

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement supérieur et de
la recherche scientifique

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Mouloud Mammeri
FACULTE DE MEDECINE
TIZI OUZOU



جامعة مولود معمري
كلية الطب
تيزي وزو

ⵜⴰⵎⴰⵎⵔⴰⵏⵜ ⵏ ⵉⵎⵎⵓⵔ ⵎⵎⵎⵔⵉ ⵏ ⵉⵏⵙⵉⵎⵏⵏⵓⵏ ⵏ ⵉⵏⵙⵉⵎⵏⵏⵓⵏ ⵏ ⵉⵏⵙⵉⵎⵏⵏⵓⵏ

Département de pharmacie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

N° D'ORDRE :

Présenté et soutenu publiquement le 31 Octobre 2021

En vue de l'obtention du diplôme d'état de Docteur en Pharmacie

Thème :

Fréquence de l'antigène Rhésus standard D faible dans la population de donneurs de sang Rhésus négatif au centre de transfusion sanguine (CWTS) de la wilaya de Tizi-Ouzou

Réalisé par :

TEBANI Cilya

GRIM Katia

HAOUCHINE Mounira

SELSAF Lyza

Encadré par :

Dr. KESSAL Fatma Maitre assistante HU UMMTO

Membres de jury :

DR. SI SMAIL Nedjma

Maitre Assistante

HU UMMTO

Présidente de jury

Dr. AGOURNAZ Sonia

Assistante santé publique

CHU Tizi-Ouzou

Examinatrice

2020-2021

Remerciements

Nous remercions avant tout ALLAH le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience de mener ce présent travail.

Nous tenons à remercier notre promotrice, **Dr KESSAL Fatma**, maître-assistante en hémiobiologie au CHU NEDIR MOHAMMED de Tizi Ouzou pour sa patience, et surtout pour sa confiance, ses remarques, ses conseils, sa disponibilité et sa bienveillance. Votre modestie et votre simplicité font de vous en plus de vos qualités professionnelles, une référence de bon sens et de compétence.

Puisse ce travail être à la hauteur de la confiance que vous nous avez accordée.

À **Dr SI SMAIL Nedjma**, maître-assistante en hémiobiologie au CHU de Tizi Ouzou, nous tenons à vous exprimer notre reconnaissance pour l'honneur que vous nous faites de bien vouloir présider ce jury.

Vos qualités humaines et professionnelles susciteront toujours notre admiration. Veuillez trouver dans ce travail le témoignage de notre profond respect.

À **Dr AGOURNAZ Sonia**, assistante en hémiobiologie au CHU de Tizi Ouzou, Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant d'examiner notre travail.

Nous vous prions de trouver ici le témoignage de notre reconnaissance et l'assurance de nos sentiments les plus respectueux.

À **Dr CHERIFI Salsabila** et **Dr BEKAL Selma** pour le temps qu'elles ont consacré pour nous et pour leur immense aide.

Nous adressons également nos gratitudes et nos reconnaissances au **Dr AREZKI** médecin chef de service et toute l'équipe du CWTS de la région de Tizi Ouzou, en particulier aux responsables des archives, pour toute l'aide précieuse qu'ils nous ont apporté et qui nous a permis d'avancer dans ce mémoire.

Dédicaces

Toutes les lettres ne sauront trouver les mots qu'il faut... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, L'amour, le respect, la reconnaissance. Aussi, c'est tout simplement que je dédie ce travail :

A ma très chère mère

Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, vos sacrifices innombrables et votre dévouement firent pour moi un encouragement. Vous avez guetté mes pas, et m'avez couvé de tendresse, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Vous m'avez aidé et soutenu pendant de nombreuses années avec à chaque fois une attention renouvelée. Puisse Dieu, tout puissant vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.

A mon très cher père

Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. Je t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

A mon cher frère Nabil

A tous les moments d'enfance passés avec toi, en gage de ma profonde estime pour l'aide que tu m'as apporté. Tu m'as soutenu, réconforté et encouragé. Puisse nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus.

A ma chère sœur Rania

Une sœur comme on ne peut trouver nulle part ailleurs, Puisse Allah te protéger, garder et renforcer notre fraternité. Je te souhaite tout le bonheur du monde.

A mes tantes Mimi, Lynda, Koukou, Samia, Katia et oncles Younes et Lala

Les expressions me trahissent, et ne peuvent exprimer mon attachement, mon amour et ma gratitude pour vous. Qu'il me soit permis de vous exprimer à travers ce travail, mon respect et ma vive reconnaissance.

A mes deux grand-mères maternelles

Je vous dédie ce travail pour vos attentions particulières, vos prières et votre amour inconditionnel. Merci pour tout et que Dieu vous donne bonne santé et longue vie parmi nous.

A mes deux meilleures amies Téci et Kaki

L'affection que j'ai pour vous est sans aucune mesure, que Dieu vous accorde santé et longue vie.

A mon amie D. Sara

Je te dédie ce travail en réponse à l'affection que tu as toujours eu à mon égard, sache qu'elle est réciproque.

A la mémoire de mon grand-père maternel et ma grand-mère paternelle

Puisse Dieu vous avoir en sa sainte miséricorde Que vous reposiez dans le paradis du seigneur.

A mes collègues Cilya, Katia et Mounira

Toutes les personnes qui ont pu m'apporter une aide par leur expertise, leurs encouragements, ou autre, ont également toute ma reconnaissance.

SELSAF Lyza

Tout d'abord je tiens à remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir donné le courage, la patiente et la force pour accomplir ce travail.

Je dédie ce modeste travail :

À mon très cher père

De tous les pères, tu es le meilleur.

C'est vrai que tu n'es plus avec nous pour récolter le fruit de tes sacrifices, mais tu es toujours dans mon cœur, merci pour ton amour, ton soutien, ta confiance, tes efforts et tes précieux conseils. Papa tu étais et tu resteras toujours la lumière de ma vie. Aucune dédicace ne saurait exprimer ma reconnaissance et mon profond amour. Qu'Allah t'accueille dans son vaste paradis.

À ma très chère maman

La lumière de mes jours, ma vie et mon bonheur, merci pour tes prières, ton soutien, tes sacrifices et pour m'avoir donnée la force dans les moments difficiles, sans toi je n'aurais jamais pu être ce que je suis, quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurais te remercier comme il se doit. Que dieu te garde pour nous et t'accorde bonheur, santé et longue vie.

À mon seul et unique frère Ali

Mon bras droit, merci d'être à mes côtés, merci pour tes sacrifices et pour tout ce que tu as fait pour moi. Puisse Allah te protéger, garder et renforcer notre fraternité.

À Ma grande sœur Imen et son mari Nazim

Je vous remercie pour le soutien et l'encouragement que vous m'avez accordés. Qu'il me soit permis de vous exprimer à travers ce travail, mon respect et ma vive reconnaissance.

À ma petite sœur Cherifa

Une dédicace très spéciale pour ma 'chouchou' le cadeau que le bon Dieu nous a offert, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon amour et mon attachement à toi. Je t'aime énormément.

À ma nièce Damia Elina

À la mémoire de mes grands-parents paternels et maternels

Que dieu vous accueille dans son vaste paradis.

À mes oncles paternels

En particulier mon oncle Djamel et à la mémoire de mon oncle Samir.

À mes collègues Katia, Cilya et Lyza avec qui j'ai partagé ce travail.

À mes amies, mes collègues et toute personne qui m'as aidé de près ou de loin tout au long de mon parcours.

MOUNIRA

Merci Dieu, pour le courage et la force, merci de m'avoir guidé tout au long de mon parcours.

Je dédie ce travail

A mes très chers parents

« Maman et papa » Mes anges gardiens, merci pour tous vos efforts et tous les sacrifices, merci d'avoir cru en moi jusqu'au bout. Hélas je ne pourrai exprimer toute l'affection que je vous porte à travers ces quelques lignes, néanmoins j'espère avoir été à la hauteur. Que Dieu vous accorde longue vie auprès de nous et beaucoup de bonheur, je vous aime fort.

A ma très chère et unique sœur « Sony »

Ma complice : merci pour ton soutien et tes encouragements. Je suis très fière de toi et de tout ce que tu as accompli. Que ceci soit l'expression de ma gratitude et mon amour inconditionnel.

A mes adorables frères « Moumouh » et « Samy »

La lumière de mes jours et la source de mes efforts. Sachez que toute ma vie je veillerai sur vous. Je prie Dieu le tout puissant de vous préserver et d'exhausser tous vos vœux.

A la mémoire

De mon grand-père maternel et mon grand-père paternel

Tous deux partis bien trop tôt, merci pour votre sagesse, votre bienveillance et pour toutes les belles valeurs transmises au fil du temps. Votre doux souvenir restera gravé à jamais dans mon cœur, reposez en paix.

A mes grands-mères setti Ounissa et maazizou

Pour votre affection et vos prières que dieu vous garde en bonne santé longtemps à nos côtés.

*À tous mes oncles et tantes, maternels et paternels, à mes cousins et cousines et tous les membres des deux familles **GRIM et LARBI**.*

*A mes amies d'enfance, à **toi** mon acolyte ; merci pour ta présence et tout ce que tu fais pour moi chaque jour même de loin, et à **Félix** qui embellie ma vie depuis maintenant deux ans.*

A Cici et Liliz

Merci d'être toujours là pour moi, merci pour tous les fous rires et les souvenirs, je vous souhaite le meilleur dans tout ce que vous entreprenez.

*A **Mounira** pour ta patience et ta compréhension tout au long de ce travail.*

Merci à toutes les personnes qui ont, de près ou de loin, contribué à mon épanouissement et ma réussite.

GRIM KATIA

Premièrement, je remercie DIEU, tout puissant de m'avoir accordé volonté, force et courage d'achever ce mémoire.

Je dédie ce modeste travail ;

A mes chers parents : **Yemma et Bady's**, vous qui avez toujours cru en moi, vous êtes et vous serez toujours la lumière qui illumine ma vie, aucun mot ne saurait exprimer mon amour et ma gratitude envers vous. Ce que j'ai pu accomplir aujourd'hui n'est que le fruit de vos sacrifices pour mon éducation, mes études et mon bien être. Que DIEU vous garde pour moi et vous procure santé et bonheur, je vous aime énormément.

A mon cher et précieux frère **Yacine**, merci pour ton soutien, ta disponibilité, ton écoute et ta bienveillance, tu as toujours été là pour moi ay izem. Que Dieu te garde pour moi et te comble de bonheur et réussite.

A mes sœurs et leurs maris : **Lamia** et tonton **Marzouk, Massila** et tonton **Mustapha, Tina et Nordine, Karine et chabane**. Je vous dédie ce travail en guise de reconnaissance et de remerciement pour tout ce que vous faites pour moi, mes chères sœurs, vous êtes mes perles précieuses, votre aide et votre soutien à chaque étape de ma vie m'ont boosté pour aller de l'avant. Je vous souhaite tout le bonheur du monde.

A mes neveux : **Moumouh, Lyna, Fafache, Selma et Oceane**

A toute ma famille, en particulier **Jeddi** et **YEMAZI**, Jida **Yamina** et à la mémoire de mon grand-père **Rezki**. A mon oncle **Achour**, ma tante **Nadia** et leurs familles. A **Dda Moh, Dda Brahim, Khalti zahia, Khalti Malika et Tata Djouher**.

Une dédicace particulière pour toi **Semences**, aucune expression ne pourrait exprimer mon respect et ma considération pour ton soutien et tes encouragements. Je te dédie ce travail en guise de reconnaissance de la bonté exceptionnelle que tu m'offre au quotidien. Que Dieu tout puissant te garde et te procure santé et bonheur.

A mes meilleurs amis : **Sofiane, Kenza, Katia** et **Lyza**, à ma collègue **Mounira**, ainsi que tous mes amis surtout : **Lydia, Cami, Ferhat, Aziz, Aissa, Mohand, Idir, Amirouche, Tafer Tiziri, Mohamed Zerrouak, Flora, Zakia, Ilham** et **Myriam**. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de bonheur.

A toute personne qui m'a adressé un mot d'encouragement et de soutien durant mon cursus.

TECI CILYA

Sommaire

Liste des tableaux	i
Liste des figures	ii
Liste des abréviations	iv
Introduction et Objectifs	1

Partie théorique

Chapitre I : Rappel sur les systèmes sanguins érythrocytaires ABO et Rhésus

1. Historique	3
2. Rappels sur le système ABO	3
2.1. Définition du système ABO	3
2.1.1. Les antigènes du système ABO	4
2.1.1.1. Etude génétique	4
2.1.2. Les anticorps du système ABO	4
3. Rappels sur le système Rhésus (RH)	5
3.1. Définition et épidémiologie	5
3.2. Etude génétique et biochimique du système Rhésus	7
3.2.1. Etude génétique	7
3.2.2. Etude biochimique.....	9
3.3. Les fonctions du complexe Rhésus	11
3.3.1. Rôle dans le transport d'ammonium	11
3.3.2. Rôle de transporteur/canal.....	12
3.3.3. Rôle dans l'accrochage de la membrane érythrocytaire au squelette dépendant de la spectrine	12
3.4. Les différentes nomenclatures du système RH	12
3.4.1. Nomenclature de Fisher-Race (ou DCE).....	12
3.4.2. Nomenclature de Wiener	12
3.4.3. Nomenclature de Rosenfield	12
3.4.4. Nomenclature de l'ISBT	13
3.5. Les antigènes du système Rhésus.....	13
3.5.1. L'antigène D.....	13
3.5.2. Les antigènes C, c, E et e	14

3.5.3. Les autres antigènes du système Rhésus.....	14
3.5.3.1. Les antigènes composés	14
3.5.3.2. Les antigènes C ^w et C ^x	14
3.5.3.3. L'antigène MAR (RH51)	15
3.5.3.4. Les antigènes VS (RH20) et V (RH10).....	15
3.6. Les variants RHD	16
3.6.1. Phénotype D partiel	16
3.6.2. Phénotype D faible.....	16
3.6.3. Phénotype Del.....	18
3.7. Les anticorps du système RH.....	18
3.7.1 Anticorps immuns.....	18
3.7.2. Auto-anticorps	18
3.7.3. Anticorps naturels	19
3.8. Les méthodes d'étude du système rhésus.....	19
3.8.1. Recherche des antigènes.....	189
3.8.1.1. Principe.....	19
3.8.1.2. Résultats et interprétation.....	19
3.8.2. La recherche de l'antigène D faible	19
3.8.2.1. Par le TIA (TCI).....	20
3.8.2.2. Par fixation- élution.....	20
3.9. Recherche des anticorps	20
3.9.1. Les différentes techniques de recherches.....	20
3.9.1.1. La recherche des agglutinines irrégulières (RAI).....	20
3.10. Les implications cliniques du système rhésus	21
3.10.1. L'allo-immunisation anti-érythrocytaire	21
3.10.1.1. Allo-immunisation post-transfusionnelle	22
3.10.1.2. Allo-immunisation fœto-maternelle	23
4. Le système Kell	26
4.1. Les antigènes du système Kell	26
4.2. Les anticorps du système Kell.....	28

CHAPITRE II : Transfusion sanguine et règles immunologiques dans la transfusion de produits sanguins labiles

1. Le don de sang total	29
1.1. Définition	29
1.2. Règles et conditions du don de sang	29
1.3. Les contres indications du don de sang.....	30
1.3.1. Les contres indications temporaires	30
1.3.2. Les contres indications définitives	31

2- Les produits sanguins labiles	31
2.1. Définition	31
2.2. Les différents types de PSL.....	32
2.2.1. Le concentré de globules rouges (CGR)	32
2.2.1.1. Définition et caractéristiques.....	32
2.2.1.2. Les types du CGR	32
2.2.1.3. Les principales indications	33
2.2.2. Le concentré de plaquettes CP	33
2.2.2.1. Définition et caractéristiques.....	33
2.2.2.2. Les types de concentré plaquettaire.....	33
2.2.2.3. Les principales indications	34
2.2.3. Le plasma thérapeutique.....	35
2.2.3.1. Définition et caractéristiques.....	35
2.2.3.2. Les types du plasma thérapeutiques	35
2.2.3.3. Les principales indications	36
2.2.4. Le concentré unitaire de granulocytes CUG	36
2.2.4.1. Définition et caractéristiques.....	36
2.2.4.2. Les principales indications du CUG.....	36
3. Règles et sécurité transfusionnelles.....	36
3.1. Règles de compatibilité ABO.....	36
3.2. Règles de compatibilité Rhésus.....	37
3.3. Sécurité transfusionnelle	38
3.3.1. Définition	38
3.3.2. Sécurité des pratiques transfusionnelles (dossier transfusionnel).....	39
3.3.3. Examens nécessaires pour la transfusion	40
3.3.3.1. Groupe sanguin	40
3.3.3.2. R.A.I.....	40
3.3.4. Prescription de la transfusion	40
3.3.5. Les types de contrôle : « le bon produit pour le bon patient »	41
3.3.6. La surveillance de la transfusion	43

Partie pratique

I. Matériels et méthodes	44
1. Type d'étude	44
2. Lieu de l'étude	44
3. Durée d'étude	44
4. Population d'étude.....	44
4.1. Taille de l'échantillon	44
4.2. Critères d'inclusion d'un donneur de sang total.....	44
4.3. Critères d'exclusion d'un donneur de sang total	45
5. Matériels.....	45
5.1. Equipements	45
5.2. Réactifs et consommables	45
5.2.1. Consommables	45
5.2.2. Réactifs.....	45
6. Méthode.....	46
6.1. Etape pré-analytique.....	46
6.1.1. Etapes du don de sang total	46
6.1.1.1. Accueil du donneur	46
6.1.1.2. Sélection médicale du donneur	46
6.1.1.3. Prélèvement proprement dit	47
6.2. Etape analytique	48
6.2.1. Groupage ABO.....	48
6.2.1.1. Principe	48
6.2.1.2. Mode opératoire	49
6.2.1.3. Lectures des résultats	50
6.2.1.4. Interprétation des résultats	50
6.2.2. Groupage Rhésus.....	51
6.2.2.1. Principe	51
6.2.2.2. Mode opératoire	51
6.2.2.3. Interprétation des résultats	51
6.2.3. Recherche des Ag C et/ou E.....	52
6.2.3.1. Principe.....	52

6.2.3.2. Technique.....	52
6.2.3.3. Lecture des résultats.....	52
6.2.3.4. Interprétation des résultats	52
6.2.4. Recherche de l'antigène D faible	53
6.2.4.1. Principe	53
6.2.4.2. Mode opératoire	53
6.2.4.3. Interprétation des résultats	55
6.2.4.4. Validation.....	56
7. Etude statistique	57
7.1. Saisie des données	57
7.2. Analyse statistique des données	57
8. Considérations éthiques.....	57
II. Résultats	58
1. Résultats globaux	58
1.1. Répartition des donneurs de sang selon les caractéristiques épidémiologiques.....	58
1.1.1. Selon le genre	58
1.1.2. Selon les tranches d'âge	59
1.1.3. Répartition de la population d'étude selon la région.....	60
1.2. Répartition des donneurs de sang selon les groupes sanguins	61
1.2.1. Selon le groupe sanguin ABO	61
1.2.2. Selon le phénotype CDE	62
1.2.3. Selon le phénotype Kell	63
2. Résultats analytiques	64
2.1. Fréquence de l'antigène D faible dans la population générale.....	64
2.1.1. Fréquence de l'Ag D faible	64
2.1.2. Fréquence de l'Ag D faible selon le genre	65
2.1.3. Fréquence de l'Ag D faible selon les tranches d'âge	65
2.1.4. Fréquence de l'Ag D faible selon le groupe sanguin ABO	66
2.1.5. Fréquence de l'Ag D faible selon le phénotype CDE	67
2.1.6. Fréquence de l'Ag D faible selon le phénotype Kell	68
2.2. Description de la population d'étude à phénotype D faible positif.....	68
2.2.1. Selon le genre	68
2.2.2. Selon les tranches d'âge	69

2.2.3. Selon l'âge et le genre	70
2.2.4. Selon le groupe sanguin ABO	71
2.2.5. Selon le phénotype CDE	72
2.2.6. Selon le phénotype Kell	72
2.2.7. Selon les phénotypes CDE et Kell	74
2.2.8. Selon le groupe sanguin et le phénotype CDE	74
2.2.9. Selon le groupe sanguin et le phénotype Kell	75
2.2.10. Selon la région.....	76
III. Discussion	77
1. Difficultés et limites de l'étude	77
2. Discussion et comparaison des résultats selon les différentes répartitions	77
Conclusion et recommandations	81
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau 1: Fréquence des antigènes et anticorps du système ABO.....	5
Tableau 2: Fréquences de l'antigène D à l'échelle nationale et international	7
Tableau 3: Exemples de D faibles liés à des mutations	17
Tableau 4: Fréquence des différents phénotypes Kell	27
Tableau 5 : Règles de compatibilité ABO pour la transfusion de GR	37
Tableau 6 : Résultats des épreuves sérique et globulaire dans le groupage ABO	50
Tableau 7 : Répartition de la population d'étude selon la région	60
Tableau 8 : Fréquence de l'Ag D faible chez les donneurs de sang RH : -1 selon les tranches d'âges ...	65
Tableau 9 : Fréquence de l'Ag D faible selon le groupe sanguin ABO	66
Tableau 10 : Répartition des donneurs à phénotype D faible positif selon l'âge et le genre.....	70
Tableau 11 : Fréquence du phénotype D faible positif selon le phénotype Kell	73
Tableau 12 : Fréquence du phénotype D faible selon la région.....	76

Liste des figures

Figure 1 : Structure schématique du locus RH.....	8
Figure 2 : la structure moléculaire de la protéine Rhésus	10
Figure 3 : Le complexe membranaire Rhésus.....	11
Figure 4: Spécificités C ^w et C ^x	15
Figure 5 : Hémolysé intra et extra vasculaire	22
Figure 6: Allo-immunisation fœto-maternelle	23
Figure 7: Métabolisme de la bilirubine et mécanisme de l'ictère	25
Figure 8: Glycoprotéines <i>Kell</i> et K ^x	25
Figure 9: Don de sang total	29
Figure 10 : Don de plaquettes par technique d'aphérèse	34
Figure 11 : Règles de compatibilité entre les donneurs et les receveurs.....	38
Figure 12 : Carte de contrôle ultime au lit du patient	42
Figure 13 : Les premiers lavages des hématies avec l'eau physiologique	53
Figure 14 : La suspension d'hématies à 5 %.....	54
Figure 15 : Schéma illustrant le test de Coombs indirect à la recherche de l'Ag D Faible	55
Figure 16 : De droite à gauche un témoin positif et trois échantillons positifs.....	56
Figure 17 : Répartition de la population d'étude selon le genre	58
Figure 18 : Répartition de la population d'étude selon l'âge	59
Figure 19 : Répartition de la population selon le groupe sanguin.....	61
Figure 20 : Répartition de la population d'étude selon les phénotypes CDE	62
Figure 21 : Répartition de la population d'étude selon les phénotypes Kell	63
Figure 22 : Fréquence de l'Ag D faible chez les donneurs de sang rhésus négatif.....	64

Liste des figures

Figure 23 : Fréquence de l'Ag D faible selon le genre	65
Figure 24 : Fréquence de l'Ag D faible selon les tranches d'âge	66
Figure 25 : Fréquence de l'Ag D faible selon le groupe sanguin ABO	67
Figure 26 : Fréquence de l'Ag D faible selon le phénotype CDE	67
Figure 27 : Fréquence de l'Ag D faible selon le phénotype Kell.....	68
Figure 28 : Répartition des donneurs de sang à phénotype D faible positif selon le genre	69
Figure 29 : Répartition des donneurs de sang à phénotype D faible positif selon les tranches d'âge	70
Figure 30 : Fréquence du phénotype D faible positif selon l'âge et le genre.....	71
Figure 31 : Répartition des donneurs de sang à phénotype D faible positif selon le groupe ABO.....	71
Figure 32 : Fréquence du phénotype D faible positif selon le phénotype CDE.....	72
Figure 33 : Fréquence des donneurs à phénotype D faible positif selon le phénotype Kell	73
Figure 34 : Fréquence du D faible selon les phénotypes CDE et Kell.....	74
Figure 35 : Fréquence du phénotype D faible positif selon le groupe sanguin et le phénotype CDE.....	75
Figure 36 : Fréquence du phénotype D faible positif selon le groupe sanguin et le phénotype Kell	75
Figure 37 : Fréquence du phénotype D faible positif selon la région	76

Liste des abréviations

Ac: Anticorps.

Ag: Antigène.

AGH: Anti-Globulines Humaines.

ATCD: Antécédents.

BFU-E: Burst-Forming Unit-Erythroid.

CFU-E: Colony Forming Unit-Erythroid.

CGR : Concentré de Globules Rouges.

CMV : Cyto Mégalo Virus.

CP : Concentré Plaquettaire.

CPA : Concentré de Plaquettes d'Aphérèse.

CPG : Cytosine-Phosphate-Guanine.

CPS : Concentré Plaquettaire Standard.

CUG : Concentré Unitaire Granulocytaire.

CWTS : Centre de Wilaya de Transfusion Sanguine.

DEL : D en délétion.

D^U : D faible.

FIT : Fiche d'Incident Transfusionnel.

GB : Globule Blanc.

GR : Globule Rouge.

HB : Hémoglobine.

HCL : Acide Chlorhydrique.

HIV : Virus d'Immunodéficience Humaine.

Liste des abréviations

HTA : Hypertension Artérielle.

HVA : Virus de l'Hépatite A.

HVB : Virus de l'Hépatite B.

HVC : Virus de l'Hépatite C.

ICAM4: Intercellular Adhesion Molecule 4.

Ig: Immunoglobuline.

IgG: Immunoglobuline G.

ISBT: International Society of Blood Transfusion.

IST : Infection Sexuellement Transmissibles.

KDa : Kilodalton.

LW : Système Lewis.

MCPS : Mélange de Concentré de Plaquettes Standard.

MHNN : Maladie Hémolytique du Nouveau-Né.

OPEX : Opérations Extérieures.

PFC-IA : Plasma Frais Congelé Traité par Amotosalen.

PFC-SD : Plasma Frais Congelé Traité par Détergent.

PFC-SE : Plasma Frais Congelé Sécurisé par Quarantaine.

PH : Potentiel d'Hydrogène.

PLYO : Plasma lyophilisé.

PSL : Produit Sanguin Labile.

RAI : Recherche d'Agglutinines Irrégulières.

Rh : Rhésus.

RhAG : Rh-Associated Glycoprotéine.

Liste des abréviations

RhBG: Rh family **B** Glycoprotein.

RhCG : Rh Family **C** Glycoprotein.

SIDA : Syndrome d'Immunodéficience Acquis.

SMP1 : Small Membrane Protein 1.

TCD : Test de Coombs **D**irect.

TCI : Test de Coombs **I**ndirect.

TIA : Test **I**ndirect à l'Antiglobuline.

Introduction

Et

Objectifs

Introduction

Depuis l'identification du système Rhésus (Rh) il y'a plus de 7 décennies (1), les donneurs de sang et receveurs d'une transfusion sanguine ont été classés comme RhD-positifs ou RhD-négatifs. En 1946, le premier antigène variant D a été identifié par Stratton à l'infirmerie royale de Manchester en Angleterre, sur des globules rouges d'un donneur de sang qui ne s'agglutinaient pas lorsque le RhD est typé par certains sérums anti-D (2).

Il a rapporté que le variant D est un « nouvel allèle amorphe du système Rh qu'il a nommé D^u ». Plusieurs variants D ont été décrits dans la littérature, qui sont classiquement organisés en trois groupes : D partiel dépourvus d'épitopes D immunogènes ; D faible avec une densité d'antigène réduite et le DEL, tous ces variants donnent des phénotypes de D faible sur le plan sérologique et les sujets doivent être considérés comme rhésus positif autant que donneur et rhésus négatif autant que receveur.

La détermination classique du groupe rhésus se fait par l'ajout du réactif anti-D, le D faible est souvent étiqueté comme négatif lors de sa détermination par cette méthode mais beaucoup mieux détecté par l'utilisation de techniques plus sensibles telles que le test indirect à l'antiglobuline.

La détection du D faible comme positif chez les donneurs de sang est impérative, vu son pouvoir immunogène afin d'éviter la production d'un anticorps anti-D pouvant persister plusieurs mois ou années. C'est suite à une seconde exposition à l'antigène D^u qu'une réponse immunologique secondaire et rapide apparaît, pouvant conduire à des accidents immunologiques graves. La fréquence et l'importance transfusionnelle et obstétricale des anticorps anti-D justifient le respect systématique et obligatoire de la compatibilité RHD en transfusion sanguine et dans le cas de grossesse incompatible.

Pour protéger les femmes RhD-négatif de l'exposition à l'antigène D et de la formation d'anti D par allo-immunisation suite à une transfusion de globules rouges d'un donneur avec un antigène D variant, les 1^{ères} politiques de prévention ont été développées aux États-Unis par le comité des normes de l'Association Américaine of Blood Banks en 1958 qui exige que les transfusions de concentrés de globules rouges de donneurs de sang testés initialement négatifs par l'anti-D doivent être retestés avec de l'antiglobuline : le «Test D faible».

Cette nécessité de dépistage de l'Ag D faible chez les donneurs de sang a motivé les sociétés savantes d'exiger l'application de test indirect à l'antiglobuline pour tous les donneurs de rhésus négatif. Ce qui nous a incité à entreprendre une étude transversale descriptive exhaustive concernant la recherche de cet antigène.

Objectifs

Objectif principal

- La détermination de la fréquence de l'antigène Rhésus standard D faible dans la population de donneurs de sang rhésus négatif au Centre de Transfusion Sanguine (C.W.T.S) de la région de Tizi-Ouzou.

Objectifs secondaires

- Décrire l'aspect épidémiologique des donneurs de sang recensés dans notre étude ;
- Déterminer la fréquence phénotypique du système ABO ;
- Déterminer la fréquence des antigènes (C) (E) dans le système Rhésus D négatif ;
- Déterminer la fréquence de l'antigène érythrocytaire Kel dans le système Rhésus négatif.

Partie théorique

Chapitre I

**Rappel sur les systèmes sanguins
érythrocytaires ABO et Rhésus**

1. Historique

1900 : mise en évidence des agglutinogènes sur le globule rouge et des agglutinines dans le sérum par KARL LANDESTEINER (3).

1901 : découverte des groupes sanguins A, B et O par KARL LANDSTEINER (4).

1902 : description du plus rare et dernier groupe sanguin du système ABO, le groupe AB par DECASTELLO et STURLI (4).

1907 : Instauration de la première classification ABO par JAN JANSKY (4).

1939 : découverte d'un antigène chez la femme enceinte qui agglutine les hématies du père et de l'enfant par LEVINE et STETSON (4).

1940 : mise en évidence de l'anti-rhésus par KARL LANDESTEINER et ALEXANDER WIENER, après réalisation d'une expérience sur des lapins avec du sang d'un singe *Macacus Rhesus* (5).

1949 : découverte du système de groupe sanguin Kell, après quelques semaines de l'introduction du test à l'AGH humaine (6).

1974 : identification des glycosyltransférases A et B par LELOIR (6).

2. Rappels sur le système ABO**2.1. Définition du système ABO**

Le système ABO (système 001 selon l'ISBT ; A : 001, B : 002, AB : 003) (3) autrement nommé ABH, est le système sanguin érythrocytaire le plus important. C'est un système ubiquitaire qui se définit par la présence des antigènes A et/ou B à la surface des globules rouges, et des anticorps naturels réguliers anti A et/ou anti B correspondant à l'Ag absent. Il existe quatre allèles qui codent pour le même gène qui est situé sur le chromosome 9 dont trois sont Co-dominants : A1, A2 et B (7).

2.1.1. Les antigènes du système ABO

Les Ag du système ABO sont des oligosaccharides portés par les glycolipides membranaires des hématies, des cellules épithéliales et endothéliales. Nous notons également leur présence dans le plasma, la salive et le lait maternel (8). A la naissance, ils ne sont pas complètement développés, Ils sont présents chez le fœtus dès la cinquième semaine, et leur expression n'est définitive que vers l'âge de trois ans (9).

Ils sont caractérisés par deux sucres différents à la surface du globule rouge, le N acetyl-galactosamine pour l'Ag A et le galactose pour l'Ag B, fixés sur une substance de base nommée substance H (7).

2.1.1.1. Etude génétique

L'expression phénotypique des antigènes A et B est sous la dépendance de deux gènes indépendants. Le premier est le gène H (codant pour une fucose transférase), présent chez la plus grande partie de la population humaine, qui permet la fixation d'un L-Fucose sur un mucopolysaccharide dit « de base », et la formation de l'antigène ou substance H.

Les sujets qui ont comme deuxième gène l'allèle A (codant pour une N-acétylgalactosamine transférase) ou l'allèle B (codant pour une galactose transférase), vont transformer cette substance H en substance A ou en substance B également par la fixation d'un sucre ; ceux qui portent les deux allèles A et B auront à la fois les antigènes A et B. Ceux qui n'ont ni l'allèle A, ni l'allèle B ne modifient pas leur substance H et sont dits de groupe O.

Les très rares sujets qui ne possèdent pas le gène H (génotypiquement hh) ne peuvent exprimer ni l'antigénicité A, ni l'antigénicité B, ils sont dits de phénotype « Bombay » (9)

2.1.2. Les anticorps du système ABO

Ce sont des anticorps naturels réguliers, c'est à dire qu'ils existent de façon constante chez tout individu adulte qui ne possède pas le(s) antigène(s) A et/ou B, et ce en dehors de toute stimulation antigénique.

En réalité, ils correspondent à une immunisation acquise vis-à-vis d'antigènes étrangers ubiquitaires qui sont largement répandus dans l'environnement, en particulier chez les

bactéries. Ils apparaissent spontanément vers le cinquième ou le sixième mois après la naissance. Ainsi, les individus de groupe A ont des Ac anti-B, les individus de groupe B possèdent des anti-A, les individus de groupe O ont à la fois des anti-A et des anti-B, ceux du groupe AB ne possèdent pas d'anticorps naturels dans le système ABO (**Voir Tableau 1**). Ces Ac sont de type IgM ; sont dits froids, agglutinants à +4 °C, et ne traversent pas la barrière placentaire.

Cependant, des Ac immuns irréguliers, et hémolysants à 37°C peuvent apparaître suite à une stimulation, ils sont de type IgG capables de traverser la barrière placentaire (8,9).

Tableau 1: Fréquence des antigènes et anticorps du système ABO (10, 11, 12).

Phénotype	Génotype	Antigènes	Anticorps	Fréquence en Algérie	Fréquence en France	Fréquence au Burkina Faso
A	AA ou AO	A	ANTI B	33%	45%	22%
B	BB ou BO	B	ANTI A	18%	9%	29%
AB	AB	AB	/	5%	3%	6%
O	OO	/	ANTI A et ANTI B	44%	43%	43%

3. Rappels sur le système Rhésus (RH)

3.1. Définition et épidémiologie

Le système Rhésus ou système 004 selon la classification de l'ISBT est l'un des systèmes de groupes sanguins le plus complexe et le plus polymorphe, après le système ABO, tant sur le plan historique que clinique. (3)

Ce système comporte à ce jour 55 antigènes (13), les cinq principaux sont : Rh D (RH1), Rh C (RH2), Rh E (RH3), Rh c (RH4), et Rh e (RH5), présents exclusivement à la surface du globule rouge. Le haut degré d'immunogénicité de ces antigènes reflète l'importance majeure

de ce système sur le plan clinique car les anticorps correspondants sont impliqués dans les accidents immuno-hémolytiques transfusionnels, dans la maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né (MHNN), ainsi que les anémies hémolytiques auto-immunes (14).

Les anomalies fonctionnelles et morphologiques des globules rouges déficitaires en protéines Rh (Rh_{null}) indiquent que les protéines Rh sont nécessaires à l'intégrité de la membrane du globule rouge pour lui conférer sa forme biconcave et sa grande surface (14).

La fréquence des différents phénotypes dans le système Rhésus présente une large diversité interethnique, ce qui rend la transfusion sanguine très compliquée. Les afro-caribéens ont majoritairement le phénotype *Dce* avec une fréquence de 45.8% alors que seulement 2.1% des européens présentent ce phénotype (15).

En Algérie, les études effectuées sur la prévalence et la répartition du groupage rhésus ne sont pas nombreuses. L'étude faite en 2018 par Talbi *et al.* (16), a montré que les fréquences des antigènes D, C, c, e et E sont respectivement de : 87%, 67 %, 65 %, 36 % et 18%. Cette étude a donc conclu que le phénotype prédominant en Algérie est le phénotype Ccee suivie du phénotype ccee (16).

Au Maroc, selon l'étude de Nissrine Ayad en 2019 chez les donneurs de sang, 92,29% de ces donneurs sont de Rhésus D positif, seulement 7,71% d'entre eux sont de Rhésus D négatif (17).

En Tunisie, l'étude d'Ouchari *et al.* en 2013 sur 269 donneurs de sang a montré que la fréquence des sujets rhésus D positifs est de 87.34% alors que chez les sujets Rhésus D négatifs, elle n'est que de 12.66% (18).

Le tableau suivant résume la fréquence du Rhésus D positif dans certains pays :

Tableau 2: Fréquences de l'antigène D à l'échelle nationale et international.

Auteurs	Pays	Fréquences
TALBI <i>et al.</i> (16)	Algérie	87%
AYAD (17)	Maroc	92.29%
OUCHARI <i>et al.</i> (18)	Tunisie	87.34%
AMADDAH <i>et al.</i> (19)	Mali	92.29%
WAGNER <i>et al.</i> (20)	Allemagne	82.71%
GOPAL <i>et al.</i> (21)	Inde	94.13%
LOUA <i>et al.</i> (22)	Guinée	95.94%
BRANGER <i>et al.</i> (23)	France	85%
IREM <i>et al.</i> (24)	Turquie	85.96%

3.2. Etude génétique et biochimique du système Rhésus

3.2.1. Etude génétique

Les bases génétiques du système Rhésus ont été déterminées par des études de biologie moléculaire dans les années 1990, ces études décrivent l'existence du locus Rhésus constitué de deux gènes fortement homologues : le gène *RHD* qui produit l'antigène D et le gène *RHCE* qui produit les antigènes C/c, E/e, ce locus est situé sur le bras court du chromosome 1 au niveau de la région 1p34.3-1p36.1 (25).

Les deux gènes *RHD* et *RHCE* dérivent probablement de la duplication d'un gène ancestral commun : le gène *RHD* est le produit d'une translocation génique horizontale du gène *RHCE*.

Ils sont composés chacun de dix exons qui s'étendent sur 60 kb et présentent 96% de similarité (26), la différence la plus significative entre les deux gènes est portée par l'intron 4 qui présente une délétion de 600 pb dans le gène *RHD*. Ils sont arrangés en tandem inversé dans l'ordre : télomère-RHCE-RHD-centromère, leurs extrémités 3' sont en face et sont séparées par environ 30 kb (27), cette inversion explique la facilité de survenue de conversions géniques, car

après repliement en épingle à cheveux, les deux gènes et tous leurs exons se retrouvent les uns en face des autres.

Le gène *RHD* est situé entre deux segments d'ADN de 9 kb appelés « boîtes Rhésus » d'une homologie de 98.6% et d'une orientation identique (27). Les gènes *RHD* et *RHCE* sont séparés par environ 30 000 paires de bases qui contiennent le gène *SMP1*, il n'y a pas d'indice si le gène *SMP1* est fonctionnellement relié au locus RH ou s'il est exprimé à la surface des globules rouges mais il est considérablement plus conservé à travers l'évolution que le locus RH (28). (Voir figure 1).

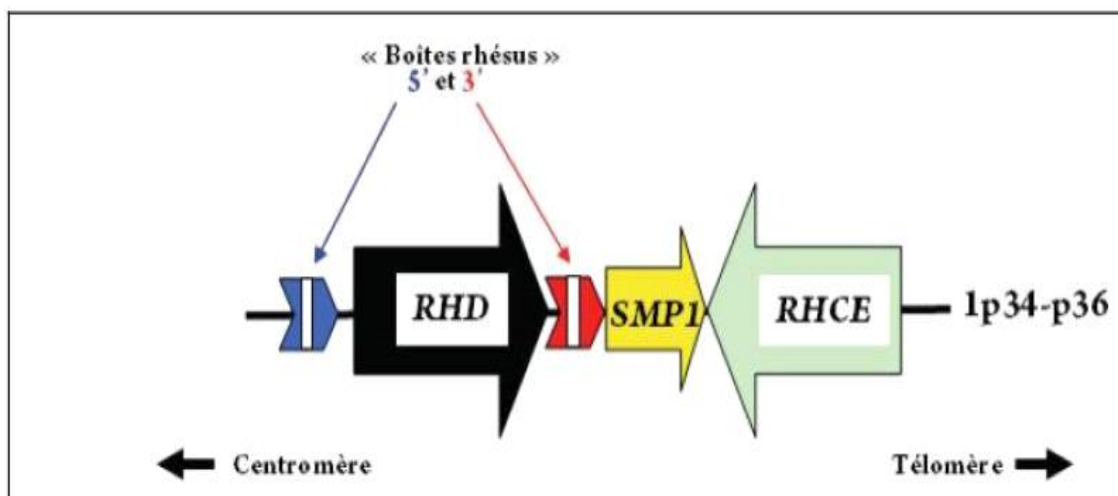


Figure 1 : Structure schématique du locus RH (29).

Les gènes *RHD* et *RHCE* forment un haplotype, transmis en un seul bloc lors de la méiose, en fonction des formes alléliques, on distingue huit haplotypes qui sont notés : DCE, DcE, dce, Dce, dCe, dcE, DCE et dCE ou d représente l'allèle Rhésus D en délétion ou inactif. La fréquence de ces haplotypes est variable en fonction des populations (30).

Entre les deux gènes rhésus se localise une région de 12159 pb appelée région «spacer» (31). Cette région contient des séquences consensus Alu et des îlots CpG. La duplication des deux gènes Rhésus s'est probablement produite dans cette région, l'analyse de cette dernière a révélé qu'elle est responsable du contrôle de la transcription, de l'évolution moléculaire des gènes Rhésus, des variants Rh et de la délétion du gène *RHD*.

3.2.2. Etude biochimique

Les protéines RhD et RhCE sont respectivement les produits des gènes RHD et RHCE. Ce sont des protéines membranaires hydrophobes, palmitoylées et non glycosylées de poids moléculaire entre 30 et 32 kDas, constituées chacune de 417 acides aminés. Ces protéines sont exprimées uniquement par les cellules hématopoïétiques de la lignée érythroïde depuis les progéniteurs CFU-E jusqu'aux globules rouges matures à raison de 100 à 200000 copies par cellule. Elles présentent une structure basée sur : 6 boucles extracellulaires, 5 intracellulaires et 12 segments intra membranaires, les extrémités N-Terminales (NH₂) et C-Terminales (COOH) sont intracytoplasmique. En fonction des allèles 34 (*Ce*) à 38 (*cE*) acides aminés peuvent différer entre les protéines RhD et RhCE. Seul un nombre limité de ces différences est en position extracellulaire. Celles-ci sont restreintes pour l'allèle *C* aux boucles 3 (exon 4), 4 (exon 5) et 6 (exon 7) qui portent l'antigénicité D et concernent également la boucle 2 (exon 2) pour l'allèle *c* (14) (**Voir figure 2**). L'exon 7 code pour la majorité des acides aminés caractérisant la différence entre les antigènes RHD et RHCE (32).

Le gène RHD code pour un polypeptide présentant la spécificité D tandis que le gène RHCE code pour un polypeptide qui présente les spécificités C ou c et E ou e (33).

La présence ou l'absence de la protéine D détermine la base moléculaire des phénotypes Rhésus D positif et Rhésus D négatif (33).

L'antigène D est complexe, car il est composé de 37 épitopes dont neuf ont été définis de D1 à D9 et ce à l'aide d'une batterie d'anticorps monoclonaux, ainsi certains sujets de phénotype Rhésus D positif, peuvent produire un allo-anticorps anti-D dirigé contre le ou les épitopes manquants, c'est ce qui définit le « D partiel » que l'on distingue selon la présence ou l'absence d'un ou plusieurs épitopes de l'antigène D (33).

L'analyse comparative des protéines mutantes chez les variants D partiels a permis de corréler les positions polymorphes D localisées dans les boucles extracellulaires de la protéine D, avec les principaux épitopes D définis à l'aide des anticorps monoclonaux anti-D (33).

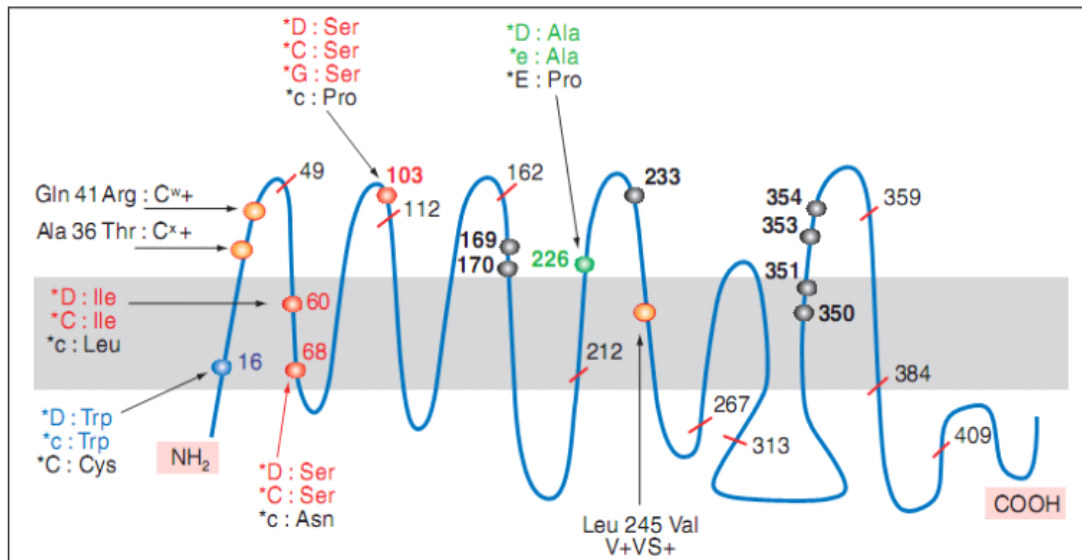


Figure 2 : La structure moléculaire de la protéine Rhésus (3).

Au niveau membranaire, les protéines Rh associées à une glycoprotéine nommée RhAG initialement appelée RH50 forment « le complexe RH ». (**Voir figure 3**).

La Rh AG est une glycoprotéine de poids moléculaire de 50 kDa, codée par le gène RH AG situé sur le chromosome 6 p11-p21 (34) ayant une structure et une organisation analogue avec celle des gènes RH, cette protéine n'est présente qu'à la surface des cellules érythroïdes, elle est identique à 36 % avec les protéines Rh et présente une organisation similaire en 12 domaines transmembranaires. Cette protéine est exprimée au cours de la différenciation érythroïde, en amont des protéines Rh (l'antigène RhAG apparaît dès le stade BFU-E alors que les antigènes Rh apparaissent à des stades de maturation plus avancés avec une véritable maturation conformationnelle qui aboutit à la mise en place progressive des différents épitopes (35).

Le complexe RH joue un rôle important dans l'intégrité structurale de la membrane érythrocytaire par son interaction avec la spectrine et l'ankyrine du cytosquelette et fait intervenir d'autres protéines liées de manière non-covalente qui sont : la protéine CD47 identique à « l'intégrin associated protein », la molécule d'adhérence LW ou ICAM4 (intercellular adhesion molecule 4), et la glycophorine B porteuse des antigènes de groupe sanguins Ss (36).

Il a été récemment démontré que la protéine RhAG joue un rôle important comme chaperon moléculaire de l'ensemble du complexe Rhésus (37).

Des expériences de Co-immunoprécipitation à l'aide d'anticorps anti-Rh ont montré que les protéines du complexe RH étaient absentes ou fortement réduites dans les hématies Rh_{null} (38).

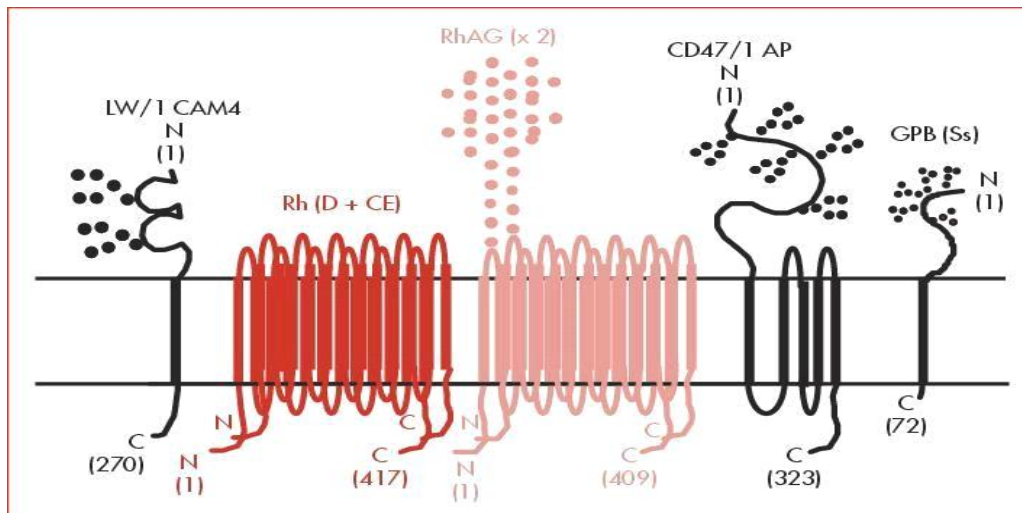


Figure 3 : Le complexe membranaire Rhésus (29)

3.3. Les fonctions du complexe Rhésus

3.3.1. Rôle dans le transport d'ammonium

Les protéines Rh et RhAG qui sont strictement érythroïdes, appartiennent à une famille plus large qui inclut d'autres protéines homologues non érythroïdes comme RhBG et RhCG qui sont majoritairement exprimées dans le rein, mais également présentes dans le foie ainsi que dans la peau et les gonades (39).

Toutes ces protéines présentent des homologies avec des transporteurs spécifiques d'ammonium de la famille méthyl ammonium perméase/Ammonium transporteur (Map/At) et la capacité des glycoprotéines Rh (RhAG, RhBG et RhCG) à transporter l'ammonium a été démontrée et confirmée par plusieurs travaux (40).

3.3.2. Rôle de transporteur/canal

Certaines données obtenues par divers travaux, évoquent que les protéines de la famille Rh pourraient fonctionner comme des transporteurs/canaux à CO₂. La possibilité que ces protéines Rh puissent transporter le CO₂ ainsi que le NH₃ reste à explorer (39).

3.3.3. Rôle dans l'accrochage de la membrane érythrocytaire au squelette dépendant de la spectrine

La forme biconcave du globule rouge et la stabilité de sa membrane sont vraisemblablement dues à des interactions protéiques entre les protéines Rh et les molécules du squelette érythrocytaire dépendant de la spectrine (41).

3.4. Les différentes nomenclatures du système RH

3.4.1. Nomenclature de Fisher-Race (ou DCE)

Apparue lors de la découverte des autres Ag du système RH (C, c, E et e), cette nomenclature est déduite de la conception génétique de Fisher et Race qui résonnaient sur trois locus géniques étroitement liés les uns des autres et qui forment un haplotype de transmission en bloc lors de la méiose. Les haplotypes s'écrivent en italique (exemples : *DCE*, *DCe*, *DcE*) (42).

3.4.2. Nomenclature de Wiener

C'est une nomenclature qui est très utilisée au quotidien, elle est basée sur l'existence d'une série d'allèles (R1, R2, R0, RZ, r, r', r'', ry) (42).

3.4.3. Nomenclature de Rosenfield

Rosenfield a proposé une nomenclature pratique qui, contrairement aux précédentes, ne préjugait pas de la génétique sous-jacente. L'objectif de cette nomenclature est le classement précis des antigènes. Chaque sérum-test, une fois défini, est affecté d'un numéro qui correspond au déterminant Rh qu'il connaît. Ainsi, aux antigènes D, C, E, c et e,

correspondent les numéros 1, 2, 3, 4 et 5. Un phénotype donné est exprimé par autant de sérums-tests utilisés pour le caractériser, quand la réaction est négative le numéro est alors précédé du signe « moins - » (43).

3.4.4. Nomenclature de l'ISBT

C'est une nomenclature internationale pour les systèmes sanguins et les antigènes érythrocytaires. L'ISBT « the International Society of Blood Transfusion » est créé en 1980. Les antigènes des différents systèmes y sont énumérés, établissant une concordance entre la nomenclature classique et celle établie par l'ISBT. Dans cette terminologie, chaque antigène est identifié par six numéros digitaux : les trois premiers numéros digitaux définissent le système (004 pour le système RH) et les trois suivants définissent l'antigène au sein du système. Les antigènes du système RH sont identifiés comme suit : l'antigène D : 004001, l'antigène C : 004002, l'antigène E : 004003, l'antigène c : 004004 et l'antigène e : 004005. Un phénotype est identifié par le symbole du système RH suivi de la ponctuation « : » puis par la liste des antigènes analysés. Ces antigènes sont séparés par des virgules et précédés par le signe « moins - » s'ils sont absents (par exemple le phénotype *DccEe* s'écrit : RH :1,-2, 3, 4,5) (44).

3.5. Les antigènes du système Rhésus

3.5.1. L'antigène D

Selon la présence ou l'absence de l'antigène majeur D sur la membrane des érythrocytes, les cellules sont dites Rh D positive ou RhD négative (45). Cet antigène est de loin le plus immunogène du système Rhésus, en effet lorsqu'il est introduit dans un organisme qui ne le possède pas, l'allo-immunisation qui en résulte peut avoir des conséquences transfusionnelles et obstétricales. Selon certaines études le taux d'allo-immunisation peut aller jusqu'à 85%, les 15% restants ne forment pas d'anticorps anti-D (46). La fréquence du phénotype Rhésus D négatif est très variable entre les populations elle est de 15% chez les caucasiens, 3 à 7% chez les africains, 7-8% chez les noirs américains, 1% chez les indiens d'Amérique du nord et très faible chez les asiatiques (47).

3.5.2. Les antigènes C, c, E et e

Ces antigènes sont dits antithétiques qui veut dire que quand l'un est absent, l'autre est systématiquement présent donc, les hématies ne possédant pas l'antigène C sont nécessairement c positive (et inversement), il en est de même pour les antigènes E et e, les hématies négatives pour l'antigène E sont nécessairement positives pour l'antigène e (et inversement). Des hématies possédant à la fois les antigènes « antithétiques » C et c, E et e peuvent évidemment être observées (48). Dans la distribution de ces antigènes, des associations préférentielles ont été observées ; les antigènes C et E se rencontrant plus fréquemment chez les sujets RhD que chez les sujets Rh dd, ceci traduit ce que l'on appelle un déséquilibre de liaison. Les fréquences de l'expression des antigènes : C, c, E et e chez les caucasiens sont respectivement : 68%, 81%, 29%, 98% (49).

3.5.3. Les autres antigènes du système Rhésus

3.5.3.1. Les antigènes composés

Les antigènes dits composés résultent de l'interaction de deux antigènes, C ou c, et E ou e, ils sont en effet exprimés uniquement lorsque c et e (RH6), C et e (RH7), C et E (RH22) ou c et E (RH27) sont codés par le même gène *RHCE*. Les anticorps spécifiques de ces antigènes reconnaissent des épitopes conformationnels nés de l'association des deux antigènes considérés sur la même molécule RhCE (30).

3.5.3.2. Les antigènes C^w et C^x

Les antigènes C^w et C^x sont des antigènes dont les fréquences dans différentes populations sont assez basses. L'antigène C^w est produit par un allèle du gène *RHCE*, il est caractérisé par une mutation d'un nucléotide (A122G), avec modification d'un acide aminé (Gln41Arg), situé sur la première boucle extracellulaire de la protéine (50). L'antigène C^x est également produit par un allèle du gène *RHCE*, caractérisé par une mutation d'un nucléotide (G106A), avec une modification d'un acide aminé (Ala36Thr), également situé sur la première boucle extracellulaire de la protéine (51) (**Voir figure 4**).

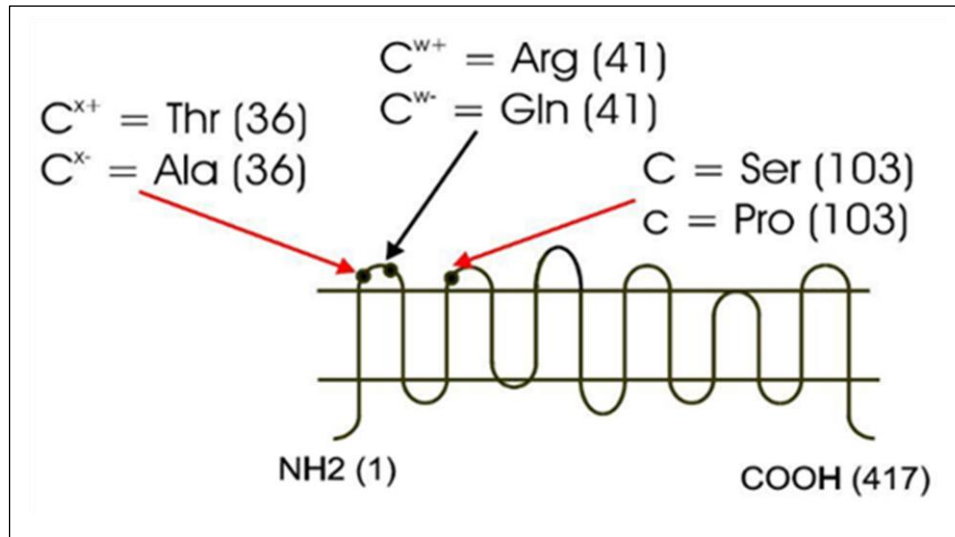


Figure 4: Spécificités C^w et C^x (52).

3.5.3.3. L'antigène MAR (RH51)

L'antigène public MAR (RH51) nécessite la présence de deux acides aminés : Gln41 et Ala36. L'anticorps anti-MAR a été trouvé chez une femme de phénotype D+C+c-E-e+C^w+C^x+, cet anticorps réagit faiblement avec les échantillons C^w+C^x- et C^w-C^x+ et ne réagit pas avec les échantillons Rh_{null}. Puisque C^w et C^x résultent respectivement des substitutions Gln41Arg et Ala36Thr dans la protéine RhCe, donc il est probable que ces acides aminés interviennent dans l'expression de l'antigène MAR (53).

3.5.3.4. Les antigènes VS (RH20) et V (RH10)

L'antigène VS est produit par les haplotypes *Dce^s*, *dce^s* et *d(C)ce^s*, tandis que l'antigène V n'est produit que par les haplotypes *Dce^s* et *dce^s*. L'expression de l'antigène VS est associée à une expression affaiblie de l'antigène C (54). La survenue d'une substitution sur le huitième segment transmembranaire de la protéine RhCE au niveau de l'acide aminé en position 246 (Leu245Val) est à l'origine de la présence de ces deux antigènes. Lorsqu'ils sont présents, ils participent à un affaiblissement de l'antigène e, de plus, l'existence simultanée d'autres substitutions d'acides aminés conduit à la disparition de l'un de ces antigènes, c'est ainsi que la substitution Leu245Val associée à la substitution Gly336Cys aboutit au phénotype VS+V- (55).

3.6. Les variants RHD

L'antigène D présent à la surface des érythrocytes des sujets RhD positifs est un antigène d'expression qualitativement et quantitativement variable. Les variants RH : 1 sont codés par des allèles RHD aberrants, ils résultent généralement des mutations ponctuelles au niveau du gène RHD ou des réarrangements géniques entre le gène RHD et le gène RHCE.

3.6.1. Phénotype D partiel

L'antigène D est constitué d'une mosaïque d'épitopes, ces épitopes sont tous présents chez le sujet RH : 1, et tous absents chez le « vrai » sujet RH : -1. Certains sujets peuvent manquer d'un ou plusieurs de ces épitopes, ils possèdent alors un antigène dit D partiel. Lorsque ces sujets sont transfusés, donc exposés à l'antigène complet ou en cas de grossesse, ils peuvent s'allo-immuniser et produire des anticorps contre les parties qu'ils n'expriment pas. Ainsi les individus présentant un tel variant, seront considérés RH : -1 en tant que receveurs, et RH : 1 en tant que donneur. Deux types ont été décrits pour le variant D partiel : ceux qui sont secondaires à des mutations du gène RHD avec changement d'acides aminés qui touchent les domaines extracellulaires de la protéine RhD (56) et ceux qui sont dues à une conversion génique entre les gènes RHD et RHCE et ainsi formation d'une protéine hybride. Les nouveaux réarrangements géniques peuvent générer parfois de nouveaux antigènes Rh de basse fréquence (51, 57, 58).

Six catégories de D partiel (D^{II} , D^{III} , D^{IV} , D^V , D^{VI} , D^{VII}) ont été identifiés par interaction des variants avec certains anticorps monoclonaux (45).

3.6.2. Phénotype D faible

Les hématies RH :1 possèdent entre 10 000 et 30 000 sites antigéniques D. Le phénotype D faible, anciennement appelé D^{fl} est caractérisé par un déficit quantitatif en sites antigéniques RH :1, il exprime 70 à 4000 sites par hématie (59) il s'agit donc d'une forme atténuée de l'antigène D. Ce phénotype résulte essentiellement de mutations qui touchent les régions transmembranaires ou les régions intracellulaires de la protéine RhD (56). Ces mutations induisent la substitution d'acides aminés ce qui limite l'intégrité des protéines dans la membrane et donc son ancrage au cytosquelette (60).

A ce jour, 145 D faibles (155 avec les sous-types) sont décrits (61) (**Voir Tableau 3**), les bases moléculaires de 16 types D faible ont été déterminées par Wagner et al, en 1999 après avoir séquencé les 10 exons du gène RHD. Le déficit quantitatif qui est à l'origine aboutit à une faible immunogénicité et à une diminution de la réactivité voire même une absence de détection de cet antigène, ceci en fonction de la sensibilité de la technique utilisée lors de la réalisation du phénotype au laboratoire.

Lorsque les individus présentant un D faible sont exposés à un antigène D normal, ils ne produiront pas d'allo-anticorps anti-D, cependant il est accepté en consensus que seuls les D faibles types 1, 2 ou 3 sont à considérer comme D positifs (62).

L'antigène D^u doit être distingué de l'antigène D faible, le premier est lié à la présence d'allèles du gène RHD, le second est dû à l'effet de position en « *Trans* » de certains haplotypes. Certains types d'antigène D faible peuvent être liés à la constitution génotypique des individus, la présence de l'haplotype *r'* (*dCe*) déprime l'expressivité de l'antigène D produit par les haplotypes *R^l* (*DCe*) ou *R^o* (*Dce*) en position *Trans*. Dans la descendance de ces sujets *R^lr'* ou *R^or'*, ce D faible n'est pas retrouvé puisqu'une ségrégation s'établit entre les haplotypes considérés, contrairement à l'antigène D^u, ce D faible n'est pas transmissible, et ne fait pas intervenir des variations du gène RHD (43).

Tableau 3: Exemples de D faibles liés à des mutations (63)

Phénotype	Haplotypes	Modifications	Date de publication
Type 1	<i>CDe</i>	809T>G (V270G)	1999
Type 1.2	<i>CDe</i>	712G>A (V238M) 809T>G (V270G)	2014
Type 2	<i>cDE</i>	1154G>C (G385A)	1999
Type 3	<i>CDe</i>	8C>G (S3C)	1999
Type 4.0	<i>cDe</i>	602C>G (T201R) 667T>G (F223V) 819G>A	1999
Type 4.2.0 (DAR1)	<i>cDe</i>	1025T>C (I342T) 602C>G (T201R) 667T>G (F223V)	1999
Type 10.1	Non reporté	1145T>C (L382P) 1177T>C (W393R)	2016
Type 43	<i>CDe</i>	605C>T (A202V)	2006
Type 106	<i>cDE</i>	220T>G (W74G)	2015

3.6.3. Phénotype Del

Le phénotype DEL représente l'extrême forme du phénotype D faible, il est caractérisé par une faible expression de l'antigène D (< 200 sites par hématie). Pour ce phénotype Les analyses moléculaires ont montré la présence de plusieurs mutations du gène RHD (64).

3.7. Les anticorps du système RH**3.7.1 Anticorps immuns**

Les anticorps anti-Rh sont des anticorps immuns qui résultent d'une allo-immunisation ; lors d'une transfusion incompatible, une grossesse ou une greffe (65). Ils sont irréguliers le plus souvent de classe IgG (en particulier IgG1 et IgG3). L'anticorps anti-D, synthétisé après transfusion incompatible peut persister, chez 80% des individus, plusieurs mois ou années (66) pour cela, la recherche d'une éventuelle allo-immunisation est recommandé entre 30 et 112 jours après la transfusion de CGR (67). Une nouvelle exposition à l'antigène D va provoquer une activation d'une réponse immunologique secondaire rapide pouvant engendrer des complications hémolytiques potentiellement mortelles.

Les autres antigènes du système RH sont moins immunogènes que l'antigène D, donc l'apparition d'anticorps après transfusion incompatible ou grossesse est moins fréquente. Cependant, leur fréquence n'est pas négligeable et leur présence contre-indique toute transfusion incompatible. Le respect de la compatibilité pour les 5 principaux antigènes Rh (D, C, c, E et e) est d'une très grande importance dans les transfusions de globules rouges, essentiellement chez les femmes avant la ménopause et dans les pathologies impliquant des transfusions répétitives et/ou chroniques afin de prévenir l'allo-immunisation. Chez les femmes enceintes, l'utilisation d'immunoglobulines anti-RH1 a permis de réduire considérablement l'incidence de l'allo-immunisation anti-D, et ainsi de réduire l'incidence des maladies hémolytiques du nouveau-né (MHNN) liées à l'anti-RH1(68).

3.7.2. Auto-anticorps

Les antigènes RH semblent être la cible d'auto-anticorps chaud de classe IgG, qui peuvent reconnaître une spécificité courante (anti-e, anti-c, anti-D...) ou un antigène de grande fréquence comme des anti-RH17 ou anti-RH18 (69).

3.7.3. Anticorps naturels

De rares anticorps, essentiellement anti-E et anti-C^w, ont été observés en dehors de toute stimulation, que ce soit grossesse ou transfusion incompatible. Ils sont donc considérés comme des anticorps naturels (70).

3.8. Les méthodes d'étude du système rhésus**3.8.1. Recherche des antigènes****3.8.1.1. Principe**

Le sérum forme des agglutinations avec les GR lorsque les Ag spécifiques sont présents à la surface de ces derniers. Ainsi la présence de l'Ag D est démontrée en analysant des hématies avec du sérum anti-D. Le même principe est à suivre pour la détermination des Ag C, c, E et e.

La technique est validée par deux contrôles : un contrôle positif avec des GR connus Rh-positif et un contrôle négatif avec des GR connus Rh-négatif (71).

3.8.1.2. Résultats et interprétation

L'apparition de l'agglutination indique la présence de l'Ag D à la surface des GR Rhésus positif.

L'absence d'agglutination indique l'absence de l'Ag D à la surface des GR Rhésus négatif. Avant de confirmer cette absence, une analyse complémentaire concernant la recherche de l'Ag D faible doit être faite (71).

3.8.2. La recherche de l'antigène D faible

Le test d'agglutination directe ne permet pas toujours de classer les GR en rhésus positif ou rhésus négatif. Il y a certains Ag D qui ne réagissent pas ou réagissent peu avec le sérum anti-D salin, d'autres réagissent tardivement avec l'anti-D albumineux. La recherche de l'Ag D faible est une analyse complémentaire pour tout sang rhésus négatif, en particulier chez les donneurs de sang, les femmes enceintes et les nouveaux nés (71).

3.8.2.1. Par le TIA (TCI)

Le TIA ou test de coombs indirecte (TCI) est une technique de détection sensible de l'Ag D faible. L'Ag D est recherché à la surface des GR par agglutination active indirecte avec un Ac spécifique anti D en milieu salin, les hématies sensibilisées par les Ac sont lavées puis en présence de l'AGH sont agglutinées (71).

3.8.2.2. Par fixation- élution

Elle consiste à mettre en évidence l'Ag D faible à la surface des hématies. La fixation de l'anticorps anti D sur son antigène D se fait par incubation à la température optimale d'activité d'un anti-sérum contenant l'anticorps anti D et d'hématies portant l'antigène D. Se faisant in vitro, cette fixation va permettre dans un deuxième temps de dissocier ou d'éluer l'anticorps anti D, prouvant que l'antigène D existe bien. La fixation de l'anticorps pouvant avoir lieu in vivo, si on se place dans Conditions de réversibilité par le changement de PH ou de température par exemple, on peut dissocier l'anticorps de son antigène, le récupérer pour étudier sa spécificité : c'est l'élution (71).

3.9. Recherche des anticorps

Les anticorps du système rhésus sont immuns irréguliers. La recherche de ces Ac se fait par une méthode visant à détecter et identifier les allo-anticorps anti-érythrocytaires, dans le sérum des patients tels que : les femmes enceintes, les polytransfusés et les personnes candidates à une transfusion. (71).

3.9.1. Les différentes techniques de recherches**3.9.1.1. La recherche des agglutinines irrégulières (RAI)****➤ Le TCI ou TIA**

Consiste en la mise en évidence de la sensibilisation des hématies in vitro par des Ig ou des fractions du complément, après incubation des hématies avec le sérum, un lavage des hématies est effectué pour éliminer les globulines non fixées. Le réactif anti globuline humaines ensuite ajouté. La réaction d'agglutination signifie que le sérum contient les Ac spécifiques des Ag des hématies utilisées (71).

➤ **TCD ou TDA**

Il est utilisé pour mettre en évidence la sensibilisation des hématies in vivo avec l'anti-D par des globulines de type IgG ou des fractions CR2 (C3d) du complément.

Les GR à tester sont lavés et mis en contact avec les réactifs antiglobulines humaines polyvalentes anti IgG (IgG anti anti D) et CR2 ou mono spécifique anti-IgG ou anti-CR2 seulement (71).

3.10. Les implications cliniques du système rhésus

Le système rhésus est considéré comme l'un des systèmes érythrocytaires les plus importants venant en deuxième position après le système ABO vue son immunogénicité et son très grand polymorphisme.

L'incompatibilité dans ce système conduit à une allo-immunisation anti-érythrocytaire qui peut être post-transfusionnelle ou fœto-maternelle, induisant des conséquences cliniques graves (72).

3.10.1. L'allo-immunisation anti-érythrocytaire

L'allo-immunisation anti-érythrocytaire est la conséquence de la présence d'antigènes érythrocytaires étrangers dans l'organisme donnant naissance à des allo-anticorps responsables de cette réponse immunitaire qui mène vers l'inefficacité transfusionnelle et les MHNN en cas de grossesse.

Cette réponse immunitaire est influencée par certains facteurs entre autres :

- Les facteurs génétiques du receveur : par la notion de sujet 'bon répondeur' et sujet 'mauvais répondeur'
- La dose antigénique : la relation entre la quantité d'antigène administrée et la réponse immunitaire est proportionnelle donc l'augmentation de la quantité induit l'augmentation de la réponse.
- La fréquence des transfusions : c'est le nombre d'exposition à l'antigène, plus ce dernier augmente, plus la réponse augmente aussi.

- L'immunogénicité de l'antigène : il s'agit du pouvoir antigénique, classé selon Giblett dans l'ordre suivant : RH1 (D) > KEL1 (Kell) > RH4 (c) > RH3 (E) > KEL2 (k) > RH5 (e) > FY1 (Fya) > RH2 (C) > JK1 (Jka) > MNS3 (S) > JK2 (Jkb) > MNS4 (s).
Tormey et Stack ont proposé un nouvel ordre : KEL1 (Kell) > RH8 (Cw) > LU1 (Lua) > JK1 (Jka) > RH3 (E) > LE1 (Lea) > P1 (P1) > RH4 (c) > MNS1 (M) > LE2 (Leb) > FY1 (Fya) > RH2 (C) > MNS3 (S).
- Le phénotype érythrocytaire du receveur : la présence de phénotype partiellement ou totalement silencieux peut conduire à une impasse thérapeutique.
- L'état pathologique du receveur : certaines maladies diminuent le risque d'allo-immunisation, c'est l'exemple des patients hypogammaglobulinémiques, tandis que d'autres maladies augmentent ce risque comme chez les patients atteints de maladies auto-immunes (ex : anémie hémolytique auto-immune).
- L'âge : une étude effectuée par Rosse *et al.* avait montré chez les enfants drépanocytaires âgés de moins de dix ans une fréquence d'immunisation inférieure à ceux de plus de dix ans (73).

3.10.1.1. Allo-immunisation post-transfusionnelle

L'allo-immunisation post transfusionnelle est révélée par la présence d'allo-anticorps chez le transfusé, dirigés contre les allo-antigènes érythrocytaires, leucocytaires, plaquettaires ou les protéines plasmatiques du donneur et qui n'étaient pas présents auparavant (74).

La fixation de l'antigène et de l'anticorps aboutit à des conséquences plus ou moins graves chez le receveur et qui peuvent être classées en : conséquences immédiates et conséquences retardées.

- **Conséquences immédiates** : traduites par l'hémolyse et peuvent aboutir jusqu'à l'échec transfusionnel.
 - Hémolyse intravasculaire (**voir figure 5**) : survient suite à l'activation du complément, elle donne plusieurs complications cliniques citant les perturbations vasomotrices, les troubles de la coagulation, l'insuffisance rénale transitoire ou définitive. L'association de ces troubles peut aboutir à la mort du patient.

- Hémolyse extravasculaire (**Voir figure 5**) : sans activation du complément (il peut s'agir d'une activation limitée), se déroule au niveau de la rate par phagocytose et lyse des hématies. Un ictère post transfusionnel apparaît le jour qui suit la transfusion comme il peut être retardé jusqu'au cinquième ou sixième jour.

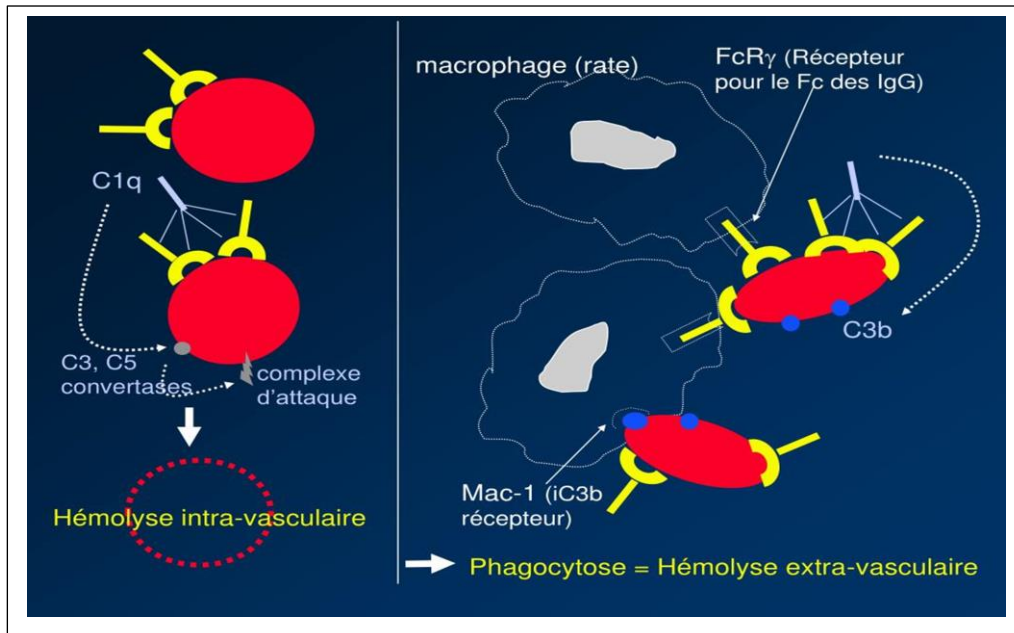


Figure 5 : Hémolyse intra et extra vasculaire (75).

- **Conséquences retardées** : apparaissent des années après une transfusion immunisante et mettent en danger l'avenir transfusionnel par hémolyse et peuvent affecter aussi l'avenir obstétrical chez la femme par danger de MHNN (76).

3.10.1.2 Allo-immunisation fœto-maternelle

L'allo-immunisation fœto-maternelle érythrocytaire survient suite à la formation d'allo-anticorps due à une stimulation du système immunitaire d'une femme rhésus négatif après un passage trans-placentaire d'hématies fœtales rhésus positif qui contiennent à leurs surfaces des allo-antigènes non reconnus par le système immunitaire de la femme, donc considérés comme corps étrangers. Le Passage des hématies fœtales à travers le placenta est également appelé hémorragie fœto-maternelle, La capacité de réagir et former des anticorps anti-RH1 est très variable selon les femmes (77-78).

Lorsqu'une femme s'avère Rh négatif, il faut faire un dépistage du phénotype D faible, génétiquement ces femmes sont Rh-positif et présentent un faible risque de produire des Ac anti-D et un très faible risque que leur fœtus soit affecté (79). Par contre, les femmes présentant le variant RHD partiel peuvent produire des allo-anticorps dirigés contre les épitopes manquants (80).

Selon une étude américaine faite en 2015, les femmes ayant un antigène D faible de type 1, 2 ou 3 ne présentaient aucun risque d'allo-immunisation et par conséquent, elles n'avaient pas besoin d'un traitement préventif par anti-D (80).

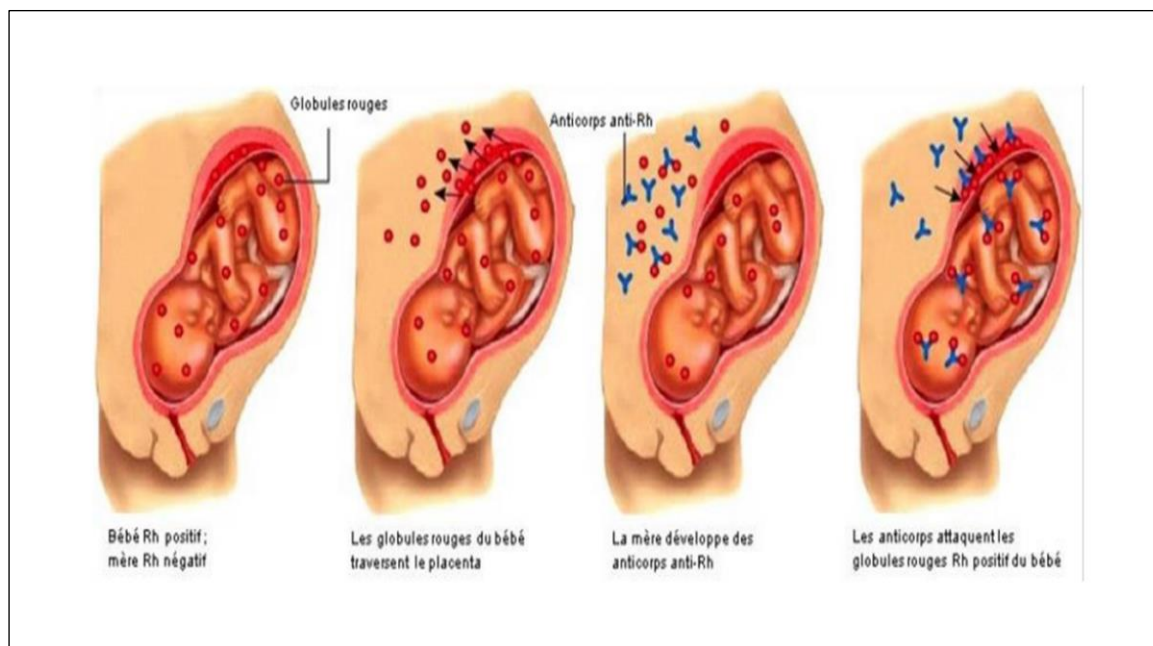


Figure 6: Allo-immunisation fœto-maternelle (81).

- **Les effets pathologiques de l'allo-immunisation fœto-maternelle**
 - **Chez la mère**

Après une allo-immunisation fœto-maternelle la mère est exposée à un risque transfusionnel en cas de nécessité de transfusion dans le futur, raison pour laquelle une RAI après un mois d'accouchement est recommandée afin de déceler la présence d'allo-anticorps de formation tardif et le mentionner sur la carte de groupe sanguin de la femme (82).

- Chez le nouveau-né

La réponse immunologique primaire lors de la première grossesse incompatible est faible et tardive car au cours de la première immunisation les anticorps produits sont des IgM qui ne franchissent pas la barrière placentaire et qui seront progressivement et lentement remplacés par des IgG, mais le risque est plus élevé lors de la deuxième grossesse par une réponse immédiate avec une production importante d'IgG qui franchissent le placenta et se fixent sur les GR fœtaux induisant leur lyse ce qui provoque une anémie qui peut être sévère et aboutit à une anasarque et donc risque de mort fœtale si absence de prise en charge.

La lyse des hématies aboutit aussi à une hyperbilirubinémie à cause de la dégradation de l'hémoglobine, mais qui a peu d'effet au cours de la vie intra-utérine car la bilirubine est excrétée par la mère pendant la grossesse, cependant après la naissance et lorsque les capacités d'excrétion du nouveau-né seront dépassées la bilirubine s'accumule d'où l'apparition d'ictère, qui peut se développer vers un ictère nucléaire donnant des séquelles neurologiques irréversibles (77).

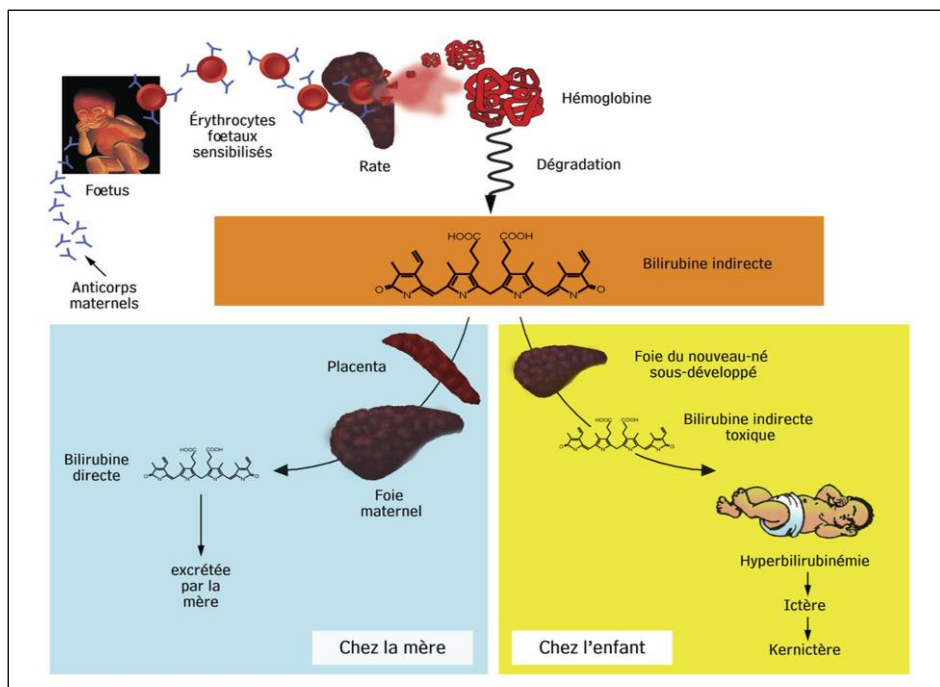


Figure 7: Métabolisme de la bilirubine et mécanisme de l'ictère (83).

4. Le système Kell

Le système Kell ou 006 selon l'ISBT, est l'un des systèmes les plus immunogènes après les systèmes ABO et rhésus, ce qui explique son importance lors de transfusion sanguine.

La glycoprotéine Kell (**Voir figure 8**) est codée par le gène porté sur le chromosome 7 et fait partie du complexe membranaire des globules rouges (3).

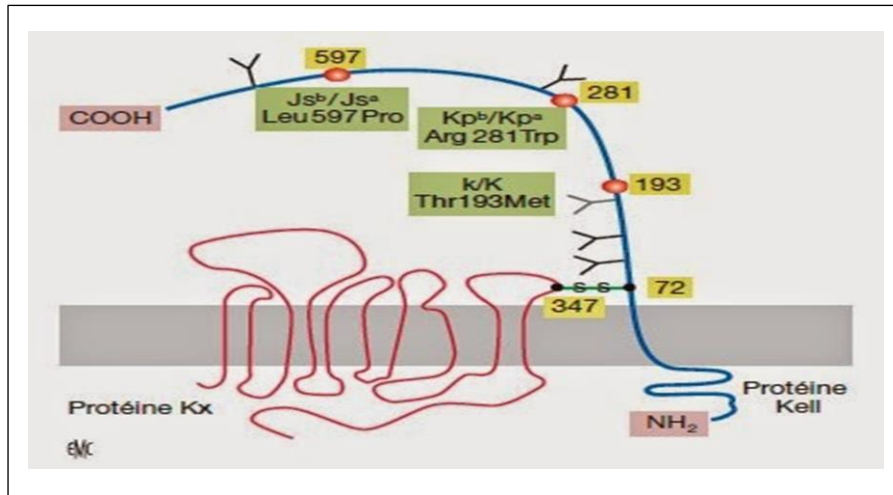


Figure 8 : Glycoprotéines Kell et Kx (3).

4.1. Les antigènes du système Kell

Ce système comporte cinq groupes d'antigènes antithétiques et d'antigènes associés, représentés principalement par les deux antigènes :

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

Dans chaque groupe il existe des antigènes de grande fréquence et d'autres de faible fréquence.

Le phénotype Ko est le résultat de l'absence totale de l'antigène Kell à la surface des globules rouges, et le phénotype K_{mod} résulte de la faible expression des antigènes Kell. Ces deux phénotypes résultent des mutations génétiques.

Les antigènes Kell apparaissent dès la 10^{ème} semaine de gestation et sont bien développés à la naissance (3).

Les antigènes Kp^a (KEL3), Kp^b (KEL4) et Kp^c (KEL21), produits de trois allèles codominants liés aux allèles K/k, définissent en Europe trois phénotypes : $Kp^{(a-b+)}$, $Kp^{(a+ b+)}$ et $Kp^{(a+ b-)}$. L'Ag Kp^a est présent chez 2 à 3 % de la population européenne et l'antigène Kp^b est un antigène public dans toutes les populations.

Les antigènes Js^a (KEL6) et Js^b (KEL7), produits de deux allèles codominants liés aux allèles K/k, définissent trois phénotypes : $Js^{(a-b+)}$, $Js^{(a+ b+)}$ et $Js^{(a+ b-)}$. L'Ag Js^a est pratiquement trouvé exclusivement dans des populations originaires d'Afrique subsaharienne où sa fréquence peut atteindre 16 à 20 %, alors que l'antigène Js^b est un antigène public dans toutes les populations.

Tableau 4: Fréquence des différents phénotypes Kell (3).

Phénotypes	Fréquences (%)	
	Européens	Africains
K-k+	91	98
K+k+	8.8	2
K+k-	0.2	Rare
Kp^(a+b-)	Rare	0
Kp^(a-b+)	97.7	100
Kp^(a+b+)	2.3	Rare
Kp^(a-b-c+)	0.32 Japonais	0
Js^(a+b-)	0	1
Js^(a-b+)	100	80
Js^(a+b+)	Rare	19

4.2. Les anticorps du système Kell

Les anticorps du système Kell sont des anticorps immuns, de nature IgG, avec prédominance de l'anticorps anti-k1. Ces anticorps proviennent d'une allo-immunisation due à une transfusion sanguine incompatible ou d'une incompatibilité fœto-maternelle, donc peuvent être responsables des MHNN.

L'anémie fœtale résultant des anticorps du système Kell est provoquée par une inhibition de l'érythropoïèse plus qu'à une destruction immune périphérique des hématies (3).

CHAPITRE II

**Transfusion sanguine
et règles immunologiques dans
la transfusion de produits sanguins
labiles**

1. Le don de sang total

1.1. Définition

Le don de sang total est un prélèvement de sang veineux de 400 à 500 ml prélevé aseptiquement dans un dispositif composé d'une poche de recueil et de plusieurs poches satellites pour garantir un système fermé stérile pour une séparation ultérieure des différents composants sanguins (84) (**Voir figure 9**).



Figure 9: Don de sang total (85).

1.2. Règles et conditions du don de sang

Le don de sang est un acte médical régi par la loi, soumis aux principes de bénévolat, volontariat, anonymat, engagement et absence de profil financier. Chaque année des milliers de dons de sang sont effectués qui permettent donc de répondre aux besoins de personnes souffrantes de maladie du sang, certains cancers et dans quelques situations d'urgences lors d'hémorragies, chirurgies, accouchements (86).

Chaque prélèvement est précédé obligatoirement d'un examen médical du donneur : l'état général, la mesure de l'HTA; et la masse corporelle qui doit être supérieur ou égal à 50 Kg (87).

Le prélèvement du sang total s'effectue sur des donneurs âgés entre 18 ans et 65 ans, une personne de 60 ans qui n'a jamais effectué un don de sang auparavant ne peut pas être prélevée.

Le volume maximal de prélèvement permis est de 8ml/kg, sans dépasser un volume de 500ml au total au long d'une durée maximale de 10 min.

La fréquence du don ne doit pas dépasser 5 fois par an pour le sexe masculin et 3 fois par an pour le sexe féminin. Cependant, entre 60 et 65 ans le nombre de dons annuels est limité à 3 pour les deux sexes. L'intervalle entre un don et un autre doit être au minimum 8 semaines (86).

1.3. Les contre indications du don de sang

Plusieurs contre indications ont été décrites qu'elles soient temporaires ou définitives (71) :

1.3.1. Les contre indications temporaires

- Grossesse, accouchement moins de 6 mois ou allaitement en cours.
- Age hors intervalle [18-65 ans].
- Affection aiguë.
- Brûlures non cicatrisées.
- Chirurgie récente entre 3 à 6 mois.
- État d'ébriété.
- HTA: Max > 18 mmHg, Min > 10 mmHg.
- Hypotension: Max <10 mmHg, Min < 6mmHg.
- Maladies auto-immunes (MAI)
- Altération de l'état général.
- Période entre deux dons successifs.

- Poids inférieur à 50 Kg.
- Soins dentaires moins d'un mois.
- Séjour où sévit le paludisme moins de 3 ans.
- Tatouages, manucure, pédicure.
- Traitement en cours.
- Vaccins vivants atténués moins de 3 mois.

1.3.2. Les contre indications définitives

- Affections chroniques.
- ATCD de crises d'épilepsie ou traitement en cours.
- ATCD d'IST, SIDA, Syphilis, Hépatite (sauf l'HVA).
- ATCD de cancers ou traitement en cours.
- ATCD de transfusion de PSL.
- Conjoint HVC, HVB, ou HIV positifs.
- Contrôle sérologique positif au cours d'un don de sang antérieur.
- Homosexualité.
- Toxicomanie.
- Vitiligo.

2- Les produits sanguins labiles

2.1. Définition

Les produits sanguins labiles sont les éléments sanguins obtenus après la séparation primaire du sang total. Les concentrés de globule rouge, les concentrés plaquettaires standards et le plasma frais congelé représentent les PSL, sans oublier d'ajouter à ces derniers les granulocytes ou GB qui nécessitent un prélèvement sélectif par aphérèse pour l'obtention de leurs formes thérapeutiques.

La qualification labile est liée essentiellement à la courte durée de conservation des principes thérapeutiques ex-vivo, cela est dû soit à la durée de vie limitée des cellules vivantes, soit à l'activité biologique de certaines protéines plasmatiques qui baisse après peu de temps à température ambiante (6).

2.2. Les différents types de PSL

2.2.1. Le concentré de globules rouges (CGR)

2.2.1.1. Définition et caractéristiques

Le CGR est obtenu à partir d'un don de sang total qui a été prélevé sur anticoagulant, après soustraction du plasma, on ajoute le SAG-Mannitol (mélange de chlorures de sodium, adénine, glucose et du mannitol) qui est une solution de conservation. Cette démarche permet la conservation du CGR entre +2°C et +8°C durant une durée de 42 jours comptant du jour du prélèvement. La poche du CGR adulte contient au minimum 225 ml avec une quantité de 40 mg d'hémoglobine et un pourcentage de 50% à 70% d'hématocrite. La quantité de leucocytes par poche ne doit jamais dépasser 10^6 (87).

2.2.1.2. Les types du CGR

- Concentré de globules rouges phénotypés

En plus des groupes ABO et RH D standard, cinq antigènes de groupes sanguins doivent être déterminés : les anti- gènes RH 2 (C), 3 (E), 4 (c), 5 (e), et KEL1 (Kell). Il est parfois nécessaire d'étendre le phénotype de ces CGR à d'autres anti- gènes, le plus souvent appartenant à d'autres systèmes comme le Duffy (FY), Kidd (JK) et MNS : on parle alors de phénotype « étendu » (6).

- Concentré de globules rouges compatibilisés

L'épreuve directe de compatibilité de CGR phénotypés RH- KELL est systématiquement réalisée (hors urgence vitale) en cas d'une RAI positive (des Ac antiérythrocytaires identifiés chez un patient). Le délai maximal de validité de l'épreuve directe de compatibilité est de 3 jours à partir de la date du prélèvement du receveur (6).

- Concentré de globules rouges CMV négatifs

La qualification « CMV négatif » s'applique aux CGR provenant de donneurs chez lesquels la recherche d'anticorps anti-CMV est négative au moment du don. La disponibilité des produits CMV négatifs est limitée du fait de la séroprévalence élevée (30 à 80 %) des anticorps anti-CMV dans la population des donneurs de sang (88).

2.2.1.3. Les principales indications

La transfusion la plus courante est bien celle du CGR, elle permet de prendre en charge en urgence les anémies aiguës et celles diagnostiquées comme chroniques ; leurs intensités sont jugées selon le taux d'Hb, mais cela seul ne permet pas de prescrire une transfusion, il faut d'abord voir l'adaptation et la tolérance clinique du patient. Elle est aussi indiquée dans la prise en charge de certaines onco-hémato-pathologies telles que les hémopathies malignes aiguës et chroniques de l'adulte. La transfusion du CGR trouve sa place aussi en néonatalogie et dans plusieurs chirurgies (87, 89).

2.2.2. Le concentré de plaquettes CP**2.2.2.1. Définition et caractéristiques**

Les CP sont obtenus soit à partir d'un don de sang total ou d'un don d'aphérèse.

Dans le cadre d'un don de sang total, la quantité de plaquettes issues de chaque don individuel est insuffisante pour être considérée comme une dose thérapeutique, le PSL est donc constitué d'un mélange de plaquettes issues de plusieurs dons. Dans le cadre d'un don d'aphérèse, le PSL est issu d'un seul don.

Toutes les catégories de CP ont des caractéristiques communes : leur conservation doit être réalisée en agitation continue à une température comprise entre 20 ° C et 24 ° C et chaque CP doit être délivré dans un délai maximal de 5 jours, après la fin du ou des dons ayant servi à le préparer (6).

2.2.2.2. Les types de concentré plaquettaire**- Le mélange de concentré de plaquettes MCPS**

Le mélange de concentrés de plaquettes standard est préparé à partir de plusieurs dons de sang total (quatre à six, en général). Au cours de la préparation de ce produit, le sang total est séparé par centrifugation à grande vitesse en trois phases : le CGR, le plasma et la couche leucoplaquettaire, à partir de cette dernière les plaquettes sont isolées, par centrifugation à

vitesse moins rapide que la première. Le volume et le contenu en plaquettes sont inscrits sur l'étiquette du produit (6).

- **Le concentré de plaquettes d'aphérèse CPA**

Le prélèvement d'aphérèse peut être réalisé par de nombreux modèles de séparateurs de cellules. Il est réalisé en une durée inférieure à 2 heures. Le volume et le contenu en plaquettes sont inscrits sur l'étiquette du produit (6). **(Voir figure 10).**



Figure 10 : Don de plaquettes par technique d'aphérèse (90).

2.2.2.3. Les principales indications

La transfusion de concentrés de plaquettes sont indiqués essentiellement pour corriger les thrombopénies sévères centrales dues à un déficit qualitatif et/ou quantitatif de la production de plaquettes. Elle est aussi prescrite chez les patients présentant un syndrome hémorragique lié à une thrombopathie avec ou sans thrombopénie pour palier au risque hémorragique.

Les CP sont proposés soit à titre curatif lors d'une hémorragie imminente non prévenue, ou bien prophylactique lors d'une chirurgie par exemple. L'obstétrique, l'oncohématologie et la néonatalogie ont aussi recourt à la transfusion du CP (87, 89, 91).

2.2.3. Le plasma thérapeutique

2.2.3.1. Définition et caractéristiques

L'obtention du plasma thérapeutique se fait soit sur don de sang total, soit par aphérèse dans le cadre de bonnes pratiques de prélèvement.

Après déleucocytation, il est congelé dans un intervalle de temps compatible au maintien de l'activité biologique des différents facteurs de coagulation thermolabiles. Les taux des facteurs V et VIII doivent être supérieurs à 70% du taux normal. Il est conservé pendant un an à une température inférieure ou égale à -25°C. Il est décongelé à 37 °C et utilisé rapidement avant les 6 H qui suivent la décongélation (87, 89).

2.2.3.2. Les types du plasma thérapeutiques

- **Plasma viro-inactivé par solvant détergent : PFC-SD**

Le PFC-SD ou plasma viro-atténué par solvant détergent est préparé d'un mélange de 100 plasmas prélevés par aphérèse de 100 donneurs de même groupe sanguin ABO. Ce mélange est traité ensuite par des solvants détergents (87, 89).

- **Plasma viro-inactivé par l'amotosalen**

C'est un plasma traité par le psoralène et amotosalen-HCL, il est congelé dans les 8 H qui suivent le prélèvement (89).

- **Plasma sécurisé par quarantaine PFC-SE**

C'est un plasma déleucocyté provenant d'un don de sang total ou par aphérèse, il est congelé dans les 24 H après prélèvement sans traitement physico-chimique, il est ensuite conservé au minimum 60 jours pour détecter une éventuelle séroconversion des virus à dépistage biologique systémique (87, 89).

- **Plasma cryodesséché (plasma lyophilisé) PLYO**

Le plasma lyophilisé PLYO est un plasma frais congelé provenant au maximum de 10 plasmas de donneurs différents, préalablement mélangé à l'amotosalen. Le PLYO est réservé essentiellement aux unités médico-chirurgicales militaires déployées en OPEX et les

établissements qui n'assurent pas la continuité de la chaîne de froid, ou dans les extrêmes urgences qui nécessitent un apport de plasma thérapeutique en attendant la disponibilité et la décongélation du PFC (89).

2.2.3.3. Les principales indications

Le plasma thérapeutique est utilisé essentiellement dans trois situations : dans les cas d'hémorragies graves avec des déficits en facteurs de coagulation, les coagulopathies graves et dans les cas de non disponibilité de fractions coagulantes spécifiques (87).

2.2.4. Le concentré unitaire de granulocytes CUG

2.2.4.1. Définition et caractéristiques

A partir d'un sang circulant d'un seul donneur le CGU est prélevé par cytophérèse et récupéré dans une poche. Il est conservé à 22°C pour une durée maximale de 12 H (87).

2.2.4.2. Les principales indications du CUG

La prescription de la transfusion du CUG est très rare, mais elle garde toujours une place incontournable dans la prise en charge des infections microbiennes graves, les neuropathies centrales sévères et durables, un défaut fonctionnel des polynucléaires neutrophiles en rapport avec une granulomatose septique (92).

3. Règles et sécurité transfusionnelles

3.1. Règles de compatibilité ABO

Le respect des règles de compatibilité transfusionnelle pour le système ABO est fondamental (**Voir tableau 5**) :

- Pour les concentrés globulaires, le receveur ne doit pas avoir d'anticorps qui reconnaissent les antigènes A ou B des globules transfusés et il ne doit pas y avoir d'anticorps immuns chez le donneur susceptibles de réagir avec les hématies du receveur, ce qui conduit à dépister systématiquement ces donneurs dits « dangereux » ;

- Pour les plasmas thérapeutiques, la règle est de ne pas injecter de plasma qui contiendrait des quantités ou des concentrations d'anticorps susceptibles de provoquer une hémolyse des hématies du receveur. Pour les volumes faibles de plasma, hormis le cas des donneurs dangereux, les anticorps du système ABO du donneur sont suffisamment dilués dans le sang du receveur pour ne pas être dangereux ;
- Pour les concentrés de plaquettes, les mêmes règles que celles de la transfusion de plasma s'appliquent ; cependant, les plaquettes expriment de faibles quantités d'antigènes ABO qui sont parfois en cause dans le mauvais rendement de certaines transfusions de plaquettes (93).

Tableau 5 : Règles de compatibilité ABO pour la transfusion de GR (93).

Groupe du receveur	Groupe du donneur	
	Transfusions isogroupes Antigéno-identiques	Transfusions Antigéno- compatibles
O	O	O
A	A	O*, A
B	B	O*, B
AB	AB	O*, A*, B*, AB

* Ces donneurs ne doivent pas avoir d'anticorps ABO immuns dans le sérum.

3.2. Règles de compatibilité Rhésus

Lors de la transfusion du CGR, les règles de compatibilité transfusionnelle du système Rh doivent être obligatoirement respectées, à cause de l'immunogénicité de l'Ag D dans 50% à 70% des cas (87), donc un sujet rhésus négatif ne doit jamais être transfusé par un sang rhésus positif, et en cas d'urgence, un CGR O- est transfusé chez un patient non groupé (94) (Voir figure 11).

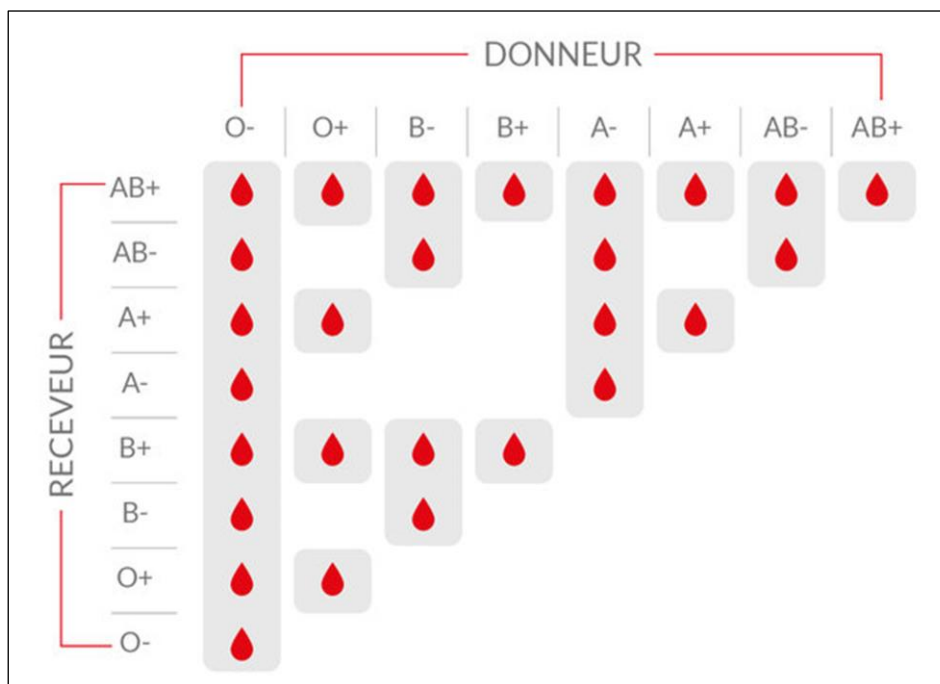


Figure 11 : Règles de compatibilité entre les donneurs et les receveurs (95).

La principale règle de transfusion est d'éviter l'allo-immunisation qui est induite par une transfusion incompatible, une greffe ou encore une grossesse (une allo-immunisation fœto-maternelle) :

- Une transfusion incompatible provoque la formation d'Ac anti RHD chez un receveur d'un sang Rh+, ou lors de la transfusion d'un CPS du a une faible contamination par des hématies (87).
- Grossesse incompatible : l'implication des Ac anti RHD dans la MHNN du a la nature IgG des anti RHD qui traversent le placenta (87).

3.3. Sécurité transfusionnelle

3.3.1. Définition

Ensemble de mesures visant à minimiser ou éliminer les risques immunologiques et infectieux liés à la transfusion de produits sanguins. Elle doit être la préoccupation constante

de tous les professionnels impliqués dans l'acte de transfusion, de la prescription jusqu'à l'injection du produit sanguin (96).

La transfusion est un acte médical délégué regroupant un prescripteur (médecin) et un transfuseur (infirmier, médecin). Lors d'une transfusion le prescripteur doit maîtriser les règles de sécurité.

L'acte transfusionnel est pratiqué par un médecin qui engage sa responsabilité individuelle même s'il délègue la réalisation de l'acte à un personnel paramédical qui en fonction du type de défaillance, d'erreur ou de faute susceptible de survenir sera alors considéré comme coresponsable. La sécurité transfusionnelle concerne alors la sécurité des produits et la sécurité des pratiques transfusionnelles (96).

3.3.2. Sécurité des pratiques transfusionnelles (dossier transfusionnel)

La sécurité transfusionnelle doit s'élaborer autour d'un DOSSIER TRANSFUSIONNEL. Il est la véritable pièce maîtresse de toute stratégie transfusionnelle (la prescription, la réalisation et le suivi). Il doit faire partie du dossier médical du patient, il comprend (97) :

- L'identification complète du receveur ;
- Le dossier transfusionnel avec les antécédents, l'historique transfusionnel, les conseils transfusionnels, le nom des prescripteurs et des transfuseurs ;
- La lettre d'information au transfusé signée par le médecin et remise au patient à sa sortie (double du document) ;
- Une Fiche éventuelle d'Incident Transfusionnel (FIT) signée par le correspondant d'hémovigilance de l'établissement de soins ;
- Le dossier immuno-hématologique ;
- Les contrôles biologiques (résultats des dépistages pré et post transfusionnels).

La mise en place de procédures et la formation spécifique du personnel soignant permet la mise en place d'une stratégie transfusionnelle optimale et adaptée à chaque situation.

3.3.3. Examens nécessaires pour la transfusion**3.3.3.1. Groupe sanguin**

Pour la transfusion de concentré érythrocytaire "standard " (ou phénotypé) il faut deux résultats concordants de groupe ABO Rh, dont un phénotypé, prélevés à des moments différents par des personnes différentes. Deux résultats de groupe sanguin permettent l'établissement d'une carte de groupe sanguin. Cette dernière doit comporter l'identité complète du patient, la date, le laboratoire, la nature de l'examen, les résultats (groupe sanguin, phénotype et agglutinine irrégulière) et la signature du médecin biologiste (96).

3.3.3.2. R.A.I

La recherche d'agglutinines irrégulières dépiste et identifie tout anticorps anti-érythrocytaire qui pourrait s'avérer dangereux.

Elle est obligatoire chez tous les patients dès qu'une transfusion sanguine est envisagée à court terme même s'il n'a jamais été transfusé.

En dehors d'une urgence il faut toujours attendre le résultat écrit de la dernière R.A.I avant de transfuser. La validité d'une R.A.I est de 3 jours. Un résultat positif de R.A.I impose la transfusion de sang compatible (96).

3.3.4. Prescription de la transfusion

Toute demande de PSL comporte la prescription médicale de produits sanguins labiles homologues, elle comprend (97) :

- La date de la prescription.
- L'identification lisible et la signature du prescripteur.
- L'identification de l'établissement et du service de soins ou du centre de santé de l'établissement de transfusion sanguine.
- L'identification du patient : nom, prénom, sexe, et date de naissance.
- Le type et la quantité de produits demandés.
- En cas de prescription de concentrés érythrocytaires, préciser le taux d'hémoglobine.

- En cas de prescription de plasma frais congelé, préciser l'indication qui motive la prescription.
- En cas de prescription de plaquettes, préciser le poids du receveur, la date et les résultats de sa dernière numération de plaquettes.
- La date et l'heure prévues de la transfusion.
- Le degré d'urgence s'il y a lieu.
- Le groupage sanguin valide du receveur et RAI.

3.3.5. Les types de contrôle : « le bon produit pour le bon patient »

- **Contrôle de conformité des PSL à la réception (97)**
 - Identification du destinataire des PSL ;
 - Vérification de la conformité des PSL avec la prescription ;
 - Vérification des conditions de transport, intégrité des PSL.

- **Préparation de l'acte transfusionnel (97)**
 - Vérification de l'information du patient, sérologies pré-transfusionnelles ;
 - Vérification du dossier transfusionnel : carte de groupe, RAI.

- **Le contrôle ultime pré-transfusionnel au lit du malade**

Dernière étape obligatoire contre les accidents de transfusion sanguine, réalisée en règle générale par une infirmière, elle comporte la vérification de (96) :

- L'identité du receveur ;
- La concordance des identités ;
- L'aspect du PSL ainsi que sa date de péremption ;
- De la compatibilité du groupe ABO du patient et du CGR par la méthode de Beth-Vincent et l'épreuve de Simonin-Michon (**Voir figure 12**).

Les PSL distribués doivent être utilisés dans les 6 heures suivant leur distribution. La transfusion proprement dite ne doit pas excéder 3 heures par CGR, et doit faire l'objet d'une surveillance rapprochée (96).

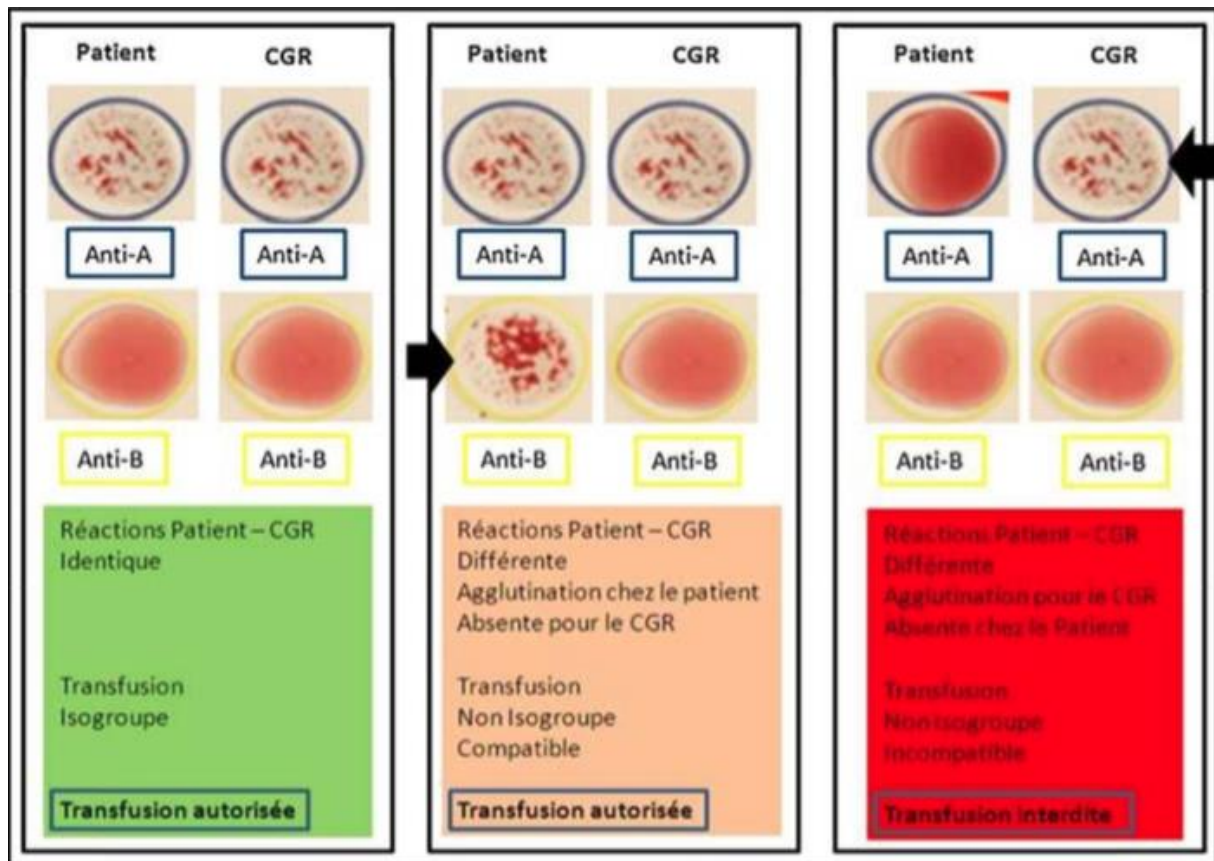


Figure 12 : Carte de contrôle ultime au lit du patient (93).

Dans la figure ci-dessus :

- Panneau de gauche : les hématies du donneur et du receveur donnent des réactions identiques la transfusion est donc autorisée.
- Panneau du milieu : le receveur possède un antigène que le donneur ne possède pas, ceci n'interdit pas la transfusion qui est donc autorisée, là on transfuse un sujet AB, groupe relativement rare, avec un CGR A fréquent.
- Panneau de droite : il y a chez le donneur un antigène absent chez le receveur : la transfusion est strictement interdite (en effet l'anti-A d'un receveur O provoquerait une hémolyse immédiate des hématies A du donneur) (93).

3.3.6. La surveillance de la transfusion

Elle fait l'objet de protocoles spécifiques (96) :

- La surveillance est particulièrement attentive et continue au moins dans les quinze premières minutes puis régulière par la suite, elle porte sur la surveillance du pouls, tension artérielle, température et fréquence respiratoire ;
- La conduite à tenir face à un événement ou effet indésirable (fièvre, frissons, angoisse ou malaise, réaction cutanée, douleur lombaire, polypnée...) ;
- La traçabilité du produit sanguin labile est réalisée dès le début de l'administration et transcrite sur le document approprié. Toute interruption ou non-transfusion est également consignée.

La durée de conservation du matériel utilisé (98), la poche avec le dispositif de perfusion clampé ainsi que le support de contrôle de compatibilité, est de minimum 2 heures après transfusion, selon des procédures spécifiques à chaque établissement de santé ou centre de santé d'un établissement de transfusion sanguine.

Partie pratique

I. Matériels et méthodes

I. Matériels et méthodes**1. Type d'étude**

Il s'agit d'une étude transversale descriptive exhaustive concernant la recherche de l'antigène rhésus standard D faible dans la population de donneurs de sang rhésus négatif au centre de transfusion sanguine (C.W.T.S) de la région de Tizi-Ouzou.

2. Lieu de l'étude

Notre étude a été menée au niveau du centre de transfusion sanguine de la région de Tizi-Ouzou.

3. Durée d'étude

Notre étude a été réalisée sur une période de 07 mois allant du 1^{er} Février 2021 au 31 Août 2021.

4. Population d'étude**4.1. Taille de l'échantillon**

Cette étude a concerné tous les donneurs de sang total Rhésus négatif au niveau du CWTS de la région de Tizi-Ouzou, tout groupe sanguin confondu et quel que soit le type de donneurs.

Nous avons recruté 1846 donneurs de sang de différentes régions, ayant effectué leur don au niveau du CWTS de Tizi-Ouzou.

4.2. Critères d'inclusion d'un donneur de sang total

- Remplir les critères du don de sang total ;
- Être donneur de sang total âgé de 18 à 65 ans, que le donneur soit de type régulier, occasionnel ou familiale ;

- De sexe masculin et féminin ;
- Être un donneur de sang Rhésus négatif quel que soit le groupe sanguin.

4.3. Critères d'exclusion d'un donneur de sang total

- Présenter une contre-indication au don du sang total ;
- Être un donneur de sang Rhésus positif.

5. Matériels

5.1. Equipements

- Centrifugeuse ;
- Incubateur à 37°C ;
- Agitateur de microplaques.

5.2. Réactifs et consommables

5.2.1. Consommables

- Tubes à essai ;
- Bouchons pour tubes ;
- Pipettes réglables pour des volumes allant de 5 à 50 µl, 10 à 100 µl et 100 à 1000 µl ;
- Embouts jaunes et bleus ;
- Pissette ;
- Plaque d'opaline ;
- Microplaques ;
- Portoirs à tubes ;
- Gants et compresses.

5.2.2. Réactifs

- Sérums tests : deux lots de réactifs anti-A, anti-B et anti-AB ;
- Réactifs anti-A₁ et anti-H ;
- Hématies test A₁, A₂, B et O ;

- Sérum test Anti-RH ;
- Contrôle RH : 1 ;
- Sérum test Anti-CDE ;
- Sérum test Anti-D type IgG (Annexe I) ;
- Sérum Anti-globulines humaines (AgH) polyvalente (Annexe II).

6. Méthode

6.1. Etape pré-analytique

6.1.1. Etapes du don de sang total

La collecte de sang total se fait soit dans des sites fixes (CTS) ou en organisant des collectes mobiles. Quel que soit le lieu de collecte, une unité de collecte de sang doit obéir aux règles suivantes définies dans le guide de bonnes pratiques transfusionnelles publiées par l'agence nationale du sang total :

- Accueillir et informer le donneur ;
- Assurer le lien du donneur avec la fiche de renseignement ;
- Procéder à une bonne sélection médicale.

6.1.1.1. Accueil du donneur

Au niveau du CTS un(e) secrétaire est chargé d'accueillir le donneur, ce dernier s'inscrit pour le don en fournissant ses informations personnelles (identité complète).

6.1.1.2. Sélection médicale du donneur

Réalisée par le médecin de don, son objectif est de déterminer l'aptitude et de rechercher les contre-indications au don de sang, ainsi préserver la santé du donneur de sang et de ne pas porter préjudice au receveur.

Après un interrogatoire approfondi, le donneur subit un examen clinique avec : prise de tension artérielle, la taille, le poids, appréciation de la coloration cutanéomuqueuse, rythme et fréquence cardiaque... etc. Les sujets présentant des symptômes tel qu'un syndrome

fébrile récent, troubles digestifs, respiratoires, cardiaques, ou présentant un risque infectieux sont exclus.

Le médecin de don remplit au cours de l'examen une fiche de sélection (**Annexe III**). Si le donneur est jugé apte au don ; une fiche de don (**Annexe IV**) lui sera remise et il sera orienté vers la salle de prélèvement.

Le médecin termine son examen par donner des informations post-don, qui consiste à informer le donneur sur la nécessité d'appeler le médecin du don en cas d'apparition de symptômes ou de remise en cause des informations remises à l'interrogatoire.

6.1.1.3. Prélèvement proprement dit

Il se fait dans une salle de prélèvement par un personnel qualifié (un(e) infirmier(e) diplômé(e) d'état). Le procédé de prélèvement dure 45 à 60 minutes, le prélèvement lui-même dure environs 10 minutes.

Plusieurs points sont à maîtriser lors de l'acte de prélèvement :

- L'identification des tubes échantillons et des poches qui contiendront les différents produits sanguins, par un seul numéro garant de la traçabilité des produits sanguins issus du don ;
- Utilisation d'un matériel stérile à usage unique.

Le prélèvement doit répondre aux indications définies dans le guide de bonnes pratiques transfusionnelles :

- **Prélèvement et surveillance**

Pour garantir la qualité du don et la sécurité du donneur il faut : surveiller l'agitation, la durée du prélèvement et le volume prélevé.

Les échantillons de contrôle biologique du don doivent provenir d'une tubulure reliée à la veine et de volume suffisant. Deux tubes sont recueillis : un tube EDTA pour les examens immuno-hématologiques et un tube héparine pour les qualifications de la sérologie infectieuse.

- Surveillance post-don

Agrémentée d'une collation, son but est de réhydrater le donneur et permet de le surveiller par le personnel durant les 15 premières minutes suivant le don du sang, afin de garantir sa sécurité et s'assurer de la bonne tolérance du prélèvement, ainsi en cas de malaise, le donneur sera pris en charge très rapidement.

6.2. Etape analytique**6.2.1. Groupage ABO****6.2.1.1. Principe**

La détermination du groupe sanguin ABO est basée sur la présence ou absence des antigènes A et/ou B à la surface des GR ainsi que la présence « régulière » d'agglutinines « naturelles » anti A et/ou anti B correspondant aux antigènes absents des GR. De ce fait, l'identification du groupage ABO comporte deux étapes complémentaires obligatoires : la méthode de Beth-Vincent et la méthode de Simonin.

- Epreuve de Beth-Vincent ou épreuve globulaire, qui consiste en la recherche des antigènes A et/ou B sur les hématies à tester grâce à des sérums tests portants les Ac correspondants ;
- Epreuve de Simonin ou épreuve plasmatique, qui consiste en la recherche des anticorps plasmatiques anti-A et/ou anti-B dans le plasma à tester grâce à des hématies tests portants les Ag correspondants.

Ces épreuves doivent être concordantes et validées par différents types de témoins :

- Témoin allo : hématies test O + sérum du patient ;
- Témoin AB : hématies du patient + sérum AB ;
- Témoin auto : hématies du patient + sérum du patient.

L'épreuve sérique est validée par le témoin allo, l'épreuve globulaire est validée par le témoin AB, les auto-anticorps sont mis en évidence par le témoin auto.

6.2.1.2. Mode opératoire

Durant notre étude nous avons réalisé le groupage ABO des donneurs de sang sur microplaque.

- **Technique sur microplaque**

- ✓ **Epreuve plasmatique de Simonin**

A l'aide d'une micropipette de 10 µl, déposer :

- 1 volume de suspension d'hématies tests B, dans la 1^{ère} cupule.
- 1 volume de suspension d'hématies tests A1, dans la 2^{ème} cupule.
- 1 volume de suspension d'hématies tests A2, dans la 3^{ème} cupule.
- Puis ajouter 1 volume de plasma dans chaque cupule.

- ✓ **Epreuve globulaire de Beth Vinet**

A l'aide d'une micropipette de 10 µl déposer :

- 1 volume de sérum test anti-A dans la 5^{ème} cupule.
- 1 volume de sérum test anti-B dans la 6^{ème} cupule.
- 1 volume de sérum test anti-AB dans la 7^{ème} cupule.

Puis ajouter dans chaque cupule 1 volume de suspension d'hématies à tester (préparée dans la dernière cupule).

Les hématies-tests A et B ayant servi pour le groupage sanguin ABO ont été préparées localement à partir d'échantillons de donneurs de sang de groupes sanguins ABO connus prélevés sur tube EDTA. Après centrifugation et lavage, les hématies ont été mises en suspension à 5% dans du sérum physiologique et conservées entre 2°C et 6°C pendant 03 jours au maximum.

- ✓ **Les témoins**

- Témoin Allo : dans la 4^{ème} cupule, mélanger 1 volume de suspension d'hématies tests O et 1 volume de plasma ;
- Témoin AB : dans la 8^{ème} cupule, mélanger 1 volume de suspension d'hématies à tester avec du sérum AB ;

- Témoin Auto : dans l'avant dernière cupule, mélanger 1 volume de la suspension d'hématies à tester avec 1 volume de plasma ;

Agiter légèrement la microplaque pour mélanger le tout, puis laisser reposer 5 minutes. La lecture se fait après agitations de la microplaque.

6.2.1.3. Lectures des résultats

- La réaction est positive en présence d'agglutination visualisée par des agglutinats qui ne se dissolvent pas après agitation manuelle ;
- La réaction négative se traduit par des hématies qui sédimentent au fond de la cupule de la microplaque et qui redeviennent en suspension après agitation manuelle.

6.2.1.4. Interprétation des résultats

Le groupage ABO obéit à la règle 3X2 qui repose sur : deux réalisations exécutées par deux techniciens différents avec deux lots de réactifs différents.

Tableau 6 : Résultats des épreuves sérique et globulaire dans le groupage ABO.

Résultats	Epreuve sérique			Epreuve globulaire		
	Sérum à tester			GR à tester 5% saline		
	Hématies A ₁	Hématies A ₂	Hématies B	Sérum anti-A	Sérum anti-B	Sérum anti-AB
Groupe A	-	-	+	+	-	+
Groupe B	+	+	-	-	+	+
Groupe AB	-	-	-	+	+	+
Groupe O	+	+	+	-	-	-

Réaction positive : +

Réaction négative : -

6.2.2. Groupage Rhésus

6.2.2.1. Principe

La détermination du phénotype RhD standard accompagne toujours celle du groupe sanguin ABO. C'est le résultat de ces deux examens biologiques qui figurent sur la carte de groupe sanguin.

Il consiste en la recherche de l'Ag D par technique d'agglutination directe entre l'antigène D porté sur les hématies à tester et le sérum test anti-D. Un témoin appelé Rhésus contrôle est utilisé pour valider les résultats. La détermination du phénotype RH standard est uniquement globulaire.

6.2.2.2. Mode opératoire

- **Technique sur microplaque**

- Déposer 10 µl du réactif anti-D dans la 9^{ème} cupule de la microplaque du groupage ABO et 10 µl de contrôle D dans la 10^{ème} cupule.
- Ajouter dans chaque cupule, 10µl de suspension à 5% d'hématies à tester.
- Agiter doucement.
- Laisser la plaque 15 min dans l'incubateur puis inclinée sur la paillasse pendant 5 min.
- Tapoter la microplaque pour décoller le culot.

6.2.2.3. Interprétation des résultats

- Résultats des deux techniques concordantes indique : groupage Rhésus correct.
- La présence d'agglutination indique une réaction positive et signifie que le sujet est porteur de l'antigène D, il est dit sujet RH1 positif.
- L'absence d'agglutination traduit une réaction négative qui doit être complétée obligatoirement par la recherche de **l'antigène D faible** chez les donneurs de sang, seule l'absence du D faible, permet d'étiqueter ces donneurs de RH1 négatif.

6.2.3. Recherche des Ag C et/ou E

6.2.3.1. Principe

C'est une recherche systématique, pour tout résultat Rhésus D négatif, en mettant en réaction l'échantillon au sérum test Anti-CDE et ce pour vérifier la présence ou l'absence des Ag C et E. Les sujets D négatif peuvent porter l'Ag C et/ou l'Ag E, ces Ag sont peu immunogènes et n'induisent que rarement des Ac lors de la transfusion à des sujets D négatif. Cependant la transfusion à un sujet D négatif ayant dans son sérum un Ac anti-C, anti-E par un sang D négatif porteur des Ag C ou E, entraîne une incompatibilité transfusionnelle.

Les poches RH négatives doivent être de phénotype : *dd cc ee*.

6.2.3.2. Technique

Sur plaque d'opaline

- Préparer une suspension de 10% à partir des hématies du sujet ;
- Déposer une goutte sur la plaque d'opaline ;
- Ajouter 2 gouttes de sérums test Anti-CDE ;
- Mélanger circulairement avec le fond d'un tube propre et sec ;
- Chalouper la plaque d'opaline d'un mouvement circulaire ;
- Observer l'apparition d'agglutination pendant une période maximale de 2 minutes.

6.2.3.3. Lecture des résultats

- La présence d'agglutination nette sur fond blanc indique une réaction positive ;
- L'absence d'agglutination indique une réaction négative.

6.2.3.4. Interprétation des résultats

- La présence ou l'absence d'agglutination permet de déterminer la présence ou l'absence des Ag C et/ou E ;
- Dans le cas de la présence de l'Ag C et /ou E, la poche de sang est étiquetée Rhésus positif.

6.2.4. Recherche de l'antigène D faible

6.2.4.1. Principe

La recherche du phénotype D faible (D^u) est effectuée sur tout échantillon testé RhD négatif, par le test Indirect à l'Anti globuline en utilisant l'Anti globuline humaine (AGH) poly spécifique et l'Anti D de type IgG monoclonale.

6.2.4.2. Mode opératoire

- **Sur tube**
 - Centrifuger le tube EDTA 3 min à 4000tr /mn puis prendre un volume 200 μ l du culot globulaire dans un tube sec ;
 - Faire 03 lavages pour le culot globulaire (bien mélanger par retournement lors de l'ajout de l'eau physiologique et centrifuger 3 min à 4000tr /mn).



Figure 13 : Les premiers lavages des hématies avec l'eau physiologique.

- Préparer une suspension d'hématies à 5% en eau physiologique.



Figure 14 : La suspension d'hématies à 5 %.

- Prélever 50 μ l de la dilution d'hématies, et mélanger avec 50 μ l du réactif anti-D (type IgG) ;
- Procéder de la même manière pour le témoin positif (Rh+) ;
- Agiter doucement puis incuber à 37°C pendant 45 minutes (durée dépendante du réactif) ;
- Laver les hématies 3 fois en eau physiologique et jeter l'eau du dernier lavage ;
- Ajouter au culot d'hématies, 1 ou 2 volumes d'anti-globulines humaines (AgH) polyvalente ;
- Homogénéiser puis centrifuger 1 min à 1000 tours/min.

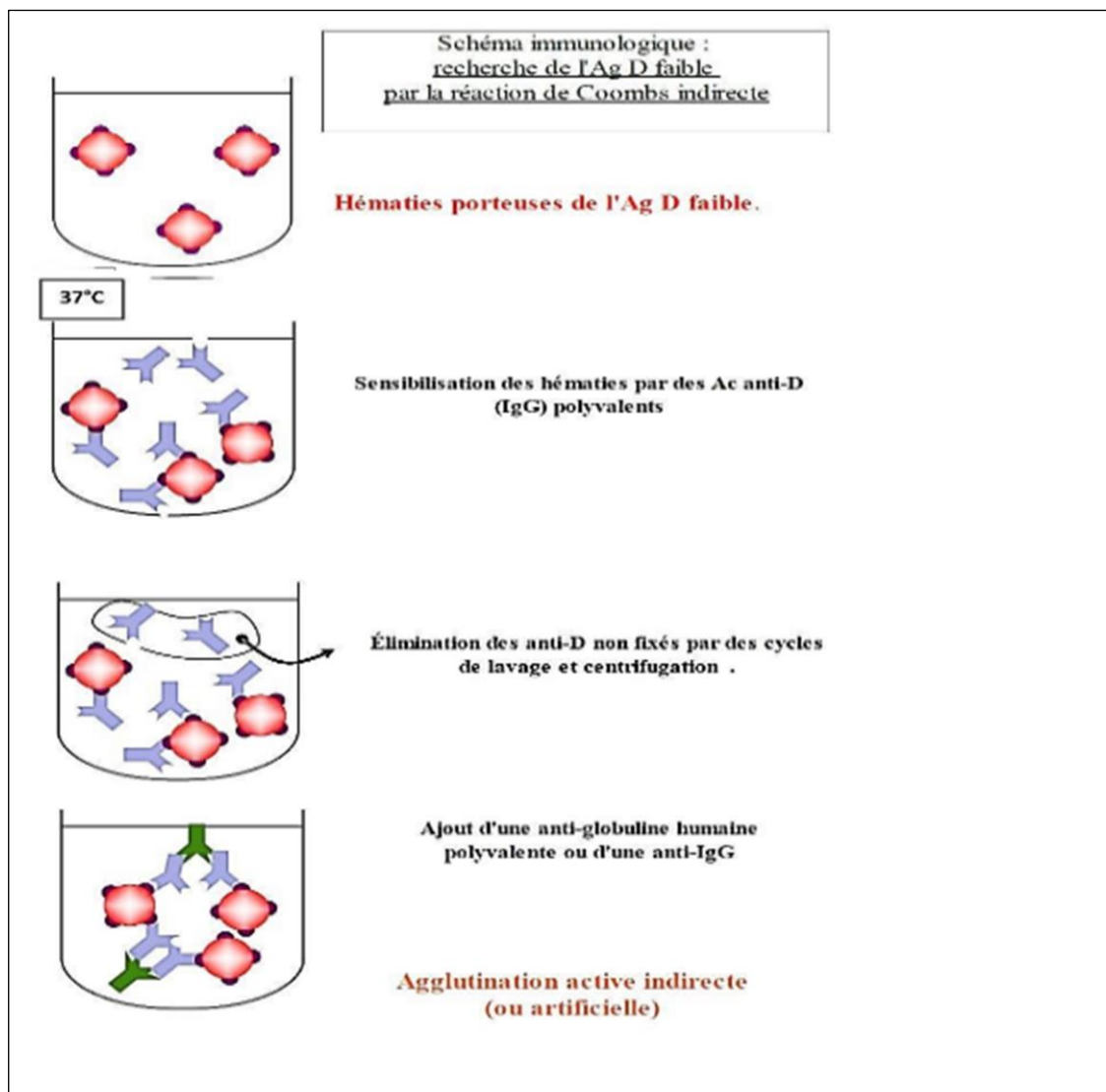


Figure 15 : Schéma illustrant le test de Coombs indirect à la recherche de l'Ag D Faible (99).

6.2.4.3. Interprétation des résultats

Effectuer la lecture en remettant doucement en suspension le culot d'hématie.

Présence d'agglutination → Positif

Absence d'agglutination → Négatif



Figure 16 : De droite à gauche un témoin positif et trois échantillons positifs.

6.2.4.4. Validation

➤ Si D^u négatif

- Ajouter 50 µl d'hématies O⁺ sensibilisées avec le réactif anti-D (le témoin Rh+)
- Centrifuger 1 minute à 1000 tours /minute :

* Si positif → Valider le D^u

* Si négatif → Lavages insuffisants → refaire le D^u

➤ Si D^u positif

Faire un test direct à l'antiglobuline (TDA) :

- Prendre 50 µl de la suspension d'hématies Rh négative à 5% + 100 µl d'AgH (2 gouttes)
- Centrifuger 1 minute à 1000 tours /minute :

* Si négatif → Valider le D^u

* Si positif → Refaire le D^u par technique de fixation élution.

Remarque

Les donneurs testés D faible positif doivent être impérativement considéré comme des sujets rhésus positif lors du don de sang en raison de l'immunogénicité de l'Ag D. Ceci explique le fait que certaines personnes peuvent être déterminées comme RH1 Positif (D) en tant que donneur de sang et RH1 Négatif (dd) en tant que malade susceptible d'être transfusé.

7. Etude statistique**7.1. Saisie des données**

Les données ont été recueillie à partir de :

- Fiche de renseignements du donneur de sang (Annexe III) remplie lors du don : âge, sexe, type de don, région...etc ;
- Registre d'immunohématologie : résultats des groupes sanguins ABO RHD et CDE.

7.2. Analyse statistique des données

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel SPSS-IBM version 26 et Excel 2016. Les moyennes, les écarts types (ET) et les proportions ont été utilisées pour la description des variables numériques et catégorielles respectivement. Les tests t de Student et de Chi² de Pearson ont été utilisés pour les comparaisons statistiques. Une valeur $p < 0,05$ représentait une différence statistiquement significative.

8. Considérations éthiques

L'étude a été autorisée par le responsable du CTSW de Tizi-Ouzou. Elle s'est faite dans le respect strict des règles éthiques du don de sang. Leur anonymat ainsi que la confidentialité des données ont été respectés.

II. Résultats

II. Résultats

1. Résultats globaux

1.1. Répartition des donneurs de sang selon les caractéristiques épidémiologiques

1.1.1. Selon le genre

Nous avons inclus dans notre étude 1846 donneurs dont 1685 (91.3%) sont de genre masculin et 161 (8.7%) sont de genre féminin avec un sexe ratio de 10.

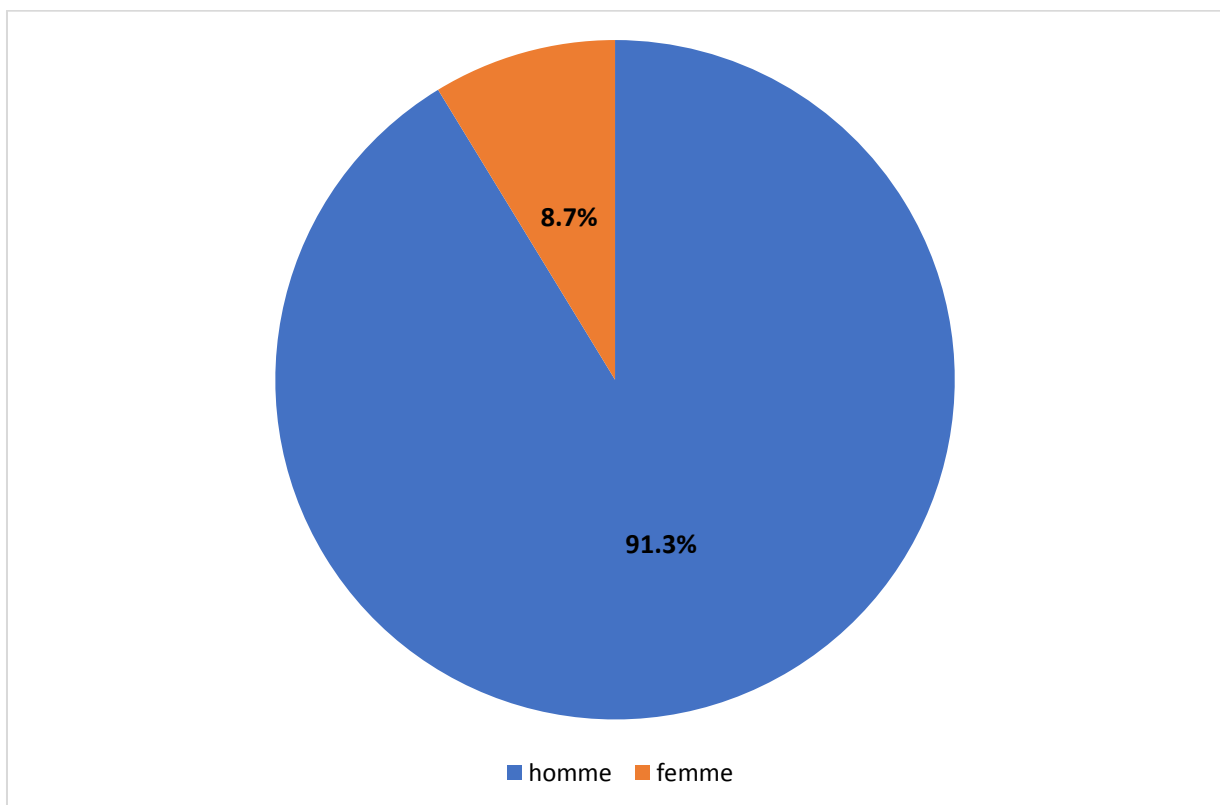


Figure 17 : Répartition de la population d'étude selon le genre.

1.1.2. Selon les tranches d'âge

L'âge moyen des donneurs est de 34.22 ans \pm 9.66 avec un âge minimum de 18 ans et maximum de 64 ans.

La majorité des donneurs appartiennent aux tranches d'âge [26-35] et [36-45] avec des fréquences respectives de 36.3 % et 28.9 %.

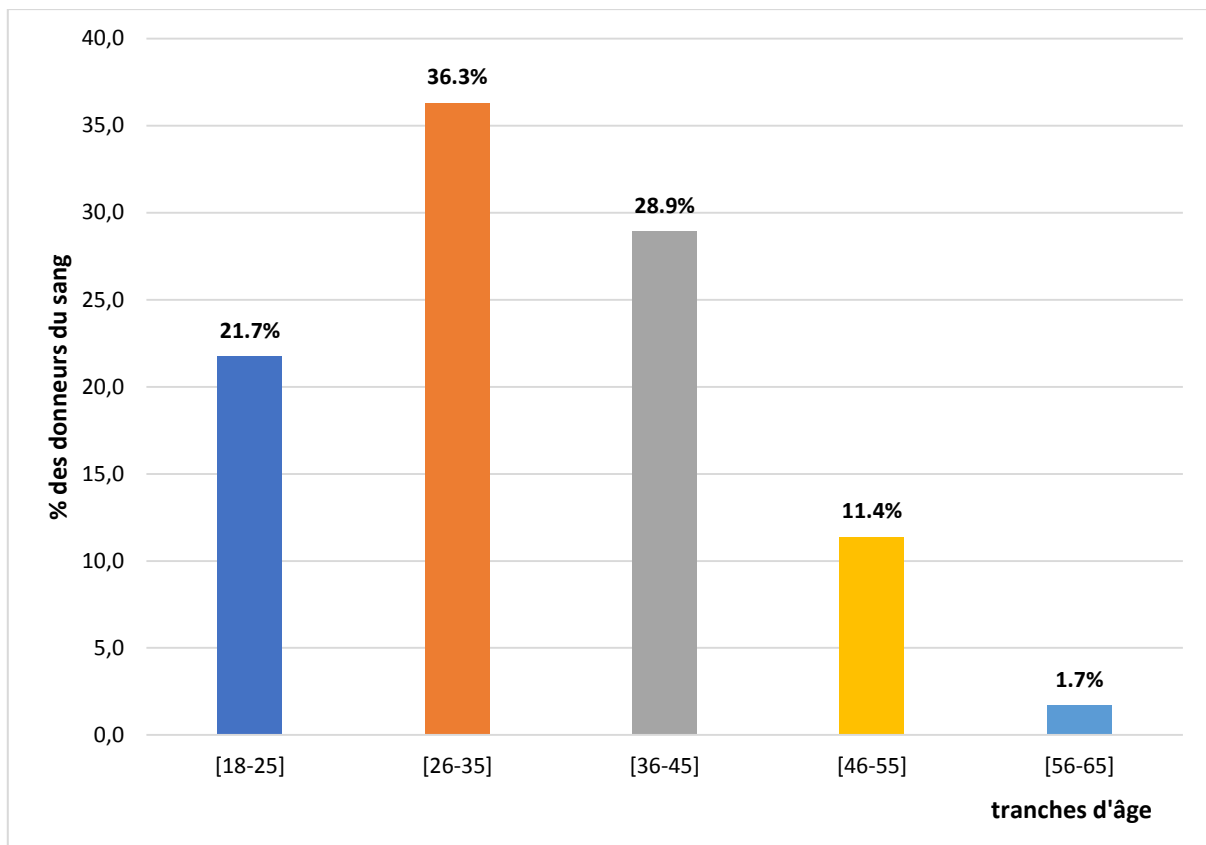


Figure 18 : Répartition de la population d'étude selon l'âge.

1.1.3. Répartition de la population d'étude selon la région

Dans notre étude plus de trois quarts des donneurs de sang sont de la wilaya de Tizi-Ouzou avec une fréquence de 75.4%, suivi des donneurs de Boumerdes et Bouira avec des fréquences respectives de 13.5% et 5.7%.

Tableau 7 : Répartition de la population d'étude selon la région.

Région	Effectif	Fréquence
Tizi-Ouzou	1392	75,4 %
Boumerdès	250	13,5 %
Bouira	106	5,7 %
Alger	24	1,3 %
Bejaïa	15	0,8 %
Autres wilayas	59	3,2 %

1.2. Répartition des donneurs de sang selon les groupes sanguins

1.2.1. Selon le groupe sanguin ABO

Les groupes sanguins O et A sont les plus fréquents avec des fréquences respectives de 45,3 % et 34,7% tandis que le groupe B et AB représentent respectivement 15,2% et 4,8% de notre population d'étude.

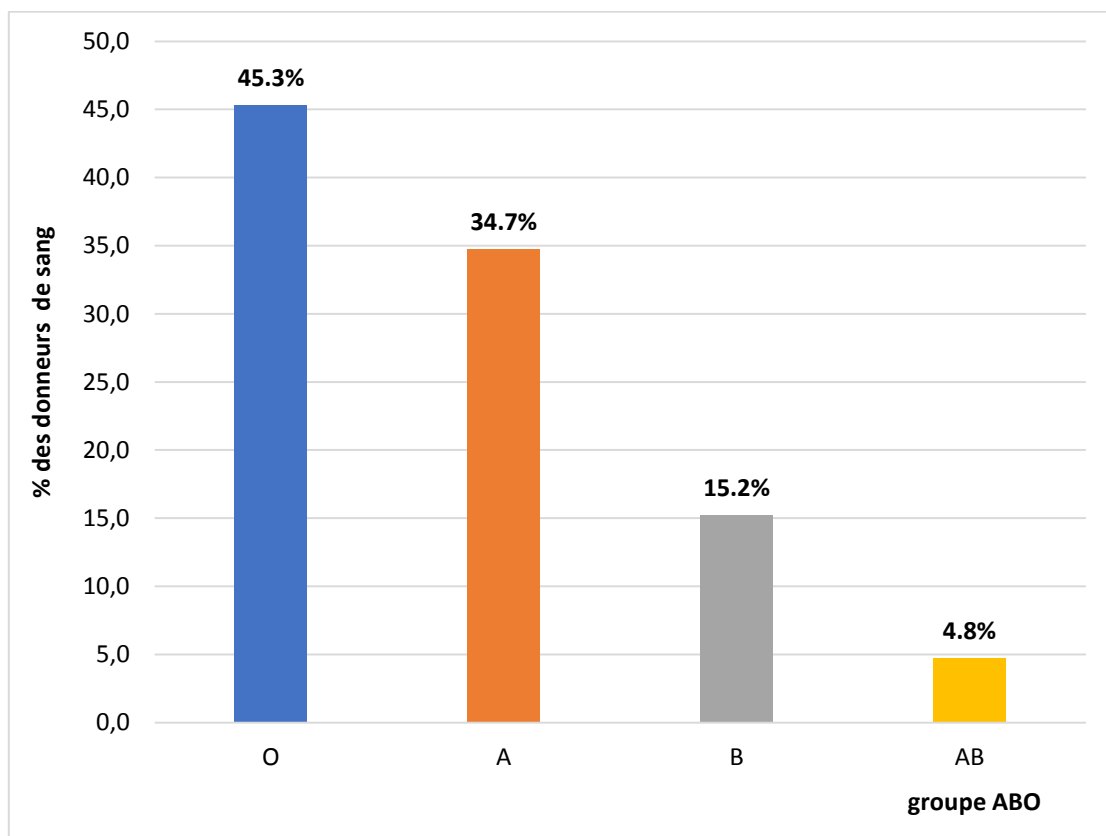


Figure 19 : Répartition de la population selon le groupe sanguin.

1.2.2. Selon le phénotype CDE

La majorité des donneurs sont de phénotype CDE négatif et représentent 96.1% de notre population d'étude, contre une minorité de 3.9% de phénotype CDE positif.

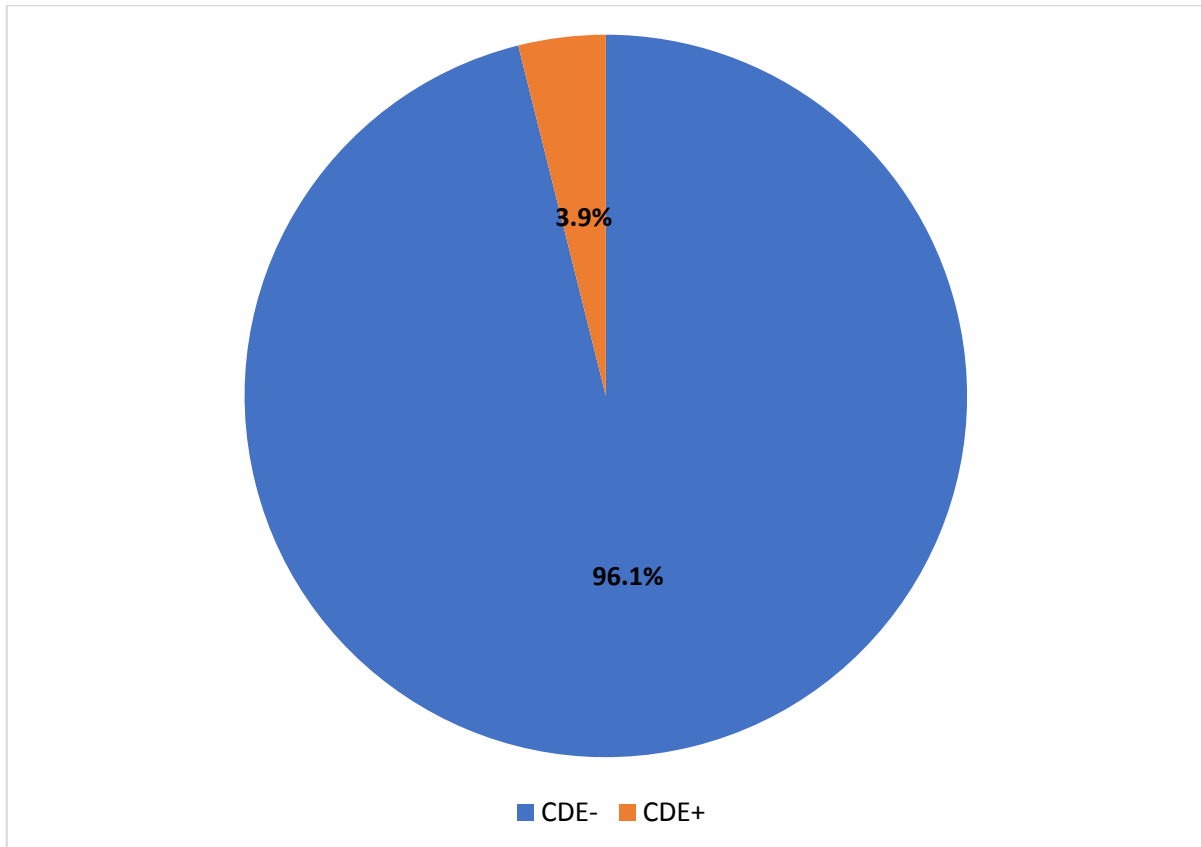


Figure 20 : Répartition de la population d'étude selon les phénotypes CDE.

1.2.3. Selon le phénotype Kell

On note que 87 % des donneurs sont de phénotype Kell négatif, et 13 % Kell positif.

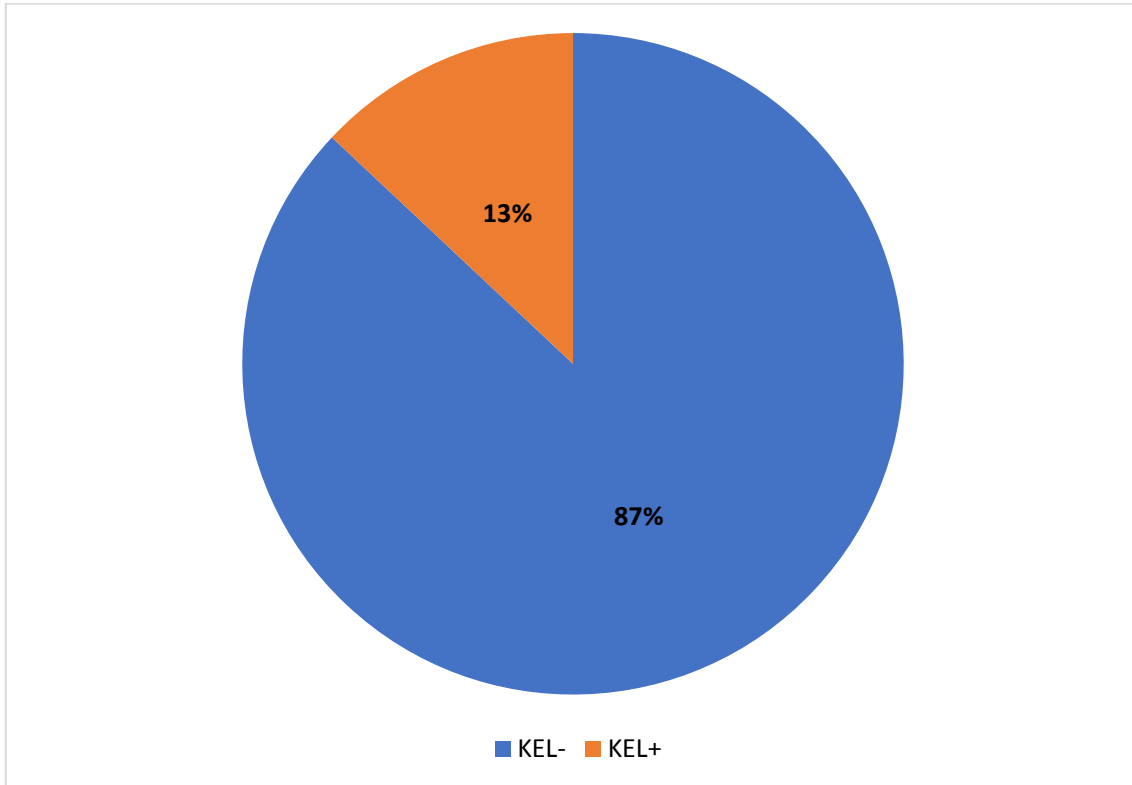


Figure 21 : Répartition de la population d'étude selon les phénotypes Kell.

2. Résultats analytiques

2.1. Fréquence de l'antigène D faible dans la population générale

2.1.1. Fréquence de l'Ag D faible

Sur les 1846 donneurs de sang inclus dans notre étude, le phénotype D faible est retrouvé chez 34 donneurs, soit une fréquence de 1.84%.

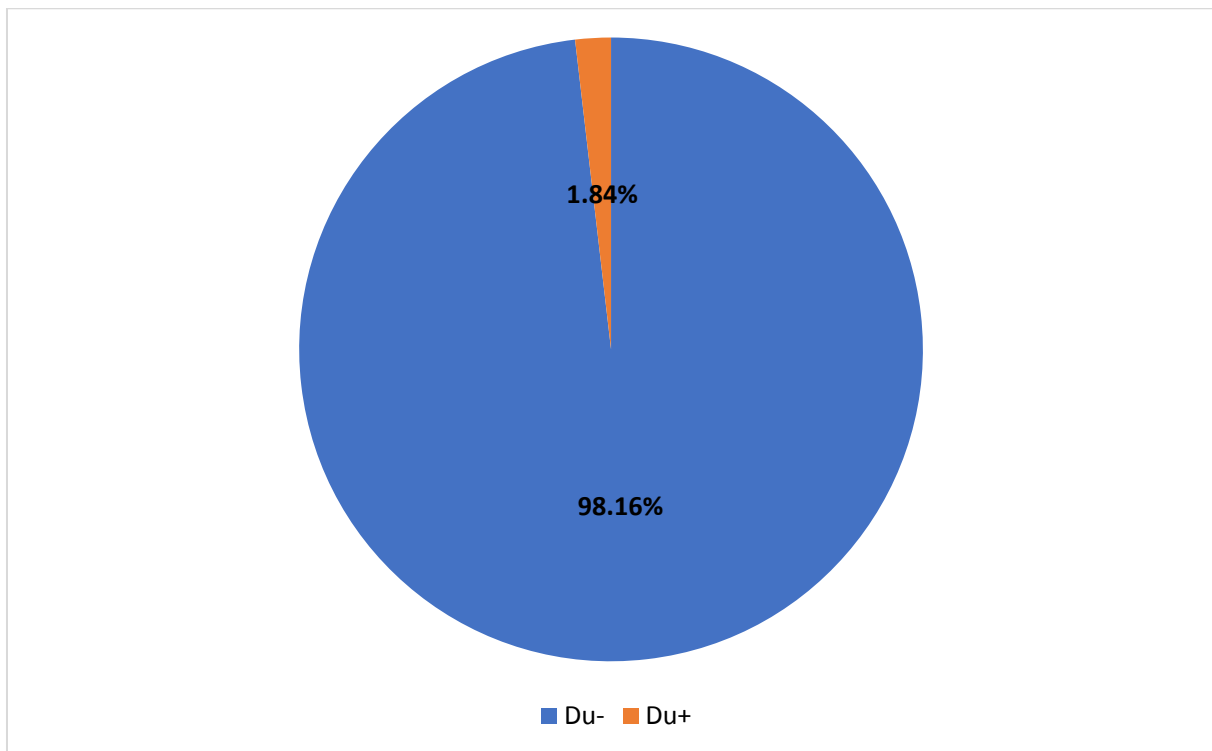


Figure 22 : Fréquence de l'Ag D faible chez les donneurs de sang rhésus négatif.

2.1.2. Fréquence de l'Ag D faible selon le genre

Prédominance du genre masculin avec un taux de 1,68% sans différence significative ($P = 0.58$).

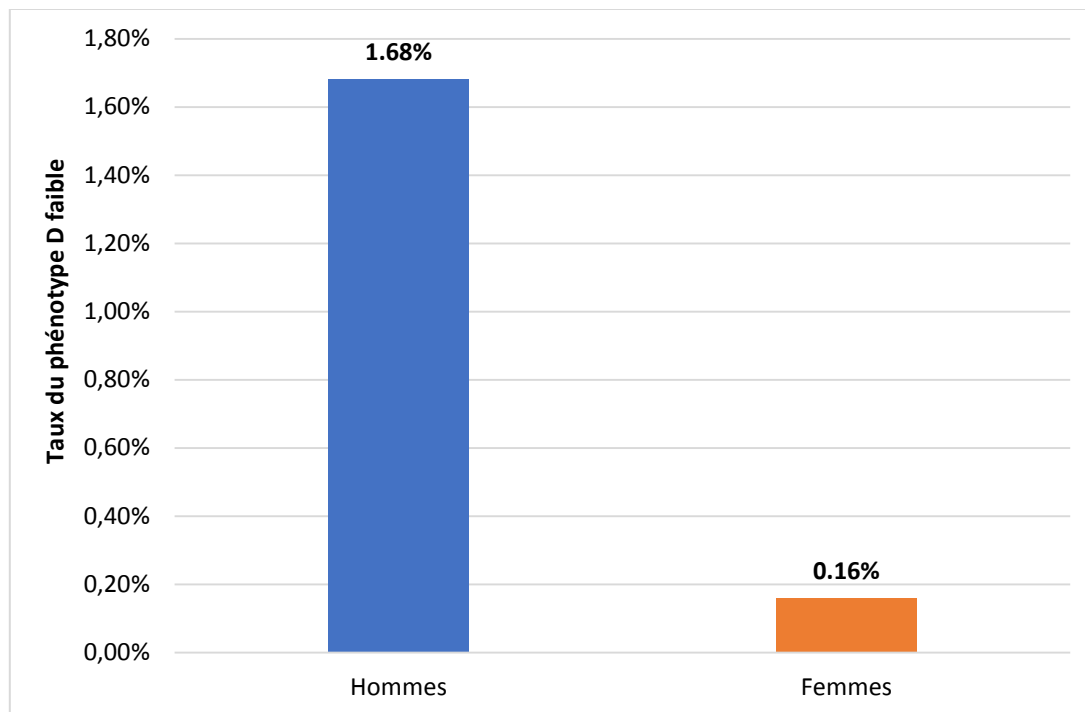


Figure 23 : Fréquence de l'Ag D faible selon le genre.

2.1.3. Fréquence de l'Ag D faible selon les tranches d'âge

La fréquence de l'Ag D faible est variable d'une tranche d'âge à une autre, allant de 0.05% à 0.65% sans différence significative, $p = 0.57$.

Tableau 8 : Fréquence de l'Ag D faible chez les donneurs de sang RH : -1 selon les tranches d'âges.

Tranche d'âge	Effectif	Fréquence
[18,25]	12	0.65 %
[26,35]	10	0.54 %
[36,45]	9	0.49 %
[46,55]	1	0.05 %
[56,65]	2	0.11 %
Total	34	1.84 %

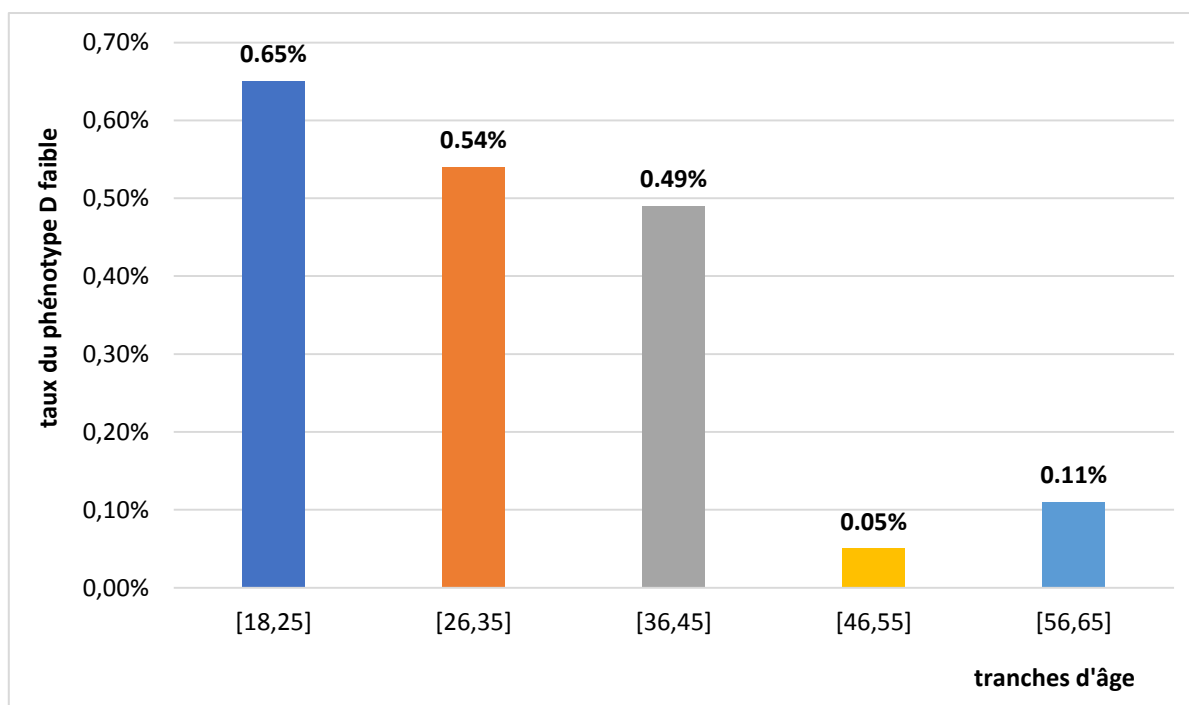


Figure 24 : Fréquence de l'Ag D faible selon les tranches d'âge.

2.1.4. Fréquence de l'Ag D faible selon le groupe sanguin ABO

Il n'existe pas de différence statistiquement significative entre la présence de l'Ag D faible et le groupe sanguin ABO ($P = 0.80$).

Tableau 9 : Fréquence de l'Ag D faible selon le groupe sanguin ABO.

Groupe sanguin	Effectif	Fréquence
A	14	0.76 %
O	13	0.7 %
B	6	0.33 %
AB	1	0.05 %
Totale	34	1.84 %

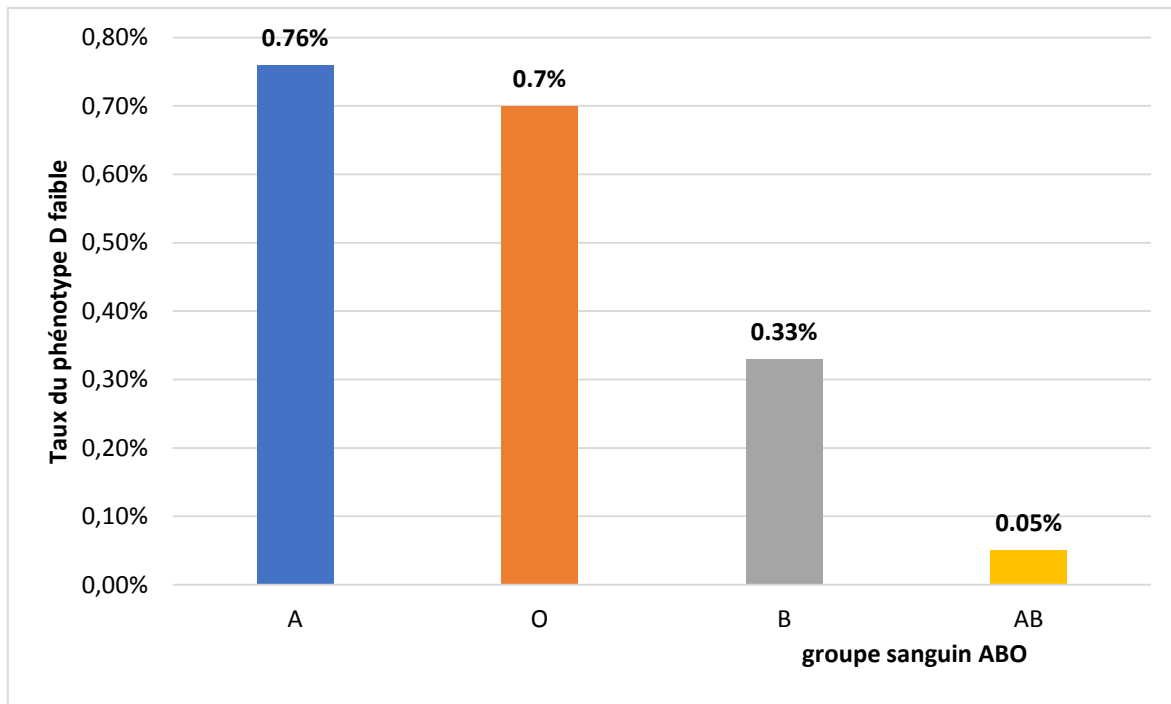


Figure 25 : Fréquence de l'Ag D faible selon le groupe sanguin ABO.

2.1.5. Fréquence de l'Ag D faible selon le phénotype CDE

Le phénotype CDE est significativement associé à la présence de l'Ag D faible, avec une différence statistiquement significative avec ($P < 10^{-3}$).

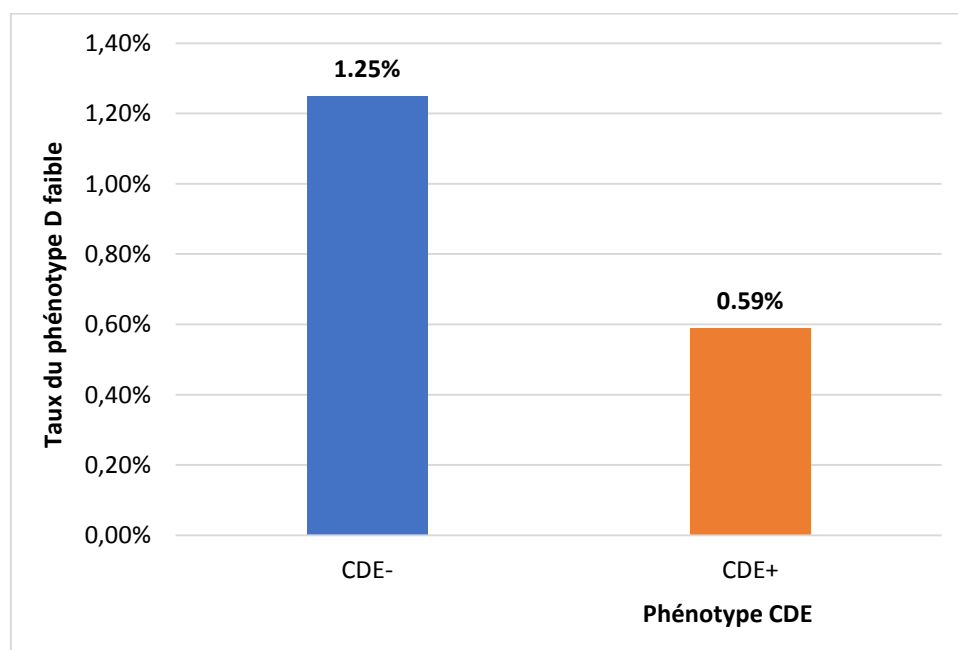


Figure 26 : Fréquence de l'Ag D faible selon le phénotype CDE.

2.1.6. Fréquence de l'Ag D faible selon le phénotype Kell

Le phénotype Kell est non significativement associé à la présence de l'Ag D faible ($P = 0.19$).

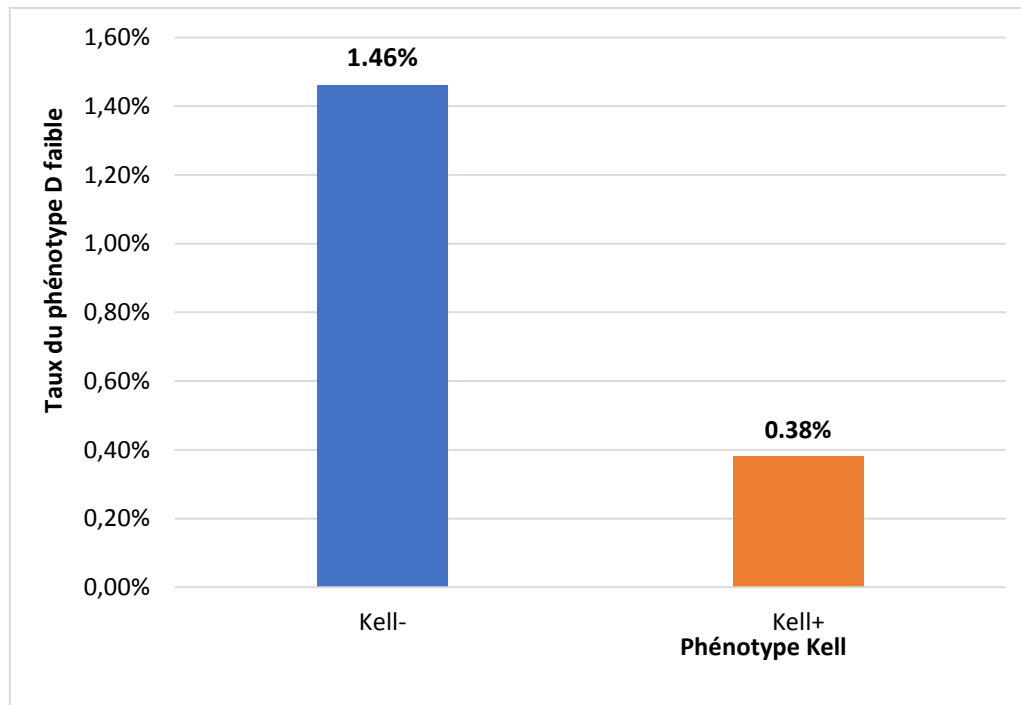


Figure 27 : Fréquence de l'Ag D faible selon le phénotype Kell.

2.2. Description de la population d'étude à phénotype D faible positif

2.2.1. Selon le genre

Prédominance du genre masculin dans la population des donneurs de sang porteurs de l'Ag D faible avec une fréquence de 91.2% soit 31 donneurs avec un sexe-ratio de 10.

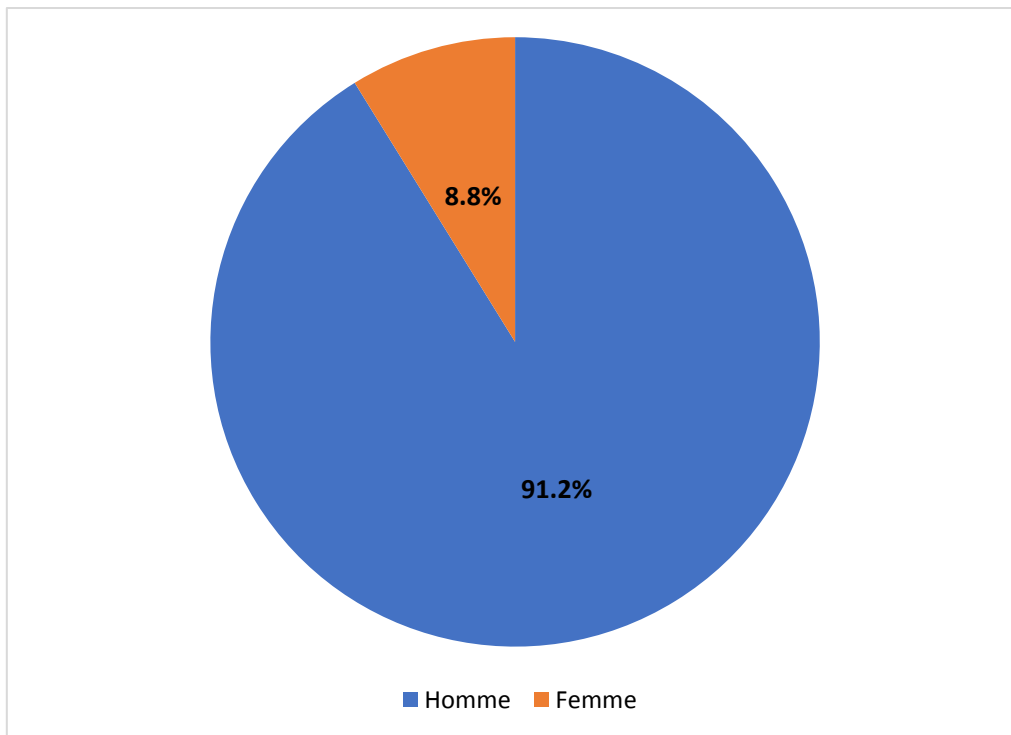


Figure 28 : Répartition des donneurs de sang à phénotype D faible positif selon le genre.

2.2.2. Selon les tranches d'âge

L'âge moyen des donneurs de sang à phénotype D faible positif est de 32.32 ± 10.95 , avec des extrêmes d'âge allant de : 19 à 57 ans.

La majorité des donneurs possédant l'Ag D faible sont jeunes, ils appartiennent à la tranche d'âge [18,25] avec une fréquence de 35.3 %.

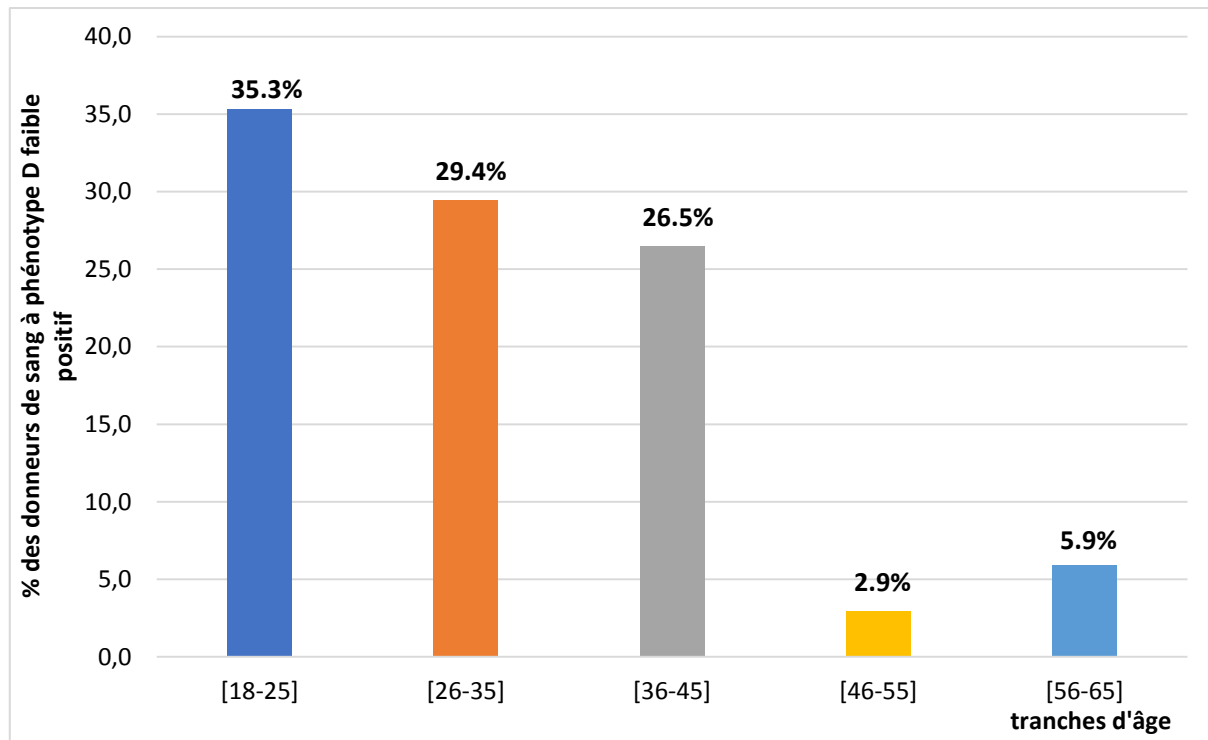


Figure 29 : Répartition des donneurs de sang à phénotype D faible positif selon les tranches d'âge.

2.2.3. Selon l'âge et le genre

La tranche d'âge la plus fréquente chez les deux sexes est : [18-25] ans avec une fréquence de 29,42 % chez les hommes et 5,88 % chez les femmes.

Tableau 10 : Répartition des donneurs à phénotype D faible positif selon l'âge et le genre.

Age	Effectif de sexe masculin	Fréquence	Effectif du sexe féminin	Fréquence
[18,25]	10	29.42 %	2	5.88 %
[26,35]	9	26.47 %	1	2.94 %
[36,45]	9	26.47 %	0	0
[46,55]	1	2.94 %	0	0
[56,65]	2	5.88 %	0	0
Total	31	91.18 %	3	8.82 %

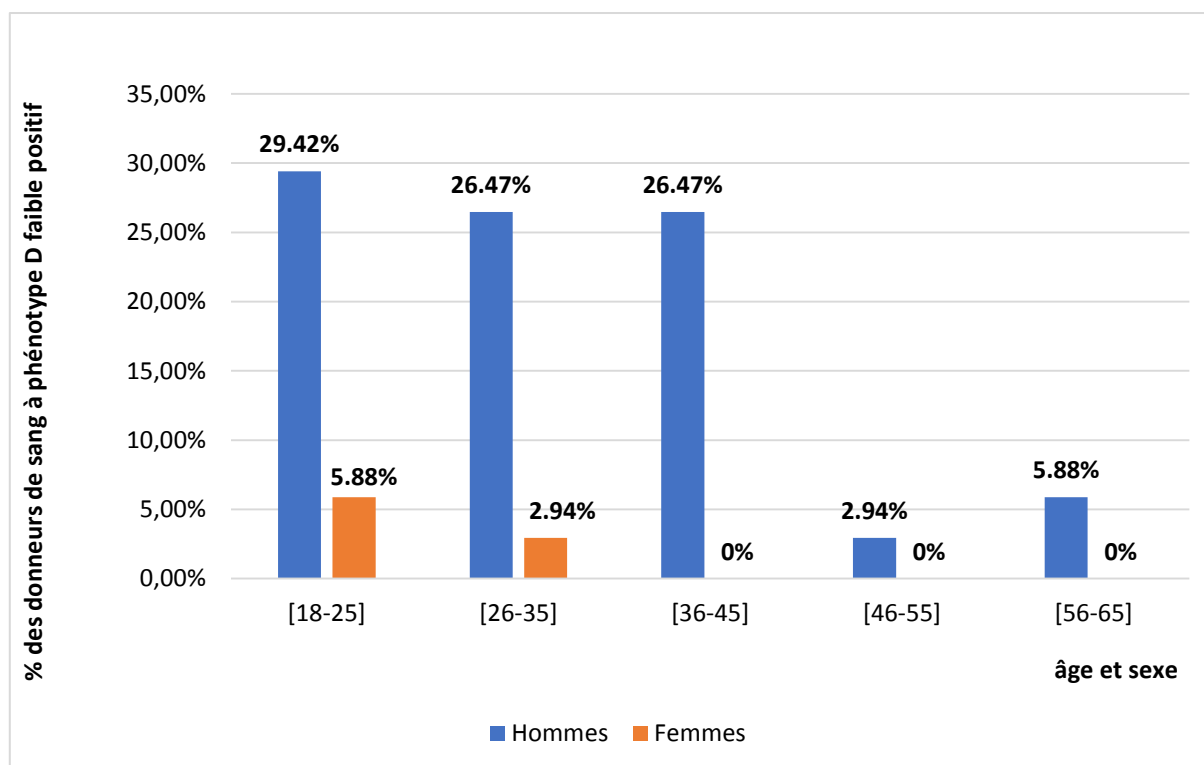


Figure 30 : Fréquence du phénotype D faible positif selon l'âge et le genre.

2.2.4. Selon le groupe sanguin ABO

Nos résultats montrent que le phénotype D faible positif est plus fréquent chez les donneurs de groupes A et O avec des fréquences respectives de 41.2% et 38.2%.

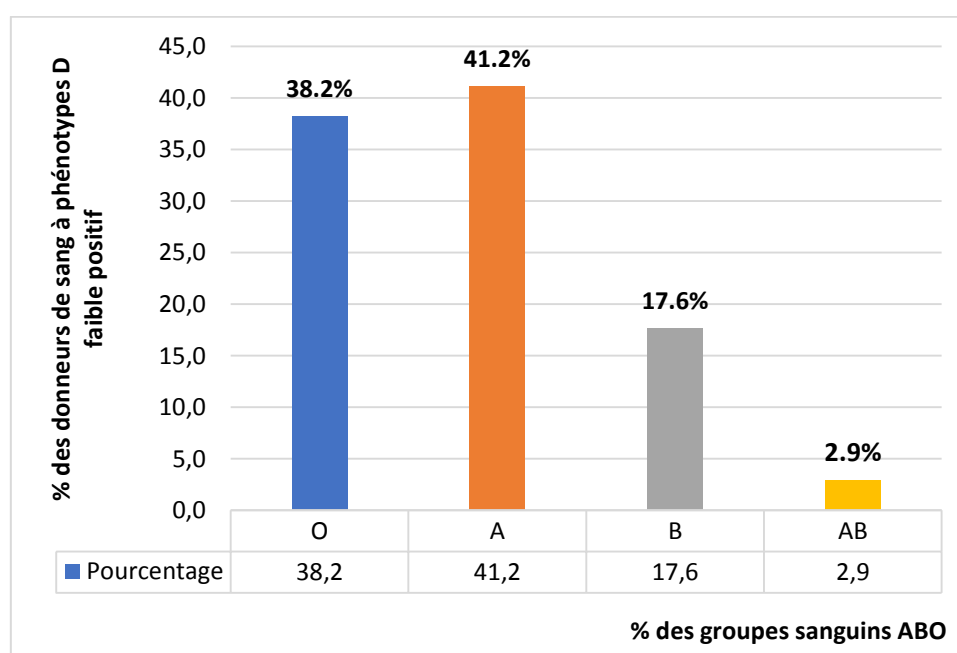


Figure 31 : Répartition des donneurs de sang à phénotype D faible positif selon le groupe ABO.

2.2.5. Selon le phénotype CDE

Parmi les 34 donneurs ayant le phénotype D faible, 23 individus présentent un phénotype CDE négatif (67.6%), et seulement 11 individus sont de phénotype CDE positif (32.4%).

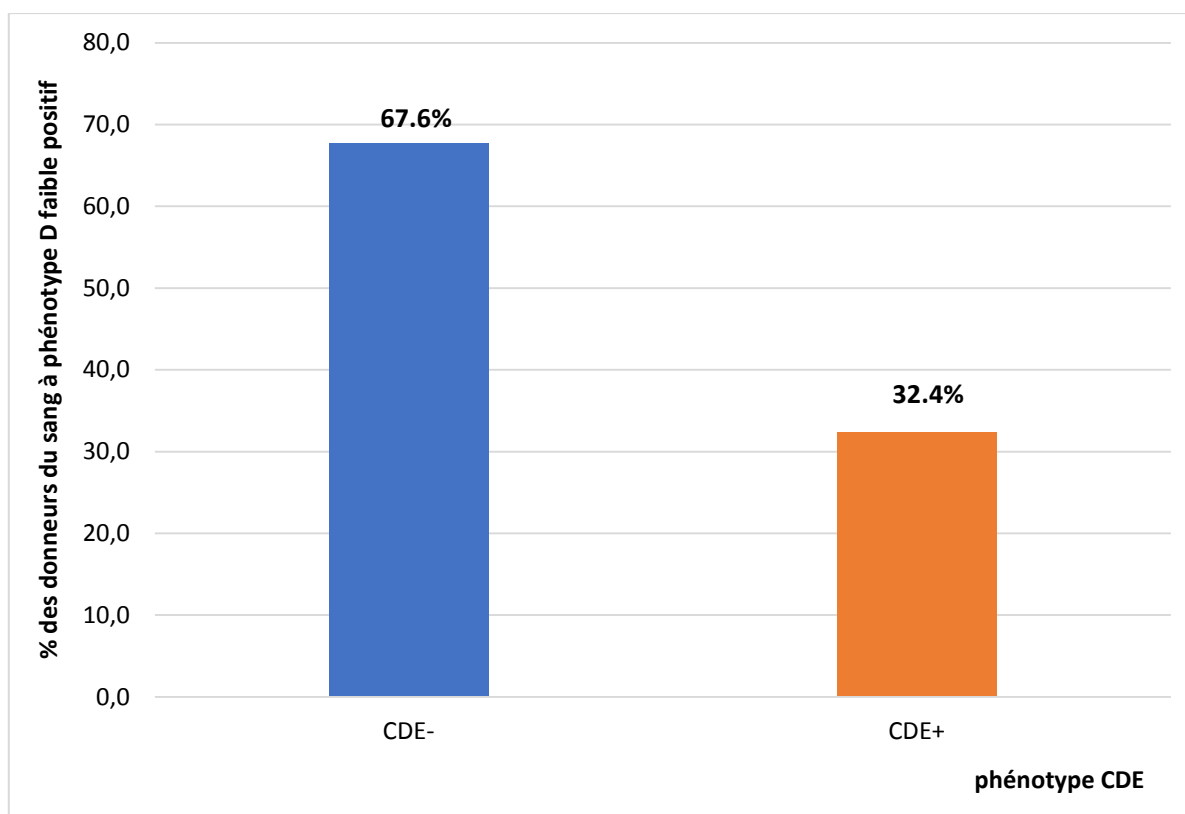


Figure 32 : Fréquence du phénotype D faible positif selon le phénotype CDE.

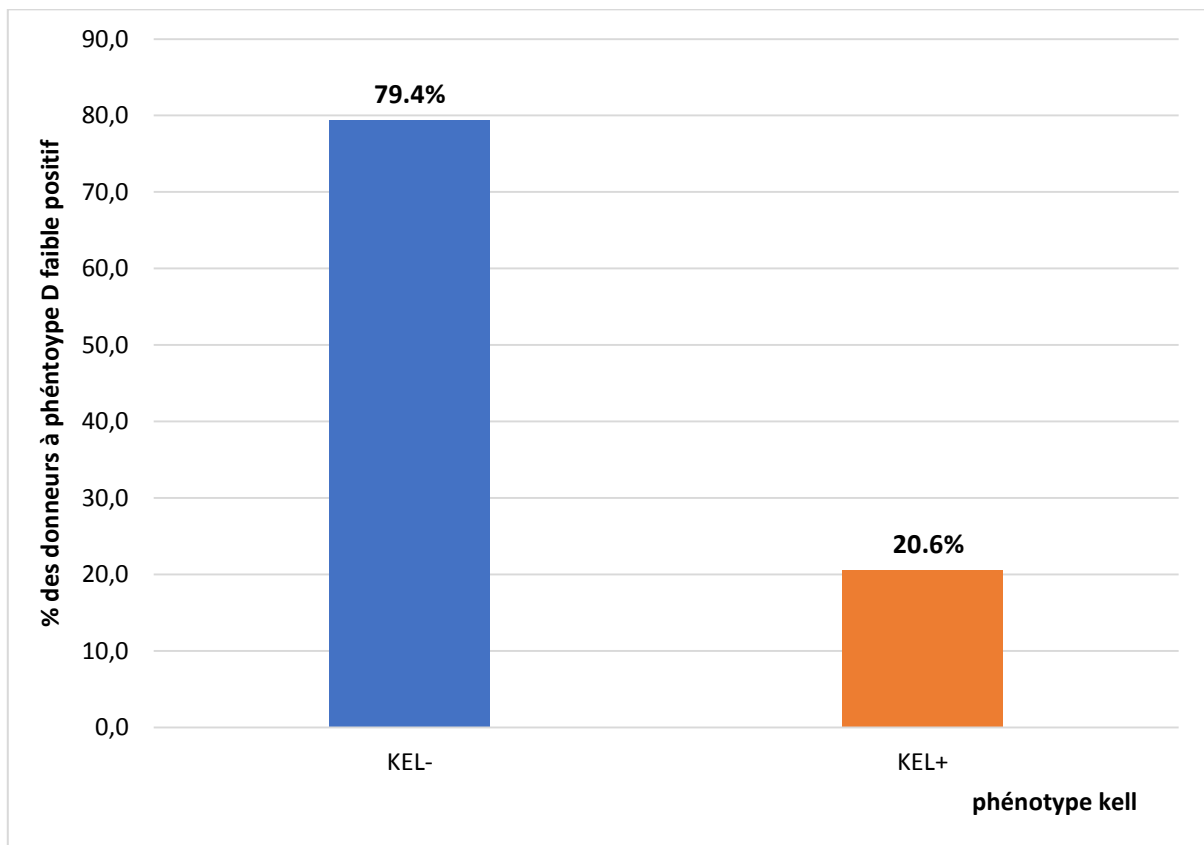
2.2.6. Selon le phénotype Kell

Les donneurs de sang Kell négatif ayant le phénotype D faible positif sont plus fréquent (79.4 %).

L'estimation de la fréquence d'antigènes Kell chez nos donneurs de sang ayant le phénotype D faible positif est indiquée dans le tableau ci-dessous :

Tableau 11 : Fréquence du phénotype D faible positif selon le phénotype Kell.

Phénotype	Effectif	Fréquence
Kell négatif	27	79.4 %
Kell positif	7	20.6 %
Total	34	100 %

**Figure 33** : Fréquence des donneurs à phénotype D faible positif selon le phénotype Kell.

2.2.7. Selon les phénotypes CDE et Kell

Le phénotype CDE- Kell- est le plus fréquent chez les donneurs ayant le phénotype D faible positif avec une fréquence de 47,06%.

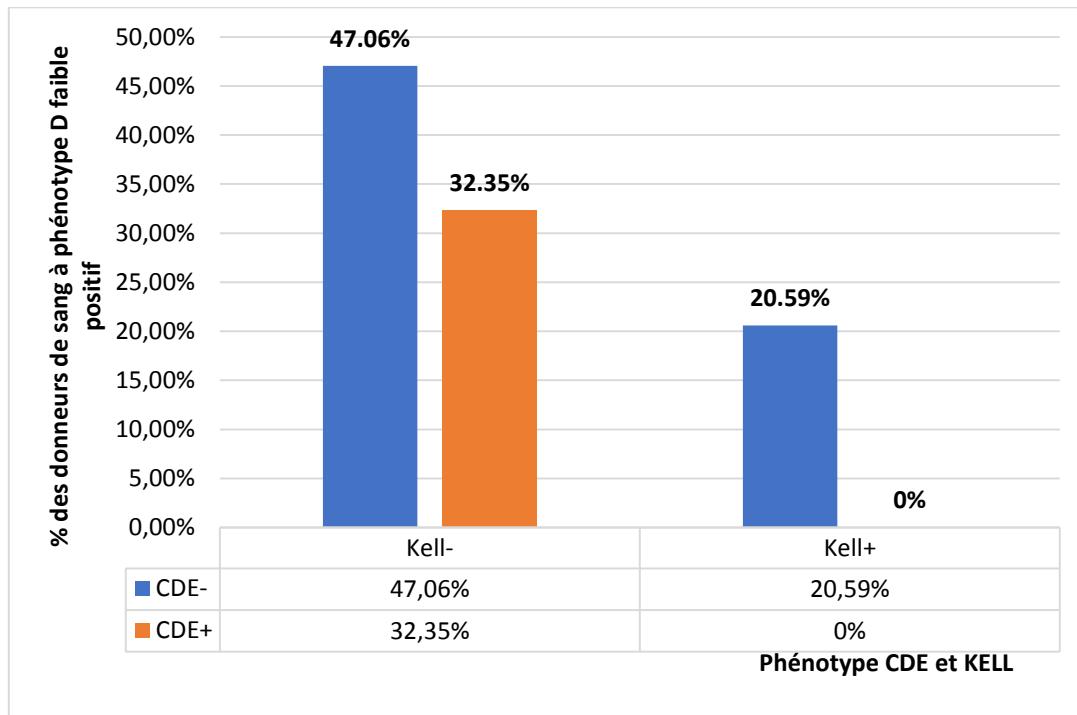


Figure 34 : Fréquence du D faible selon les phénotypes CDE et Kell.

2.2.8. Selon le groupe sanguin et le phénotype CDE

Le phénotype CDE- est le plus fréquent chez donneurs ayant le phénotype D faible positif et appartenant aux groupes sanguins O, A et B avec des fréquences respectives de : 29,41 %, 26,47 % et 11,77%, tandis que le phénotype CDE+ est plus fréquent chez ceux appartenant au groupe AB avec une fréquence de 2,94 %.

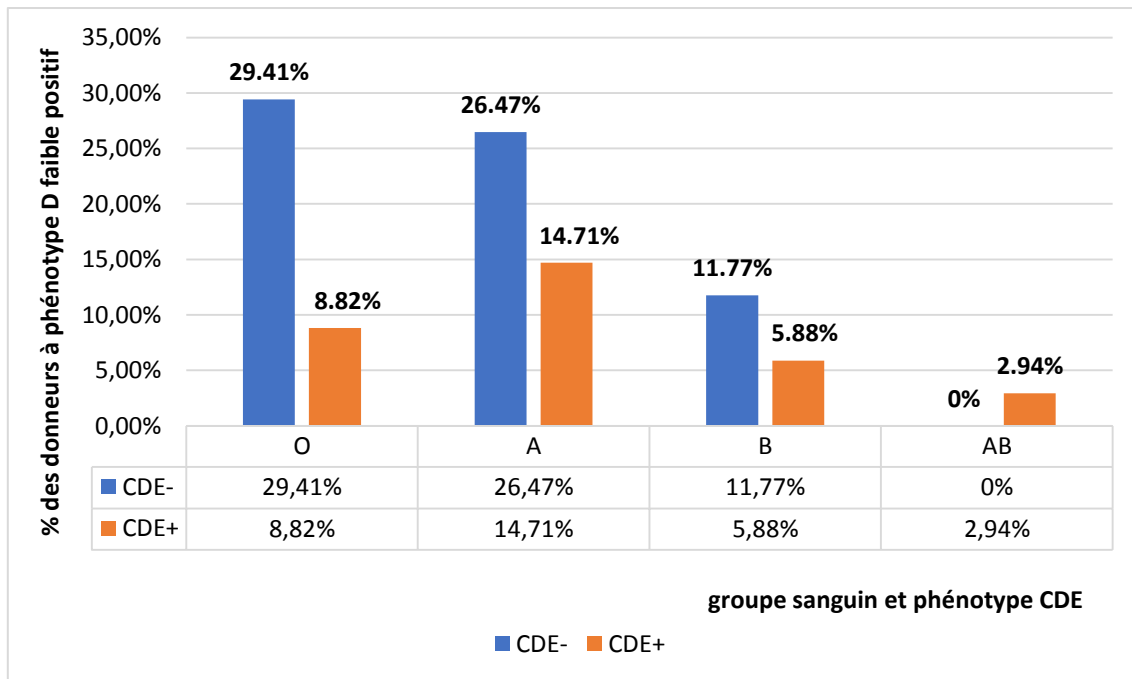


Figure 35 : Fréquence du phénotype D faible positif selon le groupe sanguin et le phénotype CDE.

2.2.9. Selon le groupe sanguin et le phénotype Kell

Le phénotype Kell- est plus fréquent chez les donneurs ayant le phénotype D faible positif et appartenant aux groupes sanguins O, A, B, et AB avec des fréquences respectives de : 35,29 %, 26,47 %, 14,71 % et 2,94 %.

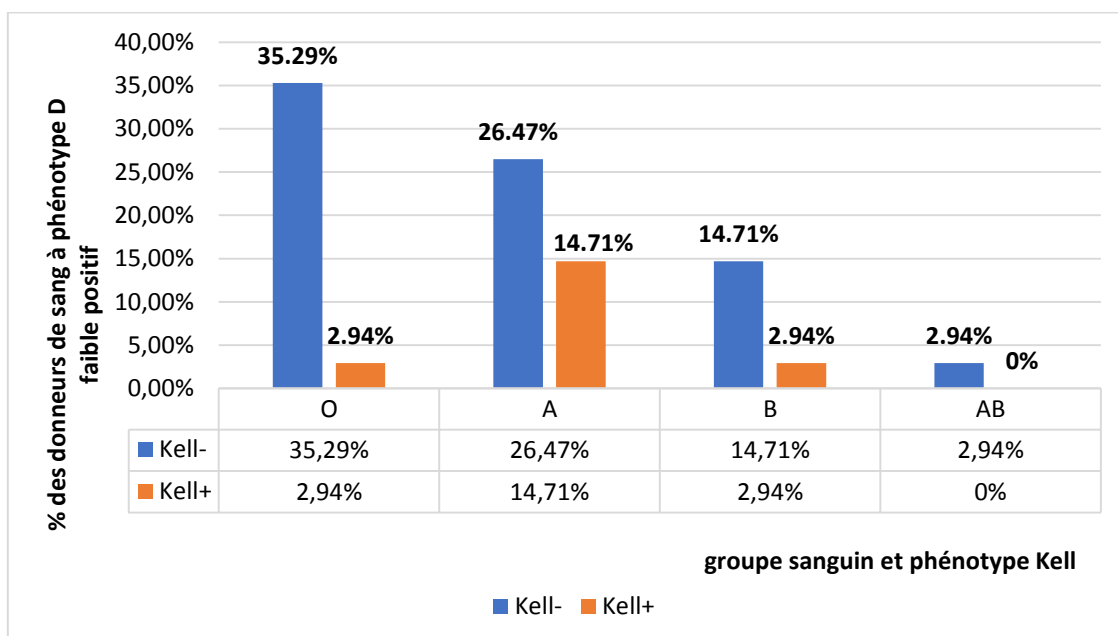


Figure 36 : Fréquence du phénotype D faible positif selon le groupe sanguin et le phénotype Kell.

2.2.10. Selon la région

Parmi les 34 donneurs porteurs de l'Ag D faible, 79.4 % sont de la région de Tizi Ouzou, 14.7 % de Boumerdès et 5.9 % de Bouira.

Tableau 12 : Fréquence du phénotype D faible selon la région.

Région	Effectif	Fréquence
Tizi Ouzou	27	79.4 %
Boumerdès	5	14.7 %
Bouira	2	5.9 %
Alger	0	0 %
Bejaïa	0	0 %
Autres wilaya	0	0 %
Total	34	100 %

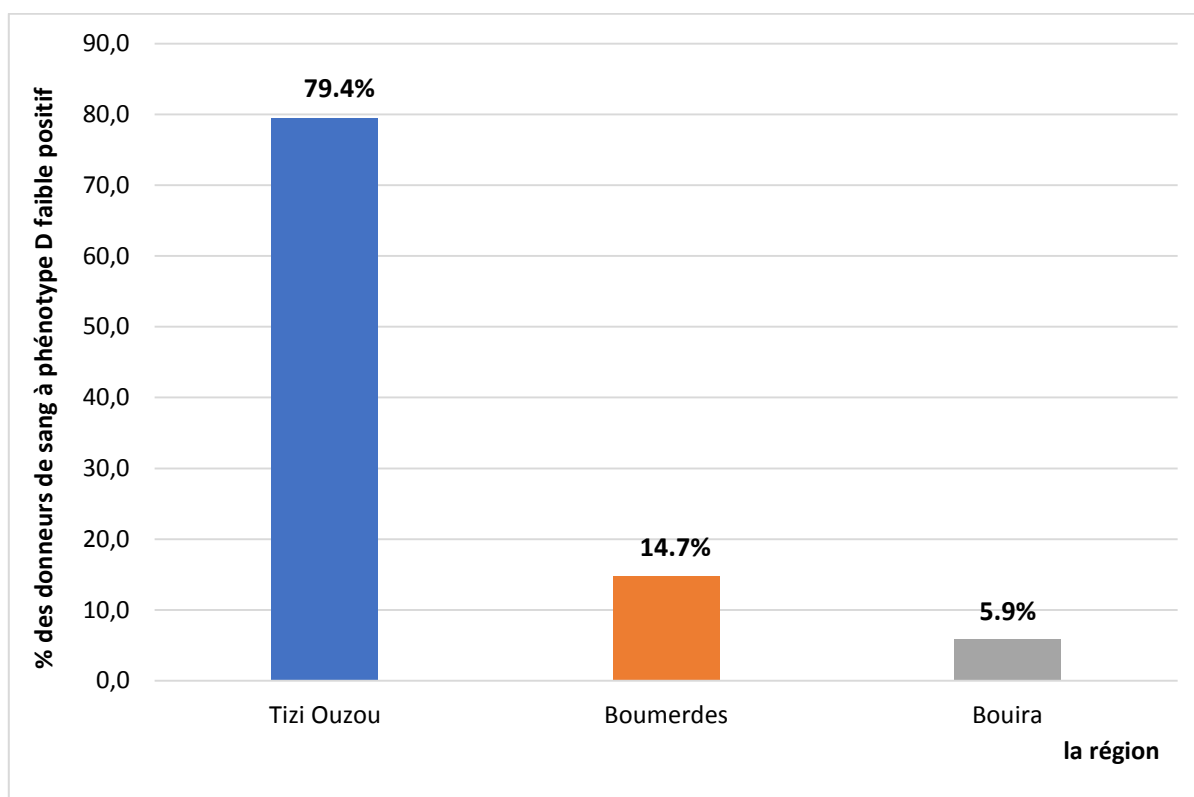


Figure 37 : Fréquence du phénotype D faible positif selon la région.

III. Discussion

III. Discussion**1. Difficultés et limites de l'étude**

Comme toute étude de recherche, des biais se sont introduits dans notre travail :

- Difficulté d'avoir un échantillon large et ainsi recueillir un nombre plus important de cas à cause de la courte durée d'étude (7 mois), réalisée durant une période de crise sanitaire suite à la propagation du SARS COV 2, ceci a limité le flux des donneurs au niveau du CWTS de Tizi-Ouzou, conséquence directe sur la taille de notre échantillon d'étude ;
- Le manque de moyens : carte gel, centrifugeuse et chambre d'incubations appropriées, la détection de l'antigène D faible n'a été réalisée que sur tube ;
- Le manque de réactifs, ne nous a pas permis de rechercher les Ag c et e ;
- Biais d'information ; le recueil des données concernant les donneurs faisait appel à une fiche de don qui, dans certains cas, était incomplète.

2. Discussion et comparaison des résultats selon les différentes répartitions

La recherche de l'antigène D faible chez les donneurs de sang est un élément essentiel pour la sécurité immunologique de la transfusion sanguine ; Au CWTS de Tizi-Ouzou, cette recherche est obligatoire chez tout donneur rhésus négatif.

Notre étude effectuée au CWTS de Tizi-Ouzou, durant une période de 7 mois : du 1^{er} Février au 31 Aout 2021, a porté sur 1846 donneurs de sang rhésus négatif afin de rechercher l'antigène D faible à la surface des globules rouges de chacun de ces donneurs et de déterminer sa fréquence quel que soit le groupe sanguin ABO, le phénotype CDE et le Kell.

Nous avons trouvé l'antigène D faible chez 34 donneurs rhésus négatif sur les 1846 collectés soit une fréquence de 1.84 %. Nos résultats sont comparables à ceux trouvés dans deux études nationales, celle de *Katia Allal Taouali et al.* (100) à Tlemcen en 2016 sur une population de 1631 donneurs RH : -1 qui est de 2.26%, et celle faite par *Khachaa. B et al.* (101) à Oran en 2019 sur une population de 252 donneurs de sang militaires RH : -1 qui est de 2.78 %.

Cependant nos résultats diffèrent de ceux rapportés par *Ouchari et al.* (102) en Tunisie en 2017, sur une population de 1390 donneurs Rh : -1, la fréquence de l'antigène D faible était de 4.8 %, un résultat qui est supérieure au notre.

Une autre étude réalisée au Maroc en 2012 par *Kabiri.B et al.* (103) sur une population de 2204 donneurs Rh : -1, montre un résultat inférieur au notre soit une fréquence de 0.4 %.

En Afrique noire quelques études ont été réalisées sur la recherche de la prévalence de l'Ag D faible chez des donneurs de sang RH : -1. Au Ghana en 2008 *C. Opoku-Okrah et al.* (104) ont réalisé une étude sur une population de 31 donneurs de sang RH : -1 ; la fréquence de l'Ag D faible était de 6.45 %.

L'étude faite au Kenya par *R. Githiomi et al.* (105) en 2016 sur une population de 26 donneurs de sang RH : -1, a par contre montré une fréquence de l'Ag RH : -1 faible beaucoup plus élevée et qui est de 30.77 %.

L'étude la plus récente a été réalisée au Nigéria en 2021 par *Dauda. M et al.* (106), sur une population de 189 donneurs de sang RH : -1 ; la fréquence de l'Ag D faible était de 10.6 %. Ces résultats sont tous largement supérieurs au résultat trouve dans notre étude.

En Asie pas mal d'études ont également été réalisées, la plus ancienne de ces études a été réalisée en Chine par *K.H. Mak et al.* (107) sur une population de 6379 donneurs de sang RH : -1, une très faible fréquence de l'Ag D faible a été décrite soit 0.016 %, un résultat nettement inférieur par rapport au notre.

Au Pakistan, en 2003, *Usman. M et al.* (108) ont rapporté une fréquence de l'Ag RH : -1 faible de 0.8 % chez une population de 3375 donneurs de sang RH : -1.

Une autre étude réalisée en Inde par *Lamba. H. S et al.* (109) en 2017 ; sur une population de 847 donneurs de sang RH : -1, la fréquence de l'Ag D faible était de 0.94 %.

Les résultats de ces deux études se rapprochent de notre résultat.

Cependant, la fréquence de l'Ag RH : -1 faible trouvée en Corée du sud par *Dajeong Jeong et al.* (110) en Mai 2021, sur 502 donneurs de sang RH : -1 était de 6.57 %, un résultat nettement supérieur (soit trois fois plus) à 1.84 % trouve dans notre étude.

La variabilité de la fréquence de l'Ag D faible d'un pays à l'autre ou d'une région à l'autre dépend de plusieurs facteurs : le facteur génétique, Le mélange racial de la population testée, les performances des réactifs et la méthode utilisée.

Notre étude a montré Une prédominance du sexe masculin avec un taux de 91.2% versus 8.8 % chez les femmes porteuses du phénotype D faible.

Des résultats similaires, ont été observés dans l'étude de *C. Opoku-Okrah et al.* (104) au Ghana sur des donneurs de sang volontaires vivant à Kumasi en 2008 sur une population de 400 donneurs, la fréquence de l'Ag D faible était de 6.45%, et 100% de ces donneurs D faible sont des hommes. Dans l'étude de *C. Opoku-Okrah* (104), le taux très élevé rencontré chez les hommes peut être expliqués par le nombre d'hommes recrutés qui est élevé par rapport aux femmes.

Dans notre étude les donneurs D faible âgés de moins de 45 ans sont majoritaires avec une fréquence de 91.2% ; ceci s'explique par le fait que les donneurs se présentant au CWTS de Tizi-Ouzou sont jeunes. Nous n'avons hélas pas trouvé d'étude comparative pour ce paramètre.

Selon le groupe ABO, la prédominance était pour les sujets D faible de groupe A (14/34) soit 41.2 % des donneurs de sang par rapport au groupe O, B et AB avec des fréquences respectives de 38.2 % (13/34), 17.6 % (6/34) et 2.9 % (1/34).

Ces résultats diffèrent légèrement de ceux obtenus dans deux études réalisées en Inde, la première faite par *Dhot et al.* (111) en 1998 sur une population de 100 donneurs RH : -1, dont 22 avaient le phénotype D faible, les fréquences trouvées selon les groupes sanguins O, A, B et AB étaient respectivement 68.3%, 22%, 4.5% et 4.5%. La deuxième étude réalisée par *Rubya Ryhan et al.* (112), sur un total de 847 donneurs RH : -1, a révélé que deux d'entre eux étaient de phénotype D faible, un donneur de groupe A (soit une fréquence de 50%) et l'autre de groupe B (50%).

Au Pakistan, une étude faite par *Nazish Saqlain et al.* (113) en 2016 sur une population de 1224 donneurs de sang RH : -1, avec 3 donneurs porteurs de l'Ag D faible ; soit un donneur de groupe A (33.33%), un de groupe B (33.33%), et un de groupe O (33.33%). Ces résultats sont, quant à eux, assez proches de ceux rapportés dans notre étude en ce qui concerne les deux groupes A et O.

Dans notre étude le phénotype CDE négatif est le plus fréquent chez les donneurs de sang RH-1 ayant le phénotype D faible avec une fréquence de 67.6 %.

Ces résultats sont comparables à ceux trouvés dans une étude anglaise faite par *Contreras. M et al.* (114) en 1989 sur une population de 27 donneurs ayant le phénotype D faible (parmi 16484 donneurs RH-1), où la fréquence était de 99.47% de donneurs ayant le phénotype CDE négatif.

Pour le phénotype Kell nos résultats montrent une prédominance du phénotype Kell négatif avec une fréquence chez les RH : -1 D faible de 79.4 %.

Des résultats similaires ont été observés dans une étude faite par *Khachaa. B et al.* (101) à Oran en 2019, sur 252 donneurs RH : -1 dont 7 ont été détectés comme RH : -1 D faible, 100% de ces D faible était de phénotype Kell négatif.

**Conclusion
et
recommandations**

Conclusion

La recherche de l'Ag D faible chez les donneurs de sang Rhésus négatif est d'une importance extrême, ceci est dû à la forte immunogénicité de l'Ag D qui peut être à l'origine d'accidents immunologiques immédiats survenant lors de la transfusion d'un produit sanguin labile avec incompatibilité RH.

Nous avons recherché l'Ag D faible chez 1846 donneurs de sang rhésus négatif au CWTS de Tizi-Ouzou. La prévalence obtenue est de 1.84 %.

Selon le genre, nous avons obtenu un résultat de 91.2% chez les hommes et 8.8% chez les femmes. L'étude selon la tranche d'âge a montré que la prévalence de l'Ag D varie entre 2.9 % et 35.3 %.

En tenant compte du groupe sanguin ABO, les fréquences de l'Ag D faible retrouvées sont comme suit : 41.2% chez les donneurs de groupe A, 38.2% chez les donneurs de groupe O, 17.6% chez les donneurs de groupe B et 2.9% chez les donneurs de groupe AB.

Il est nécessaire d'identifier les individus porteurs de l'Ag D faible et de les informer sur leur statut de donneur et de receveur de sang ou d'organe, en effet ils doivent être considérés positifs en tant que donneurs, et négatifs en tant que receveurs et doivent être transfusés avec du CGR Rh négatif pour éviter une éventuelle allo-immunisation.

Pour une transfusion sanguine sûre et pour prévenir les complications liées à la transfusion, des directives transfusionnelles nationales complètes doivent être établies pour normaliser le protocole de recherche de l'antigène D faible pour les donneurs ainsi que pour les patients.

Recommandations

Nous proposons les recommandations suivantes :

- Renforcer les Centres de Transfusion Sanguine d'une part en personnels qualifiés, et d'autre part en matériels et équipements adéquats pour mettre en place des techniques plus sensibles (rechercher l'Ag D faible par une technique sur carte gel qui est plus spécifique et plus sensible) ;
- Faire des formations Médicale Continue périodique afin d'approfondir les connaissances ou les actualiser.

Afin de compléter cette étude, il serait avantageux de faire la recherche de l'Ag D partiel et du DEL chez tout donneur testé RH : -1 D faible.

**Références
bibliographiques**

1. Karl Landsteiner and Alexander S. Wiener. STUDIES ON AN AGGLUTINOGEN (Rh) IN HUMAN BLOOD REACTING WITH ANTI-RHESUS SERA AND WITH HUMAN ISOANTIBODIES. Lab Rockefeller Inst Med Res Serol Lab Off Chief Med Exam City N Y N Y [Internet]. 10 juin 1941; Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2135190/>
2. STRATTON, F. A New Rh Allelomorph. *Nature* 158, 25–26 (1946). <https://doi.org/10.1038/158025c0>.
3. Chiaroni J, Ferrera V, Dettori I, Roubinet F. Groupes sanguins érythrocytaires. *EMC - Hématologie*. Juin 2005 ;2(2) :53-112.
4. Aymard J-P. Karl Landsteiner (1868–1943) et la découverte des groupes sanguins. *Transfus Clin Biol*. nov 2012 ;19(4-5) :244-8.
5. Sofia EL BOUHALI. Les urgences transfusionnelles en période de paix et en situations d'exception. 2019.
6. Lefrère J-J, Andreu G, Barisien C, Bierling P, Danic B, Morel P, et al. Transfusion sanguine (I). Organisation, bases immunologiques et produits sanguins labiles. *EMC - Hématologie*. Août 2012 ;7(3) :1-18.
7. MICHEL VAUBOURDOLLE. Biochimie hématologie. 3 ème. Wolters kluwer ; 2007. (Le moniteur internat ; vol. 2).
8. Tazerout M, Galinier Y. Les clés de l'hémovigilance. Coordination Régionale d'Hémovigilance. Toulouse.
9. Oumou T. Phénotype érythrocytaires dans les systèmes de groupes sanguins immunogènes chez les donneurs de sang de Bamako [thèse]. Université de Bamako Faculté de Médecine de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie; 2001.
10. Tayou Tagny C, Diarra A, Yahaya R, Hakizimana M, Nguessan A, Mbensa G, et al. Le centre de transfusion, le donneur de sang et le sang donné dans les pays d'Afrique francophone. *Transfusion clinique et biologique* ,16(5) :431-438,2009.
11. Giraud Ch, Korach JM, Andreu G, Lacaze C, Vaicle M, Schooneman F and Guillevin L. Les bases immunologiques de la transfusion. *Transfusion clinique et biologique*9(3) :163- 167, 2002.
12. Aireche H, Benabadji M. Les fréquences géniques dans le système ABO P et Luthéran en Algérie. *Transfusion clinique et biologique* ,1(4) :279-289,1994.
13. Table_of_blood_group_systems_v._9.0_03-FEB-2021.

14. Bailly P, Chiaroni J, Roubinet F. Les groupes sanguins érythrocytaires. John Libbey Eurotext; 2015. 416 p.
15. Pal M, Williams B. Prevalence of maternal red cell alloimmunisation: a population study from Queensland, Australia. *Pathology* 2015;47:151-5.)
16. Talbi F, Damerdjil D, El Kader Nebbab A, Isyakhem W, Djouadi K. Étude de la prévalence des groupes sanguins ABO, Rh et Kell : à propos de 10 977 dons de sang dans la région de Boufarik. *Transfus Clin Biol.* nov 2018; 25(4): 332-3.
17. Nissrine AYAD. Prévalence des groupes sanguins au centre de transfusion sanguine à l'HMA Marrakech (à propos de 10 000 cas). 2019.
18. Ouchari M, Jemni Yacoub S, Houissa B, Abdelkefi S, Chakroun T, Bouslama M, et al. Système RH : dépistage de D partiels avec RHD/RHCE gène hybride. *Transfus Clin Biol.* mars 2013;20(1):35-9.
19. Radia A, Ghita B, Hajar S, Hicham Y, Ameer Mustapha A, Mohamed C. Prevalence of Blood Groups at the Blood Transfusion Center at the Military Hospital Avicenna of Marrakech. *Am J Lab Med.* 2019;4(6):101.
20. F.F. Wagner et al. Frequencies of the Blood Groups ABO, Rhesus, D Category VI, Kell, and of Clinically Relevant High-Frequency Antigens in South-Western Germany. 1995;4.
21. Patidar GK, Dhiman Y. Distribution of ABO and Rh (D) Blood groups in India: A systematic review. *ISBT Sci Ser.* févr 2021;16(1):37-48.
22. Loua A, Lamah MR, Haba NY, Camara M. Fréquence des groupes sanguins ABO et rhésus D dans la population guinéenne. *Transfus Clin Biol.* nov 2007;14(5):435-9.
23. Branger B, Winer N. Épidémiologie de l'allo-immunisation anti-D pendant la grossesse. *J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod.* févr 2006;35:87-92.
24. Yuksel Salduz Zİ, Cetin G, Karatoprak C, Ozder A, Bilginc M, Gultepe I, et al. ABO and Rh Blood Group Distribution in İstanbul Province (Turkey). *Istanb Med J.* 8 oct 2015;16(3):98-100.
25. Colin Y, Cherif-Zahar B. Genetic Basis of the RhD-Positive and RhD-Negative Blood Group Polymorphism as Determined by Southern Analysis. :6.
26. Mollison P. The genetic basis of the Rh blood group system. *Transfusion (Paris).* juin 1994;34(6):539-41.
27. Flegel WA. Molecular genetics of RH and its clinical application. *Transfus Clin Biol.* mars 2006;13(1-2):4-12.

28. Wagner FF, Flegel WA. Review: the molecular basis of the Rh blood group phenotypes. *Immunohematology*. 2020;20(1):23-36.
29. Caroline Le Van Kim*, Yves Colin. GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE ET POLYMORPHISME DU SYSTÈME RH.
30. Chiaroni J, Ferrera V, Dettori I, Roubinet F. Groupes sanguins érythrocytaires. *EMC - Hématologie*. janv 2006;1(1):1-41.
31. Okuda H, Sukanuma H, Tsudo N, Omi T, Iwamoto S, Kajii E. Sequence Analysis of the Spacer Region between the RHD and RHCE Genes. *Biochem Biophys Res Commun*. sept 1999;263(2):378-83.
32. Innan H. A two-locus gene conversion model with selection and its application to the human RHCE and RHD genes. *PNAS* 2003; 100: 8793-8798.
33. Baya Che´rif-Zahar et al. Molecular Defects of the RHCE Gene in Rh-Deficient Individuals of the Amorph Type. 15 juill 1998; 92(2):639-46.
34. Lögdberg L, Reid ME, Zelinski T. Human Blood Group Genes 2010: Chromosomal Locations and Cloning Strategies Revisited. *Transfus Med Rev*. janv 2011; 25 (1): 36-46.
35. Agre P, Cartron J. Molecular biology of the Rh antigens. *Blood*. 1 août 1991;78(3):551-63.
36. Cartron J-P. RH blood group system and molecular basis of Rh-deficiency. *Best Pract Res Clin Haematol*. déc 1999;12(4):655-89.
37. Mouro-Chanteloup I, D'Ambrosio AM, Gane P, Cartron J-P, Colin Y. Cell-surface expression of RhD blood group polypeptide is posttranscriptionally regulated by the RhAG glycoprotein. 2002;100(3):11.
38. Cartron J-P. Rh-deficiency syndrome. *The Lancet*. 2001 Dec 1; 358: S57.
39. Cartron J-P. Protéines de la famille Rh et transport membranaire du gaz NH₃. *médecine/sciences*. avr 2005; 21(4): 344-6.
40. Wagner FF, Gassner C, Müller TH, Schönitzer D, Schunter F, Flegel WA. Molecular Basis of Weak D Phenotypes. *Blood*. 1 janv 1999; 93(1): 385-93.
41. Julie-Anne Rouvière. Diagnostic de la sphérocytose héréditaire par cytométrie en flux. *Sciences pharmaceutiques*. 2008. hal-01738976.
42. Peyrard T, Rouger P. Les nomenclatures de groupes sanguins érythrocytaires. *Transfus Clin Biol*. sept 2009; 16(4): 388-99.

43. Goudemand M, Salmon Ch. Les systèmes immunogènes de groupes érythrocytaires. In: Immuno-hématologie et immunogénétique, Flammarion, Médecine-Sciences Paris: 1980; 187- 192. In.
44. Aluja MP. Systèmes de groupes sanguins érythrocytaires humains. In: Susanne Ch, Rebato ère E, Chiarelli B. Anthropologie biologique: Évolution et biologie humaine. 1 2003. édition Espagne.
45. Jean-Pierre Cartron, Yves Colin. Bases moléculaires du système RH et syndrome Rhnull. 1997; 207-20.
46. Nakada T, Westhoff CM, Kato A, Hirose S. Ammonia secretion from fish gill depends on a set of Rh glycoproteins. FASEB J. avr 2007;21(4):1067-74.
47. Marion Reid Christine Lomas-Francis. The Blood Group Antigen FactsBook 2nd Edition.
48. Ch. Salmon, J.-P. Cartron, Ph. Rouger. Les Groupes sanguins chez l'homme.
49. Daniels G. The molecular genetics of blood group polymorphism. Hum Genet. déc 2009;126(6):729-42.
50. Westhoff CM. The Rh blood group system in review: A new face for the next decade: Rh BLOOD GROUP SYSTEM REVIEW. Transfusion (Paris). nov 2004;44(11):1663-73.
51. Canellini G, Conne J, Tissot J-D, Waldvogel S. Immunohématologie bases de médecine transfusionnelle. 5ème édition 2010.
52. J.-D. Tissot. Dr. G.Canellini. et Dr. S.Waldvogel. Immunohématologie, Bases de médecine transfusionnelle. Cinquieme edition. 2011 : 76, 77, 78.
53. Geoff Daniels. Human Blood Groups, 3rd Edition.
54. Faas B, Beckers E, Wildoer P, Ligthart P, Overbeeke M, Zondervan H, et al. Molecular background of VS and weak C expression in blacks. Transfusion (Paris). janv 1997;37(1):38-44.
55. Narjess KACEM. Détermination de la zygotie du gène RHD dans la population tunisienne: impacts des polymorphismes des « boîtes Rhésus » dans la pertinence des analyses moléculaires. Aix-Marseille Université - France Faculté de Médecine de Marseille École Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé; 2013.
56. Flegel WA, Wagner FF. Molecular Biology of partial D and weak D: Implications for Blood Bank Practice. Clin Lab. : 7.

57. Westhoff CM. The Structure and Function of the Rh Antigen Complex. *Semin Hematol.* janv 2007;44(1):42-50.
58. Denomme GA, Wagner FF, Fernandes BJ, Li W, Flegel WA. Partial D, weak D types, and novel RHD alleles among 33,864 multiethnic patients: implications for anti-D alloimmunization and prevention. *Transfusion (Paris).* oct 2005;45(10):1554-60.
59. Wagner FF, Frohmajer A, Ladewig B, Eicher NI, Lonicer CB. Weak D alleles express distinct phenotypes. *2000;95(8):10.*
60. Pereira JC, Rodrigues MJ, Tilley L, Poole J, Chabert T, Ribeiro ML. RhD variant caused by an in-frame triplet duplication in the RHD gene: IN-FRAME TRIPLET DUPLICATION IN RHD. *Transfusion (Paris).* mars 2011;51(3):570-3.
61. Peyrard T. Les variants des gènes RHD et RHCE : aspects moléculaires et intérêt clinique. *Transfus Clin Biol.* sept 2019;26(3):S12.
62. Sandler SG, Chen LN, Flegel WA. Serological weak D phenotypes: a review and guidance for interpreting the RhD blood type using the *RHD* genotype. *Br J Haematol.* oct 2017;179(1):10-9.
63. Wagner FF, Flegel WA. The Rhesus Site. *Transfus Med Hemotherapy.* 2014;41(5):357- 63.
64. Wagner FF, Frohmajer A, Flegel WA. RHD positive haplotypes in D negative Europeans. *BMC Genet.* 2001;15.
65. Virginie Ferrera, Dominique Legrand, Jacques Chiaroni. L'immuno-hématologie des receveurs de sang : quels tests utiles avr 2008;Volume 14(numéro 2):143-50.
66. Klein HG, Anstee DJ, éditeurs. Frontmatter. In: *Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine* [Internet]. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd; 2005 [cité 6 sept 2021]. Disponible sur:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470986868.fmatter>
67. Sloan SR. The importance of antibody screens after transfusions: EDITORIAL. *Transfusion (Paris).* nov 2016;56(11):2653-4.
68. Koelewijn JM, de Haas M, Vrijkotte TGM, Bonsel GJ, van der Schoot CE. One single dose of 200 µg of antenatal RhIG halves the risk of anti-D immunization and hemolytic disease of the fetus and newborn in the next pregnancy. *Transfusion (Paris).* août 2008;48(8):1721-9.
69. Ansart-Pirenne H. Stratégie d'identification des variants du gène RHCE au Centre national de référence pour les groupes sanguins : impact sur la sécurité

transfusionnelle. *Transfus Clin Biol.* mars 2006;13(1-2):13-8.

70. Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. *Blood.* 15 janv 2000;95(2):375-87.
71. Faraj PA, Berbich PA, Lazrak PB, Chkili PT, Alaoui PMT, Belmahi PA. UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT. :144.
72. Diallo PA, Diallo DO, Diani DN, Coulibaly PT. Président: Membre: Co – Directeur: Directeur: :111.
73. Pham B-N, Le Pennec P-Y, Rouger P. Allo-immunisation anti-érythrocytaire. *Transfus Clin Biol.* déc. 2012 ;19(6) :321-32.
74. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Fiche technique allo-immunisation isolée. 2012.
75. Jean Paul FERMAND Thomas PAPO. Cytopénies auto-immunes Anémie hémolytique auto-immune (AHAI) & purpura thrombopénique « idiopathique » (PTI) [Internet]. Disponible sur: <https://slideplayer.fr/slide/1186678>.
76. Aguiyah Vianou F, Aguiyah Vianou B. Contribution a étude de l'allo immunisation post-transfusionnelle chez les patients transfusés à Cotonou Bénin [thèse]. Université d'Abomey-Calavi.Bénin ;2006.
77. D'Ercole C. Allo-immunisation fœto-maternelle érythrocytaire. EMC, Paris (Elsevier Masson SAS), Gynécologie/Obstétrique 2009 ; 5-020-A-20.
78. Guinchard E, Bricca P, Monnier S, Rigal D. RHD fœtal sur plasma maternel : validation de méthode sur 200 patientes. *Transfus Clin Biol.* mars 2014 ;21(1) :1-14.
79. Mayne K, Allen D, Bowell P. "Partial D" women with anti-D alloimmunization in pregnancy. *Clin Lab Haematol* 1991;13:239-44.
80. Clarke DG. GUIDE DE LA PRATIQUE TRANSFUSIONNELLE. 2018;13.
81. La Maladie Hémolytique du Nouveau-Né (MHNN) est la conséquence des anticorps d'origine maternelle. 23 août 2011 ; Disponible sur : <https://www.toutsurlatransfusion.com/immuno-hematologie/sources.php>
82. Vallotton T. Prévention, suivi et prise en charge de la femme enceinte allo-immunisée en Lorraine : le point en 2011. :135.
83. Roselyne L'Italien. Antigènes et anticorps du système ABO [Internet]. 2008. 568 p. Disponible sur: <https://monde.ccdmd.qc.ca/ressource/?id=55960&demande=desc>.

84. Bruno Danic. LA SELECTION DES DONNEURS DE SANG ET LA SI CURITI TRANSFUSIONNELLE. Elsevier Fr. sept 2003;(355):4.
85. Don de sang: une baisse de 9% durant le 1er semestre 2020. 23 oct 2020; Disponible sur: <https://www.aps.dz/sante-science-technologie/111618-don-de-sang-une-baisse-de-9-durant-le-1er-semestre-2020>)
86. Med OuldKada. Transfusion Sanguine. Collection Textes Réglementaires sur la Santé en Algérie. ; 2016.
87. 83. IMMUNO-HÉMATOLOGIE ET GROUPES SANGUINS. [Internet]. BIOFORMA. Bioforma; 2002. 177 p. Disponible sur: <https://lesbiologistesmedicaux.fr/images/cahiers/2002-Bioforma-26-Immuno-h%C3%A9matologie%20et%20groupes%20sanguins>.
88. Agence Française du Sang (AFS) R pour la pratique clinique. INDICATIONS ET CONTRE-INDICATIONS DES TRANSFUSIONS DE PRODUITS SANGUINS LABILES. 1997.
89. Damiat J. Importance du questionnaire préalable au don du sang et conseils à l'officine. : 141.
90. Sylvie Ducatteau. Santé. Du sang pollué pendant mille jours par des machines folles. 12 oct. 2018 ; Disponible sur : <https://www.humanite.fr/sante-du-sang-pollue-pendant-mille-jours-par-des-machines-folles-662096>
91. Bierling P. Transfusion de concentrés plaquettaires. Transfus Clin Biol. mai 2009 ;16(2) :190-4.
92. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé, TRANSFUSION DE PLASMA THÉRAPEUTIQUE : PRODUITS, INDICATIONS [Internet]. Haute autorité de santé ; 2012. Disponible sur : https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2012-06/12irp07_reco_transfusion_de_plasma.
93. JY Muller. Transfusion sanguine : Produits sanguins labiles. Elsevier Masson SAS, EMC 2011 ; 13 :10
94. DERROU Sara. L'impasse transfusionnelle. [rabat]: UNIVERSITE MOHAMED V; 2011.
95. Croix rouge Belgique. EN SAVOIR PLUS SUR LE SANG LES GROUPES SANGUINS Lors d'une transfusion, il est important que le groupe sanguin du donneur soit compatible avec celui du receveur. Disponible sur: <https://www.donneurdesang.be/fr/en-savoir-plus-sur-le-sang/les-groupes-sanguins>.

96. J.P.Lévy, B. Varet, J.-P.Claudel, F.Lefrère, A.Bezeaud, M.-C. Guilin Hématologie et transfusion. Deuxième édition, MASSON 2008.
97. C. TROPHILME, J. KLAREN Institut national de la transfusion sanguine Les cinq étapes du processus transfusionnel, Mars 2007.
98. Riou B. Autotransfusion des hémothorax. In: Carli P et coll. Urgences Médicochirurgicales de l'adulte lke edition. Paris : Arnette Ed. ; 1991 .p. 13 13-1 4.
99. Khoulood Mezzat. Les Examens immunohématologiques au centre de transfusion sanguine: Expérience de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech [thèse]. Université Cadi Ayyad faculté de medecine et de pharmacie - Marakkech ; 2021.

100. Taouli KA. Évaluation de la recherche du phénotype D faible chez les donneurs de sang : expérience du centre de transfusion sanguine, CWS Tlemcen (Algérie). Transfus Clin Biol. 2017 ;2.
101. Khachaa.B, El Horri.M, Berrah.A, Chikh.K, Benmahdi.L. La recherche de phénotype D faible chez une population de donneurs de sang militaires : Première expérience documentée de la banque du sang de l'Hôpital militaire régional universitaire d'Oran. 2019 ;6(2) :923-7.
102. Ouchari M, Srivastava K, Romdhane H, Yacoub SJ, Flegel WA. Transfusion strategy for weak D Type 4.0 based on RHD alleles and RH haplotypes in Tunisia. :7.
103. Kabiri Z. Prévalence du phénotype Rh D faible chez les donneurs de sang Rh D négatif au Maroc. :3.
104. Opoku-Okrah C, Amidu N, Amoah-Sakyi S. DETECTION OF WEAK D (Du) PHENOTYPE AMONG Rh-D NEGATIVE MALES AND FEMALES IN KUMASI, GHANA : 7.
105. Githiomi R, Kuria KM. PREVALENCE OF WEAK RhD PHENOTYPE in the blood donor population of Nairobi Regional Blood Transfusion Centre - Kenya. 2016; 18(2): 3
106. Maryam DU. High prevalence of serological weak D phenotype and preponderance of weak D type 4.0.1. genetic variant in a Nigerian population: implications for transfusion practice in a resource-limited setting : 6.
107. Mak KH, Yan KF, Cheng SS, Yuen MY. Rh phenotypes of Chinese blood donors in Hong Kong, with special reference to weak D antigens. Transfusion 1993; 33: 348-51.

108. Usman M, Rizwan M, Waheed U, Saboor M, Anjum S. PREVALENCE OF WEAK 'D' ANTIGEN IN PAKISTANI POPULATION : 5.
109. Lamba HS1, Kaur K2, Kaur K3, Vij AS4. Prevalence of Weak D (Du) in blood donors in a referral teaching hospital. 2017.
110. Jeong D, Oh S, Song EY, Hong YJ, Park KU. Molecular Characteristics of the Serological Weak D Phenotype in Koreans. 2021; 10.
111. Lt Col PS DHOT., Col YV MACHAVE +. STUDY OF WEAK D PHENOTYPE IN HETEROGENEOUS POPULATION. 1998; 54 (4).
112. Ryhan R, Handoo S, Reshi R. Prevalence of Weak D among Blood Donors at a Tertiary Care Hospital in Srinagar, Kashmir. 2015; 6 (6):4.
113. Saqlain DrN, Ahmed DrA, Fateen DrT, Ahmed DrN. D ANTIGEN; CHANCES OF FINDING WEAK D ANTIGEN AND RE-EVALUATION OF ITS CLINICAL SIGNIFICANCE AS A ROUTINE BLOOD BANK PROCEDURE. Prof Med J. 1 nov 2016; 23 (11): 1395-9.
114. MARCELA CONTRERAS, MD, MRCPATH & ROBIN C. KNIGHT, FIMLS. The Rh-negative donor. 21 juill. 1989.

Annexes

Annexe I

MONOCLONAL BLOOD GROUPING REAGENTS.



DIRECTIONS FOR USE

Anti-D Duoclon Monoclonal:

For Tube, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, Microplate and Slide Techniques.

SUMMARY

The Rh blood group system was discovered in 1940. The D antigen is the most clinically significant non-ABO red blood cell antigen and has been implicated in causing Haemolytic Transfusion R reactions and Haemolytic Disease of the Newborn.

Anti-D	Phenotype	Caucasians % ¹	Afro-Americans % ²
+	Rh D +ve	83	92
0	Rh D -ve	17	8

INTENDED PURPOSE

The Anti-D reagents are blood grouping reagents intended to be used to qualitatively determine the presence or absence of the Rh D antigen on the red cells of blood donors or patients requiring a blood transfusion when tested in accordance with the recommended techniques stated in this IFU.

PRINCIPLE

The reagents contain antibodies against the D antigen on human red cells and will cause direct agglutination (clumping) of human red cells that carry the D antigen and indirect agglutination of human red cells that are Category D^a in the antiglobulin phase of testing. No agglutination (no clumping) generally indicates the absence of the D antigen on human red cells (see **Limitations**).

REAGENT

Lorne Monoclonal Anti-D Duoclon blood grouping reagent is a low protein, blended reagent containing a human monoclonal IgM and IgG anti-D, diluted in a phosphate buffer containing sodium chloride (0.9 g%), bovine albumin (2.0 g%) and macromolecular potentiators (1.5 g%). When typing patient samples, this reagent will directly agglutinate Rh D positive cells, including majority of variants (but not D^a) and a high proportion of weak D (D^w) phenotypes when using the recommended techniques. The reagents do not contain or consist of CMR substances, or endocrine disrupting substances or that could result in sensitisation or an allergic reaction by the user. The reagent is supplied at optimal dilution for use on patient samples with all recommended techniques stated below without need for further dilution or addition. For lot reference number and expiry date see Vial Label.

IgM / IgG	Cell Line / Clone
IgM	RUM-1
IgG	MS-26

WEAKENED EXPRESSION OF THE RhD ANTIGEN

The collective term D^a is widely used to describe red cells which have a weaker expression of the D antigen than normal. The term weak D denotes individuals with a reduced number of complete D antigen sites per red cell. The term partial D denotes individuals with missing D antigen epitopes. D^a is a partial D category which misses most D epitopes. Duoclon reagent will detect most examples of partial and weak D red cells by direct agglutination, but will not detect D^a cells. This reagent will detect D^a and partial D cells in the IAT phase.

STORAGE

Reagent vials should be stored at 2 - 8°C on receipt. Prolonged storage at temperatures outside this range may result in accelerated loss of reagent reactivity. This reagent has undergone transportation stability studies at 37°C and -25°C as described in document BS EN ISO 23640:2015.

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

Blood samples can be collected into EDTA, citrate, CPDA anticoagulant or as a clotted sample. The samples should be tested as soon as possible following collection. If a delay in testing should occur, store the samples at 2-8°C. Samples displaying gross haemolysis or microbial contamination should not be used for testing. Blood samples showing evidence of lysis may give unreliable results. It is preferable (but not essential) to wash all blood samples with PBS or isotonic saline before being tested.

PRECAUTIONS

- The reagent is intended for in vitro diagnostic use only.
- If a reagent vial is cracked or leaking, discard the contents immediately.
- Do not use the reagent past the expiration date (see Vial Label).
- Do not use the reagent if a precipitate is present.
- Protective clothing should be worn when handling the reagents, such as disposable gloves and a laboratory coat.
- The reagent has been filtered through a 0.2 µm capsule to reduce the bio-burden, but is not supplied sterile. Once a vial has been opened the contents should remain viable up until the expiry date as long as there is no marked turbidity, which can indicate reagent deterioration or contamination.
- The reagent contains <0.1% sodium azide. Sodium azide may be toxic if ingested and may react with lead and copper plumbing to form explosive metal azides. On disposal flush away with large volumes of water.
- Materials used to produce the reagent were tested at source and found to be negative for HIV 1 + 2 and HCV antibodies and HBsAg using approved microbiological tests.

- No known tests can guarantee that products derived from human or animal sources are free from infectious agents. Care must be taken in the use and disposal of each vial and its contents.

DISPOSAL OF REAGENT AND DEALING WITH SPILLAGES

For information on disposal of the reagent and decontamination of a spillage site see Material Safety Data Sheets, available on request.

CONTROLS AND ADVICE

- It is recommended that a positive control (ideally R1r cells) and a negative control (ideally rr cells) be tested in parallel with each batch of tests. Tests must be considered invalid if controls do not show expected results.
- When typing red cells from a patient who is diagnosed with a disease that causes the red cells to become coated with antibody or other proteins (such as HDN, AIHA), it is important to test the patient's red cells using Lorne's reagent negative control (Monoclonal D Negative Control, catalogue # 650010). Tests must be considered invalid if red cells are agglutinated using Lorne's Monoclonal D Negative Control (catalogue # 650010).
- Test samples for category D^a determination by the Indirect Antiglobulin Test, Coombs Bio-Rad-ID and Coombs Ortho BioVue Techniques only.
- Weak and variant D antigens are poorly detected by gel card, microtitre plate and slide techniques. It is recommended that weak and partial variants are tested using the tube test technique.
- The antiglobulin tube technique can only be considered valid if all negative tests react positively with IgG sensitised red cells.
- Before use, let the reagent warm up to room temperature. As soon as the reagent has been used, put the reagent back in storage at 2-8°C.
- In the Recommended Techniques one volume is approximately 50µl when using the vial dropper provided.
- The use of the reagent and the interpretation of results must be carried out by properly trained and qualified personnel in accordance with the requirements of the country where the reagents are in use.
- The user must determine suitability of reagents for use in other techniques.

REAGENTS AND MATERIALS REQUIRED

- Anti-human globulin e.g. Lorne AHG Elite (Cat # 435010) or Anti-Human IgG e.g. Lorne Anti-Human IgG (Cat # 402010).
- Applicator sticks.
- Automatic plate reader.
- Coombs cell washer.
- Bio-Rad ID-Cards (LISS/Coombs) and (NaCl, enzyme test and cold agglutinins).
- Bio-Rad ID-Centrifuge.
- Bio-Rad ID-CellStab or ID-Diluent 2.
- Bio-Rad ID-Incubator equilibrated to 37°C ± 2°C.
- Glass microscope slides or white card tiles.
- Glass test tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- IgG sensitised red cells e.g. Lorne Coombs Control Cells (Cat # 970010).
- Microplate centrifuge.
- Ortho BioVue System Cassettes (AHG/Coombs) and (Neutral).
- Ortho BioVue System Centrifuge.
- Ortho BioVue System Heat Block equilibrated to 37°C ± 2°C.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluent.
- Plate shaker.
- PBS solution (pH 6.8-7.2) or isotonic saline solution (pH 6.5-7.5).
- Positive (ideally R_{1r}) and negative (rr) control red cells.
- Test tube centrifuge.
- Validated "U" well microplates.
- Volumetric pipettes.
- Water bath or dry heat incubator equilibrated to 37°C ± 2°C.

RECOMMENDED TECHNIQUES (NOT CATEGORY D^a)

A. Tube Technique

- Prepare a 2-3% suspension of red cells in PBS or Isotonic saline.
- Place in a labeled test tube: 1 volume of Lorne Duoclon reagent and 1 volume of red cell suspension.
- Mix thoroughly and centrifuge all tubes for 20 seconds at 1000 rcf or for a suitable alternative time and force.
- Gently resuspend red cell button and read macroscopically for agglutination.
- Any tubes, which show a negative or questionable result (which can happen with D^a or weak D samples), should be incubated for 15 minutes at room temperature.
- Following incubation, repeat steps 3 and 4.

B. Bio-Rad-ID Technique (NaCl, enzyme test and cold agglutinins cards)

- Prepare a 0.8% suspension of red cells in ID-CellStab or ID-Diluent 2.
- Remove aluminium foil from as many microtubes as needed.
- Place in appropriate microtube: 50µl test red cell suspension and 25µl Lorne Duoclon reagent.
- Centrifuge the ID-Card(s) in a Bio-Rad gel card centrifuge.
- Read macroscopically for agglutination.

C. Ortho BioVue Technique (Neutral cards)

1. Prepare a 0.8% suspension of red cells in 0.8% Ortho Red Cell Diluent
2. Remove aluminium foil from as many reaction chambers as needed.
3. Place in appropriate reaction chamber: 50µl of red cell suspension and 40µl of Lorne Duoclon reagent.
4. Centrifuge cassette(s) in an Ortho BioVue System Centrifuge.
5. Read macroscopically for agglutination.

D. Microplate Technique, using "U" wells

1. Prepare a 2-3% suspension of red cells in PBS or Isotonic saline.
2. Place in the appropriate well: 1 volume of Lorne Duoclon reagent and 1 volume of red cell suspension.
3. Mix thoroughly, preferably using a microplate shaker, taking care to avoid cross-well contamination.
4. Incubate at room temperature for 15 minutes (time dependant on user).
5. Centrifuge the microplate for 1 minute at 140 rcf or for a suitable alternative time and force.
6. Resuspend the cell buttons using carefully controlled agitation on a microplate shaker
7. Read macroscopically or with a validated automatic reader.
8. Any weak reactions should be repeated by the tube technique.

E. Slide Technique

1. Prepare a 35-45% suspension of red cells in serum, plasma or PBS or Isotonic saline or use anti-coagulated whole blood (in it's own plasma).
2. Place on a labelled glass slide or card tile: 1 volume of Lorne Duoclon reagent and 1 volume of red cell suspension.
3. Using a clean applicator stick, mix reagent and cells over an area of about 20 x 40 mm.
4. Slowly tilt the slide back and forth for 30 seconds, with occasional further mixing during the 1 minute period, maintaining slide at room temperature.
5. Read macroscopically after 1 minute over a diffuse light and do not mistake fibrin strands as agglutination.
6. Any weak reactions should be repeated by the tube technique.

RECOMMENDED TECHNIQUES (TO DETECT CATEGORY D*)

A. Indirect Antiglobulin Technique (IAT)

1. Prepare a 2-3% suspension of red cells in PBS or Isotonic saline.
2. Place in a labelled test tube: 1 volume of Lorne Duoclon and 1 volume of red cell suspension.
3. Mix thoroughly and incubate at 37°C for 15 minutes.
4. Wash red cells at least once with PBS or Isotonic saline, taking care to decant saline between washes and resuspend each cell button after each wash. Completely decant saline after last wash.
5. Add 2 drops of AHG or anti-IgG to each dry cell button.
6. Mix thoroughly and centrifuge all tubes for 20 seconds at 1000 rcf for a suitable alternative time and force.
7. Resuspend each cell button and read macroscopically.
8. Confirm validity of all negative reactions with IgG sensitised red cells.

B. Bio-Rad-ID Technique (LISS/Coombs cards)

1. Prepare 0.8% suspension of red cells in ID-CellStab or ID-Diluent 2.
2. Remove aluminium foil from as many microtubes as needed.
3. Place in appropriate microtube: 50µl of red cell suspension and 25µl of Lorne Duoclon.
4. Incubate the ID-Card(s) for 15 minutes at 37°C.
5. Centrifuge the ID-Card(s) in a Bio-Rad gel card centrifuge.
6. Read macroscopically for agglutination.

C. Ortho BioVue Technique (AHG/Coombs cards)

1. Prepare a 0.8% suspension of red cells in 0.8% Ortho Red Cell Diluent.
2. Remove aluminium foil from as many reaction chambers as needed.
3. Place in appropriate reaction chamber: 50µl of red cell suspension and 40µl of Lorne Duoclon.
4. Incubate the cassette(s) for 15 minutes at 37°C.
5. Centrifuge cassette(s) in an Ortho BioVue System Centrifuge.
6. Read macroscopically for agglutination.

INTERPRETATION OF TEST RESULTS

1. Positive: Agglutination of the red cells constitutes a positive test result and within accepted limitations of test procedure, indicates the presence of the D antigen on the test red cells.
2. Negative: No agglutination of the red cells constitutes a negative result and within the accepted limitations of the test procedure, indicates the absence of the D antigen on the test red cells.
3. Test results of cells that are agglutinated using the reagent negative control shall be excluded, as the agglutination is most probably caused by the effect of the macromolecular potentiators in the reagent on sensitised cells.

STABILITY OF THE REACTIONS

1. Read all tube and microplate tests immediately after centrifugation.
2. Complete washing steps without interruption and centrifuge and read tests immediately after addition of anti-human globulin because delays may result in dissociation of antigen-antibody complexes, leading to false negative or

weak positive reactions.

3. Slide tests should be interpreted after a maximum of 1 minute to ensure specificity and to avoid the possibility a negative result may be incorrectly interpreted as positive due to drying of the reagent.
4. Caution should be exercised in the interpretation of results of tests performed at temperatures other than those recommended.

LIMITATIONS

1. Lorne Anti-D is not suitable for use with enzyme treated cells or cells suspended in LISS.
2. The use of solutions for making red cell suspensions other than those described in the "Recommended Techniques" sections in the document must be validated prior to use. Some solutions may give rise to false positive or false negative reactions.
3. Stored blood may give weaker reactions than fresh blood.
4. False positive agglutination may be seen when testing IgG sensitised cells.
5. False positive or false negative results may also occur due to:
 - Contamination of test materials
 - Improper storage, cell concentration, incubation time or temperature
 - Improper or excessive centrifugation
 - Deviation from the recommended techniques

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. Prior to release, each lot of Lorne Anti-D Duoclon monoclonal reagent was tested using the recommended test methods listed in this IFU. The tests complied with the test requirements as stated in the current version/issue of the "Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom" and the "Common Technical Specifications".
2. Specificity of source monoclonal antibodies is demonstrated using a panel of antigen-negative cells.
3. The potency of the reagent has been tested against the following minimum potency reference standard obtained from National Institute of Biological Standards and Controls (NIBSC): Anti-D reference 99/836.
4. The Quality Control of the reagent was performed using red cells with phenotypes that were verified by a UK blood transfusion centre and had been washed with PBS or isotonic saline prior to use.

DISCLAIMER

1. The user is responsible for the performance of the reagent by any method other than those mentioned in the Recommended Techniques.
2. Any deviations from the Recommended Techniques should be validated prior to use⁸.

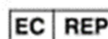
BIBLIOGRAPHY

1. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
2. AABB Technical Manual, 16th Edition, AABB 2008.
3. Marion E. Reid and Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens and Antibodies, SBB Books, New York 2007, Page 192.
4. Jones J, Scott ML, Voak D. Monoclonal anti-D specificity and Rh D structure: criteria for selection of monoclonal anti-D reagents for routine typing of patients and donors. Transfusion Medicine 1995, 5, 171-184
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002, The Stationery Office.
6. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

AVAILABLE REAGENT SIZES

Vial Size	Catalogue Number	Tests Per Vial
10 ml	740010	200
1000 ml	740000*	20,000
5000 ml	740000X5*	100,000

*This size is for Further Manufacturing Use (FFMU) only and is therefore not CE marked.



Advena Ltd, Tower Business Centre, 2nd Floor, Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta



Lorne Laboratories Limited

Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate, Danehill, Lower Earley, Berkshire RG6 4UT United Kingdom

Tel: +44 (0) 118 921 2264 Fax: +44 (0) 118 966 4518 Email: info@lornelabs.com www.lornelabs.com

Annexe II

ANTI-HUMAN GLOBULIN (AHG)



DIRECTIONS FOR USE

AHG Elite (Clear or Green): For Antiglobulin Techniques.

SUMMARY

In 1945, Coombs, Mourant and Race described the use of anti-human globulin serum for detecting red cell-bound non-agglutinating antibodies. In 1957, Dacie et al showed that the antibodies present in antiglobulin sera were directed against certain components of complement. Anti-human globulin reagents detect non-agglutinating antibody molecules as well as molecules of complement attached to red cells following in vivo or in vitro antigen-antibody reactions.

INTENDED PURPOSE

These reagents are polyspecific blood grouping reagents intended to be used to qualitatively detect the presence or absence of sensitising IgG antibodies (all 4 subclasses) and complement factors C3d and C3b on human red cells when tested in accordance with the recommended techniques stated in this IFU.

PRINCIPLE

The reagents contain antibodies against human IgG antibodies and C3 complement factors (C3d and C3b) on human red cells and will cause direct agglutination (clumping) of red cells that are sensitised with human IgG antibodies and/or C3 complement factors (C3d and C3b). No agglutination generally indicates the absence of sensitising human IgG antibodies and C3 complement factors (C3d and C3b) on human red cells (See **Limitations**).

REAGENT

Lorne AHG Elite Clear and AHG Elite Green reagents contain anti-IgG derived from rabbits with non-specific activity removed by adsorption and mouse monoclonal IgM anti-C3d, Clone BRIC-8. The antibodies are diluted in a buffered solution containing bovine albumin. The reagents do not contain or consist of CMR substances, or endocrine disrupting substances or that could result in sensitisation or an allergic reaction by the user. Each reagent is supplied at optimal dilution, for use with all the recommended techniques stated below without need for further dilution or addition. For lot reference number and expiry date see Vial Label.

Reagent	Cell Line/Clone	Colour	Dye Used
AHG Elite Clear	Rabbit Anti-Human IgG BRIC-8 (Anti-C3d)	Colourless	None
AHG Elite Green	Rabbit Anti-Human IgG BRIC-8 (Anti-C3d)	Green	Patent Blue and Tartrazine

STORAGE

Reagent vials should be stored at 2 - 8°C on receipt. Prolonged storage at temperatures outside this range may result in accelerated loss of reagent reactivity. This reagent has undergone transportation stability studies at 37°C and -25°C as described in document BS EN ISO 23640:2015.

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

Samples should be drawn aseptically into EDTA to prevent in vitro complement binding and tested as soon as possible. If EDTA is unavailable, samples drawn into ACD, CPD or CPDA-1 are preferable to clotted ones. If only clotted samples are available, do not refrigerate them before testing.

PRECAUTIONS

1. The reagents are intended for in vitro diagnostic use only.
2. If a reagent vial is cracked or leaking, discard the contents immediately.
3. Do not use the reagents past the expiration date (see Vial Label).
4. Do not use the reagents if a precipitate is present.
5. Protective clothing should be worn when handling the reagents, such as disposable gloves and a laboratory coat.
6. The reagents have been filtered through a 0.2 µm capsule to reduce the bio-burden, but are not supplied sterile. Once a vial has been opened the contents should remain viable up until the expiry date as long as there is no marked turbidity, which can indicate reagent deterioration or contamination.
7. The reagents contain < 0.1% sodium azide. Sodium azide may be toxic if ingested and may react with lead and copper plumbing to form explosive metal azides. On disposal flush away with large volumes of water.
8. Materials used to produce the products were tested at source and found to be negative for HIV 1 +2 and HCV antibodies and HBsAg using approved microbiological tests.
9. No known tests can guarantee that products derived from human or animal sources are free from infectious agents. Care must be taken in the use and disposal of each vial and its contents.

DISPOSAL OF REAGENT AND DEALING WITH SPILLAGES

For information on disposal of the reagents and decontamination of a spillage site see Material Safety Data Sheets, available on request.

CONTROLS AND ADVICE

1. It is recommended a positive control (weak Anti-D < 0.1 IU/ml) and a negative control (an inert serum) be tested in parallel with each batch of tests. Tests must be considered invalid if controls do not show expected results.
2. The antiglobulin techniques can only be considered valid if all negative tests react positively with IgG sensitised red cells.

3. Before use, let the reagent warm up to room temperature. As soon as the reagent has been used, put the reagent back in storage at 2-8°C.
4. In the Recommended Techniques one volume is approximately 50µl when using the vial dropper provided.
5. Use of the reagents and the interpretation of results must be carried out by properly trained and qualified personnel in accordance with requirements of the country where the reagents are in use. User must determine the suitability of the reagents for use in other techniques.

REAGENTS AND MATERIALS REQUIRED

- Coombs cell washer.
- Glass test tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- IgG sensitised red cells e.g. Lorne Coombs Control Cells (Cat # 970010).
- Inert antibody e.g. Lorne Inert AB Serum (Cat # 110010).
- Low Ionic Strength Solution (LISS): Containing 0.03M NaCl, 0.003M Na2HPO4: NaH2PO4 buffer pH 6.7 at 22°C ± 1°C and 0.24M glycine.
- PBS solution (pH 6.8-7.2) or Isotonic saline solution (pH 6.5-7.5).
- Volumetric pipettes.
- Water bath or dry heat incubator equilibrated to 37°C ± 2°C.
- Weak anti-D e.g. Lorne Precise Weak Anti-D (Cat # 209005).

RECOMMENDED TECHNIQUES

A. Direct Antiglobulin Technique (DAT)

1. Wash 1 volume of red cells (2-3% suspension in PBS or isotonic saline) 4 times with PBS or isotonic saline, taking care to decant saline between washes and resuspend each cell button after each wash. Completely decant saline after last wash.
2. Add 2 volumes of Lorne AHG Elite to each dry cell button.
3. Mix thoroughly and centrifuge all tubes for 20 seconds at 1000 rcf or for a suitable alternative time and force.
4. Gently resuspend red cell button and read macroscopically for agglutination.

B. Indirect Antiglobulin Technique (NISS IAT)

1. Prepare a 2-3% suspension of red cells in PBS or isotonic saline.
2. Place in a labelled test tube: 2 volumes of test serum and 1 volume of red cell suspension.
3. Mix thoroughly and incubate at 37°C for 15 minutes.
4. Wash red cells 4 times with PBS or isotonic saline, taking care to decant saline between washes and resuspend each red cell button after each wash. Completely decant saline after last wash.
5. Add 2 volumes of Lorne AHG Elite to each dry cell button.
6. Mix thoroughly and centrifuge all tubes for 20 seconds at 1000 rcf or for a suitable alternative time and force.
7. Gently resuspend red cell button and read macroscopically for agglutination.

C. LISS Indirect Antiglobulin Technique (LISS IAT)

1. Prepare a 1.5-2% suspension of red cells in LISS.
2. Place in a labelled test tube: 2 volumes of test serum and 2 volumes of red cell suspension.
3. Mix thoroughly and incubate at 37°C for 15 minutes.
4. Follow steps 4 to 7 of NISS IAT above.

INTERPRETATION OF TEST RESULTS

1. Positive: Agglutination of test red cells constitutes a positive test result and within the accepted limitations of the test procedure, indicates the presence of IgG and/or complement (C3d/C3b) on the red cells.
2. Negative: No agglutination of the test red cells constitutes a negative result and within the accepted limitations of the test procedure, indicates the absence of IgG and complement (C3d/C3b) on the red cells.

STABILITY OF THE REACTIONS

1. Washing steps should be completed without interruption and tests centrifuged and read immediately after addition of the reagent. Delays may result in dissociation of antigen-antibody complexes, causing false negative or weak positive results.
2. Caution should be exercised in the interpretation of results of tests performed at temperatures other than those recommended.

LIMITATIONS

1. Red cells that have a positive DAT due to a coating of IgG cannot be typed by the Indirect Antiglobulin Techniques.
2. A positive DAT due to complement sensitisation may not reflect in vivo complement fixation if test cells are from a refrigerated clotted specimen.
3. Inadequate washing of red cells in the indirect antiglobulin techniques may neutralise the AHG reagent.
4. Following completion of the wash phase excess residual saline may dilute the AHG Elite, reducing its potency.
5. A negative direct antiglobulin test result does not necessarily preclude clinical diagnosis of ABO Haemolytic Disease of the Newborn or Auto Immune Haemolytic Anaemia. It also does not necessarily rule out HDN, especially if ABO incompatibility is suspected.
6. False positive or false negative results may also occur due to:

- Contamination of test materials
- Improper storage, cell concentration, incubation time or temperature
- Improper or excessive centrifugation

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. Prior to release, each lot of the reagents were tested using the recommended test methods listed in this IFU against red cells coated with Anti-D, Anti-K and Anti-FyA to check suitable reactivity. The tests complied with the test requirements as stated in the current version/issue of the 'Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom'.
2. The anti-IgG and anti-C3d potencies have been tested against the following minimum potency reference standard obtained from the National Institute of Biological Standards and Controls (NIBSC): Anti-AHG reference standard 96/666
3. Anti-C3d potency is demonstrated in tests employing cells coated with C3d and C3b.
4. The presence of contaminating heterospecific agglutinins or antibodies to C4d has been excluded in tests employing red cells of all ABO groups and cells coated with C4d.
5. The reactivity of any Anti-IgM, Anti-IgA or Anti-light chain components that might be present has not been established.
6. The Quality Control of the reagents was performed using red cells with phenotypes that were verified by a UK blood transfusion centre and had been washed with PBS or Isotonic saline prior to use.

DISCLAIMER

1. The user is responsible for the performance of the reagents by any method other than those mentioned in the Recommended Techniques.
2. Any deviations from the Recommended Techniques should be validated prior to use¹².

BIBLIOGRAPHY

1. Voak D, Downie DM, Moore BPL, and Engelfreit CP. Anti-Human Globulin reagent specification. The European and ISBT/ICSH View. *Biotest Bulletin* 1; 7-22 (1986).
2. The Department of Health and Social Security. Health Services Management. *Antiglobulin Test. False negative results, HN (Hazard)* (83) 625 Nov 1983.
3. Bruce M, Watt AH, Hare W, Blue A, Mitchell R. A serious source of error in antiglobulin testing. *Transfusion* 1986; 26: 177-181.
4. Voak D, Downie DM, Moore BPL, Ford DS, Engelfreit CP, Case J. Replicate tests for the detection and correction of errors in anti-human globulin (AHG) tests: optimum conditions and quality control. *Haematologia* 1988; 21(1): 3-16.
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. 6th Edition 2002. The Stationery Office.
6. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. *Transfusion Medicine*, 1995, 5, 145-150.

AVAILABLE REAGENT SIZES

	Vial Size	Catalogue Number	Test Per Vial
Lorne AHG Elite	10 ml	415010	100
(Clear)	1000 ml	415000*	10,000
Lorne AHG Elite	10 ml	435010	100
(Clear)	1000 ml	435000*	10,000

*These sizes are For Further Manufacturing Use (FFMU) only and are therefore not CE marked.



Advena Ltd, Tower Business Centre, 2nd Floor, Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta



LORNE
LABORATORIES



Lorne Laboratories Limited

Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate, Danehill, Lower Earley, Berkshire RG6 4UT United Kingdom

Tel: +44 (0) 118 921 2264 Fax: +44 (0) 118 986 4518 Email: info@lornelabs.com www.lornelabs.com

QUESTIONNAIRE MEDICAL DU DONNEUR DE SANG PAR APHERESE

IDENTIFICATION DONNEUR : DATE :/...../.....

NOM, PRENOM : NUMERO DU DON
(Coller l'étiquette)

NOM DE JEUNE FILLE :

NE(e) le :

ADRESSE DOMICILE :

TEL :

TYPES DE DONNEUR : 1^{er} DON OCCASIONNEL REGULIER COMPENSATION DATE DE DERNIER DON

BILAN PRE-DON

CS RH	PLAQUETTES	HT	HB	GLOBULES ROUGES	GLOBULES BLANCS
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Paramètre physiologique du donneur.

Poids (KG)	TAILLE (CM)	TA (mm Hg)
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Produit à collecter :

Plaquettes simple	Plasma simple	Plaquettes/plasma	AUTRES
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Type de machine

TRIMA ACCEL	MCS +	COM TEC	AMICUS	AUTRE
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Type de kit de prélèvement ; Réf ;

Lot ; type d'anticoagulant ;

Séances de prélèvement

Durée (mn)	Heure de début	Heure de don
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Donneur (valeur post don) ;

Vol sanguin total (ml)	Vol AC traité (ml)	Vol AC retourné au donneur (ml)	Tx pites	Tx HT
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Produits collectés :

produits	Volume produit (ml)	Volume anti coagulant (ml)	Taux (rendement)*10 ¹¹
Plaquettes	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Plasma	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
rouges	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Partie à remplir par le préleveur :

Incident- commentaire :

<input type="checkbox"/> Malaise	fourmillement
<input type="checkbox"/> Choc vagal	nausées
<input type="checkbox"/> Choc hypo volémie	gout métallique
<input type="checkbox"/> Convulsion	vomissement
<input type="checkbox"/> Hématome	sensation de froid
<input type="checkbox"/> Ponction artérielle accidentelle	crampes musculaire
<input type="checkbox"/> Saignement persistant	Autre

SIGNATURE DU MEDICIN

C.S.W

Date : [] / [] / []

Numéro d'identification du candidat au de sang : []

Nom (jeune fille) : []

Prénoms : []

Epouse de

[]

Né (e) le : []

à

[]

Etat civil : []

Adresse : []

Téléphone : []

Etat générale :

✓ Qualité de sommeil (manque de sommeil) : - - - - - Oui Non

✓ Conduite prolongée : - - - - - Oui Non

✓ Surmenage (études, sport, travail...) : - - - - - Oui Non

✓ Notion d'amaigrissement : - - - - - Oui Non

✓ Coloration cutanéo- muqueuse : - - - - - Oui Non

✓ Prise d'un léger repas : - - - - - Oui Non

✓ Grossesse : - - - - - Oui Non

✓ Date du dernier accouchement ou grossesse : []

Nombre de grossesse : []

✓ Allaitement : - - - - - Oui Non

✓ Menstruation : - - - - - Oui Non

Antécédents pathologiques : - - - - - Oui Non

✓ Acte chirurgical : subi ou prévu - - - - - Oui Non

Date : []

Type : []

Anesthésie générale ou locale : Oui Non

✓ Pathologies médicales :

. chronique : Oui Non préciser : []

. Aigue : Oui Non

Fièvre isolée : - - - - - Oui Non

✓ Traumatismes récents (AVP, plaie, fractures) : Oui Non

✓ Infection urinaire : - - - - - Oui Non

✓ Troubles digestifs (gastro- entérite) : - - - - - Oui Non

✓ Médicament - - - - - Oui Non

lesquels :

[]

[]

✓ Vaccination - - - - - Oui Non date : []

Préciser : []

✓ Transfusion sanguine : - - - - - Oui Non

✓ Acupuncture / inséiothérapie (HIJAMA) ou autre : Oui Non Date : []

✓ Soins dentaire - - - - - Oui Non Type : []

Date : []

✓ Endoscopie : - - - - - Oui Non Date : []

Aptitude au don de sang : - - - - - Oui Non

Contre-indication définitive : - Raison : []

Contre-indication temporaire : []

Durée []

Identité du médecin de collecte et signature []

[]

Résumé

Le but de cette étude est de déterminer la fréquence de l'antigène rhésus standard D faible chez la population de donneurs de sang rhésus négatif collectée au CWTS de la région de Tizi-Ouzou. Il s'agit d'une étude transversale exhaustive à visée descriptive d'une durée de sept mois, du 1^{er} Février au 31 Aout 2021. La recherche de l'antigène D faible sur les 1846 échantillons de sang a été effectuée par une technique sérologique qui est le test indirect à l'antiglobuline, réalisé sur tubes. Parmi les donneurs étudiés, 34 avait l'antigène D faible, soit une fréquence de 1.84 % dont 31 de sexe masculin (91.2%) et 3 de sexe féminin (8.8%), appartenant à plusieurs tranches d'âge 18-25 ans, 26-35 ans, 36-45 ans, 46-55 ans et 56-65 ans. Par ailleurs, les donneurs de groupe A, O, B et AB ont respectivement une fréquence de l'Ag D faible de 41.2 %, 38.2 %, 17.6% et 2.9 %. La recherche et détection de l'antigène D faible doit être systématique chez tout donneur de sang rhésus négatif. Cette détection est devenue une exigence pré-transfusionnelle importante pour assurer une sécurité transfusionnelle adéquate et efficace afin d'éviter la formation d'anticorps anti D chez le receveur.

Mots clés : Donneurs de sang, antigène D faible, rhésus négatif.

Abstract

The aim of this study is to determine the frequency of weak D antigen in the population of RH negative blood donors collected at Tizi-Ouzou's blood transfusion center. This is a seven-months descriptive cross-sectional exhaustive study from February 1 to August 31, 2021. The detection of weak D antigen in 1846 samples was based on a serological technique which is "the indirect antiglobulin test" carried out on tubes. Among the donors studied, 34 had weak D antigen, that is 1.84 % including 31 males (91.2%) and 3 females (8.8%), belonging to several age groups 18-25 years, 26-35 years, 36-45 years, 46-55 years et 56-65 years. Furthermore, group O, A, B and AB donors have a weak D antigen frequency of 41.2 %, 38.2 %, 17.6 % and 2.9 %, respectively. The detection of weak D antigen in rhesus negative blood donors must be systematic. This detection has become an important pre-transfusion requirement to ensure adequate and effective transfusion safety to prevent the formation of anti-D antibodies in the recipient.

Key words : Blood donors, weak D antigen, rhesus negative.