie à 0,8% de l'échantillon.
- Déposer 50 µl de la suspension dans le microtube approprié.
- Ajouter 25 µl du sérum Anti-D. Le délai entre le dépôt des hématies et celui de l'anti-D ne doit pas dépasser 10 minutes.
- Incuber à 37°C 15min dans l'incubateur de la carte gel.
- Centrifuger la carte 10min dans la centrifuge de la carte gel.
- Lire et noter les résultats.

Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION

I. Résultats :

Les échantillons sur lesquels a été effectuée l'étude, fait partie des données répertoriées dans les registres du CRTS de Fès, 2236 donneurs de sang âgés entre 18 et 45ans prélevés durant la période allant du mois Avril au mois Mai 2018.

Afin d'exploiter les résultats collectés, nous avons utilisé des outils informatiques : Microsoft office Excel et le Microsoft office Word qui facilitent la gestion des données et leur présentation sous forme de tableaux.

1. L'étude du système ABO :

Dans cette première partie, nous avons déterminé le groupe sanguin ABO pour chacun des 2236 donneurs. Les deux épreuves ; globulaire et sérique ont été utilisées.

Tableau 3: Répartition des donneurs de sang selon les groupes du système ABO :

Phénotypes	Donneurs	Prévalence %
A	776	34,70
B	376	16,83
AB	109	4,87
O	975	43,60
Total	2236	100

D'après les résultats le Tableau 2; nous constatons que sur les 2236 échantillons le phénotype O est dominant avec un effectif de 975 ce qui correspond 43,60%, suivie par le groupe A dont l'effectif est 776 (34,70%). Vient ensuite le groupe B avec 16,83%, puis le groupe AB qui est le moins abondant, avec un pourcentage inférieur à 5%.

2. L'étude du système Rhésus :

a. L'étude du Rh-1 :

L'étude du groupe Rhésus-1 a été réalisée chez notre population.

Tableau 4 : La prévalence des phénotypes RH positif et RH négatif de la population étudiée :

Phénotype	Donneurs	Prévalence %
Rhésus positif	2033	90,92
Rhésus négatif	203	9,08
Total	2236	100

Il apparaît clairement, d'après les résultats obtenus que l'antigène D est présent chez la plupart de la population étudiée avec 2033 cas sur 2236, ce qui représente 91% des échantillons total.

Le nombre de prélèvements correspondants au Rh⁻ ne dépasse pas les 10%.

b. L'étude du Rh-1 combiné au système ABO :

Tableau 5 : Système ABO combiné au système Rh-1 :

Phénotype	Effectifs	Prévalence %
A Rh+	716	32,02
B Rh+	336	15,03
AB Rh+	99	4,43
O Rh+	882	39,45
A Rh-	60	2,68
B Rh-	40	1,79
AB Rh-	10	0,45
O Rh-	93	4,15

L'étude du Rh1 combiné au système ABO nous permet de confirmer les résultats précédents. En effet, le groupe sanguin O+ est le plus abondant chez la population étudiée avec près de 40%.

c. L'étude des phénotypes Rh :

Les phénotypes Rh ont été étudiés et les résultats suivants ont été obtenus (Tableau 5).

Tableau 6 : Prévalence des phénotypes Rh dans la population étudiée :

Phénotype	Effectifs	Prévalence %
Cc ee	849	37,97
cc ee	580	25,94
CC ee	392	17,53
cc Ee	224	10,02
Cc Ee	197	7,47
cc EE	20	0,89
CC Ee	4	0,18

D'après le tableau 5 on peut déduire que le phénotype le plus fréquent est Ccee avec un pourcentage de 37,97%, tandis que le phénotype le moins abondant est CCEe avec un taux presque nul 0,18%.

Nous avons estimé la fréquence des antigènes C, c, E, e, les résultats sont indiqués dans le tableau ci-dessous :

Tableau 7 : La prévalence des antigènes C, c, E, e, du système Rh dans la population étudiée :

Antigènes	C	c	E	e
Prévalence %	63,15	82,29	18,56	99,10

L'estimation des prévalences des antigènes C, c, E et e dans la population étudiée, a permis de montrer que les antigènes c et e sont majoritaires par rapport aux antigènes C et E avec des pourcentages respectivement de 82,29% et 99,10%.

3. L'étude du système Kell :

Tableau 8 : La prévalence de l'antigène K dans l'échantillon étudié :

Phénotype	Donneurs	Fréquence %
Kell négatif	2022	90,43
Kell positif	214	9,57
Total	2236	100

L'antigène K est absent chez presque la totalité de la population avec un pourcentage supérieur à 90%.

II. Discussion :

Les analyses de groupage ABO et de phénotypage Rh-Kell effectuées sur les 2236 donneurs au niveau du CRTS de Fès, ont démontré que le groupe sanguin prédominant est le groupe O avec un pourcentage de 43,60% et que la majorité des donneurs sont Rhésus positif 90,92%. De même nous avons montré que le phénotype le plus abondant est Ccee avec un pourcentage de 37,97%.

Les antigènes c et e, sont les majoritaires avec les pourcentages de 82,29% et 99,10%. Par contre, le phénotype Kell est absent chez presque la totalité de la population, avec 2022 cas sur les 2236 échantillons.

Les résultats réalisés par Saïda El Khabouss (2018), au CTS HMM-V (Centre de Transfusion Sanguine de l'Hôpital Militaire Mohammed V) de Rabat, concordent avec nos résultats et montrent que sur 10 000 échantillons, les phénotypes O, Rh⁺ et Kell négatif sont les plus fréquents. Par contre, l'antigène C est plus abondant que l'antigène c avec un pourcentage de (72,77%).

Finalement, on peut émettre l'hypothèse que le groupe O, Rh⁺ et Kell négatif sont le plus fréquent chez la population marocaine.

CONCLUSION :

Nous avons étudié le polymorphisme phénotypique dans les systèmes ABO, Rh et Kell chez des donneurs de sang au Centre de Transfusion Sanguine de Fès ; nous avons également estimé la prévalence des antigènes et des phénotypes du système Rh « D, C, c, E et e ».

Au terme de cette étude qui s'est déroulée du mois Avril 2018 jusqu'au mois Mai 2018, la fréquence des antigènes des systèmes de groupes sanguins érythrocytaires chez les 2236 donneurs bénévoles de sang a été :

- Système ABO : A (34,70%), B (16,83%), AB (4,87%), O (43,60%).
- Systèmes Rh : D (90,92%), C (63,15%), c (82,29%) , E (18,56%) et e (99,10%). Avec une prédominance du phénotype Ccee (37,97%)
- Système Kell : K (9,57%).

Nos résultats ont été comparés avec ceux obtenus au niveau du CTS HMM-V de Rabat en 2018.

Les études réalisées sur les 2 régions, Fès et Rabat, ne permettent pas d'affirmer que les phénotypes O, Rh⁺ et Kell sont les plus fréquents au Maroc.

Il faut faire des études généralisées au Maroc en utilisant un large effectif.

Références bibliographiques et webographiques :

<https://www.infirmiers.com/pdf/groupe-sanguin.pdf>

http://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/syst%C3%A8me_Rh%C3%A9sus/15887

https://fr.wikipedia.org/wiki/Syst%C3%A8me_ABO

<https://www.toutsurlatransfusion.com/preparation-qualification-biologique-du-don/qualification/interet.php>

<http://www.dondusang-doubs.org/contre-indications-au-don-de-sang>

<https://sante-medecine.journaldesfemmes.fr/faq/52166-don-du-sang-les-differentes-etapes>

<https://www.hema-quebec.qc.ca/sang/donneur-sang/types-de-don/index.fr.html>

https://fr.wikipedia.org/wiki/Produit_sanguin_labile

[https://www.news-medical.net/health/History-of-Blood-Transfusion-\(French\).aspx](https://www.news-medical.net/health/History-of-Blood-Transfusion-(French).aspx)

www.redcrossblood.org/learn-about-blood/history-blood-transfusion

<http://www.blood.co.uk/about-blood/history/>

<http://www.ishim.net/Articles/Blood%20Transfusion%20in%20History.pdf>

https://www.bbts.org.uk/news/latest_news/the_timeline__blood_donation/

Geoff Daniels, 2013, Human blood groups, Blackwell Science Ltd, 3e édition,

J. Chiaroni, F. Roubinet, P. Bailly, L. Mannessier, F. Noizat-Pirenne, 2011, Les analyses immunohématologiques et leurs applications cliniques, Edit. : John Libbey Eurotext.

J.P. Cartron et Ph. Rouger, Masson, 1998, Bases moléculaires des antigènes des groupes sanguins.

Larousse Médical

M. Goudemand et Ch Salmon, 1980, Immuno-hématologie et immunogénétique, Flammarion Médecine-Sciences.

Marion E. Reid, Christine Lomas-Francis ET Martin L. Olsson, 2012, The blood group antigen, Facts Book, Elsevier Academic Press, 3e édition.

P. Bailly, J. Chiaroni, F. Roubinet., 2015, Les groupes sanguins érythrocytaires, Edit. : John Libbey Eurotext, Paris.

R. R. Race et R. Sanger, traduit par Ch. Salmon et A. Mourier, Masson, 1970, Les Groupes sanguins chez l'Homme.

Vasan SK, Rostgaard K, Majeed A et al, 2016, ABO blood group and risk of thromboembolic and arterial disease: A study of 1.5 million blood donors, *Circulation*.