



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE^E
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine Faculté des
Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire
Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme
de Master Domaine : Sciences de la
Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : *Biochimie de la nutrition et santé*

Intitulé :

Place de certains marqueurs biologiques dans la sécurité transfusionnelle

Présenté et soutenu par :

BAYAZA LAMIA

BOUDJADAR ASMA

Jury d'évaluation :

Président du jury : ZITOUNI. A

Rapporteur : HAFIA

Examineur : NECIB. Y

Année universitaire : 2017 /2018

****Remerciements****

Avant tout, louange à ALLAH le Tout Puissant de m'avoir aidé à réaliser ce travail.

*Nous remercions les plus sincères s'adressent à notre encadreur Pr **HAFI.A** qui nous a encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils, ses encouragements*

Nous remercions les membres du jury pour avoir accepté de juger notre travail:

Pr ZITOUNI.A et Pr NECIB.Y

Nous tenons également à remercier les personnes du laboratoire centre de transfusion sanguine(CTS)

*Nos gratitudes en particulier à **Dr HAFI.L** qui nous a encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils, ses encouragements*

Enfin nous présentons tous nos remerciements à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire par leurs connaissances et leurs conseils.

Merci



Dédicace

Tout d'abord louange a Allah qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long de mes études et m'inspiré les bons pas

Je dédie ce travail à mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance, j'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

A ma mère DALILA qui m'a épaulée durant toutes les années étudiantes et pour son soutien moral et ses sacrifices le long de ma formation.

A mon père MOSTEFA qui a été la lumière de ma vie.

A mon fiancé HICHEM

A mes sœurs : FATIMA ZOHRA, HASSINA.

A mes frères : ADEL ; BILEL ; ABD ELHAMID.

A mes nièces : RANIME, CHAHD.

A mes neveux : LOUAY, AMDJED, ADEM, et ABDERRAHMENE.

A mes tantes et mes oncles.

A mes chères cousines : NADJIA, CHAHRA, ZEINEB et AMIRA que dieu bénisse son âme et l'accueille dans son vaste paradis.

A toutes les membres de ma famille ; grands et petits.

A mes chères amies : SAFIA ; SOUAD ; KHAOULA ; INES, SAMIA ET ASMA

A mon binome « Asma » qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail et à sa famille.

Sans oublier mes braves amies de la promotion de Biochimie / nutrition moléculaire et santé.

Lamia

Dédicace

Tout d'abord louange a Allah qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long de mes études et m'inspiré les bons pas

Je dédie ce travail à mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance, j'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

A ma mère OUARDA qui m'a épaulée durant toutes les années étudiantes et pour son soutien moral et ses sacrifices le long de ma formation.

A mon père HACHEMI qui a été la lumière de ma vie.

A mes grands-parents.

A mes sœurs : AMEL, ASMAHEN, HANA, ILHEM.

A mes frères : DJALEL ; SAMI.

A mes nièces : DARINE, SIRINE, ASSILE, HADILE.

A mes neveux : RAMI, IMED, CHIHEB, et le petit AMDJED.

A mes tantes et mes oncles.

A mes chères cousines : MAHA, NESRINE et SARAH que dieu bénisse son âme et l'accueille dans son vaste paradis.

A toutes les membres de ma famille ; grands et petits.

A mes chères amies : NOUHA, HADJER, MANEL, ASMA, AMIRA, IMENE, NADJAH, KHADIDJA, NAHLA, KHAWLA et LYNA.

A mon binome « LAMIA » qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail et à sa famille.

Sans oublier mes braves amies de la promotion de Biochimie /nutrition moléculaire et santé.

Asma

Liste d'abréviation

Ac : Anticorps.

Ag: Antigène.

AND: Acide désoxyribonucléique.

ADNc: AND complémentaire.

ARN: Acide Ribonucléique.

ARNm: ARN messenger.

Ag HBc : Antigène de capsid du VHB.

Ag HBe : Protéine de « precore »,antigène du VHB.

Ag HBs : Antigène de surface. .

Ac anti-HBc : Anticorps anti-protéine “core”.

Ac anti-HBe : Anticorps anti-protéine ”precore”.

Ac anti-HBs : Anticorps anti-protéine de surface.

Ac anti-VHC : Anticorps de surface du virus de l'hépatite C.

AES : Accident d'Exposition au Sang

ANDS : Agence Nationale de la Documentation de la Santé

ANS : Agence Nationale du Sang

ANSM : agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

BW: Bordet Wassermann

CMST : collaboration mondiale pour la sécurité transfusionnelle.

CMV : cytomégalovirus

CTS : Centre De Transfusion Sanguine

CPA : Concentré de Plaquettes d'Aphérèses

CPDA : Citrate Phosphate Dextrose Adénine

CPD : Citrate Phosphate Dextrose

CSP : Concentré de Plaquettes Standards

CGR : concentré de globules rouges

DASRI: Déchets d'Activité de Soins à Risque Infectieux

DO : densité optique

EDC : épreuve de compatibilité directe

EDTA : Éthylènediaminetétraacétique

ELISA : Enzyme – Linked Immunosorbent Assay.

EHS : Etablissement hospitalier spécialisé
GH : hormone de croissance
GP : Glycoprotéines
GR : Globule Rouge
HAI: Hémagglutination Indirect
HTLV : virus T lymphotrophiques humains
IgG : Immunoglobulines De Type G.
IgM : Immunoglobulines De Type M.
ITT : Infection Transmissibles par Transfusion
K: Antigène Kell
KDa: kilo dalton.
LDLR : Récepteurs des lipoprotéines.
MCJ : Maladie Creutzfeld Jacod
MDS : Médicaments Dérives de Sang
Nm : nanomètre.
NIH: National Institutes of Health.
OMS : Organisation Mondiale De La Santé.
PFC : Plasma Frais Congelé.
PPP : plasma pauvre en plaquette.
PRP : plasma riche en plaquette.
PSL : Produits Sanguins Labiles.
PSS : produit sanguin stable
RAI : recherche des agglutinines irréguliers
RH : Rhésus
RH⁻ : Rhésus négatif
RH⁺ : Rhésus positif
SAGM : Saline adénine glucose mannitol
SMK : Sidi Mabrouk
TA : tension artérielle
TPHA: Treponema Pallidum Haemagglutination Assay
VDRL: Venereal Diseases Research Laboratory
VHB : Virus de l'hépatite B.
VHC : Virus de l'hépatite C.
VHE : Virus de l'hépatite E.
VIH : Virus de l'Immunodéficiency Humaine.
VS : valeur seuil

Liste des figures

Figure 1: Structure du virus de l'hépatite B	15
Figure 2 : Prévalence Mondiale du VHB.....	16
Figure 3 : Prévalence géographique du VHB 2016	17
Figure 4 : Structure du virus de l'hépatite C	18
Figure 5 : Répartition de l'infection par le HCV dans le monde	19
Figure 6: Structure de virus HIV	20
Figure 7 : Répartition des personnes contaminées par le virus du SIDA dans le monde en 2017	21
Figure 8: Microscopie électronique à balayage du T.Pallidum.....	22
Figure 9 : Aspect des globules rouges en microscopie optique.....	25
Figure 10: Aspect en microscopie électronique à balayage.....	26
Figure 11: l'hémoglobine	26
Figure 12 : la membrane de globule rouge	28
Figure 13 : Les antigènes à la surface de la membrane érythrocytaire.....	29
Figure 14 : les différents groupes sanguins et les anticorps sériques	30
Figure 15 : Antigènes ABO et polymorphisme génétique.....	31
Figure 16 : Techniques utilisés pour la détermination des groupes sanguins.	34
Figure 17: chromosome 1	35
Figure 18 : La protéine Rh	36
Figure 19 : schéma de compatibilité dans le système rhésus.....	37
Figure 20: Glycoprotéines Kell et Kx	38
Figure 21 : Schéma de la répartition des antigènes érythrocytaires à la surface de l'hématie.....	39
Figure 22 : les règles de compatibilités utilisé lors de la transfusion donneur/receveur	43
Figure 23 : schéma résume les différentes règles du don de plasma	44
Figure 24 : La chaîne transfusionnelle.....	52
Figure 25: procédure initiale de préparation des PSL	53
Figure 26 : méthode d'ELISA indirect.....	72
Figure 27 : mécanisme réactionnelle d'hémagglutination.....	86

Liste des photos

Photo 1 : Salle de prélèvement sanguin.....	8
Photo 2 : Poche double	10
Photo 3 : Poche triple.....	10
Photo 4 : prélèvement du sang total.....	11
Photo 5 : La centrifugation des poches de sang.....	48
Photo 6 : Séparation du globule rouge	55
Photo 7 : la filtration de culot globulaire rouge	56
Photo 8 : la soudure.....	56
Photo 9 : la pesée	57
Photo 10 : Le congélateur.....	57
Photo 11 : Poche de sang total séparé en CGR et PRP.....	58
Photo 12 : Poche de PRP séparé en CPS et PPP	59
Photo 13 : Banque de concentré de globules rouges.....	61
Photo 14 : Agitateur des Concentrés plaquettaires.....	62
Photo 15 : plasma frais congelais.....	62
Photo 16 : Centrifugeuse.....	63
Photo 17 : Micropipette réglable.....	74
Photo 18 : Le Kit Monolisa anti-HBs	74
Photo 19 : le spectrophotomètre.....	74
Photo 20 : après l'ajoute de chromogène A et B	74

Photo 21 : après l'ajoute de solution stop.....	77
Photo 22 : lecture de la densité optique (DO).....	77
Photo 23 : Réactifs de VDRL Charbon.....	77
Photo 24 : ARCHITECT Syphilis TP.....	83
Photo 25 : Réactifs d'EIA II	83
Photo 26 : Réactifs du kit de TPHA.....	84
Photo 27 : Réactifs de kit ELISA.....	84
Photo 28 : Plaque de microtitration.....	84
Photo 29 : Réactifs du kit de TPHA.....	87
Photo 30 : les étapes de la technique d'hémagglutination	87
Photo 31 Interprétation du résultat du test d'agglutination direct sur plaque.....	88
Photo 32 : Interprétation du résultat du test indirect à l'antiglobulin.....	90

Liste des tableaux

Tableau 1: Système ABO : phénotypes, génotypes et anticorps.....	31
Tableau 2: principe de détermination des différents groupes sanguins avec le test de Beth Vincent	33
Tableau 3: principe de détermination des différents groupes sanguins avec le test de Simonin	33
Tableau 4: Nomenclature des antigènes Rh selon ISBT et FISHER/RACE.....	34
Tableau 5 : Les fréquences phénotypiques dans le système Rh	35
Tableau 6 : Les fréquences phénotypiques dans le système Kell	39
Tableau 7 : localisation chromosomique et nature moléculaire des principaux systèmes de groupes sanguins	40
Tableau 8 : Règle de compatibilité dans le système Rh	43
Tableau 9 : Règle de compatibilité dans le système Kell	44
Tableau 10 : la vérification des produits avant donnés ou receveur	65
Tableau 11: composition de KIT de « BIO-RAD » destinée au dépistage du VHB	74
Tableau 12: Réactifs de chaque puits de la microplaque (protocole VHB).....	75
Tableau 13: composition de KIT de « BIO-RAD » destinée au dépistage du VHC.....	78
Tableau 14: Réactifs de chaque puits de la microplaque (protocole VHC).....	79
Tableau 15: composition de KIT de « BIO-RAD » destinée au dépistage du VIH	81
Tableau 16: Réactifs de chaque puits de la microplaque (protocole VIH).....	82
Tableau 17: Réactifs de chaque puits de la microplaque (protocole VH.....	85

Sommaire

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des photos

Liste des tableaux

Introduction01

Partie 1 : théorique

Chapitre I: le parcours d'un donneur

I.1. Le don de sang	04
I.2. Principes éthiques du don de sang	04
I.3. La sélection des donneurs	05
I.3.1. Les critères Cliniques	05
a. Accueil	05
b. L'entretien médical	05
b.1. Identification du donneur de sang	05
b.2. Critères d'exclusion clinique	06
c. Le prélèvement	08
c.1. La salle de prélèvement	08
c.2. Le matériel de prélèvement	09
c.3. Méthode de prélèvement	11

c.4. Conditions de prélèvement	12
d. Le post-don	13
I.3.2. Les critères sérologiques.....	13
I.3.2.1. Les infections transmissibles par transfusion	13
I.3.2.2. Le dépistage des principales infections transmissibles par la transfusion.....	15
a. Le virus de l'hépatite B	15
b. Le virus de l'hépatite C.....	18
c. Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH/SIDA).....	20
d. Syphilis	22

Chapitre II : Le parcours du sang

II.1. Définition.....	25
II.2. composition du sang	25
II.3 Les globules rouges.....	25
II.3.1.Définition.....	25
II.3.2.Morphologie.....	26
II.3.3. Constituants du globule rouge.....	27
II.4. Des antigènes à la surface des globules rouges.....	30
II.4.1. Groupage et Phénotype	31
a. Le groupage.....	31
a.1. Système ABO.....	31
a.2. LE Système Rhésus (RH)	36

b. Phénotype.....	39
b.1. Le système Kell.....	40
b.2. Les autres systèmes.....	41
II.5. Anticorps dirigés contre les cellules sanguines.....	42
II.5.1.L'allo immunisation.....	43
II.5.2. La recherche des agglutinines irrégulières (RAI).....	44
II.5.3.L'épreuve de compatibilité directe au laboratoire.....	45
II.6. Les règles de Compatibilité.....	45
II.6.1. Transfusion d'un concentré globulaire.....	46
II.6.2. Transfusion d'un Plasma frais congelé.....	47
II.6.3. Transfusion de plaquettes.....	48
Chapitre III : La préparation des produits sanguins	
III.1. Les Produits Sanguins Labiles(PSL)	51
III.1.1. Le culot de globule rouge(CGR)	51
III.1.2. plaquettes.....	52
III.1.3. Le Plasma frais congelé (PFC).....	53
III.2. Les Produits Sanguins Stables(PSS)	54
III.3. Préparation des PSL.....	54
III.3.1. Matériels de séparation des PSL.....	56
III.3.2. Principaux procédés utilisés en préparation des PSL.....	56
a. Centrifugation.....	57
b. Séparation	58
c. Déleucocytation (filtration)	59
d. Soudure.....	60
e. La pesée	60
f. La congélation.....	60
g. l'étiquetage.....	61

III.3.3.Methodes de préparation	61
III.3.3.1 Technique de préparation du concentré érythrocytaire.....	61
III.3.3.2. Technique de préparation du concentré plaquettaire standard	63
III.4. Conservation des PSL	64
III.4.1. Conservation du concentré de globules rouges (CGR).....	64
III.4.2. Conservation des concentrés plaquettaires (CP).....	65
III.4.3. Conservation du Plasma riche en plaquettes(PRP).....	66
III.4.4. Conservation du Plasma frais congelé (PFC).....	66
III.5. Utilisation des PSL.....	67
III.6. La délivrance aux unités de soins.....	67
III.7.Le transport des PSL de la banque de sang au lit du malade.....	67
III.8.Les mesures de sécurité au lit du malade.....	68

Partie 2 : pratique

Chapitre IV : Matériel et méthode

Objectif.....	70
IV.1. Détermination du groupe sanguin ABO	70
IV.1. 1.Principe.....	71
IV.1.2. protocole de groupage	71
a. Matériel et réactif	71
b. Protocole expérimental	71
IV.2.Détermination du phénotype dans le système rhésus	72
IV.2.1. Equipements et réactifs.....	72
a. Reactifs	72
b. Matériels	72
c. Protocole	73
IV.3.Détermination des anticorps irréguliers (RAI).....	73

IV.3.1. test de coombs indirect	73
a. Matériel	73
b. Technique	73
IV.3.2. test de coombs direct.....	74
a. Matériel	74
b. Technique	74
IV.4. Diagnostique des maladies virales	74
IV.4.1. Diagnostic de l'hépatite B.....	75
a. Principe.....	75
b. Matériels.....	76
c. Réactifs.....	77
d. Mode opératoire.....	78
IV.4.2. Diagnostic de l'hépatite C.....	81
a. Matériels.....	81
b. Réactifs.....	81
c. Mode opératoire.....	82
IV.4.3. Diagnostic de VIH.....	84
a. Matériels.....	84
b. Réactifs.....	84
c. Méthode de travail.....	84
IV.4.4. Diagnostic de SYPHILIS	86
- ELISA	87
a. Principe	87
b. Réactifs.....	87
c. Méthodes de travail.....	88
- TPHA.....	89

a. Principe.....	89
b. Matériels.....	90
c. Réactif.....	90
d. Protocole expérimental.....	91

Chapitre V : résultats et discussion

V.1. interprétation des résultats des groupages et phénotypes.....	93
V.2. interprétation des résultats des tests de coombs	93
V.3.interprétation des résultats des sérologies testées par ELISA	94
V.4. résultat et interprétation de la TPHA	96
v.4.1. résultats.....	96
V.4.2. interprétation des résultats.....	96
V.5. Exploitation des résultats	97

Conclusion

Résumé

Références bibliographiques

Annexe

Introduction

La communauté mondiale partage la même substance vitale : LE SANG.

Le sang est la source de vie pour tous les êtres vivants, quel que soit leur couleur de peau, leur race, leur religion et leur appartenance sociale. Le sang est aux soins médicaux ce que le pétrole est au transport. **(10)**

La transfusion sanguine est un acte thérapeutique complexe qui consiste à apporter à un patient, appelé « receveurs », les éléments du sang par perfusion intraveineuse qui lui font provisoirement défaut, soit à la suite d'une perte de sang (hémorragie), soit à la suite d'une maladie du sang (leucémies...), ou qui vont subir une lourde intervention chirurgicale ou victimes d'accident, principalement pour améliorer l'état physiologique du patient. Les différents éléments du sang qui seront utilisés pour la transfusion proviennent d'un ou plusieurs sujets sains appelés « donneurs » de sang.

La sécurité transfusionnelle est assurée par une maîtrise de toutes les étapes de la chaîne transfusionnelle depuis la collecte de sang, sa préparation et la qualification biologique, jusqu'à la réalisation de l'acte transfusionnel, et même le suivi des receveurs en vue de recueillir et d'évaluer les informations sur les effets inattendus ou indésirables résultant de l'utilisation thérapeutique des produits sanguins labiles et d'en prévenir l'apparition. **(77)**

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a identifié la sécurité transfusionnelle comme un sujet de santé publique exigeant un haut niveau de priorité et a initié la Collaboration Mondiale pour la Sécurité Transfusionnelle (CMST). Il s'agit d'un effort mondial pour augmenter la sécurité transfusionnelle en améliorant les connaissances, en utilisant mieux les compétences existantes, en encourageant les échanges et en suggérant des mécanismes réalistes, efficaces et pratiques.

Pour garantir la fourniture de sang et de produits sanguins sûrs, ainsi que des transfusions sanguines efficaces et sans risque, l'OMS recommande d'appliquer la stratégie intégrée suivante : **(64)**

En Algérie, la transfusion sanguine est régie par une politique nationale qui se traduit par un programme national établi par l'Agence Nationale du Sang (ANS) sous les directives du Ministère chargé de la santé, soutenu par un cadre législatif et une réglementation permettant de garantir une sécurité optimale du sang et des produits sanguins. **(3)**

Le sang des donneurs peut être collecté dans le centre de transfusion sanguine ou dans la banque de sang d'un hôpital. Des collectes mobiles sont aussi souvent organisées. Le sang est ensuite transporté dans un laboratoire où il est testé et fractionné, entreposé et distribué selon les besoins.

Le sang est collecté à la température du corps, soit +37°C. Pour en préserver les propriétés vitales, il doit être ramené à une température inférieure à +10°C pendant le transport, et conservé à une température de réfrigération de +4°C environ jusqu'à son utilisation. **(57)**

Lors de chaque transfusion sanguine on tient compte a :

- des règles de compatibilité et on admet que les transfusions les plus conformes sont celles dont la compatibilité est au niveau ABO-RH1 (D). On cherche donc à éviter tout conflit entre l'antigène et l'anticorps et aussi toutes formes de sensibilisation du receveur. Mais l'utilisation de ses PSL n'est pas sans risque et peut être à l'origine d'accidents transfusionnels de type immédiat ou retardé du fait qu'elle peut apporter au malade des antigènes dont il ne possède pas et causer une allo immunisation anti-érythrocytaire. (7)
- des infections transmissibles par transfusion (ITT) en vue d'exclure les dons de sang, présentant un risque de transmettre une infection du donneur au receveur. En ce qui concerne l'Algérie les quatre maladies endémiques à dépister sont : sida, hépatite B, hépatite C et la syphilis. La recherche dans les dons de sang d'autres agents infectieux, tels que ceux responsables du paludisme et de la maladie de Chagas ou tels que le HTLV, doit s'appuyer sur les données épidémiologiques locales. (71)

Pour ces raisons, nous avons jugé nécessaire d'atteindre les objectifs suivants :

OBJECTIF GENERAL

Contribuer à l'amélioration de la sécurité transfusionnelle sur le plan immunologique.

OBJECTIFS SPECIFIQUES

- 1/ la détermination des techniques de groupage sanguin et les problèmes de compatibilité entre donneur et receveur.
- 2/ la recherche des anticorps irréguliers (RAI) chez les polytransfusés et les femmes enceintes.
- 3/ Le dépistage des infections transmissibles par transfusion (ITT) (HIV/HCV/HBS/SYPHILIS)

Chapitre I
Le parcours
d'un donneur

I.1. Le don de sang

Le don du sang est un acte généreux, solidaire et responsable qui permet de sauver chaque année des milliers de vies. C'est donner la vie.

En Afrique, le nombre de donneurs de sang est d'environ 4 donneurs pour 1 000 habitants. L'Algérie est parvenu, depuis une dizaine d'années, à mobiliser la population au don de sang à une moyenne de 13,98 donneurs sur 1 000 habitants. Il est ainsi le leader en Afrique devant les Tunisiens, qui sont à 8 donneurs pour 1 000 habitants et les Marocains à 9.

Ces chiffres sont bons, car ils dépassent les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), qui sont de 10 donneurs pour 1 000 habitants. Mais l'Algérie doit progresser dans la répartition des donneurs. (2)

Tout le processus du don du sang de la collecte jusqu'à la transfusion du receveur est encadré par des textes réglementaires visant à protéger le donneur et à réduire les risques pour le receveur.

I.2. Principes éthiques du don de sang

Le don de sang repose sur cinq principes fondamentaux qui sont :

- **L'anonymat** : le donneur et le receveur doivent rester mutuellement inconnus. Seul le centre de transfusion sanguine (CTS) connaît l'identité et les données médicales du donneur.
- **Le volontariat** : le donneur effectue librement son don et ne doit subir aucune contrainte entravant cette liberté.
- **Le bénévolat** : le don de sang est gratuit et ne peut pas être rémunéré sous quelque forme que ce soit (argent, congés...) L'absence de contrepartie participe à la sécurité transfusionnelle.
- **L'engagement** : le donneur répond avec sincérité lors de l'entretien préalable (pré-don).
- **Absence de profit financier** : le sang et ses dérivés ne peuvent être source de profit financier. Le tarif d'une poche de sang est fixé par l'Etat et correspond aux frais engagés pour collecter, préparer, qualifier et distribuer les produits sanguins labiles (PSL). (56)

I.3. La sélection des donneurs

La sélection des candidats à un don de sang a pour objectif; la recherche des contre-indications médicales au don du sang et la réduction des infections post transfusionnelles bactériennes, virales et parasitaires. Dans un double souci de protection du donneur et du receveur. Cette Sélection se fait selon deux critères : des critères Cliniques (avant Le prélèvement) et des critères sérologiques (après le don de sang) (78)

I.3.1. Les critères Cliniques :

Le don du sang se déroule en 4 étapes essentielles : l'accueil, l'entretien médical, le prélèvement de sang et la collation.

a. Accueil :

L'accueil permet d'établir entre le donneur et l'équipe de prélèvement un climat de confiance réciproque.

Il a trois fonctions :

- La création ou la mise à jour du dossier du donneur. Celui-ci doit présenter une pièce d'identité (nom, prénom, l'âge, adresse, n°téléphone....), pour que le secrétariat de CTS puisse s'occuper de son inscription administrative. Les données enregistrées permettront de le contacter ultérieurement pour toute information relative à son don.
- L'attribution d'un numéro unique pour chaque don sur le plan national. Il sera le seul identifiant permettant de suivre la chaîne entière du don et garantissant de façon anonyme le lien entre le donneur et tous les receveurs transfusés. On l'appelle la traçabilité.
- La remise au donneur d'un questionnaire de santé à remplir. Il s'agit d'un document de préparation à l'entretien médical. Le donneur s'engage à répondre avec sincérité aux questions.

(76)

b. L'entretien médical :

b.1. Identification du donneur de sang :

Pour la collecte fixe au niveau du CTS, tout donneur qui se présente pour le don est accueilli et installé au niveau de la salle d'accueil en attendant d'être reçu par le médecin pour l'entretien médical. Il reçoit un questionnaire médical et il le remplit s'il sait lire et écrire. Dans le cas contraire, il rentre avec le questionnaire chez le médecin et c'est ce dernier qui le remplit au cours de l'entretien.

Une appréciation de l'état général, mesure de la tension artérielle et de la masse corporelle du donneur. Les hypertendus, les donneurs ayant un âge en dehors des limites acceptables (18 à 60 ans), ayant un poids faible (<ou = 50 Kg), les femmes allaitant, en menstrues, ou enceintes sont t'exclues. **(66)**

Un intervalle entre les dons 3 mois pour l'homme (5don/an) et 4 mois pour la femme (3don/an)

Cet examen médical doit se dérouler dans la confidentialité propice à la confiance et au respect du secret médical.

La sélection médicale et le questionnaire à remplir ont pour objectif de détecter tout comportement à risque potentiel (de transmettre une infection) pour le receveur qui serait transmis par le composant sanguin, mais aussi tout risque pour le donneur dont elle veille à protéger la santé.

L'interrogatoire type peut se présenter comme suit : (Annexe n°1).

- Nom
- Prénom (s)
- Sexe
- Date et lieu de naissance
- Age
- Adresse personnelle ou professionnelle
- Numéro de téléphone
- Type de donneur :
 - Régulier
 - Occasionnel
 - Premier don et date de dernier don si cela existe
 - Contre patrie

b.2. Critères d'exclusion clinique :

L'entretien et l'examen médical se focalisent principalement sur les critères généraux d'aptitude au don de sang. Toutefois, certaines personnes seront écartées temporairement ou définitivement du don de sang selon qu'elles se trouvent dans l'une des situations suivantes :

➤ **Critères d'exclusion temporaires (Ces critères peuvent être modifiés)**

- Prise de médicaments tels que : Aspirine, Anti-biotique, corticoïdes en comprimés...attendre 15 jours après la fin du traitement.
- Soins dentaires : Dentiste extraction et détartrage: attendre 15 jour.
- Infections : Maladie virale (ex.: grippe, rhume, gastro-entérite, allergie...) attendre la fin des symptômes.
- Anémie taux d'hémoglobine trop bas (< 12,5 g / dl) Attendre la correction de l'anémie pour pouvoir donner du sang.
- Le cas d'acte chirurgical subi ou prévu ou examen endoscopique : contacter le médecin du centre.
- Traité par GH (hormone de croissance) dans les 6 mois
- Tension artérielle(TA) : En revanche, le don sera refusé si la TA systolique au repos est ≥ 130 mm Hg ou < 110 mm Hg. La TA diastolique est ≥ 100 mm Hg ou < 70 mm Hg.

- Fracture non consolidée.
- Vaccin datant de moins de 4 semaines (BCG, fièvre jaune, rougeole, rubéole, oreillons).
- Voyage dans un pays endémique (présence de malaria) : attendre 6 mois. Fournir les noms des pays visités dans les 3 dernières années.
- Coloration Cutané-Muqueuse : Est une coloration jaune à bronze des téguments due à une augmentation de la concentration de la bilirubine plasmatique (bilirubinémie). Une augmentation de la bilirubinémie entre 12 - 26 mg/l, n'est pas détectable cliniquement.
- Piercing, Tatouage, scarification : attendre 6 mois.

➤ **Critères d'exclusion définitive (Ces critères ne peuvent être modifiés)**

- Diabète nécessitant injections d'insuline.
- Maladie de Creutzfeldt-Jakob dans la famille proche.
- Antécédents de cancer, leucémies et certaines autres maladies graves même guéries.
- Antécédents d'Hépatite virale B d'Hépatite virale C, d'infection à rétrovirus (VIH,) et de la syphilis.
- Toxicomanie par voie injectable.
- Les personnes ayant souffert récemment Cirrhose du foie, Infarctus du myocarde, Insuffisance coronarienne : angine de poitrine, Maladie auto-immune (comme la Sclérose en plaque), Neurochirurgie et Troubles rénaux.

Le médecin doit donc à partir de l'entretien avec le donneur garantir la sécurité transfusionnelle en prescrivant éventuellement des dépistages sérologiques qui ne sont pas réalisés systématiquement sur tous les dons. (68)

c. Le prélèvement :

C'est la procédure technique qui consiste à collecter dans une poche adaptée une quantité de produits sanguins (sang total ou composants sanguins d'aphérèse) à partir d'une veine périphérique d'un donneur de sang en vue d'une transfusion. Il s'accompagne habituellement du prélèvement d'une petite quantité de ce sang dans des tubes, destinée aux analyses biologiques. (22)

Après avis favorable du médecin, un(e) infirmier(e) spécialement formé(e) prélève le sang du candidat reconnu apte au don. Elle prépare le matériel stérile et à usage unique, La désinfection de la zone de

ponction du donneur (pli du coude) doit être parfaitement réalisée. Il ne faut pas que des germes cutanés passent soit chez le donneur, soit sur les poches de prélèvement stériles, afin de recueillir le sang veineux dans une poche à sang.

Les infirmières et secrétaires des collectes ont également un rôle important dans la sécurisation des produits. En effet, elles doivent garantir la bonne identité du donneur, ainsi que le lien entre le numéro du don et le donneur. Ces informations permettent de sécuriser l'ensemble de la chaîne transfusionnelle. (69)

c.1. La salle de prélèvement :

Il est indispensable que le prélèvement se déroule dans un local propre, spacieux, aéré, bien éclairé et calme, relaxant pour le patient, quel que soit le lieu de la collecte (site fixe ou site mobile) température de 20-22C ° quel que soit la saison. Un confort supplémentaire favorise la détente, participe à la fidélisation et limite les effets indésirables liés au stress. (22)



Photo 01: Salle de prélèvement sanguin.

c.2. Le matériel de prélèvement :

- ✓ Des aiguilles : en emballage unitaire, stériles, de calibres différents et à usage unique.
- ✓ Des gants.
- ✓ Porte-tubes (ou tubulure ou seringue).

- ✓ Des tubes secs, de validité vérifiée (pour les tests de sérologie).
- ✓ Tube avec anticoagulant EDTA (Ethylène Diamine Tétra- Acétique) (pour les tests d'immuno-hématologie).
- ✓ Des poches à sang avec anticoagulant doubles ou triples.
- ✓ Agitateurs pour poche à sang.
- ✓ Clampeuse électrique ou pince et clips.
- ✓ Coton.
- ✓ Un flacon d'antiseptique.
- ✓ Des compresses stériles.
- ✓ Un garrot.
- ✓ Des étiquettes et un marqueur.
- ✓ Un conteneur pour déchets d'activité de soins à risque infectieux (DASRI).

Les poches à sang sont des poches en plastique stérile, double ou triple à usage unique, Chaque poche principale doit mentionner obligatoirement :

- ✓ L'anticoagulant utilisé et sa composition (habituellement le citrate)
- ✓ La solution de conservation : elle doit permettre de conserver les composants sanguins le plus longtemps possible en gardant leur meilleure qualité. Elle doit être choisie de manière à assurer un rythme d'approvisionnement adapté à la demande des unités des soins.

Mais aussi tenir compte des moyens financiers de la banque de sang

- ✓ La solution additive éventuelle
- ✓ La date de péremption de la poche vide
- ✓ Le produit sanguin qui correspond à la poche
- ✓ Le numéro du lot

La solution anticoagulante de conservation soit :

- Citrate Phosphate Dextrose Adénine (CPDA) anticoagulante de la poche double.
- Citrate Phosphate Dextrose (CPD) plus Saline adénine glucose mannitol (SAGM : solution nutritive qui a pour but d'apporter des éléments nutritifs aux globules rouges) anticoagulante de la poche triple permet la conservation de culot globulaire rouge en vie jusqu'à 42 jours.

La solution anticoagulante contient :

***Citrate de sodium** : Se lie aux ions calcium dans le sang par échange avec le sel de sodium, ce qui empêche le sang de coaguler.

***Phosphate** : Soutient le métabolisme des globules rouge pendant le stockage de façon qu'ils libèrent facilement leur oxygéné au niveau des tissus.

***Dextrose** : Préserve la paroi des globules rouges pour augmenter la durée de conservation.

***Adénine** : Apporte une source d'énergie (Fonctions de la solution anticoagulante et de conservation ajoutée dans les poches de sang) (40)

Dans le but de préparer le CGR et PFC il est conseillé d'utiliser une poche double si plus il est conseillé d'utiliser une poche triple(70)



Photo 02 : Poche double



Photo 03 : Poche triple

c.3. Méthode de prélèvement :

- Vérifier l'identité du donneur.
- installer confortablement sur un fauteuil ou sur un lit ;
- retirer les poches de l'emballage et vérifier le contenant et le contenu ;
- mettre les étiquettes autocollantes sur chaque tube et sur chaque poche ;
- Poser un garrot au-dessus de pli du coude pour rendre les veines mieux visibles;
- avec l'index repérer l'emplacement exact de la veine ;

- nettoyer la peau au niveau de la région concernée avec un stérilisant de façon à éliminer tout risque d'infection ;
- Choisir une bonne veine et installer l'aiguille neuve et stérile dans le bras ;
- Déclamper la tubulure et immobiliser l'aiguille en utilisant du sparadrap.
- Une agitation continue de la poche afin d'éviter la formation de caillots; cet appareil stoppe automatiquement le prélèvement une fois que la poche de sang atteint 450 ml pour une durée de 10 à 15 min. **(79)**
- Enlever le garrot, lorsque la poche de prélèvement est remplie ;
- Appliquer une compresse de gaze stérile sur le bras, une fois l'aiguille enlevée, et, apposer un pansement compressif, afin de faire cesser le saignement ;

A ce stade le prélèvement d'échantillon va se faire dans deux tubes :

*Tube 1 (tube avec anti coagulant) destinés à des analyses immuno- hématologie.

*Tube 2 (tube sec) destinés aux tests de dépistage du VIH/VHB/VHC et de la syphilis.

- Jeter l'aiguille utilisée par la suite dans le conteneur pour déchets ;
- Récupérer la poche et placer à + 4°C dans une glacière ;
- Enregistrer le numéro du don sur le registre. **(32) (65)**



L'abor de Prélèvement

Poche de sang

Agitateur

Photo 04: prélèvement du sang total

c.4. Conditions de prélèvement :

- Le sang prélevé doit être rapidement acheminé au laboratoire d'analyses pour être qualifié et préparé.

- Le prélèvement dure environ 12 minutes.
- Le volume maximal prélevé à chaque don est 08ml/kg sans dépasser un volume total de 450ml.
- La fréquence du don de sang total ne doit pas être supérieure à 5 fois par an pour les hommes et 3 fois par an pour les femmes.
- L'intervalle entre deux dons est au moins égale 8 semaines **(40)**

d. Le post-don :

La vigilance post-don est un élément important de la sécurité transfusionnelle. Le technicien de prélèvement est chargé d'informer le donneur de sang sur la périodicité du don, la date du retrait de ses résultats d'analyses avant de l'orienter vers la salle de collation où il va se détendre et se rafraîchir

Après le prélèvement, un temps de repos de 10 à 15 minutes et une collation sont prévues après chaque don, sous l'œil vigilant des infirmières car le donneur peut développer des malaise post don. Il est recommandé de bien respecter cette étape. On lui recommande de boire pour compenser la perte des liquides. En s'hydratant et en mangeant, Il est déconseillé de pratiquer un effort physique dans les heures suivant un don de sang. **(38) (80)**

Remercier le donneur et l'inviter à revenir prochainement.

I.3.2. Les critères sérologiques :

Après le prélèvement, Les échantillons sanguins recueillis dans les tubes sont soumis à des tests de dépistage de 4 maladies virales endémiques transmissibles par le sang :

- hépatite B
- hépatite C
- VIH
- syphilis

I.3.2.1. Les infections transmissibles par transfusion :

Les agents microbiens importants pour les services de transfusion sanguine sont ceux transmissibles par transfusion de sang et pouvant être à l'origine d'une morbidité et d'une mortalité chez les receveurs. Pour être transmissible par le sang, l'agent infectieux ou l'infection présente généralement les caractéristiques suivantes :

- ✓ présence dans le sang pendant de longues périodes, parfois à concentration élevée.
- ✓ stabilité dans le sang conservé à une température $\leq 4^{\circ}\text{C}$.

- ✓ période d'incubation prolongée avant l'apparition des signes cliniques.
- ✓ phase asymptomatique ou ne comportant que des symptômes bénins chez le donneur de sang, et donc impossible à identifier pendant le processus de sélection du donneur (24)
- **Agents infectieux transmissibles par transfusion pour lesquels l'OMS préconise un dépistage universel de tous les dons dans tous les pays :**

Pour assurer la sécurité des approvisionnements en sang, il est recommandé que le dépistage des quatre agents infectieux transmissibles par transfusion suivants soit obligatoire. Ces agents infectieux sont susceptibles de provoquer des maladies chroniques dont les conséquences peuvent être graves et représentent les plus grands risques infectieux pour les receveurs de transfusions : Virus de l'immunodéficience humaine (VIH), Virus de l'hépatite B (VHB), Virus de l'hépatite C (VHC), *Treponema pallidum* (syphilis).

- **Infections transmissibles par transfusion pour lesquelles on recommande un dépistage universel dans certains pays et pour lesquelles on recommande un dépistage sélectif :**

Les maladies infectieuses telles que le paludisme, la maladie de Chagas et les virus T lymphotrophiques humains I/II (HTLV) peuvent représenter dans certains pays ou dans certaines régions un plus grand risque que dans le reste du monde. Chaque pays doit évaluer si d'autres agents infectieux à transmission sanguine autres que le VIH, le VHB, le VHC et le tréponème constituent une menace importante pour la sécurité des approvisionnements sanguins compte tenu de leur biologie, de leur incidence et/ou de leur prévalence dans la population générale, ainsi que du risque résultant de la présence de cet agent infectieux chez les donneurs de sang :

- ✓ Dans les zones d'endémie, les risques spécifiques incluent la transmission du paludisme, de la maladie de Chagas et du HTLV.
- ✓ Dans les zones non endémiques, les risques spécifiques proviennent des dons de sang recueillis chez des individus ayant vécu ou voyagé dans des zones d'endémie du paludisme, de la maladie de Chagas ou du HTLV.
- ✓ Des groupes de receveurs spécifiques sont exposés au risque de transmission de certaines infections comme les infections à cytomégalovirus humain (CMV).

Le dépistage des dons de sang à la recherche d'autres agents infectieux tels que ceux responsables du paludisme ou de la maladie de Chagas doit être effectué en fonction des données épidémiologiques locales. (28)

- **cas particulier (l'Algérie) :** L'Algérie pays considéré comme «émergent» en pleine transition épidémiologique appartient à la zone communes des 4 maladies virales endermiques:

le virus de l'hépatite B (VHB), le virus de l'hépatite C (VHC) et le virus de l'immunodéficience (VIH) et la syphilis.

I.3.2.2. Le dépistage des principales infections transmissibles par la transfusion:

Malgré les mesures prises pour limiter les risques de transmettre une maladie infectieuse par transfusion sanguine, cette transmission reste possible. C'est notamment le cas lorsque des donneurs contaminés sont prélevés avant l'apparition de marqueurs détectables. Cette période dite «fenêtre sérologique».

La sécurité transfusionnelle du receveur passe obligatoirement par le dépistage et l'élimination des poches de sang contaminées et l'ajournement ou l'exclusion définitive du donneur concerné par ces virus: L'hépatite B, l'hépatite C, le VIH, la syphilis. Et que seuls les dons de sang et les composants sanguins non réactifs aux tests de dépistage sont libérés en vue d'un usage clinique ou de la fabrication des produits sanguins.

En cas de résultats douteux ou positifs, pour les tests de sérologie, on refait le test dans un premier temps s'il reste positif, le donneur est convoquée pour un autre contrôle et un test de confirmation. Si celui-ci s'avère positif, la poche est annulée automatiquement et le donneur est adressé à un spécialiste en gastro-entérologie s'il s'agit d'une hépatite B ou C. Dans le cas d'une sérologie positive due à la syphilis ou au virus HIV, le donneur est pris en charge par un médecin du centre de transfusion ou d'un service des maladies infectieuses. (6)

Un virus est un parasite intracellulaire obligatoire ne pouvant se multiplier qu'à l'intérieur d'une cellule hôte et utilisant sa machinerie cellulaire. Il contient : une information génétique (sous forme d'ADN ou d'ARN) protégée une structure compacte, souvent protéique, la capsid. Parmi les virus épidémiques transmissible par transfusion on distingue : (35)

a. Le virus de l'hépatite B :

L'hépatite B est une maladie infectieuse d'origine virale qui se traduit par une inflammation au niveau du foie, causée par le virus de l'hépatite B (VHB). Le virus de l'hépatite B est le seul virus provoquant une hépatite virale chronique contre lequel on dispose d'un vaccin.

La notion d'hépatite B est un concept assez vaste, qui peut être utilisé de différentes manières. Cela conduit souvent à des confusions. Par conséquent, il est important que les principaux phénomènes intervenant au cours d'une infection par le virus de l'hépatite B et leurs éventuelles complications pathologiques soient bien compris et distingués les uns des autres.

Selon des critères temporels stricts, on distingue une phase aiguë au début de l'infection et une phase chronique qui intervient par la suite ric (63)

➤ Structure Du VHB

Le virus de l'hépatite B virus à ADN enveloppé, possède une structure très complexe dont la connaissance est nécessaire, car le diagnostic virologique indirect repose sur l'identification des Ag correspondant aux différentes parties de sa structure

Le virus de l'hépatite B est une particule infectieuse que l'on trouve l'examen du sang infecté par le VHB à l'aide du microscope électronique montre l'existence des deux formes suivantes :

- 1 - Des particules virales complètes ou particules de DANE qui représente le virion complet.
- 2 - Des particules dites subvirales qui est de formes sphérique ou filamenteuse **(11)**

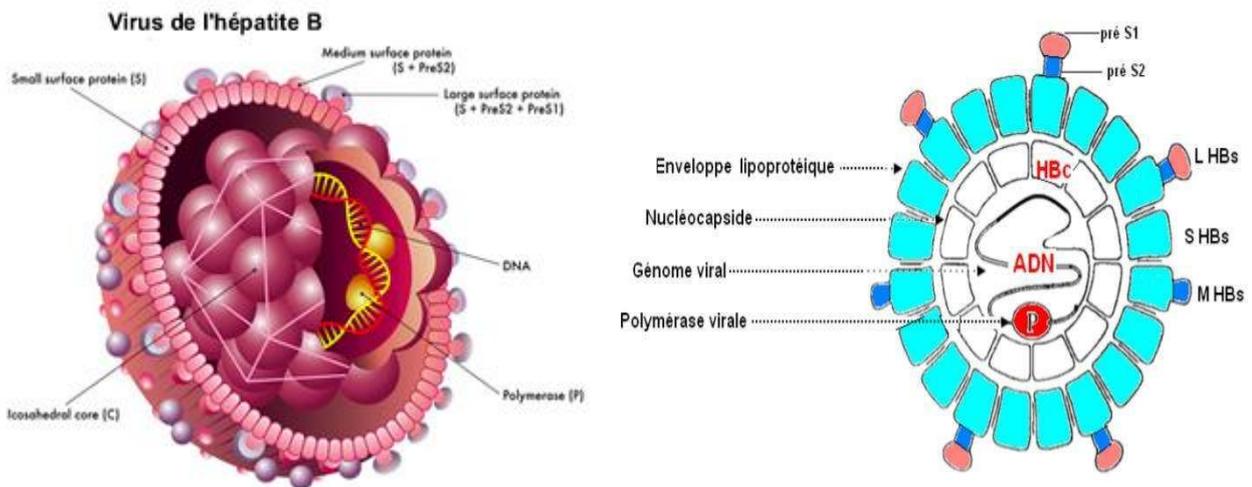


Figure 01 : Structure du virus de l'hépatite B (site web8)

➤ épidémiologie

Environ 350 millions d'individus au monde sont porteurs de VHB. On estime à 2,5 milliards le nombre de personnes infectées ou ayant été infecté par le virus de l'hépatite B (VHB), soit 1/3 de la population mondiale. La contamination demeure donc encore une possibilité et il est vraisemblable que ceci persistera, tant que le réservoir mondial ne sera pas épuisé grâce à la vaccination systématique.

La transmission du VHB via la transfusion a été virtuellement éliminée dans les pays dont les donneurs sont dépistés pour l'AgHBs. **(47)(46)**

Mais il est possible que, dans une phase très récente d'infection par le VHB, les donneurs de sang AgHBs négatifs sont capables de transmettre le virus. Ce risque est lié aux dons prélevés pendant la fenêtre silencieuse qui précède l'apparition des marqueurs biologiques de l'infection, ou pendant la phase de pré-séroconversion d'une infection récente, qui se caractérise par un taux d'AgHBs présents dans la circulation inférieur aux limites de détection. La mise en œuvre de tests moléculaires (test d'acide nucléique) ou d'une plus grande sensibilité des tests AgHBs pourrait réduire davantage le risque de transmission du VHB par transfusion sanguine. **(17) (1)**

Le VHB : Une forte prévalence dans le monde^(1,2)

- Près de la moitié de la population mondiale vit dans une région à forte endémie de VHB



1. Lavanchy D; Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measure; *J Viral Hepatitis* 2004; 11: 97-107.

Figure 02 : Prévalence Mondiale du VHB

L'Algérie appartient à la zone de moyenne endémicité, avec une prévalence de l'AgHbs de 2.5%, dans la population générale, 1,09% chez le donneur de sang 1.8% à 2.2% chez la femme enceinte et 10.5% chez les hémodialysés. La transmission virale se fait par voie parentérale, Sexuelle et périnatale. (13)

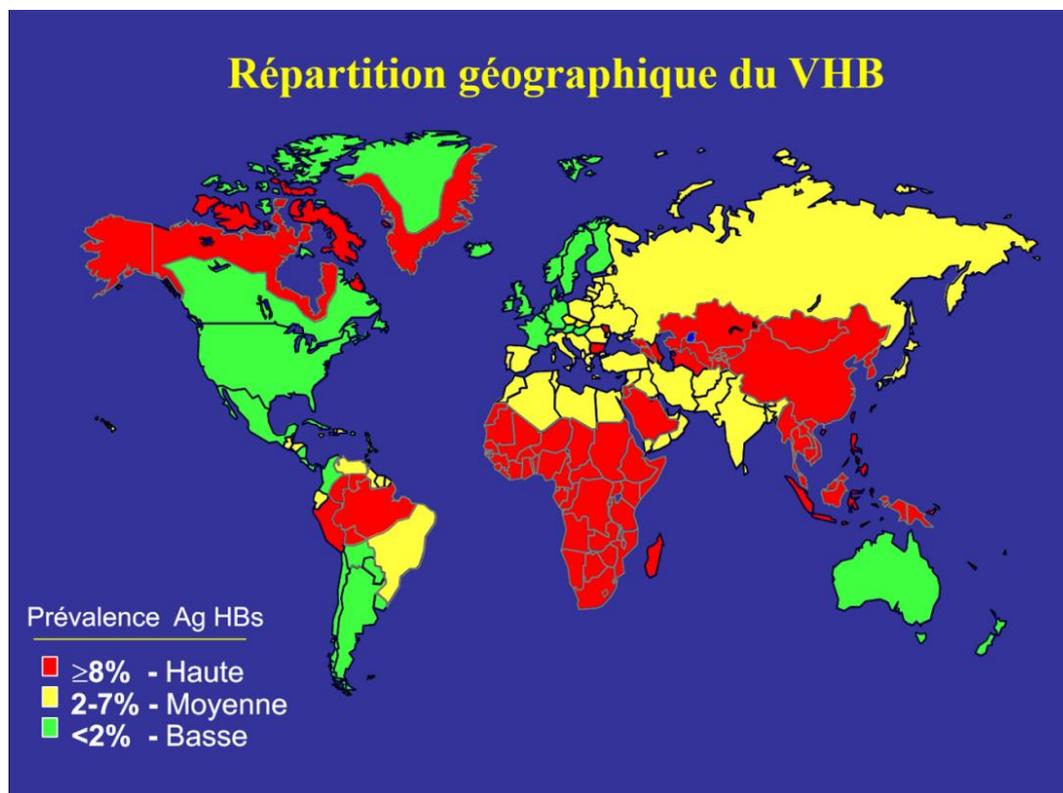


Figure 03 : Prévalence géographique du VHB 2016

b. Le virus de l'hépatite C :

L'hépatite C est une maladie infectieuse transmissible par le sang et due au virus de l'hépatite C (VHC ou HCV en anglais), qui s'attaque au foie.

L'infection se caractérise par une inflammation du foie (l'hépatite) qui est souvent asymptomatique, mais qui peut évoluer vers une hépatite chronique et plus tard une cirrhose (fibrose cicatricielle du foie) et un cancer du foie.

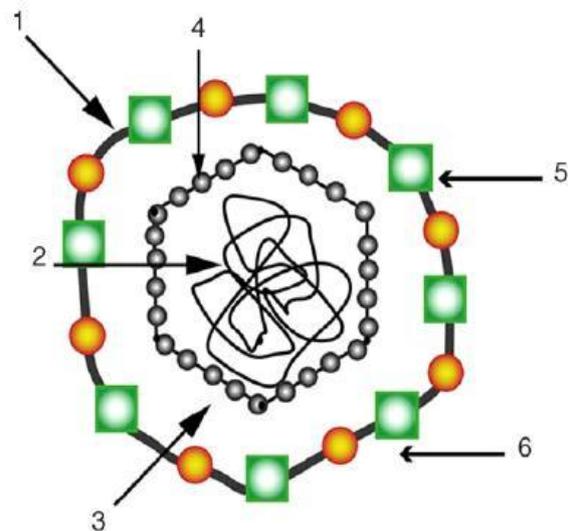
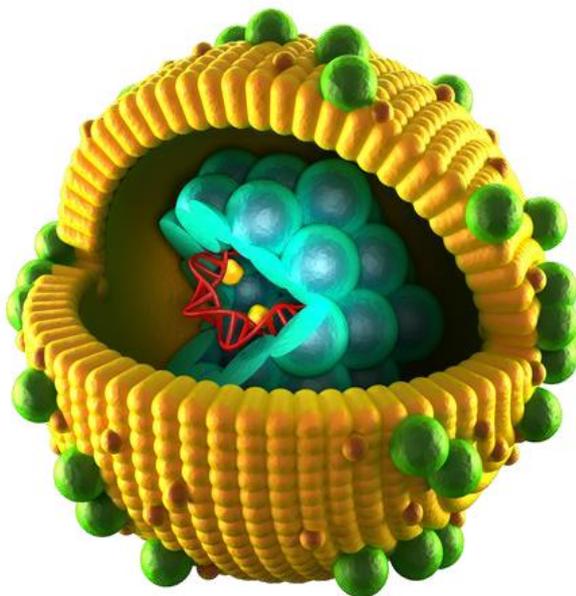
L'existence du virus de l'hépatite C (VHC) avait été suspectée devant la persistance des hépatites post-transfusionnelles malgré la mise en place de tests sérologiques pour dépister les infections par le virus de l'hépatite C (VHC) (60)

➤ Structure du VHC

Le VHC est un petit virus enveloppé de 55 à 65 nm de diamètre qui a aujourd'hui été visualisé en microscopie électronique.

L'ARN virale (de taille 40 à 50nm) est contenu dans une capsidie protéique (c) à symétrie icosaédrique.

La capsidie est entourée d'une enveloppe lipidique dans laquelle sont insérées deux protéines distinctes E1 et E2. Son poids moléculaire serait voisin de 4000000 Dalton. (60)



Structure du virus de l'hépatite C. Virus enveloppé dont la capsidie est icosaédrique. Sur l'enveloppe virale sont ancrées deux glycoprotéines E1 et E2. La capsidie est formée d'un assemblage multimérique de protéines C. L'ARN (acide ribonucléique) est monocaténaire linéaire. 1. Enveloppe ; 2. ARN viral ; 3. capsidie ; 4. antigène du core ; 5. glycoprotéines d'enveloppe E1 ; 6. glycoprotéines d'enveloppe E2.

Figure 04: Structure du virus de l'hépatite C

➤ Epidémiologie

La transmission du VHC est essentiellement parentérale. La majorité des sujets infectés sont des anciens transfusés et des toxicomanes. La transmission par transfusion sanguine est extrêmement rare en raison des contrôles effectués chez les donneurs de sang.

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé; 170 millions de personnes sont touchées par le VHC dans le monde. Environ 150 millions d'entre elles sont infectées chroniquement par le virus de l'hépatite C. (3% de la population mondiale). Plus de 350 000 individus meurent chaque année de pathologies hépatiques liées à l'hépatite C. 3 à 4 millions de personnes infectées chaque année.

La prévalence des anticorps anti -VHC, en Algérie est de 0.49% chez le donneur de sang 23.8% chez les hémodialyses 31% chez l'hémophile. Dans la population générale, elle serait d'au moins 1%.(30)

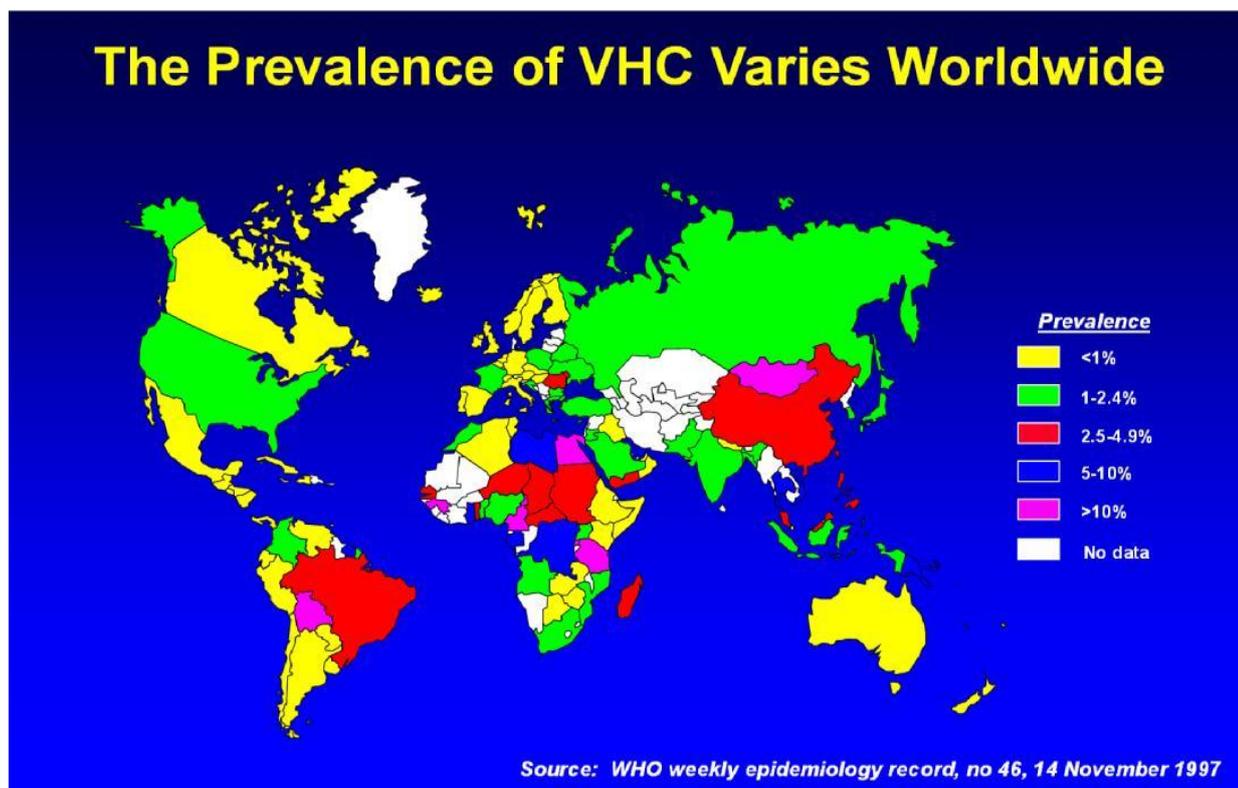


Figure 05 : Répartition de l'infection par le HCV dans le monde (OMS,1997)

c. Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH/SIDA)

L'immunodéficience(VIH) est une maladie infectieuse épidémique, due à un virus. Les rétrovirus sont des virus d'un diamètre de 110 à 125 nanomètres, très répandus dans le monde animal. Ils sont la cause de différentes formes de cancers, d'immunodéficiences, dont le Sida, et de dégénérescences du système nerveux central. Leur génome s'intègre sous forme d'ADN dans celui de la cellule hôte, pour ensuite s'exprimer pendant toute la vie active de la cellule. Les lentivirus (ou Lentivirinae) font partie de cette famille : ces virus sont responsables de pathologies à évolution lente. (35)

Le risque réel de transmission du virus par la transfusion est constitué par les porteurs viropositifs séronégatifs, c'est-à-dire dans la règle des sujets dont la contamination est récente (moins de 3 mois) et n'a pas encore conduit à la génération d'anticorps anti-VIH. C'est pourquoi les établissements de transfusion sanguine ont mis sur pied un système d'exclusion a priori (l'idéal étant l'autoexclusion spontanée) des individus dont le comportement est considéré comme étant à risque : essentiellement homosexuels ou hétérosexuels à partenaires multiples, utilisateurs de drogues injectables par voie intraveineuse. (41)

➤ Structure du VIH

Le VIH est un virus à ARN enveloppé en forme sphérique au niveau de l'enveloppe il y a des protéines spécifiques du virus c'est les glycoprotéines GP41 et GP120 et grâce à ces dernières le virus pénètre dans la LT4 par le récepteur CD4

En microscopie électronique, les deux virus (VIH-1 et VIH-2) présentent une morphologie similaire. La nucléocapside est constituée par des protéines internes du virus, la transcriptase inverse et de l'ARN viral (23)(74)

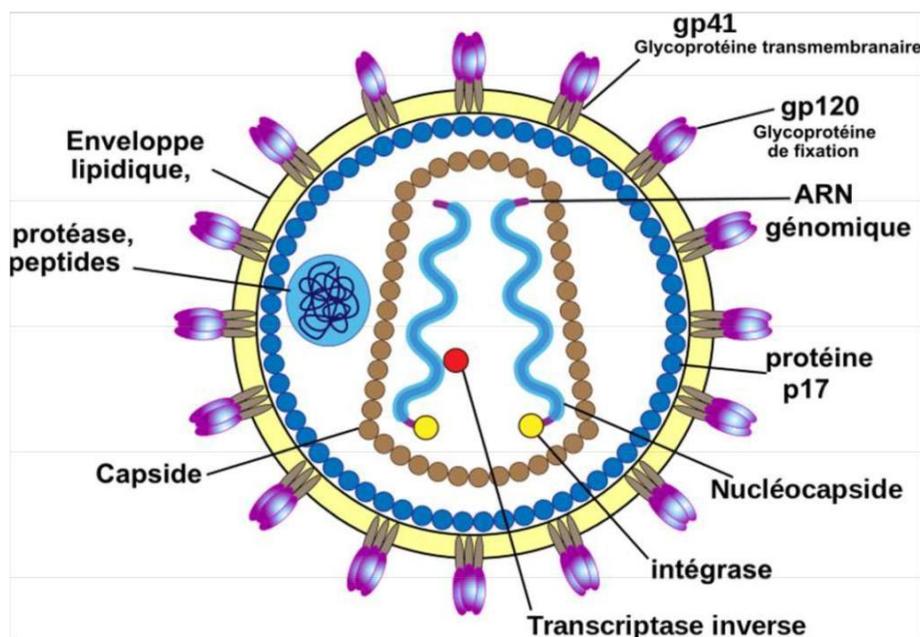


Figure 06 : Structure de virus HIV

➤ Epidémiologie et répartition géographique du VIH/SIDA

En Algérie selon les dernières statistique de l'institut pasteur d'Algérie une prévalence de 0.1% a été enregistrée, l'Algérie est considérée comme un pays à épidémie peu active avec 11 355 cas recensés dont 1 836 cas au stade sida et 949 cas de séropositifs enregistrés à la période allant de 1985 jusqu'au 30 Juin 2017.

En 2017, 723 nouveaux cas ont été recensés. En moyenne, l'Algérie enregistre environ 800 nouveaux cas annuellement. Les nouvelles infections sont véhiculées par trois populations clé : les personnes s'injectant des drogues, les travailleurs du sexe et les hommes ayant des rapports sexuels avec les hommes.

Ces chiffres sont contestés par plusieurs associations. D'après eux, ces chiffres semblent être loin de la réalité du terrain (37) (8)

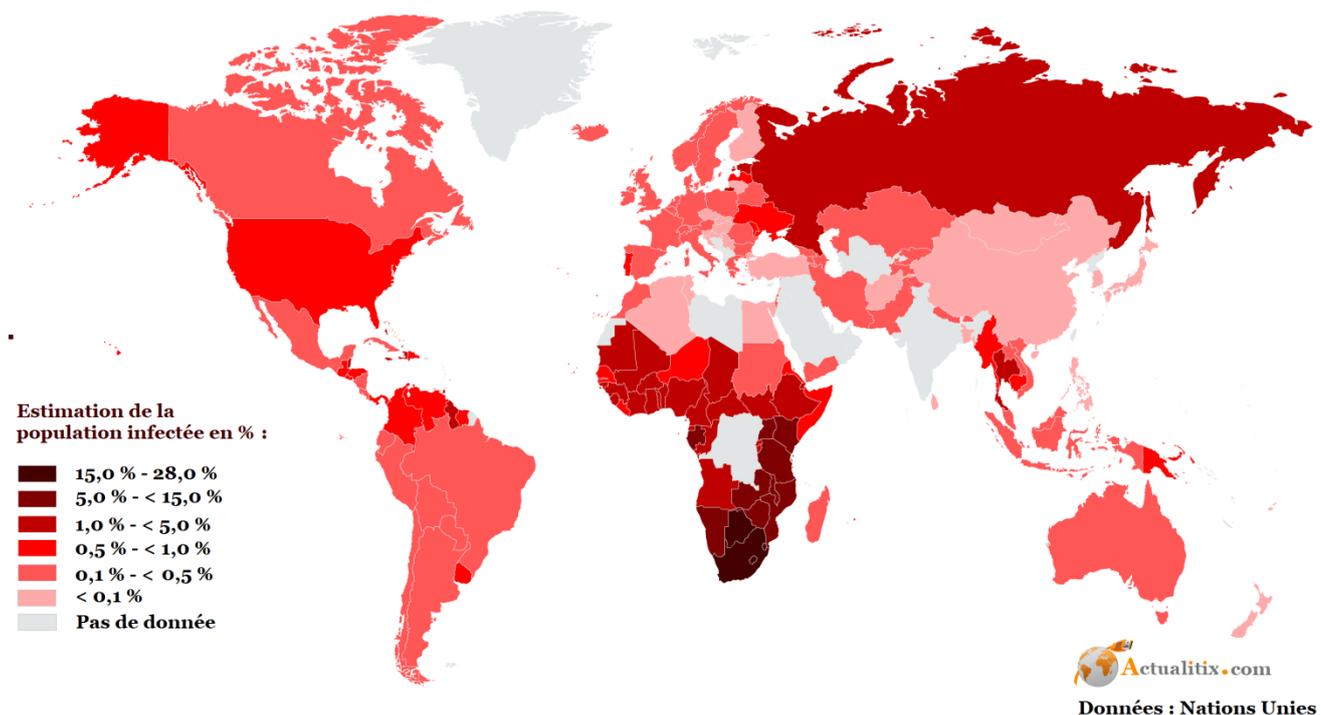


Figure 07 : Répartition des personnes contaminées par le virus du SIDA dans le monde en 2017

d. Syphilis

La syphilis est une maladie infectieuse bactérienne dangereuse, à déclaration obligatoire, très contagieuse, sexuellement transmissible, et présente à l'échelle mondiale. Dont l'agent pathogène est : *Treponema pallidum*. Dans la plupart des cas, la lésion infectante siège sur la peau ou la muqueuse des organes génitaux (1 ,7).

➤ Structure

C'est une bactérie fine à extrémités effilées de **10 à 15** micromètre de longueur sur **0,2** micromètre de largeur à spires régulières et serrées au nombre de 6 à 12 .il est mobile grâce à des flagelles péri-plasmique qui entraînent 3 sortes de mouvements combinés : en pas de vis pendulaire et ondulatoire.(31)

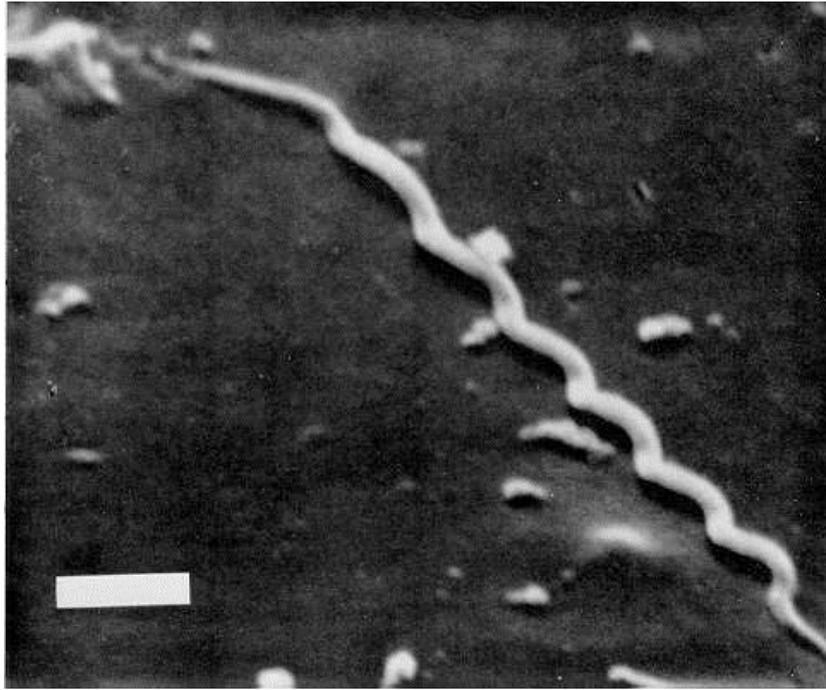


Figure 08 : Microscopie électronique à balayage du T. Pallidum.

➤ Epidémiologie

La syphilis est répandue dans le monde entier, mais son incidence varie en fonction des emplacements géographiques et des groupes socio-économiques. Elle est plus fréquente chez les personnes de 20 à 45 ans. Selon une estimation de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), on a dénombré en 1999 quelque 12 millions de nouveaux cas de syphilis dans la population adulte mondiale. Cette affection est plus fréquente dans les villes qu'à la campagne, chez l'homme que chez la femme (43,44) **(33)**

En Algérie, Les données de séroprévalence de la syphilis ainsi que de la surveillance des connaissances et des comportements indiquent que l'Algérie connaît probablement une épidémie concentrée dans les groupes de populations les plus à risque et dans certaines régions géographiques, avec la possibilité d'une aggravation de la situation épidémiologique si des mesures ciblées et rigoureuses de lutte ne sont pas mises en œuvre.

Par ailleurs, tous les déterminants à l'origine de l'infection existent dans le pays et pourraient être à l'origine d'un processus épidémique (Travail du sexe, infections sexuellement transmissibles. **(58)**)

Chapitre II
Le parcours du
sang

II.1. Définition :

Le sang est un tissu vital conjonctif, une suspension des cellules appelées « éléments figurés » baignant dans un liquide complexe appelé « plasma ». Le volume total du sang d'un adulte humain est de 5 litres. Les cellules en suspension représentent 45% du volume total, ce qui correspond à l'hématocrite. Leur morphologie peut être étudiée sur un frottis coloré au May Grünwald Giemsa (MGG).

II.2. composition du sang :

Le sang est constitué de quatre composantes principales qui sont :

a. Le plasma : il représente entre 52 et 62% du sang total. Il est constitué à 90% d'eau. c'est un liquide jaune paille dans lequel : cellules sanguines, protéines et autres substances sont en suspension et par lequel elles sont transportées.

b. Les Globules Blancs (Leucocytes) : constituent moins de 1% du sang total. Ils attaquent et détruisent les éléments étrangers qui peuvent être nuisibles.

c. Les Globules Rouges (Érythrocytes) : constituent entre 38 et 48% du sang total. Le globule rouge prend aussi les noms d'érythrocyte (erythros = rouge) et d'hématie.

d. Les plaquettes (Thrombocytes) : représentent moins de 1% du sang total. Elles servent à la formation des caillots, qui empêchent le sang de s'épancher des plaies. **(19)**

➤ Dans notre travail nous sommes intéressé par les globules rouges

II.3 Les globules rouges:

II.3.1.Définition:

Les globules rouges humains ou érythrocytes sont des cellules originales par bien des aspects de leur physiologie à commencer par une spécialisation fonctionnelle extrêmement poussée passant par la perte du noyau et donc de toute capacité de synthèse protéique de novo. Sa fonction essentielle est le transport de l'oxygène des poumons aux tissus et captent le gaz carbonique qui est éliminé ensuite par les voies respiratoires; ce transport se fait grâce à l'hémoglobine, le sang contient 4 à 5 millions de GR/mm³, chaque jour une proportion fixe de globules rouges est détruite au terme de vie de 120 jours; c'est l'hémolyse normale, ils sont remplacés par un nombre égal de globules rouges jeunes qui sont produites

par les cellules de la moelle osseuse: **les érythroblastes**. Ces spécificités du fonctionnement érythrocytaire vont de pair avec un statut immunologique à part dans l'organisme.

II.3.2.Morphologie:

✓ Aspect en microscopie optique

Au microscope optique, coloration MGG, les globules rouges ont la même forme, taille et couleur. Il s'agit d'une cellule de 5 à 7 μm de diamètre d'aspect homogène, coloré en orangé au May Grünwald Giemsa. Son épaisseur est de 1,8 μm . Son volume moyen est de 90 fentolitres (μm^3).

Le nombre de globules rouges est d'environ 5 tera/l (millions/ mm^3), taux un peu plus élevé chez l'homme que chez la femme (5,7 et 4,5 tera/l).

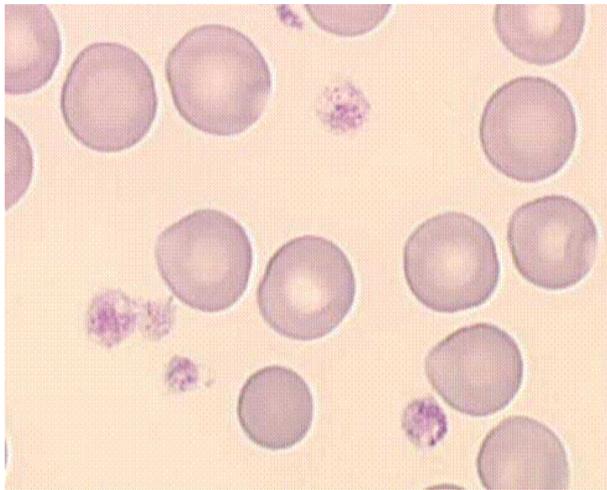


Figure 09 : Aspect des globules rouges en microscopie optique

✓ Aspect en microscopie électronique à balayage

Ce sont des cellules biconcaves, aplaties au centre ayant un aspect de disque. dépourvue de noyau, de mitochondries et de ribosomes, et contenant une grande quantité d'hémoglobine lui donnant sa coloration. Cette forme lui assure une élasticité qui lui permet de circuler dans les plus petits vaisseaux de l'ordre de 2 μ . (19)

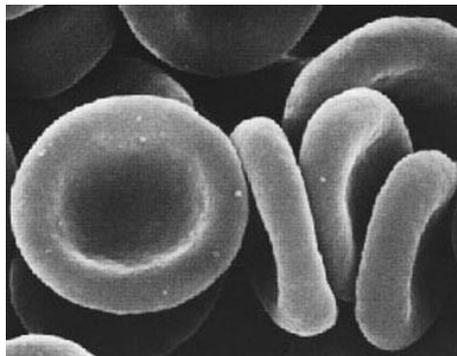


Figure 10 : Aspect en microscopie électronique à balayage

II.3.3. Constituants du globule rouge :

a. **Hémoglobine** : tétramère constitué de :

- ✓ **Globine polypeptide** : constituée de 4 chaînes identiques 2 à 2 (2 chaînes α et 2 chaînes non- α)
- ✓ **Hème** : contient le fer qui fixe l'oxygène. Les valeurs normales de l'hémoglobine sont : 13 g/dl chez l'homme, 12 g/dl chez la femme et 11 g/dl chez l'enfant. Chez l'homme, existe 3 variétés physiologiques d'hémoglobine :
- ✓ **HbA1** ($\alpha_2 \beta_2$) : 97 à 98 %
- ✓ **HbA2** ($\alpha_2 \delta_2$) : 2 à 3 %
- ✓ **HbF** ($\alpha_2 \gamma_2$) : traces
- ✓ **Enzymes** : produisent l'énergie et les constituants nécessaires à la survie du globule rouge par glycolyse. L'épuisement naturel, au bout de 120 jours, de ce capital enzymatique provoque la mort normale du globule rouge (45)

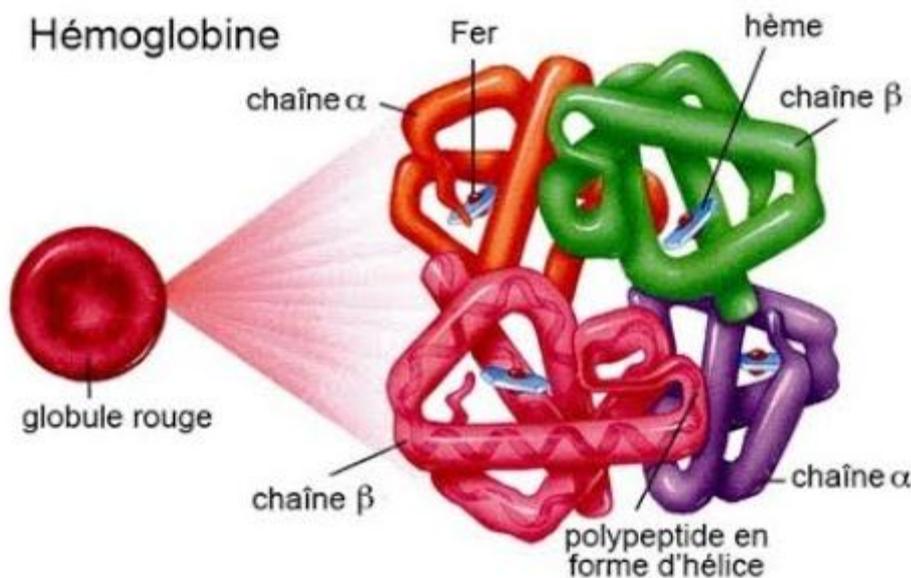


Figure 11 : l'hémoglobine

b. **Membrane** : protéino-lipidique, souple et déformable, formée de 2 couches lipidiques recouvertes à l'intérieur et à l'extérieur par une couche protéique.

- ✓ **Glucides** : 8% oligosaccharides (glycoprotéines et glycolipides), tel que : les antigènes des groupes sanguins (système ABO, système Rhésus, sys MNSs, sys Kidd,.....etc)
- ✓ **Lipides membranaires** : 42% (65% phospholipides, 23% cholestérol, 12% acides gras); ont un rôle dans :
 - La fluidité et la perméabilité de la membrane.
 - La fluidité des globules rouges dans la circulation par leur répartition asymétrique.

- L'activité antigénique des glycolipides.
- L'amarrage de multiples protéines à la surface externe de la membrane (antigènes de groupes sanguins, acétylcholinestérase...)
- ✓ **Protéines membranaires structurales:** ils représentent 50% de la membrane
- **Protéines intrinsèques** (trame membranaire ou protéines transmembranaires): traversent les couches lipidiques, constituées des protéines 3, glycophorines A
- **Protéines du squelette membranaire** : en grillage, à la face interne de la double couche lipidique. Les plus importantes (spectrine, actine et protéine 4,1). Les autres protéines 4,2 (ankyrine, adductine)
- ✓ **Interactions des molécules membranaires :**
 - **Entre les protéines** : limitation de la mobilité rotatoire et transversale, maintien de la physiologie du globule rouge
 - **Interactions protéines-lipides** :
 - Maintien de l'asymétrie des deux couches lipidiques activité de certaines enzymes membranaires
 - Les enzymes de la glycolyse aérobie ne récupèrent leur activité que lorsqu'elles sont libérées de la bande 3
 - Moins de 1% d'hémoglobine se lie à la bande 3, fractions en échange très rapide avec le plasma, les hémoglobines S et C se lient à la membrane en quantité plus importante que l'hémoglobine A, et les dérivés d'oxydations s'attachent solidement à la bande 3

La constitution et la localisation de la membrane plasmique à la périphérie de la cellule lui permettent d'assurer :

- Les échanges entre la cellule et le milieu extérieur ;
- La communication et l'adhésion de la cellule avec la matrice extracellulaire.
- Les déterminants antigéniques au niveau de la membrane érythrocytaire du globule rouge sont des produits secondaires des gènes.

Avant d'étudier les systèmes de groupes sanguins pris en compte dans cette étude, il est nécessaire de définir ce que sont les phénotypes et les génotypes.

*Le phénotype correspond aux caractères observables chez l'individu.

*Un phénotype érythrocytaire est l'expression d'un caractère codé par un gène. (45)

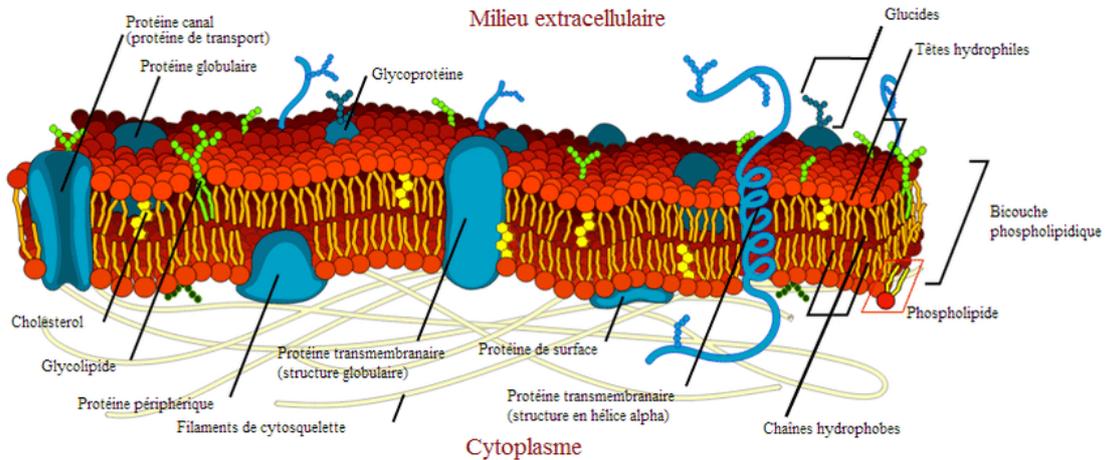


Figure12 : la membrane de globule rouge

II.4. Des antigènes à la surface des globules rouges :

On trouve à la surface des globules rouges des molécules capables d'être reconnues par le système immunitaire et de déclencher une réponse immune. Aux rôles fonctionnels multiples. D'un individu à un autre, Ce sont des marqueurs sanguins responsables de la compatibilité entre le sang de deux individus différents. Ces marqueurs de compatibilité érythrocytaires définissent les antigènes de groupes sanguins, dont l'expression est déterminée par une série de systèmes génétiques polymorphes constitue le phénotype.

Leur nature chimique est variable : protéine, glycoprotéine (protéine + polysaccharide) ou glycolipide (lipide + oligo-polysaccharide). Il s'agit de transporteurs et canaux membranaires (protéines assurant les transports de molécules à travers la membrane), d'enzymes, de protéines structurales de la membrane (« charpente » du globule), de molécules d'adhérence ou de récepteurs membranaires (protéines capables de lier une molécule signal ou informative). (27)

Les groupes sanguins jouent un rôle majeur en transfusion, car les disparités entre individus peuvent être source d'immunisation à l'origine d'accidents transfusionnels (ainsi que d'accidents d'incompatibilité fœto-maternelle). La fréquence des immunisations varie considérablement selon la fréquence des allèles et selon l'immunogénicité des antigènes correspondants. (27)

Ces systèmes et les antigènes qui les composent font l'objet d'une nomenclature internationale alphanumérique, établie par la Société internationale de transfusion sanguine (ISBT). Dans un but pratique même la nomenclature usuelle sera utilisée.

On distingue les groupes sanguins érythrocytaires, les groupes leuco-plaquettaires et les groupes d'immunoglobuline, dont les plus importants en pratique médicales quotidienne sont les groupes érythrocytaires.(45)

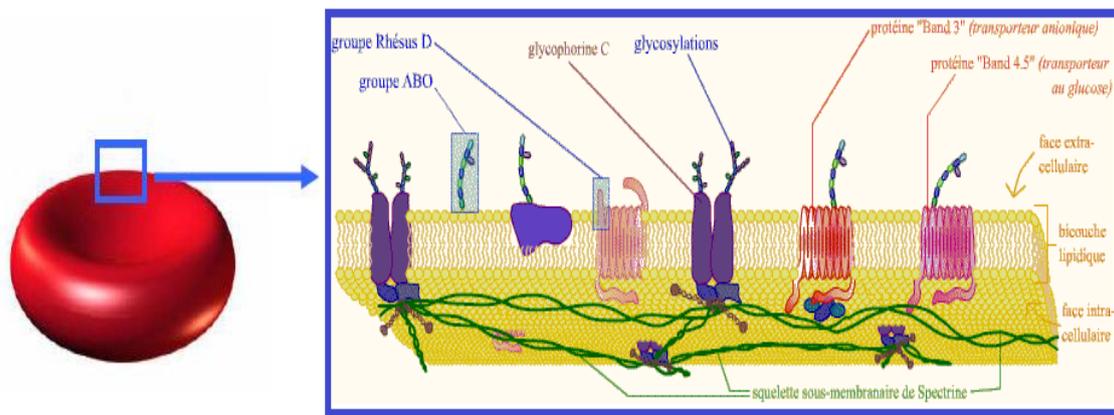


Figure13 : Les antigènes à la surface de la membrane érythrocytaire

II.4.1. Groupage et Phénotype :

Le groupage sanguin consiste donc à trouver l'ensemble des antigènes allotypiques, génétiquement induits et déterminés, des globules rouges d'un individu pour le faire appartenir à un groupe. Ce terme est surtout utilisé pour le système ABO qui donne donc les groupes A, B, AB et O. Le phénotypage consiste aussi à rechercher les antigènes à la surface des globules rouges afin de définir le phénotype du patient pour ce système. (42).

a. Le groupage:

Les systèmes de groupes sanguins érythrocytaires sont constitués d'un ensemble d'antigènes présents sur la membrane du globule rouge. Le système le plus important en transfusion sanguine est le système ABO. (36)

a.1. Système ABO

C'est le principal système de groupe sanguin et tissulaire. Il a été découvert en 1900 par Landsteiner. Il a un rôle important pour la transfusion, pour les greffes d'organes et de tissus. Il comprend 2 antigènes principaux : A et B. Il y a systématiquement présence des anticorps naturels réguliers de type IgM (ne traversent pas la barrière foeto-placentaire, ils n'ont pas de pouvoir hémolysant) anti-A ou/et anti-B dans le plasma lorsque les globules rouges du patient ne possèdent pas les antigènes correspondants.

On peut déterminer ainsi 4 phénotypes courants :

- **Groupe A** : présence de l'antigène A sur les globules rouges et l'anticorps anti-B dans le plasma
- **Groupe B** : présence de l'antigène B sur les globules rouges et l'anticorps anti-A dans le plasma

- **Groupe AB** : présence de l'antigène A et de l'antigène B sur les globules rouges et absence d'anticorps dans le plasma
- **Groupe O** : absence d'antigène A et B sur les globules rouges et présence des anticorps anti-A, anti-B, dans le plasma.(36)

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

Figure 14 : les différents groupes sanguins et les anticorps sériques.

Les antigènes du système ABO sont des oligosaccharides portés par des glycolipides membranaires des hématies, ils ne se limitent pas aux globules rouges, mais s'expriment également mais faiblement dans le plasma, les sécrétions et à la surface de nombreuses cellules de l'organisme dont les lymphocytes et les plaquettes les groupes sanguins (25)

La production des antigènes A et B est sous la dépendance d'un gène H, ce gène transforme une substance précurseur SP en substance H à la base des groupes sanguins.

- ❖ Si la personne exprime l'allèle A qui code pour la N-acétyl-galactosamine transférase, on obtient l'Ag A par l'ajout d'un résidu alpha-N-acétyl-galactosamine à l'ag H.
- ❖ Si la personne exprime l'allèle B qui code pour la galactose transférase, on obtient l'Ag B par l'ajout d'un résidu D-galactose à l'ag H.
- ❖ Ceux qui portent l'allèle A sur un chromosome et l'allèle B sur l'autre 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 ».

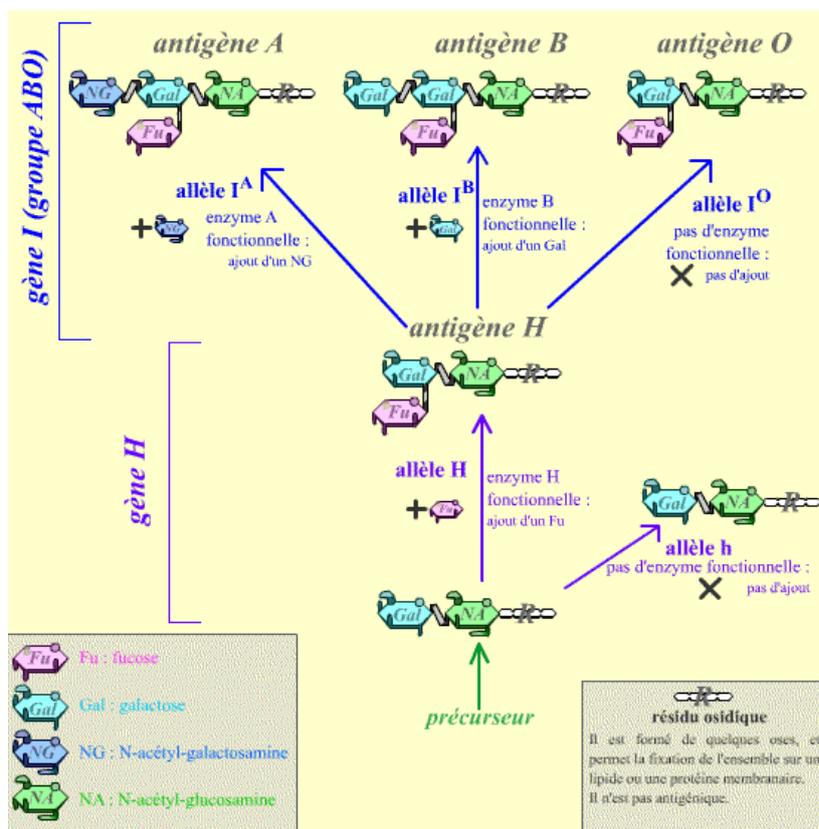


Figure 15 : Antigènes ABO et polymorphisme génétique.

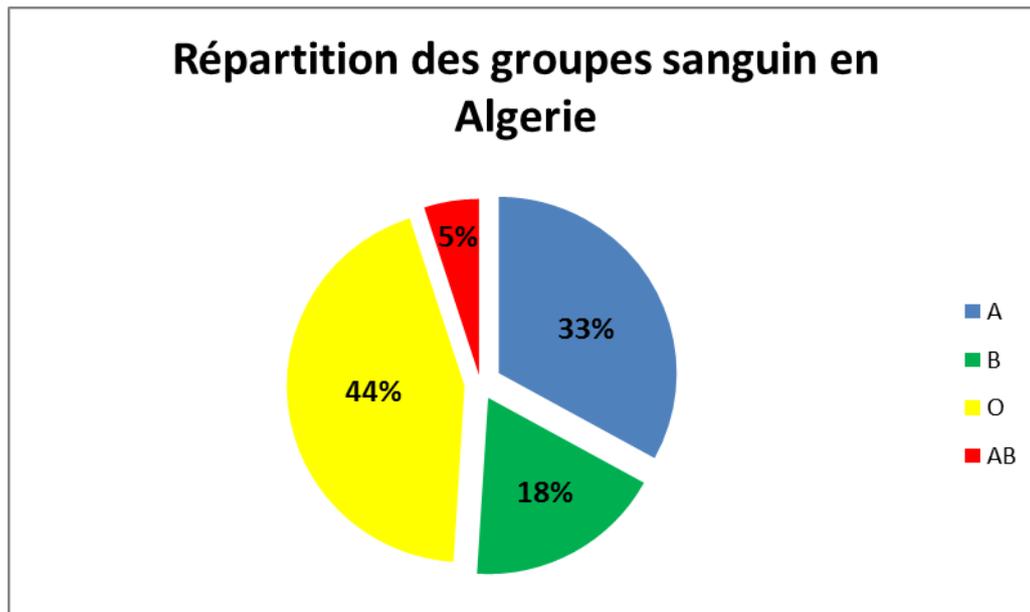
C'est le seul système dont la définition repose sur l'existence concomitante d'antigènes membranaires et d'anticorps plasmatiques présents de façon constante sans allo-immunisation préalable.

Le gène des groupes de systèmes ABO est porté par le chromosome n° 9 à la position 9q 34 et présente 4 allèles : A1, A2, B et O. Les allèles A et B sont codominants par rapports à O qui est récessif.

Un individu possède deux chromosomes l'un reçu du père, l'autre de la mère. Six arrangements distincts des chromosomes (génotypes) sont donc possibles : OO, OA, OB, AA, AB, BB. Mais seulement quatre groupes sanguins (phénotypes) sont définis par ces arrangements : OO correspond au groupe O, OA et AA au groupe A, OB et BB au groupe B, et AB au groupe AB.(48)

Tableau 01: Système ABO : phénotypes, génotypes et anticorps

Phénotype	Génotype	Antigène de membrane érythrocytaire	Anticorps plasmatique(s)	Fréquence en Algérie
A	AA ou AO	Ag A	Anti-B	33 %
B	BB ou BO	Ag B	Anti-A	18 %
O	OO	Absence d'Ag	Anti-A et anti-B	44 %
AB	AB	Ag A et Ag B	Absence d'Ac	5 %



Remarque : l'antigène A correspond en réalité à 2 antigènes distincts, A1 présents chez 80% des sujets et A2 chez les 20% restants.

La différence entre A1 et A2 est :

- ✓ **Quantitative** : le nombre de sites antigéniques A étant plus important sur les globules A1, que sur les globules A2 (environ 1 million d'épitopes chez A 1 contre 200 000-400 000 épitopes chez les A2).
- ✓ **Qualitative** : chez les A1 les Ag H sont entièrement saturés par le N-acétylgalactosamine, chez les A2 les Ag H ne sont pas tous saturés.

Pour cela, les hématies A1 agglutinent rapidement avec des anticorps anti A mais pas avec des anti-H, et les hématies A2 agglutinent plus lentement avec l'anti-A, et avec l'anti-H aussi. **(48)**

La détermination des groupes sanguins ABO fait appel aux deux épreuves contraires : une épreuve globulaire (Beth-Vincent) et une épreuve sérique (Simonin). C'est la corrélation de ces deux épreuves qui détermine le groupe ABO du patient. Le principe de ses méthodes repose sur la technique d'agglutination. L'agglutination est l'expression visuelle de la réaction immunologique anticorps/antigène.

- Epreuve de *BETH- VINCENT* (sérum tests)

Les hématies à tester sont mises en contact avec des anticorps sériques connus (anti A, anti B, anti AB) afin d'identifier les antigènes présents sur ces hématies.

Tableau 02 : principe de détermination des différents groupes sanguins avec le test de Beth Vincent

Test de Beth-Vincent			
sérum test / groupes de surface	AC Anti-A	AC Anti-B	AC Anti A+B
A	+	-	+
B	-	+	+
O	-	-	-
AB	+	+	+

(+) / (-) présence ou l'absence d'agglutination

➤ Epreuve de *SIMONIN* (hématies tests)

Le plasma (ou le sérum) est mis en contact avec des hématies tests connues A et B afin d'identifier les anticorps anti A et anti B présents dans ce plasma.

Tableau 03 : principe de détermination des différents groupes sanguins avec le test de Simonin

Test de Simonin		
Hématies test / Groupe sanguin	Ag A	Ag B
A	-	+
B	+	-
O	+	+
AB	-	-

(+) / (-) présence ou l'absence d'agglutination.

Ces deux recherches, respectivement d'antigènes (épreuve de Beth-Vincent) et d'anticorps (épreuve de Simonin-Michon) l'un est confirmé l'autre, sont obligatoires et doivent être concordantes pour établir un groupe sanguin ABO. Une exception toutefois chez le nouveau-né de moins de six mois dont les anticorps ne sont pas bien développés, Seul, un résultat provisoire basé sur la seule épreuve de Beth-Vincent peut être rendu et chez lequel ne sont donnés que des résultats non définitifs (72)

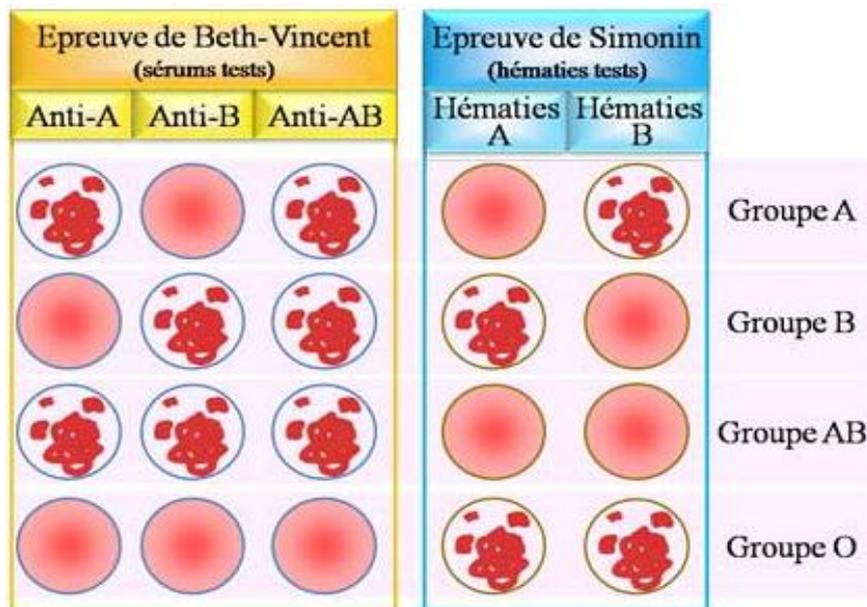


Figure 16 : Techniques utilisés pour la détermination des groupes sanguins.

a.2. LE Système Rhésus (RH) :

➤ Définition :

Il a été découvert en 1939 par Lévine. C'est un système allo typique de groupe sanguin érythrocytaire défini par la présence ou l'absence d'un antigène dit antigène Rh standard ou antigène D.

Le système Rh est l'un des systèmes les plus immunogènes de groupe sanguin après le système ABO. C'est un système propre aux globules rouges. Il est extrêmement polymorphe, composé de plus de 50 antigènes différents. En pratique transfusionnelle, seuls cinq antigènes du système Rh sont recherchés de façon courante : les antigènes D (RH1), C (RH2), E (RH3), c (RH4), e (RH5).

Tableau 04 : Nomenclature des antigènes Rh selon ISBT et FISHER/RACE

Nomenclature de FISHER et RACE	Nomenclature ISBT	Fréquence Algériens
D	RH : 1	93 %
C	RH : 2	68 %
E	RH : 3	18 %
c	RH : 4	81 %
e	RH : 5	99 %

➤ Les antigènes du système Rh :

Trois couples d'antigènes définissent le système Rh : D(RH1) et sa négation d(RH1), C (RH2)/c (RH4), E (RH3)/e (RH5), Ils sont antithétiques, et ils permettent de définir 8 haplotypes, qui sont notés DCE, DcE, dce, Dce, dCe, dcE, DCE et dCE, 18 phénotypes et 32 génotypes.

- Antigène C et c (Rh2 et Rh4) : toute hématie C négatif est systématiquement c positif, en inversement
- Antigène E et e (Rh3 et Rh5) : toute hématie E négatif est systématiquement e positif, en inversement

Ces antigènes sont localisés sur deux protéines RhD et RhCE qui traverse la membrane du globule rouge. Ces deux protéines sont codées par deux gènes homologues localisés sur le chromosome 1p34-p36, et sont fixées sur la protéine RhAG codée par le chromosome 6. Cette protéine RhAG stabilise les protéines RH.

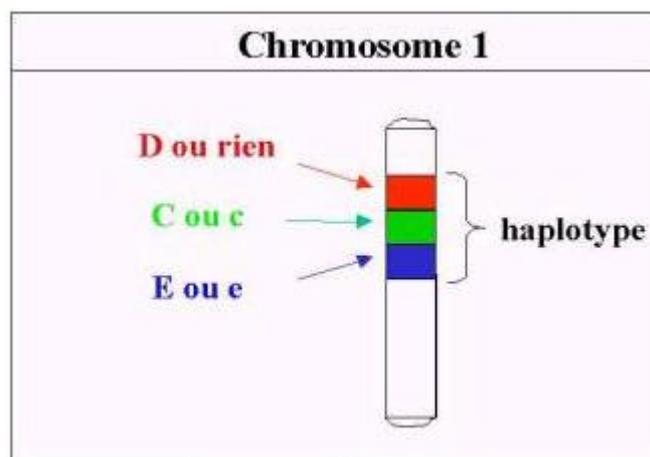


Figure 17 : chromosome 1

***Gène RHD** : Responsable de la synthèse de l'antigène D qui est présent chez les individus Rh positif et absent chez les individus Rh négatif (il existe une délétion complète du locus RHD, à l'état homozygote qui conduit à l'absence de protéine RHD sur la membrane érythrocytaire et donc à l'absence d'antigène D, ceci veut dire qu'il n'existe pas d'allèle Rhd, ni d'antigène d). Il existe donc 3 combinaisons alléliques possibles, conduisant à 2 phénotypes : D+ ou D-. **(48)**

Tableau 05 : Les fréquences phénotypiques dans le système Rh

<i>Génotype</i>		<i>Phénotype</i>	<i>Fréquence Algériens</i>
<i>Allèle 1</i>	<i>Allèle 2</i>		
D	D	D+	93%
D	d		
d	d	D-	07%

***Gène RHCE** : Responsable de la synthèse des antigènes C, c, E et e. C et c diffèrent d'un acide aminé critique en position 103, alors que les antigènes E et e, diffèrent d'un acide aminé en position 226.

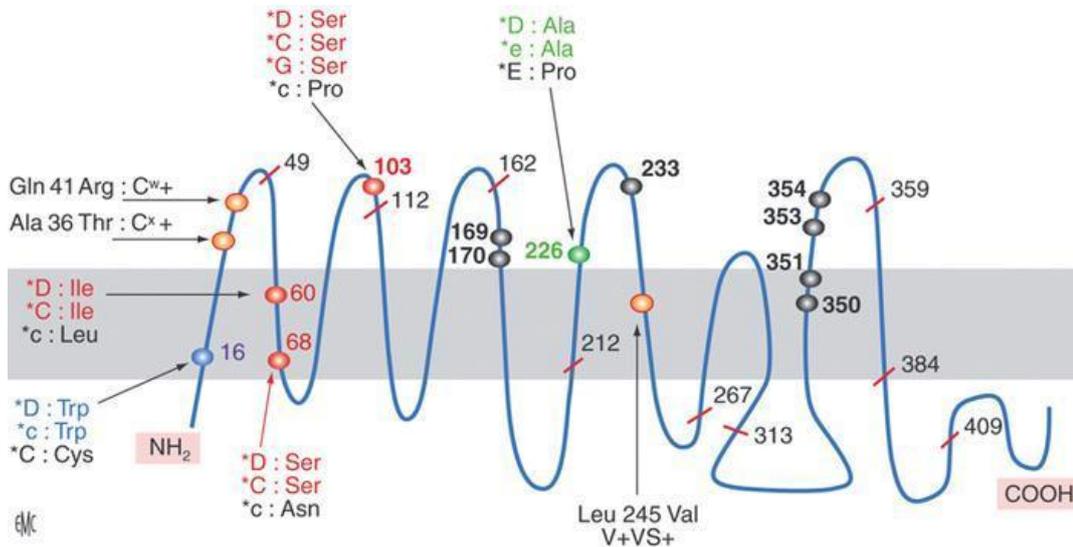


Figure 18 : La protéine Rh

➤ Les anticorps du système Rh :

Il n'y a pas d'anticorps naturels. Les anticorps identifiés dans le système Rhésus sont tous d'origine immune et de nature IgG.

Les allo-anticorps immuns du système Rh sont impliqués dans les réactions hémolytiques post-transfusionnelles et les maladies hémolytiques du nouveau-né (+++).

L'antigène D le plus immunogène est responsable de la majorité des maladies hémolytiques néonatales (incompatibilité fœto-maternelle) et de certains accidents transfusionnels (cas où l'antigénocompatibilité D n'a pas été observée).

Les autres antigènes E, c plus rarement C et e peuvent également provoquer l'apparition d'anticorps immuns responsables d'hémolyses post-transfusionnelles et de maladies hémolytiques du nouveau-né. Fréquence d'immunisation : D>K>E>c>e>C.

Le plus souvent les anticorps anti-Rh apparaissent seulement lors de la seconde grossesse dans le cas particulier de l'allo-immunisation fœto-maternelle.

-Il est donc important de respecter la compatibilité pour les 5 antigènes Rh dans les transfusions de globules rouges.

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

- Si un patient est Rh⁻ ; il est fortement conseillé de lui transfuser du Rh⁻

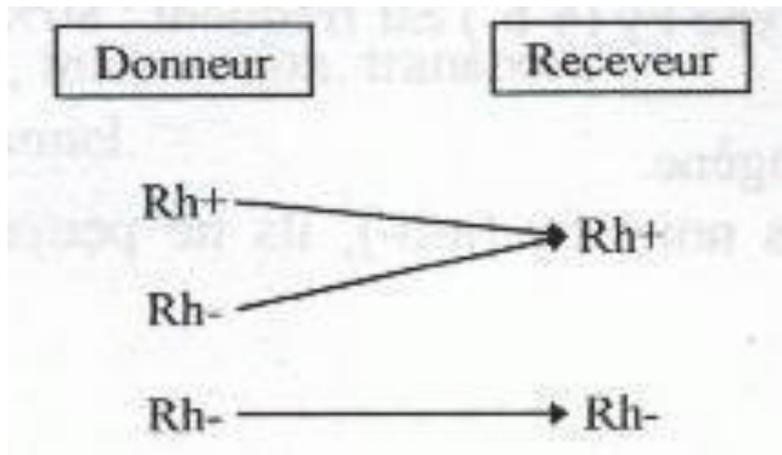


Figure 19 : schéma de compatibilité dans le système rhésus.

b. Phénotype :

Le phénotypage est indiqué principalement en cas d'existence d'anticorps irréguliers chez le donneur ou chez le receveur, chez les malades polytransfusés et les sujets de sexe féminin en âge de procréer. Lorsqu'on a identifié un patient immunisé, on doit impérativement lui délivrer du sang présentant un phénotype « négatif » pour la spécificité anticorps qu'il possède.

Pour déterminer le phénotypage, il faut rechercher l'antigène à la surface des globules par l'intermédiaire d'anticorps qui sont le plus souvent des anticorps monoclonaux. Le principe consiste à mettre en contact un sérum contenant l'anticorps spécifique à l'antigène (anti-sérum) aux globules rouges du patient, après un temps d'incubation plus ou moins long qui permet de laisser le temps aux anticorps de venir à la rencontre des antigènes et de s'y fixer. Si l'anticorps se fixe à l'antigène, alors le patient possède l'antigène correspondant à l'anticorps. (43)

Il s'applique à tous les CGR antigéno-compatibles avec le receveur pour les 5 antigènes : RH2 (C), RH3 (E), RH4 (c), RH5 (e) du système RHESUS (Rh) et KELL (K) du système KELL (Kell).

Les phénotypages dans les systèmes Rh et Kell sont les plus couramment effectués car les plus immunogènes. La recherche d'autres antigènes, le « phénotypage étendu », peut être important à réaliser avant l'instauration d'un programme transfusionnel régulier chez un malade.

Indications des CGR déleucocytés phénotypés RH et KELL sont formellement indiqués en cas d'existence d'anticorps irréguliers

- chez le donneur ou chez le receveur,
- chez la femme non ménopausée
- chez les sujets polytransfusés
- Lorsqu'on a identifié un patient immunisé.

- avant transplantation
- en cas d'existence d'anticorps anti-érythrocytaires.
- les nouveau-nés, en présence d'un anticorps anti-érythrocytaire (provenant de la mère), quel que soit le sexe. (76)

On doit impérativement lui délivrer du sang présentant un phénotype « négatif » pour la spécificité anticorps qu'il possède.

b.1. Le système Kell :

Il s'agit du système le plus immunogène après le système RH. Il a été découvert en 1946 à la suite d'une allo-immunisation fœto-maternelle avec maladie hémolytique du nouveau-né. Ce système revêt une importance sur le plan pratique en raison de son fort pouvoir immunogène.

Le système Kell possède 2 antigènes principaux : **K** (KEL1) et **k** (KEL2, Cellano), qui sont antithétiques portés par une glycoprotéine membranaire dont l'expression est restreinte à la lignée érythrocytaire. (53)

La protéine Kell est une glycoprotéine de poids moléculaire de 93 kDa (Figure 0). Les antigènes Kell apparaissent dès la 10^e semaine de gestation et sont bien développés à la naissance. Leur expression apparaît à des stades précoces de l'érythropoïèse. Sur une cellule mature, le nombre de copies par hématie est estimé de 3500 à 17000.

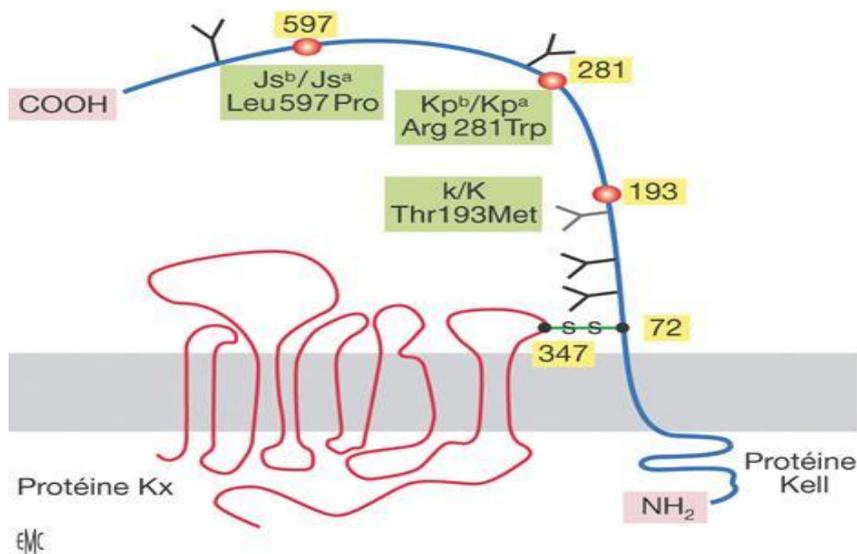


Figure 20 : Glycoprotéines Kell et Kx

Les antigènes du système Kell sont très immunogènes et l'anti-K est un anticorps courant qui peut être responsable de réactions transfusionnelles sévères. Donc on évite l'immunisation anti-K en transfusant des CGR phénotypés compatibles. (5)

Il est nécessaire de toujours transfuser du sang Kell négatif à un receveur Kell négatif.

Tableau 06 : Les fréquences phénotypiques dans le système Kell

Génotype		Phénotype	Fréquence Algériens
Allèle 1	Allèle 2		
k (KEL2)	k (KEL2)	K- k+	90,3 %
K (KEL1)	k (KEL2)	K+ k+	09,6 %
K (KEL1)	K (KEL1)	K+ k-	0,1 %

-Pour la transfusion sanguine, la prévention de l'allo immunisation repose donc sur l'injection de concentrés globulaires K négatif (kk) aux sujets K négatif. L'injection de sang phénotypé respecte cette règle et elle est réglementairement obligatoire dans les mêmes circonstances que celles appliquées pour le groupe RH.(26)

b.2. Les autres systèmes :

Ils sont nombreux et souvent importants en transfusion. Exemples :

- Système Duffy : Fya/Fyb (FY1/FY2)
- Système Kidd : JKA :Jkb (JK1/JK2)
- Système MNS : S (MNS3) et s(MNS4)
- Antigènes Lewis : Lea/Leb (LE1/LE2) (s'ils sont hémolysants) (73)

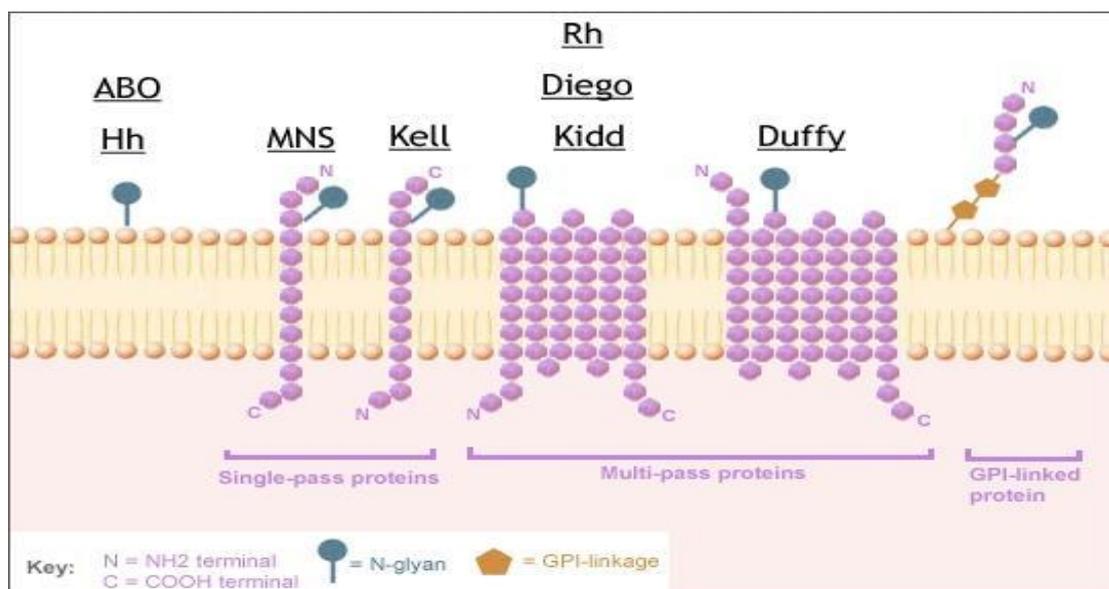


Figure 21: Schéma de la répartition des antigènes érythrocytaires à la surface de l'hématie.

Tableau 07 : localisation chromosomique et nature moléculaire des principaux systèmes de groupes sanguins

Système	Découverte	Localisation (Locus)	Nature moléculaire
ABO	1900	9q34q2	Glycoprotéines et Glycolipides
Rhésus	1939-40	1p11-p36	Protéines 32Kda
Kell	1946	7q34	Glycoprotéines 93Kda
Duffy	1950	1q2-q23	Glycoprotéines 45-50 Kda
Kidd	1951	18q3-q12	Glycophorines
MNSs	1927	4q31q21	Glycophorines A (MN) et B (Ss)

II.5. Anticorps dirigés contre les cellules sanguines

En fonction de leurs modalités d'apparition et de leurs caractéristiques, ces anticorps sont classés en trois grandes catégories.

* **Anticorps naturels réguliers** : toujours présents en l'absence de l'antigène correspondant, apparaissant naturellement entre 0 et 6 mois de vie, ce sont le plus souvent des anticorps de type IgM, les IgM sont de grosses molécules qui ne traversent pas le placenta au cours de la grossesse, ils caractérisent les anticorps du système ABO.(59)

* **Anticorps naturels irréguliers** : présents sans allo-immunisation préalable, ils sont observés de façon non constante dans le sérum des individus dont les hématies n'expriment pas l'antigène correspondant. Ils sont de type IgM et sont rarement actifs à 37°C, ce qui explique leur absence d'incidence lors des transfusions. L'exemple type est celui des anticorps dirigés contre les antigènes du système Lewis. (12)

* **Anticorps immuns irréguliers** : apparaissant après une allo-immunisation transfusionnelle ou gravidique. Ce sont essentiellement des anticorps IgG. Les IgG sont capables de traverser le placenta au cours de la grossesse. Les patients immunisés représentent environ 1,5% des patients. Il est donc indispensable de garantir la sécurité du patient avant toute transfusion à l'aide d'une RAI. (9)

II.5.1.L'allo immunisation:

L'allo-immunisation anti-érythrocytaire correspond à la réponse immunitaire d'un individu vis-à-vis d'antigènes érythrocytaires étrangers, c'est-à-dire non présents à la surface de ses hématies. (12)

Ces antigènes, introduits dans un organisme, peuvent être la cible d'anticorps sériques naturels ou immuns, responsables d'une lyse cellulaire parfois grave, voire mortelle. Cette situation de conflit immunologique s'exprime dans deux domaines de la pathologie : les accidents immunologiques transfusionnels et l'incompatibilité fœto-maternelle (27)

En pratique, l'antigène qui pose le plus de problème est le Rhésus D (présent chez les individus Rh+). En effet, il s'agit d'un antigène très immunogène qui déclenche à faible dose des réactions immunitaires importantes responsables d'hémolyse potentiellement massive. La première grossesse d'un enfant Rh+ chez une femme Rh- ne pose qu'exceptionnellement un problème immunologique. Au terme d'une deuxième grossesse d'un enfant Rh+, environ 15 % des femmes Rh- sont porteuses d'une IgG anti-Rhésus D. Dès cette deuxième grossesse, la réponse immunitaire anti-D de la mère peut être réactivée. Les IgG anti-D passent alors le placenta et provoquent une destruction des globules rouges fœtaux d'intensité variable, minime à massive. Une hémolyse minime se manifeste essentiellement après l'accouchement par un ictère (jaunisse) anormalement sévère ou prolongé (tous les nouveaux nés font un ictère physiologique bref et peu intense) : c'est la maladie hémolytique du nouveau-né. Les hémolyses massives peuvent conduire à la mort du fœtus in utero. (27)

Il existe un certain nombre de traitements à mettre en œuvre pendant et après la grossesse pour prendre en charge les hémolyses in utero et néonatale et prévenir les complications potentiellement graves qu'elles occasionnent. Cependant, le meilleur traitement reste la prévention de l'allo-immunisation Rhésus maternelle (réaction maternelle contre le Rhésus D) qui repose sur l'administration intra-veineuse d'IgG anti-D dans les situations à risque de passage de sang fœtal dans la circulation maternelle chez les femmes Rh- porteuses d'un enfant Rh+. Ces IgG se fixent sur les globules rouges fœtaux et préviennent la réaction immunitaire maternelle. Elles ne provoquent pas d'hémolyses significatives chez le fœtus. Cette mesure systématique a considérablement réduit le nombre d'accidents hémolytiques liés à l'antigène Rhésus D.

Par ailleurs, afin de prendre en charge au plus vite une hémolyse fœtale, on recherche systématiquement chez la femme Rh- au cours d'une grossesse à risque (père Rh+) l'apparition d'une IgG anti-D. Des accidents pouvant survenir par allo-immunisation contre d'autres antigènes érythrocytaires, la recherche d'une IgG anti-antigène érythrocytaire est étendue à plusieurs autres systèmes antigéniques à risque comme le Kell, le Duffy et le Kidd. Cet examen de laboratoire est appelé une recherche d'agglutinines irrégulières ou RAI. Il est obligatoire lors de l'examen prénatal et deux fois au moins au cours de toute grossesse. (27)

II.5.2. La recherche des agglutinines irrégulières (RAI):

La recherche des agglutinines irrégulières (RAI) est un test permettant de révéler les anticorps dirigés contre les antigènes des systèmes érythrocytaires autres que le système ABO en technique de Coombs.(44)

La RAI doit être réalisée sur un prélèvement frais et conservé dans de bonnes conditions à + 4°C. Selon la réglementation en vigueur, le délai de validité de la RAI est fixé à 3 jours. (9)

C'est un examen pré-transfusionnel fondamental pour la prévention des accidents immuno-hémolytiques chez tous patient susceptible d'être transfusé à court terme et chez le polytransfusé (49) Il est également indiqué dans le suivi des femmes enceintes dans le cadre de l'incompatibilité fœto-maternelle. Les anticorps anti-érythrocytaires peuvent apparaître après une transfusion de produit sanguins labiles, une grossesse ou un avortement.

Le test RAI consiste à mettre en présence le sérum de chaque patient avec des hématies-tests d'origine humaine de groupe O qui ont une antigénicité connue dans les systèmes de groupes sanguins les plus immunogènes (Rh, Kell, Duffy, MNS, Kidd). (62) Une étape de dépistage est systématiquement pratiquée suivi d'une identification de la spécificité du ou des anticorps sur tous sérums positifs

II.5.3.L'épreuve de compatibilité directe au laboratoire:

L'épreuve de compatibilité directe au laboratoire (EDC) est une RAI « personnalisée » qui consiste à mettre en présence le sérum du patient et les hématies à transfuser.

Cette analyse complète la RAI mais ne la remplace pas. Elle peut mettre en évidence des anticorps anti «privés », c'est-à-dire des anticorps dirigés contre des antigènes rarement rencontrés dans la population.

L'EDC s'applique :

- pour tout patient à transfuser présentant, ou ayant présenté, ou suspecté de présenter un ou plusieurs allo-anticorps anti -érythrocytaires. et en cas d'antécédent de réaction hémolytique même mineure. (50)

II.6. Les règles de Compatibilité:

La compatibilité entre donneur et receveur correspond à trois niveaux de contraintes :

- Respecter les anticorps naturels présents chez le receveur, car ils sont susceptibles de provoquer des accidents graves dès la première transfusion, c'est avant tout le cas de la compatibilité ABO.
- vérifier l'absence et prévenir l'apparition d'anticorps inhabituels chez le receveur. Cette contrainte impose le respect systématique de la compatibilité Rh D et de la recherche d'anticorps anti-érythrocytaires irréguliers (RAI) avant toute transfusion. Selon les recommandations de l'agence française ANSM (agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé), le respect de la compatibilité C, E, c, e et Kell (qualification « Rh-K » du CGR) est formellement

indiqué chez les patients ayant ou ayant eu un anticorps d'intérêt transfusionnel et chez les femmes en âge de procréer. Il est notamment recommandée chez les patients soumis à des transfusions répétées et souhaitables pour tout patient d'espérance de vie raisonnable, quels que soient l'âge et le sexe.

II.6.1. Transfusion d'un concentré globulaire :

Il est impératif de tenir compte des anticorps naturels Anti-A et Anti-B présents dans le plasma du patient. Si possible, le groupe sanguin des hématies à transfuser doit être identique au groupe sanguin du patient.

En dehors des transfusions iso-groupes :

- ✓ la transfusion d'hématies O à un receveur A, B, AB est compatible
- ✓ la transfusion d'hématies A à un receveur AB est compatible
- ✓ la transfusion d'hématies B à un receveur AB est compatible.

Donc on constate que :

- le groupe O est un donneur universel
- le groupe AB est un receveur universel

Tout autre type de transfusion est incompatible et entraînera un accident transfusionnel hémolytique.

La figure suivante résume les compatibilités entre les différents groupes sanguins des donneurs et des receveurs pour les transfusions de globules rouges.

Compatibilité des **GROUPES SANGUINS**

		Donneur							
		O-	O+	B-	B+	A-	A+	AB-	AB+
Receveur	AB+	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	AB-	✓		✓		✓		✓	
	A+	✓	✓			✓	✓		
	A-	✓				✓			
	B+	✓	✓	✓	✓				
	B-	✓		✓					
	O+	✓	✓						
	O-	✓							

Figure 22: les règles de compatibilités utilisé lors de la transfusion donneur/ receveur

On tient compte des antigènes C, E, c et e pour une demande de sang phénotype. Il ne faut jamais apporter d'antigènes que le receveur ne possède pas déjà.

Tableau 08 : Règle de compatibilité dans le système Rh

Phénotype Rh du patient	Concentré de globules rouges à transfuser
D+C+E- c+e+ (R1r)	Tout CGR phénotypé sauf E⁺
D+C+E-c-e+ (R1R1)	Tout CGR phénotypé sauf E⁺ et c⁺
D-C-E-c+e+ (rr)	Tout CGR phénotypé sauf D⁺, C⁺ et E⁺
D+C+E+c+e+ (R1R2)	Tout CGR phénotypé
D+C-E+c+e+ (R2r)	Tout CGR phénotypé sauf C⁺
D+C-E-c-e+ (R0r)	Tout CGR phénotypé sauf C⁺ et E⁺
D+C-E-c+e- (R2R2)	Tout CGR phénotypé sauf C⁺ et e⁺
D-C+E-c+e+ (r'r)	Tout CGR phénotypé sauf D⁺ et E⁺
D-C-E+c+e+ (r''r)	Tout CGR phénotypé sauf D⁺ et C⁺

+ : antigènes présents sur les GR

- : antigènes absents sur les GR

On tient compte pour du sang phénotype, au règle de transfusion du système Kell. K- peut recevoir K - ; K + peut recevoir K - et K +. (4)

Tableau 09 : Règle de compatibilité dans le système Kell

Phénotype Kell du patient	Concentré de globules rouges à transfuser
K. k ₊	Tout CGR phénotypé sauf K ⁺
K ₊ k ₊	Tout CGR phénotypé

II.6.2. Transfusion d'un Plasma frais congelé :

On ne tient pas compte du Rhésus pour ce type de produit

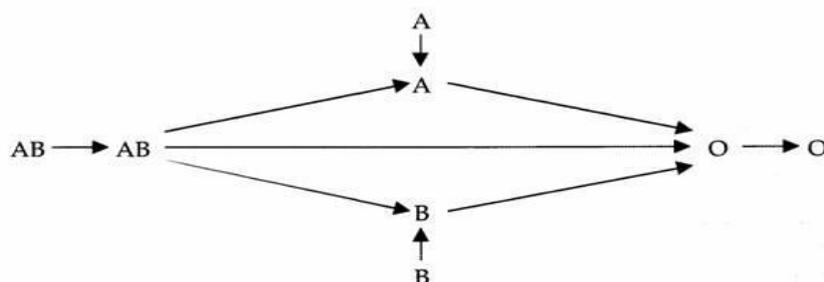


Figure 23 : schéma résume les différentes règles du don de plasma

NB :

AB : «Receveur universel » car absence d'anticorps anti-Ag A et anti-Ag B dans le plasma

O : « Donneur universel » car l'Ag H n'est pas reconnu par les anticorps anti-Ag A et anti-Ag B(Figure23).

II.6.3. Transfusion de plaquettes:

Les antigènes rhésus ne sont présents que sur les globules rouges mais dans une poche de plaquettes il y a quelques GR ⇒on doit tenir compte de l'antigène D, par exemple :

- si le R est Rh- et que le donneur possède des plaquettes Rh + ⇒ fabrication d'Ac anti-D par R ; dans ce cas on pratique une injection de gammaglobuline anti-D.

On ne tient pas compte des autres antigènes mêmes qu'il y a un risque (faible) d'immunisation surtout contre E et éventuellement contre c. (54)

NB : Tous ces groupes vont être recherchés chez les patients qui seront polytransfusés et qui nécessitent donc du sang phénotype (recherche de ABO, D, C, c, E, e et K). Exemple : drépanocytaire.

Chapitre III

LA

PREPARATION

DES PRODUITS

SANGUINS

Les produits sanguins proviennent de dons bénévoles, anonymes, volontaires et gratuits répartis en produits sanguins labiles (PSL) et produits sanguins stables (PSS).

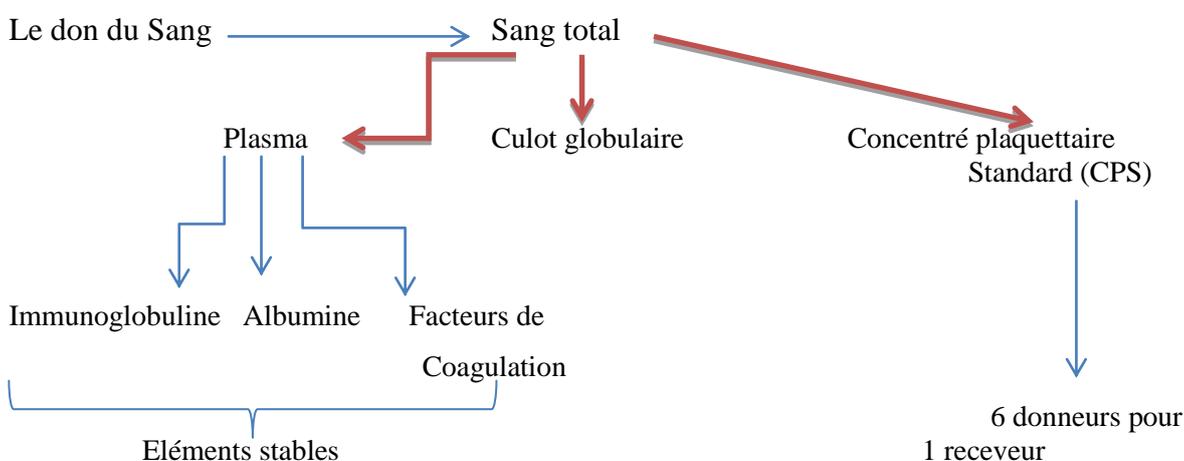
Les produits sanguins labiles (PSL) se caractérisent d'abord par une conservation limitée dans le temps (quelques jours à un an). Ils diffèrent des produits sanguins stables (PSS), obtenus par fractionnement du plasma et qui ont une durée de conservation prolongée. Les PSL sont aussi caractérisés par une présentation en unité (issus d'un ou de quelques donneurs), des règles de compatibilités à respecter, un risque plus important de transmission des maladies (car inactivation microbienne limitée) et une possibilité accrue d'immunisation du receveur.

Les 6 principaux PSL accessibles dans les pays en développement qui vont être décrits ici sont:

- ✓ le sang total (ST),
- ✓ le concentré érythrocytaire standard (CE), avec ou sans solution additive (sag)
- ✓ le concentré érythrocytaire appauvri en leucocytes (déleucocyté), avec ou sans solution additive
- ✓ le concentré plaquettaire standard (CPS)
- ✓ le plasma frais congelé (PFC)
- ✓ le plasma riche en plaquettes (PRP)
- ✓ et accessoirement le cryoprécipité.

Les produits sanguins stables (PSS) sont l'albumine, les immunoglobulines, les colles biologiques, les facteurs de la coagulation. Les produits sanguins stables sont des médicaments sous le contrôle de la Pharmacovigilance. **(29)**

Tous ces composants peuvent être obtenus à partir du sang total (matière première) après centrifugation puis séparation. Ceci apporte un gain en sécurité (on ne transfuse que le composé nécessaire), en rentabilité (2 ou 3 produits issus du même donneur), et en efficacité (produits concentrés). **(20)**



III.1. Les Produits Sanguins Labiles(PSL) :

Les produits sanguins labiles (PSL) sont dérivés du sang total et obtenus par les techniques de centrifugation. La transfusion de sang total est actuellement abandonnée car son efficacité est limitée. La séparation du sang total donne lieu aux concentrés de globules rouges (CGR), aux concentrés plaquettaires et au plasma. Ces concentrés peuvent également être obtenus par la technique d'aphérèse. Les cellules souches périphériques obtenus par les techniques de cytophérèse sont habituellement exclues de ces dérivés étant donné leur usage réservé aux procédures de greffe. Ces étapes visent à concentrer le principe actif et à n'apporter au malade que ce dont il a besoin.



Photo 05 : Poches triples permettant la collecte et la séparation dans un système clôt de CGR, plasma pauvre en plaquette et concentré plaquettaire (de droite à gauche)

III.1.1. Le culot de globule rouge(CGR) :

Il est obtenu après centrifugation du sang total et extraction du plasma surnageant. Plus rarement, le CGR est obtenu par cytophérèse. Lors du don, le sang total est prélevé dans une poche contenant un anticoagulant (CPD : citrate, phosphate, dextrose). Les globules rouges du sang total fraîchement prélevé et conservé entre +2° C et + 6°C gardent leurs propriétés pendant une durée de conservation de 21 jours. Actuellement une solution de conservation (SAG-M : Saline, adénine, glucose, mannitol) est rajoutée permettant d'étendre la durée de conservation de 21 à 42 jours. Une unité de CGR peut être aseptiquement séparée en plusieurs unités pédiatriques dans un souci d'économie de sang. D'autres transformations en particulier la filtration. Le CGR déleucocyte contient environ 40g d'hémoglobine si le donneur a plus de 12g/dl dans son sang, sous un volume entre 200-250ml, parfois préconisées selon les indications de la transfusion. (51)

Les concentrés érythrocytaires ont pour rôle de restituer au receveur des globules rouges pour obtenir une capacité suffisante de transport d'oxygène en attendant de traiter la cause de l'anémie. Ils sont donc indiqués dans les anémies sévères décompensées. Ils corrigent les signes de mauvaise tolérance observée sans nécessairement normaliser la concentration d'hémoglobine.

Le CE appauvri est un CE débarrassé par séparation manuelle de sa couche leuco plaquettaire (buffy coat). L'élimination des leucocytes est plus efficace avec un filtre à déleucocyté (CE « déleucocyté ») mais l'appauvrissement participe déjà à limiter les complications transfusionnelles comme le syndrome frissons hyperthermie, l'immunisation granulo-plaquettaire, et la transmission de certaines maladies virales (Cytomégalovirus, HTLV). La teneur en leucocytes d'un CE appauvri doit être $< 1,2 \times 10^9$ / unité. Le CE pour nourrisson est préparé à partir d'un CE adulte qu'on fractionne dans 2 ou 3 poches. Son volume est d'environ 90 à 100 ml. Un CE apporte environ 1g/dl d'hémoglobine à un adulte de 60kg.

Avant tout transfusion il est nécessaire

- **Les CGR phénotypes** : Compatibilité pour les antigènes C, c, E, e du système Rhésus et pour l'antigène K du système Kell (voir chapitre)
- **Les CGR phénotypes étendus** :

Respect du phénotype autre que RH-KEL lors de certaines immunisations érythrocytaires.

- **Les CGR comptabilisés** :

A fait l'objet d'une épreuve de compatibilité pré-transfusionnelle au laboratoire, c'est le test de Coombs indirect (61)

III.1.2. plaquettes:

Les plaquettes sont des cellules du sang plus petites que les globules rouges. Le rôle essentiel des plaquettes est la formation d'un caillot afin de prévenir ou d'arrêter un saignement. Les plaquettes sont transfusées dans les cas graves de perte de sang ou lorsqu'elles ne jouent pas bien leur rôle ou encore lorsqu'elles sont en nombre insuffisant.

Selon leurs modes de production, on distingue les concentrés plaquettaires standards (CPS) et les concentrés plaquettaires d'aphérèse (CPA). (54)

Les CPS proviennent de 5 à 6 dons du sang total. Ils sont préparés dans les 24 heures suivant le don. Après une première centrifugation séparant les globules du plasma riche en plaquettes, une deuxième centrifugation permet d'obtenir le culot plaquettaire et le plasma pauvre en plaquettes. Le CPS contient près de $5 \cdot 10^{10}$ plaquettes dans un volume de 70 ml.

Les CPA sont produits par cytophérèse ce qui permet d'obtenir $2 \cdot 10^{11}$ à $8 \cdot 10^{11}$ plaquettes dans un volume de 200 à 600ml.

Les plaquettes doivent être conservées dans les conditions optimales pour leur viabilité: stérilité du milieu, température entre 20 et 24°C, agitation continue et douce, poche perméable au gaz. Dans ces conditions, les plaquettes conservent leur viabilité pendant 3 à 5 jours en fonction du type de poche (perméable ou pas) et des solutions additives. Elles doivent être transfusées le plus rapidement possible, idéalement dans les 30 minutes qui suivent son transport au lit du malade. Les concentrés plaquettaires sont indiqués en prévention dans les thrombopénies sévères (risque de saignement spontané ou provoqué par un acte invasif), en curatif dans les syndromes hémorragiques thrombopéniques ou thrombopathiques. Ils ne sont pas indiqués dans les thrombopénies périphériques immunologiques car inefficaces (ex : Purpura thrombopénique auto immun).(15)

III.1.3. Le Plasma frais congelé (PFC)

Le plasma, de couleur jaunâtre, est la partie liquide du sang. Le plasma est riche en protéines indispensables au bon fonctionnement du corps. Le sang humain est constitué dans une proportion de 55 % de plasma. Une transfusion de plasma est faite à une personne qui souffre d'un problème de coagulation pouvant entraîner un saignement important au moment d'une chirurgie.

Le PFC est un composant préparé à partir de sang total ou de plasma collecté par aphérèse, congelé à une température qui maintient les facteurs de coagulation les plus labiles dans un état fonctionnel. Ce plasma doit être congelé dans les heures qui suivent le prélèvement (6 à 18 heures). Son volume est habituellement compris entre 260 et 320 ml (dont 20% d'anticoagulant). Le plus tôt possible après le prélèvement, le sang est centrifugé, le plasma congelé et conservé à l'abri de la lumière, à -65°C pendant 7 ans, -40°C pendant 24 mois, - 30°C pendant 12 mois, - 25°C pendant 6 mois ou - 20°C pendant 3 mois.(21)

La congélation rapide de ce produit vise à préserver les facteurs de coagulation qui se dégradent rapidement à température plus élevée. Bien conservé, le PFC contient au moins 0,7UI/ml de facteur VIII et IX, et un taux de protéines >50g/l. Le PFC est indiqué pour le remplissage vasculaire (insuffisance circulatoire), les hémorragies massives avec déficit combiné en facteurs de coagulations, les polytraumatisés (chirurgie dans les accidents graves), les grands brûlés, les hémophiles, les patients souffrant de troubles immunitaires graves le purpura thrombotique thrombopénique, un déficit en facteur de la coagulation non disponible sous forme de médicament dérivé du sang.

III.2. Les Produits Sanguins Stables(PSS) :

Les médicaments dérivés du sang ou produits sanguins stables sont obtenus à partir du plasma et produits industriellement. Ils sont caractérisés par une durée de conservation plus longue et une sécurité infectieuse théoriquement complète. Ce sont les solutions d'albumine (à 4% ou à 20%), l'alpha-1-

antitrypsine, la transferrine, les immunoglobulines, l'antithrombine III, la facteur de von Willebrand et les facteurs de la coagulation (II, V, VIII, IX, X).

Le cryoprécipité est le premier produit issu du fractionnement du plasma. Il est possible de le produire au laboratoire de transfusion sanguine par congélation du plasma à basse température et décongélation aux environs de +2 °C, il se forme naturellement un précipité à froid appelé pour cette raison «cryoprécipité ». Il contient la presque totalité du facteur VIII présent dans le plasma de départ. Il est aussi riche en facteur de von Willebrand et en fibrinogène. Il est utilisé dans la prise en charge de l'hémophilie et du déficit en les facteurs qu'il contient. Un procédé de préparation stérile est peu coûteux est en développement.

Obtenus par fractionnement du plasma. L'une de leurs qualités primordiales, est de ne pas transmettre de virus. A titre d'exemple, les concentrés d'albumine qui sont indiqués dans les états aigus d'hypovolémie sanguine ou plasmatique, la prévention de l'ictère nucléaire, les états chroniques d'hypoalbuminémie, le fibrinogène, utile en cas d'hypo- ou d'afibrinogénémie, d'afibrinogénémie congénitale notamment en phase hémorragique, et les protéines coagulantes comme les concentrés de facteurs de coagulations. **(21)** Les produits sanguins stables ou Médicaments Dérivés du Sang (MDS) sont dérivés de pools de plasma subissant un fractionnement physico-chimique. Leurs caractéristiques communes sont : conservation longue (un à trois ans) ; inactivation virale pendant le processus de fabrication. **(67)**

III.3. Préparation des PSL:

Aujourd'hui, la thérapeutique transfusionnelle repose sur l'utilisation des produits sanguins labiles (PSL) obtenus après des étapes dites « préparation des PSL ».

L'obtention des PSL par des méthodes de préparation permet de préserver les qualités de chaque composé du sang grâce à la mise en œuvre de techniques de recueil, de sélection, de purification et de conservation propres à chacun d'entre eux.

Obtenir plusieurs produits sanguins à partir d'un don de sang s'inscrit en outre dans une démarche éthique d'autosuffisance en PSL et de valorisation du don. Ainsi, à partir d'un don de sang total pourront être extraits un concentré de globules rouges, une couche leuco-plaquettaire qui entrera dans la composition d'un mélange de concentré de plaquettes, et un plasma qui entrera dans la composition des médicaments dérivés du sang. **(51)**

Les conditions de conservation des PSL obtenus permettent leur transport et garantissent leur disponibilité en quantité et en qualité, par la constitution de réserves disponibles au plus proche des établissements qui le nécessitent et donc des malades.

Cette activité, encadrée par une réglementation stricte, doit répondre à des règles de bonnes pratiques transfusionnelles et au respect des caractéristiques des PSL. L'activité de préparation des PSL s'intègre

dans la chaîne transfusionnelle entre le prélèvement et la distribution des produits. Elle dépend en amont du prélèvement (quantité et qualité des produits prélevés) et, en aval, des activités de distribution et de délivrance. Parallèlement à la préparation, l'activité de qualification biologique du don s'intègre dans la chaîne au même niveau (chronologique) et vient en appui de la préparation en tant que composante de la validation de conformité des PSL (figure 24).

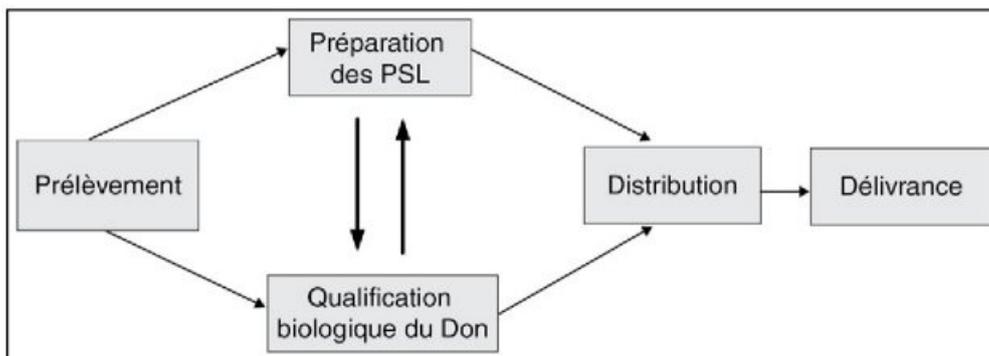
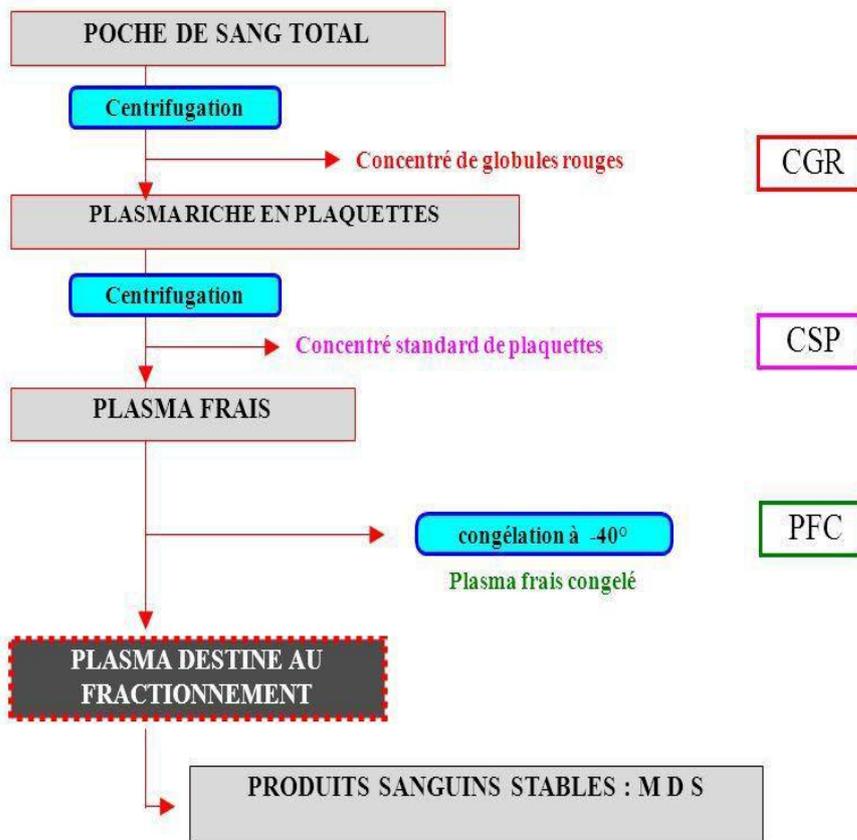


Figure 24: La chaîne transfusionnelle.

Le sang issu du don prélevé sur une poche triple est séparé dans un système clos en CGR, culot plaquettaire et plasma pauvre en plaquettes (photo 5), la poche double donne naissance à un CGR et PFC (plasma frais congelé). En cas de prélèvement par aphérèse un seul produit est délivré à chaque procédure. Le plasma peut être utilisé en tant que PSL ou subir lui-même d'autres procédés d'extraction permettant d'obtenir des produits dits stables. Des procédures écrites décrivent les opérations à effectuer, leur chronologie, les mesures à prendre, les moyens techniques à utiliser afin d'assurer d'une manière reproductible la préparation de PSL de qualité, comprennent : centrifugation, séparation, pesé, congélation, filtration pour déleucocytation. (14)

PROCÉDURE INITIALE DE PRÉPARATION DES P.S.L.



6

Figure 25 : procédure initiale de préparation des PSL

III.3.1. Matériels de séparation des PSL:

- ✓ Balance pour peser les poches à séparer.
- ✓ Centrifugeuse réfrigérées.
- ✓ Extracteurs de plasma (manuel, semi-automatique ou automatique).
- ✓ Soudeuses (clampeuses) électriques.

III.3.2. Principaux procédés utilisés en préparation des PSL:

La démarche de préparation des PSL est fondée sur la réalisation de processus divergents qui, à partir d'une matière première, permettent d'obtenir les produits finis, ce qui peut être opposé à la fabrication de médicaments, lesquels mettent généralement en œuvre des processus convergents nécessitant l'association de matières premières pour la fabrication de produits finis.

Bien qu'il ne soit pas à proprement parler un procédé de préparation à part entière, le dispositif de prélèvement à usage unique revêt une importance capitale dans la préparation des PSL. Il permet grâce à sa configuration et à ses qualités de :

- ✓ réaliser les étapes de préparation (poches plastiques déformables) ;

- ✓ assurer la fabrication des produits sans rompre le système clos ;
- ✓ réaliser les étapes de déleucocytation « en ligne » ;
- ✓ orienter la préparation de produits en fonction de sa configuration ;
- ✓ réaliser des étapes de transformations (ajout de solutions de conservations entre autres) ;
- ✓ aider à la conservation des produits (plastique « plaquettes ») ;
- ✓ simplifier les étapes de stockage et de transport des produits.

Deux configurations sont principalement utilisées :

- l'une intègre un filtre permettant la déleucocytation du sang total, puis la préparation d'un concentré globulaire déleucocyté et d'un plasma déleucocyté ;
- l'autre permet après séparation des composés sanguins par les procédés de préparation, la filtration et l'obtention d'un concentré globulaire et d'un plasma déleucocyté ainsi qu'une poche de couche leuco-plaquettaire.

Quel que soit le système, une solution de conservation est systématiquement ajoutée au concentré globulaire. (52)

a. Centrifugation:

La centrifugation est un procédé physique utilisé pour accélérer la séparation d'éléments ou de phases grâce aux différences de densité, de forme et de masse des constituants soumis au champ centrifuge. La vitesse de migration d'une particule dans un liquide va être influencée principalement par la densité de la particule et sa forme, la densité du liquide, la température, la force centrifuge relative.

On réalise, par une opération mécanique, la séparation de phases de densités différentes pouvant ensuite être récupérées.

La force centrifuge relative (g), les temps d'accélération, de plateau, de freinage, les pentes et seuils de freinage ou d'accélération ou des valeurs d'intégrales de centrifugation sont autant de paramètres pour réaliser, d'une façon reproductible et précise, la séparation des éléments figurés du plasma dans une poche de sang total.



Photo 06 : La centrifugation des poches de sang

b. Séparation :

Cette étape succède à la centrifugation et a pour objectif de séparer physiquement les différents constituants du sang en autant de poches de recueil.

À partir d'une poche de sang total, il est possible d'obtenir en fonction du type de prélèvement réalisé :

Une poche de plasma, une poche de concentré de globules rouges et, potentiellement, une poche de couche leuco-plaquettaire.

Cette étape est aujourd'hui réalisée grâce à des appareils semi-automatiques, leur fonction étant multiple. Ils séparent et recueillent les constituants du sang après centrifugation sans rompre le système clos, mais aussi ajoutent automatiquement une solution de conservation sur les concentrés globulaires. Ils permettent aussi l'obtention de poches de couches leuco-plaquettaires standardisées en termes de volume, d'hématocrite et de quantité d'hémoglobine résiduelle et, de fait, permettent d'envisager l'obtention à large échelle de mélanges de concentrés de plaquettes déleucocytés (MCPSD).



Photo 07 : Séparation du globule rouge
c. Déleucocytation (filtration) :

L'objectif est d'éliminer aseptiquement la majeure partie des leucocytes par filtration. Cette opération met en œuvre un matériau filtrant pour une rétention sélective des leucocytes en préservant les éléments cellulaires ou plasmatiques.



Photo 08 : la filtration de culot globulaire rouge

d. Soudure :

La soudure est utilisée dès qu'une opération de transfert est nécessaire. Il convient d'éviter par des moyens appropriés le risque de mauvaise étanchéité de la soudure pouvant entraîner une contamination de produit.



Photo 09 : la soudure

e. La pesée :

La pesée des produits sanguins labiles intervient aux différentes étapes de la production et doit faire l'objet d'une validation.



Photo 10 : la pesée

f. La congélation:

La congélation met en œuvre un matériel qui doit être adapté à la nature, au nombre et de volume des produits sanguins traiter. Le cas du plasma frais congelé (PFC) : La température de la congélation est :- 70°C. (4)



Photo 11 : la congélateur

g. l'étiquetage:

Le processus d'étiquetage est de doit être correctement décrit et validé (claire et visible) dans une procédure et ne peut avoir lieu qu'après la validation des tests de qualifications immunohématologique.

(14)

III.3.3.Methodes de préparation

➤ le cas d'une poche triples

III.3.3.1 Technique de préparation du concentré érythrocytaire:

Pour préparer ce composant sanguin, on le sépare de l'unité de sang total après centrifugation et décantation dans une poche pouvant contenir une solution additive.

Le sang total prélevé dans une poche triple, de moins de 18H et conservé entre 18 °C et 20°C doit passer par les différentes étapes suivantes :

1. Etiqueter toutes les poches satellites (Identité du donneur, N° de traçabilité).
2. Centrifuger la poche de sang à 2400 tour /min pendant 20 minutes à 20 °C
3. Prendre soin d'équilibrer la centrifugeuse avec une poche ayant approximativement le même poids
4. retirer délicatement la poche sans la secouer



5. poser la poche destinée au CE sur la balance taré
 6. décanter le poids de plasma riche en plaquettes contenant $> 70\%$ des plaquettes de la poche voulu à l'aide de la presse manuelle. Laisser le Buffy coat dans la poche de CE. Si on dispose de poches avec solution additive, décanter plutôt le culot globulaire et le Buffy coat dans la poche contenant cette solution.
 7. Stripper et Sceller la tubulure de la poche de CE à plusieurs endroits, segments séparés de 10 à 15 cm
 8. Libérer la poche
 9. Etiqueter la poche: date et heure de préparation, date de péremption du PSL préparé. (Après 42 jours de sa préparation)
 10. calculer le volume
 11. Etiqueter la poche: volume du CE.
 12. Enregistrer.
 13. Conserver.
- NB: Les segments de tubulure serviront aux tests de compatibilité mais aussi à une qualification supplémentaire. Des poches de préparation de CE pédiatriques peuvent être adaptées à la poche de prélèvement du sang total par le fabricant. (34)



Photo 12 : Poche de sang total séparé en CGR et PRP

III.3.3.2. Technique de préparation du concentré plaquettaire standard :

Le concentré plaquettaire standard est obtenu à partir d'une forte centrifugation de plasma riche en plaquettes (PRP) qui ce dernier obtenu à partir du sang total après la séparation de CE.

Le sang total prélevé dans une poche triple, et après séparation des CE. Il doit passer à une 2^{ème} centrifugation afin d'obtenir le concentré plaquettaire standard et PPP (plasma pauvre en plaquettes)

1. Etiqueter toutes les poches satellites (Numéro du don et numéro du donneur, date et heure de prélèvement)
2. Centrifuger la poche contient PRP à 3000 tour/min pendant 20 minutes à 20 °C.
3. retirer délicatement la poche sans la secouer.
4. poser la poche destinée au CPS sur la balance taré
5. décanter le poids voulu de plasma à la presse manuelle dans sa poche. On obtient un CPS correspond au culot de 50 à 60 ml (dont 98% de plasma).



7. Pincer et Sceller la tubulure de la poche de CPS à plusieurs endroits pour des tests ultérieurs.
8. Libérer la poche définitive de conservation des plaquettes doit être adaptée aux conditions exigées.
9. Etiqueter la poche: date et heure de préparation, date de péremption, (6 jours après sa préparation)
10. Volume du CPS.
11. Enregistrer.
12. conserver à température entre 20 et 24°C, agitation continue et douce.

Attention: si le système a été ouvert, la conservation du CPS dure maximum 6h (risque accrue de contamination bactérienne)

Le PPP n'a pas d'efficacité sur le plan clinique. Il doit être jeté.



Photo 13 : Poche de PRP séparé en CPS et PPP

- le cas de poche double

Les mêmes étapes que la poche triple mais on obtient un CGR et PFC avec une seule centrifugation et à une température et vitesse de séparation différente. (39)

III.4. Conservation des PSL :

Le sang total doit être conservé à une température comprise entre +2 et +8°C. Le sang conservé ne peut être hémolysé et ne peut contenir à température ordinaire, ni caillot ni agglutinat d'hématies. Les délais d'utilisation dépendent de la composition de la solution anticoagulante et de conservation sur laquelle a été recueilli le sang :

- S'il s'agit d'une solution citratée contenant du glucose, ce délai est de 21 jours au maximum.
- Si cette solution citratée et glucosée contient de l'Adénine(CPDA), ce délai peut être porté à 35 jours au maximum.

III.4.1. Conservation du concentré de globules rouges (CGR):

Le concentré de globules rouges doit être conservé dans la banque spécifique de conservation de concentré de globule rouges (photo 14) à une température comprise entre +2° C et +8°C.

La durée de conservation :

- Conservation 35 jours avec anticoagulant comme le Citrate phosphate dextrose adénine (CPDA).

- Conservation 21 jours avec anticoagulant comme le Citrate phosphate dextrose (CPD).
- Conservation 42 jours avec anticoagulant comme le Saline adénine glucose mannitol(SAGM).



Photo 14 : Banque de concentré de globules rouges.

III.4.2. Conservation des concentrés plaquettaires (CP)

Les concentrés plaquettaires sont conservés durant 5 jours maximum entre 20°C et 24°C. Cette température garantit l'efficacité des transfusions mais augmente le risque de prolifération bactérienne durant la conservation.

Ils sont également maintenus durant la conservation à agitation légère afin de favoriser les échanges gazeux entre les cellules et l'atmosphère autour de la poche



Photo 15 : Agitateur des Concentrés plaquettaires

III.4.3. Conservation du Plasma riche en plaquettes (PRP)

Les mêmes conditions de concentré plaquettaire standard sous une agitation légère mais la durée de conservation limitée, le PRP est conservés durant 6 heures maximum.

III.4.4. Conservation du Plasma frais congelé (PFC)

Le plasma est conservé dans la banque de conservation du plasma frais congelé (photo 16) à une température inférieur ou égale à -80°C pendant 12 mois au maximum après la date de prélèvement. (18)



Photo 16 : plasma frais congelais

III.5. Utilisation des PSL:

Les services les plus consommateurs de PSL en Algérie sont les services d'hématologie qui utilisent 18.32% de l'ensemble des Produits Sanguins Labiles distribués en Algérie, suivis des services de chirurgie (17.22%) et de médecine interne (15.28%). La néphro hémodialyse reste un service utilisateur de PSL en dépit des produits de remplacement préconisés pour la dialyse (consomme 7.13% des PSL distribués). (3)

III.6. La délivrance aux unités de soins :

Pour une bonne gestion du stock, les unités de sang sont délivrées uniquement en fonction des besoins. Celles qui sont compatibilisées pour un patient ne peuvent être conservées plus de 72h (=délai pour l'apparition d'un autre anticorps irrégulier chez le receveur). Toute délivrance doit être demandée par écrit par le médecin transfuseur (voir fiche de demande de PSL en annexe). Chaque produit délivré doit être enregistré et la demande archivée. L'unité délivrée est accompagnée d'une fiche portant les spécifications du produit, son destinataire (identité complète du malade) et du médecin transfuseur, et des vérifications à effectuer au lit du malade (voir fiche de délivrance des PSL en annexe).

III.7. Le transport des PSL de la banque de sang au lit du malade :

Pour être le plus efficace possible, les dérivés sanguins quittent la banque de sang pour être administrés à un patient dans les meilleurs délais (moins de 6 heures pour le CE et le sang total, moins de 30 minutes pour le PFC et les CP). Le transport de tout produit sanguin de la banque de sang vers les unités de soins est sous la responsabilité des cliniciens et doit respecter des normes de qualité et de sécurité. C'est pour cela qu'une procédure opératoire standard doit être rédigée par chaque hôpital. Elle doit surtout respecter la chaîne de froid et les conditions de viabilité (transport dans des glacières à 1 - 10°C pour le sang total et les CE, 20-24°C pour les CP). Dans certains services, si les produits ne sont pas transfusés immédiatement, ils doivent être conservés dans les conditions recommandées. Les produits ne doivent pas être congelés sinon risque d'hémolyse, les CP ne doivent pas être réfrigérés.

Les produits retournés à la banque de sang ne pourront pas être remis en circulation aux fins de transfusion si la poche est endommagée ou ouverte, la chaîne de froid rompue. Une fiche de retour de produit doit accompagner le produit pour témoigner (par signature) que la chaîne de froid n'a pas été rompue pendant lors de la conservation hors de la banque de sang

III.8. LES MESURES DE SECURITE AU LIT DU MALADE :

C'est l'ensemble des mesures de sécurité effectuées pour éviter des erreurs humaines qui seraient survenues avant ou pendant le transport de l'unité à transfuser. Elles ne relèvent pas directement du laboratoire mais implique la participation éventuelle de son personnel.

Ces mesures qui précèdent immédiatement la transfusion doivent être effectuées par deux personnes dont au moins un(e) infirmier(e) exercé(e) sous la responsabilité du médecin transfuseur. Des impératifs doivent être respectés en particulier :

- le contrôle ultime se fait au chevet du lit du malade (unité de lieu)
- il se fait juste avant la transfusion, sans délais entre les deux actions (unité de temps)
- il se fait par la même personne qui place la transfusion (unité d'action)
- l'identification du malade se fait par lui-même : on doit lui demander ses noms et prénoms, date et lieu de naissance lesquels doivent correspondre normalement à son identité portée sur la fiche de délivrance du PSL. Un membre de la famille peut identifier le malade s'il est incapable de le faire.

Dans tous les cas, les onze éléments ci-dessous sont à vérifier par les 2 personnes au chevet du lit du malade pour réduire le risque d'erreur.

Tableau 10 : la vérification des produits avant donnés ou receveur

Sur La demande du Produit sanguin	Sur L'unité à transfuser
Identité du receveur	Numéro de la poche (traçabilité)
Groupe sanguin ABO RhD	Groupe sanguin sur la poche (ABO RhD)
Date de la transfusion demandée	Date de péremption
Indication de la transfusion	Type de produit et quantité
Nom et signature du médecin prescripteur	Nom et signature de la personne effectuant la transfusion.

La vérification de la conformité de tous ces paramètres devrait suffire pour éviter un accident transfusionnel. **(16)**

Chapitre IV

Matériels et méthodes

➤ L'objectif de cette étude est de déterminer la séroprévalence des marqueurs infectieux en vue de contribuer à l'amélioration de la sécurité transfusionnelle par une bonne sélection des donneurs tant biologique que clinique, afin de réduire de façon significative (optimale) le risque de transmission d'infection par transfusion sanguine et les problèmes de compatibilités.

Ce travail a été réalisé aux laboratoires de centre de transfusion sanguine « CTS » de Sidi Mabrouk Constantine. Il est divisé en deux parties, la première est un travail pratique dans le laboratoire qui consiste à étudier les différentes techniques qu'il utilise, et en seconde étape au niveau de la pédiatrie d'El Mansoura le suivi et la surveillance des receveurs en vue de recueillir et d'évaluer les informations sur les effets inattendus. Cette étude s'est déroulée en 4 mois de mars à juillet 2018

L'approche méthodologique choisie, permet d'assurer la sécurité transfusionnelle. Au niveau de ce laboratoire nous avons effectué une qualification immuno hématologique sur des échantillons prélevés des donneurs bénévoles et volontaires et aussi la réalisation des tests de dépistage des infections transmissible par transfusion afin d'assurer la sécurité transfusionnelle des receveurs.

Ce diagnostic est basé sur les marqueurs biologiques permettant de déceler la présence, dans l'organisme d'une molécule sur laquelle il est fixé. Donc c'est un paramètre de diagnostic essentiel pour

- détecter certains marqueurs à la surface de globule rouge.
- dépister ou surveiller l'évolution d'une pathologie par la mesure des anticorps produits (IgG /IgM circulant) par l'organisme l'hors d'une infection (viral ou bactérienne).

La poche prélevée de Chaque donneur par ponction veineuse doit passer par les différentes étapes suivantes

IV.1. Détermination du groupe sanguin ABO :

Le groupage est effectué dans les 48 heures qui suivent les prélèvements.

Le groupe sanguin désigne une classification de sang reposant sur la présence ou l'absence de certains éléments à la surface des globules rouges, appelés Antigènes de surface qui sont : l'Antigène A et l'Antigène B déterminent les groupes sanguin, l'Antigène D ou rhésus se situe sur la paroi de globule rouge et l'Antigène K de système Kell.

Ainsi les globules rouges possèdent des anticorps présentent dans le sérum Anticorps A et l'Anticorps B.

IV.1. 1.Principe:

Ce sont des techniques basées sur le principe de l'agglutination. Les hématies normales pourvues de l'antigène correspondant au réactif contenant l'anticorps spécifique agglutineront en présence du réactif, en revanche les hématies dépourvues de l'antigène n'agglutineront pas.

IV.1.2. protocole de groupage :

a. Matériel et réactif :

- Micropipette
- Plaque d'opales
- tube vide
- Des sérums tests Anti A, Anti B, Anti AB, Anti D: Vérifier la date de péremption et la conservation à + 4°C.
- Globules rouges-tests : Ag A et Ag B à 2,5% et conservés à +4°C
- Echantillon de sang sur EDTA

b. Protocole expérimental :

La détermination d'un groupe sanguin ABO comporte deux épreuves l'un confirmant l'autre :

- épreuve globulaire **Beth-Vincent** (voir chapitre II)

L'analyse a été réalisée sur des plaques d'opales,

- 1- Déposer une goutte de chaque sérum- test (Anti-A, Anti-B, Anti-AB) sur la plaque.
- 2- Ajouté une goutte de la solution d'hématies de l'échantillon à tester.
- 3- Mélanger les réactifs avec le fond d'un tube vide, afin d'obtenir un cercle de 2à3 cm de diamètre ;
- 4- une agitation douce de la plaque pour homogénéiser le mélange ;
- 5- La lecture définitive sera effectuée au bout de 3minutes. Elle consiste à rechercher la présence ou l'absence d'agglutination visible à l'œil nu.

- Epreuve sérique **simonin** (voir chapitre II)

Dans cette technique nous avons préparé une solution érythrocytaire, cette suspension consiste à mettre en évidence les anticorps du système ABO contenus dans le plasma du patient à l'aide de globules rouges de groupe ABO connu.

*** Préparation de la solution érythrocytaire :**

Les prélèvements sanguins de groupe A1, A2, B et O sont centrifugés à 1000rpm/min. Après élimination du surnageant, le culot est lavé 3 fois avec du sérum physiologique à 9‰.

Le culot ainsi obtenu est ressuspendu dans 5 ml de sérum physiologique à une concentration finale de 5% des globules rouges.

*** la technique simonin :**

1. A l'aide d'une micro pipette, déposer sur la plaque trois gouttes de sérum testes du donneur ;
2. Ajouter une goutte de la suspension érythrocytaire déjà préparée A, B et O sur les trois gouttes ;
3. Mélanger avec le fond d'un tube ;
4. un mouvement de rotation de deux à trois minutes a été effectué sur la plaque afin de voir la présence ou l'absence d'agglutination.

Le groupage ABO pour être valide doit être déterminé sur deux prélèvements sanguins distincts (réalisés à deux moments différents et par deux infirmières). Cette nécessité s'explique par le fait que les groupages sanguins sont essentiellement utilisés pour la réalisation des transfusions sanguines et qu'une erreur de groupe sur une réalisation pourrait conduire au décès possible du patient dès la première transfusion

IV.2.Détermination du phénotype dans le système rhésus :**IV.2.1. Equipements et réactifs****a. Reactifs :**

- Sérum-test Anti-C agglutinant (IgM monoclonal humain).
- Sérum-test Anti-E agglutinant (IgM monoclonal humain).
- Sérum-test Anti-c agglutinant (IgM monoclonal humain).
- Sérum-test Anti-e agglutinant (IgM monoclonal humain).
- Sérum-test Anti-Kell agglutinant (IgM monoclonal humain).

b. Matériels :

- Plaque d'opaline.
- tube vide.

- Micropipettes (50µl, 1000 µl).
- Gants.

c. Protocole :

1. Dans six (06) positions de la plaque, nous avons versé 25 µl de chaque réactif Anti-D, Anti-C, Anti-c, Anti-E, Anti-e, et anti kell
2. ajouté 25 µl de la solution d'hématies de l'échantillon à tester.
3. une agitation douce, la plaque est incubée à température ambiante ou à 37°C pendant 10 à 15 minutes pour vérifier la présence ou l'absence d'agglutination macroscopique.

NB 1: le phénotypage étendu utilise le même principe que le phénotypage "standard", mais sur d'autres antigènes moins immunogènes, mais pouvant être dangereux lors de transfusion sanguine, appartenant à d'autres systèmes MNS, P1, LU, KEL, LE, FY, JK, H ...

NB2 : Tout besoin de poche de sang arrivant au laboratoire est accompagné d'une demande où sont précisés le nombre et la quantité de la poche, filtré et déleucocyté ou non, ainsi que le groupage et le phénotype du patient a transfusé. Le nom et le prénom du patient, le service et la date sont notés aussi. Ces informations sont consignées sur un registre de laboratoire comme archive.

IV.3.Détermination des anticorps irréguliers (RAI)

IV.3.1. test de coombs indirect

Il est utilisé dans le cas des polytransfusés et chez la femme enceinte rhésus négatif.

a. Matériel :

- Prélèvement sur tube sec (sans anticoagulant)
- H₂O physiologique(NaCl) à 37 °C
- Anti globuline polyvalente
- Bain marie

b. Technique :

1. prendre les GR de poche de sang groupe O (tube sec)
2. laver les GR 3 fois au sérum physiologique à 9‰.
3. faire une suspension à 5% (50 µL GR +950µL ss)
4. dans un tube sec propre mettre :

- Goutte de suspension à 5%
- Goutte de sérum du malade

(Même volume)

5. incuber 45 mn à 37 °C
6. Laver ensuite les hématies 3 fois au sérum physiologique à 9‰.
7. ajouter au culot une goutte d'anti globuline polyvalente
8. centrifuger 1 mn à 1000 tours/minute
9. lire l'agglutination
 - Si l'agglutination test (+) sang incompatible
 - Si pas d'agglutination test (-) sang compatible

IV.3.2. test de coombs direct

a. Matériel :

- Prélèvement sur ATC (EDTA)
- H₂O physiologique (NaCl) à 37 °C
- Anti globuline polyvalente

b. Technique :

- Faire 3 lavages de GR avec H₂O à 37 °C
- Faire une suspension en H₂O à 5%
 - 950 µL de H₂O
 - 50 µL de culot des GR lavés
- En tube mettre :
 - 1 volume de GR à test (suspension de GR)
 - 1 volume d'anti globuline polyvalente
 - Mélanger
 - Centrifuger 1000 tours/ 1 mn
- lecture :
 - Présence d'agglutination = CD+
 - Absence d'agglutination = CD-

IV.4. Diagnostique des maladies virales :

Actuellement, les méthodes de diagnostic utilisées pour la recherche des antigènes ou des anticorps viraux sont des techniques enzym-linked-immunosorbent-assay(ELISA) Schématiquement, on analyse la cinétique d'apparition ou de disparition des différents marqueurs viraux au cours de l'évolution de l'hépatite virale.

Le principe dans les 4 protocoles est le même (la technique ELISA indirecte, réaction Anticorps – Antigène) et chaque KIT a son mode opératoire spécifique.

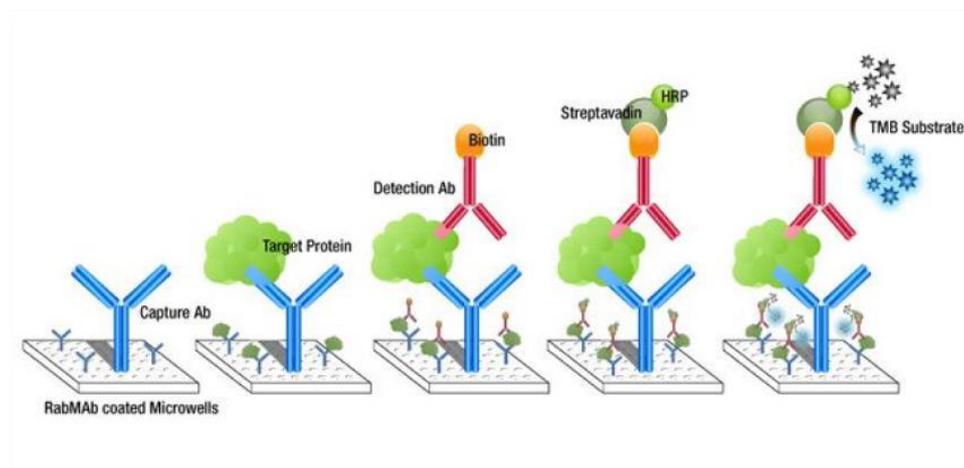


Figure 26 : méthode d'ELISA indirect

IV.4.1. Diagnostic de l'hépatite B

Le diagnostic d'une infection au VHB utilise différents marqueurs viraux sériques :

- **Marqueurs viraux directs** : Ag HBs, Ag HBe, ADN VHB;
- **Marqueurs viraux indirects** : les anticorps liés à la réponse immune (immunoglobulines(Ig)G anti-HBs, IgG anti HBe, IgG et IgM anti HBc)

Au niveau de laboratoire d'analyse le diagnostic est fondé sur l'utilisation :

- ❖ De marqueur antigène HBs pour le diagnostic du VHB.

a. Principe

Des échantillons et Contrôles sont incubés dans les cupules sensibilisées à l'antigène de surface de l'Hépatite B. Les anticorps anti-HBs éventuellement présents dans l'un des échantillons ou des contrôles se lient avec les antigènes formant ainsi un complexe immunologique antigène/anticorps.

L'excès d'échantillon est éliminé par une phase de lavage. Le conjugué ajouté se lie au complexes antigènes/anticorps formés précédemment dans les cupules. L'excès de conjugué est éliminé par une phase de lavage, puis une solution de révélation enzymatique est ajoutée dans chaque cupules. Il s'en suit une phase d'incubation.

Si un échantillon contient des anticorps anti-HBs, l'enzyme liée HRP entraîne une coloration du TMB de la solution chromogène qui devient bleue. Après addition de la solution d'arrêt, la coloration du substrat bleu tourne au jaune.

Pour les échantillons ne contenant pas d'anticorps anti-HBs, la coloration du substrat disparaît des cupules qui deviennent incolores pendant la phase d'incubation et après addition de la solution d'arrêt.

L'intensité de coloration, mesurée par spectrophotométrie, est proportionnelle à la concentration en anti-HBs de l'échantillon. Les valeurs d'absorbance mesurées par spectrophotométrie pour chaque échantillon sont comparées à une valeur seuil (VS) déterminée à partir du calibrateur 10 mUI/ml.

b. Matériels

Pour la réalisation de cette étude, nous avons utilisé le matériel suivant :

✓ **Matériel biologique**

- Il est constitué par du sang. Le sérum non hémolysé est recueilli des donneurs dans des tubes secs en vue de leur étude.

✓ **Appareillage**

Pour la réalisation de cette étude, nous avons utilisé le matériel suivant :

- Centrifugeuse de paillasse thermostaté, réglé à la vitesse de (2000Tours/minutes), adaptable aux tubes à 5-10ml. (thermo, fréquence : 11175670) (photo 17)
- Réfrigérateur (J.Rselecta, fréquence : 2101497)
- Bain marie ou incubateur sec, pouvant être thermostaté à 37 °C (thermo made in France, fréquence : 42741000)
- Laveur (thermo made in France, fréquence : 5150770)
- Spectrophotomètre 450 nm (thermo made in France, fréquence : 41290002) (photo 20)
- Micropipette réglable : monoclonal (20-100ul et 200-1000ul) et multicanaux (8 canaux de 20-100ul) (photo 18)
- KIT d'ELISA (Ag HBs)(photoe19)
- L'eau distillée

A cet ensemble il faut ajouter

- Les embouts jaunes (0-100ul)
- Les embouts bleus (100-1000ul)
- Portoirs pour des tubes de 5-10ml
- Conteneur pour déchets
- Gants de latex

- Désinfectant (eau de javel)
- Papier absorbant



Photo 17 : Centrifugeuse



Photo 18 : Micropipette réglable



Photo 19 : Le Kit Monolisa anti-HBs



Photo 20 : le spectrophotomètre

c. Réactifs

Tableau 11: composition de KIT de « BIO-RAD » destinée au dépistage du VHB

Réactifs	Caractéristiques des réactifs
Microplaque	une plaque de 96 puits (12 barrettes de 8 cupules) sensibilisées avec des anticorps monoclonaux de souris contre l'HBsAg
Réactif conjugué	- un tampon rouge contenant de l'anticorps de chèvre anti-IgG lyophilisées marqué à la peroxydase - stable pendant une semaine à la température ambiante 27 °C ou 2 semaines à 2-8 °C
Sérum de contrôle positif	-Sérum humain constitue antigène HBs dilué. - Stable pendant un mois à 2-8 °C
Sérum de contrôle négatif	-Protéine stabilisé le tampon testé ne réagit pas avec l'antigène HBs - Stable pendant un mois à 2-8 °C

Diluant des Echantillons	-Protéine stabilisé le tampon de caséine et de solution de saccharose -Stable pendant un mois à 2-8 °C
Solution Chromogène A	-Solution de peroxyde d'urée -Stable pendant un mois à 2-8 °C
Solution Chromogène B	-Solution de TMB (Tétra-méthyle benzidine dissous dans l'acide citrique) -Stable pendant un mois à 2-8 °C
Solution stop	-Une solution d'acide sulfurique diluée
Solution de Lavage	-Solution concentré (20×), PH 7.4 -Dilué avant l'usage

d. Mode opératoire

- **Centrifugation:** Après le prélèvement du sang dans des tubes secs (sans anticoagulant), une centrifugation de l'échantillon de 2 à 5min (2000tr/min) à la température ambiante est effectuée.

- **Préparation de solution de lavage**

a. diluer 1% de tampon de lavage concentré avec 19 % d'eau distillée. Bien mélanger

b. tampon de lavage peut être conservé à température ambiante pendant une semaine

- **Préparation de la microplaque**

- 2 puits pour contrôle négatif
- 1 puits pour contrôle positif
- 1 puits pour chaque échantillon

- notez les numéros de série des contrôles et des échantillons sur la fiche technique

Tableau 12: Réactifs de chaque puits de la microplaque (protocole VHB)

N° de puits Réactifs	Puits de contrôle NEGATIF **	Puits ECHANTILLON (Ei) *	Puits de contrôle POSITIF *
Diluant des Echantillons	20 µl	20 µl	20 µl

Echantillon (Ei)	—	100 µl	—
Sérum de contrôle positif	—	—	100 µl
Sérum de contrôle négatif	100 µl	—	—
Réactif Conjugué	50 µl	50 µl	50 µl
Solution Chromogène A	50 µl	50 µl	50 µl
Solution Chromogène B	50 µl	50 µl	50 µl
Solution Stop	50 µl	50 µl	50 µl

**Essai en double

* Essai en simple

- Déposer 20 µl du diluant dans chaque puits.
 - Ajouter 100 µl de contrôle négatif et de contrôle positif et des sérums des échantillons dans leurs puits respectivement et approprié selon la feuille de données.
 - Homogénéiser la plaque doucement (agitation manuelle).
 - Couvrir la plaque et incuber pendant 60 minutes à 37°C dans un incubateur thermostat pour assurer la stabilité et l'humidité.
 - Après l'incubation sortir la plaque.
 - Ajouter 50 µl de conjugué dans tous les puits.
 - Homogénéiser la plaque doucement (agitation manuelle).
 - Couvrir la plaque et incuber pendant 30 minutes à 37°C dans un incubateur thermostaté pour assurer la stabilité et l'humidité.
 - Après l'incubation sortir la plaque, Puis laver chaque puits cinq fois par la solution de lavage diluée.
 - Ajouté 50µl de chromogène A et 50µl de chromogène B dans tous les puits.
- * La réaction enzymatique entre les solutions de chromogène A et B produit la couleur Bleu dans le contrôle positif. (photo 21)
- Couvrir la plaque quelques minutes pour éviter la lumière.

- Mettre 50 μ l de solution stop dans tous les puits pour stopper la réaction. (photo 22)
- Homogénéiser doucement la plaque (agitation manuelle).
- La lecture de l'absorbance de la microplaque doit être réalisée dans la demi-heure de l'arrêt de la réaction à 450 nm. (photo 23)



Photo 21 : après l'ajoute de chromogène A et B

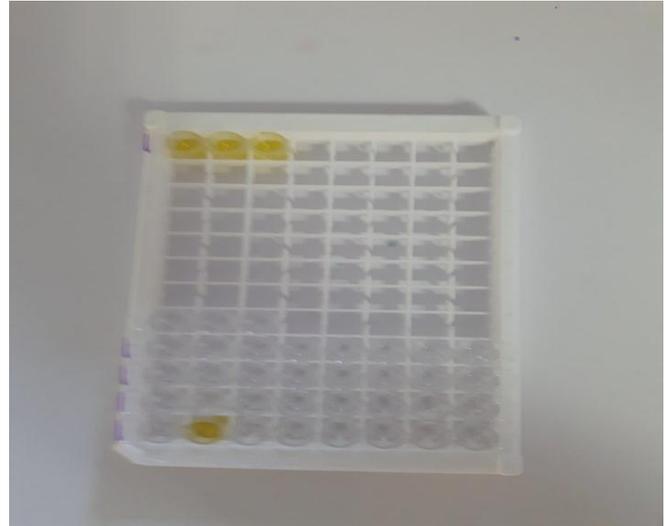


Photo 22 : après l'ajoute de solution stop



Photo 23 : lecture de la densité optique (DO)

- Vérifier et valider les résultats du contrôle qualifié par les 2 conditions suivantes :
 - La DO de contrôle positif doit être supérieur ou égale à 0.500 à 450 nm. (Si la valeur DO est inférieure à 0,500 l'exécution est invalide et l'essai doit être répété)
 - La DO de contrôle négatif doit être inférieur ou égale à 0.100 à 450 nm. (Éliminer tout contrôle négatif avec une valeur de DO supérieure à 0,100)
- Calculer la valeur seuil (Vs) par la relation suivante :

Vs = la moyenne de la DO du contrôle négatif × 2.1

- Si la Vs inférieur a la DO d'échantillon, signifié absence de l'hépatite B.
- Si la Vs supérieur à la DO d'échantillon, contamination confirmé de l'hépatite B.

IV.4.2. Diagnostic de l'hépatite C

Les Marqueurs Virologiques pour le diagnostic d'une infection au VHC sont :

- **Marqueurs directs** : Ag de capsid (AgC), ARN VHC, Génotype VHC.
- **Marqueurs indirects** : Anticorps anti-VHC totaux

a. Matériels

Le matériel utilisé est le même que celui du diagnostic de VHB, sauf le KIT

- ✓ KIT d'ELISA (Anticorps Anti-VHC)

b. Réactifs

Tableau 13: composition de KIT de « BIO-RAD » destinée au dépistage du VHC

Etiquetage	Réactifs	Natures des réactifs
R1	Microplaque	12 barrettes sensibilisées avec un anticorps monoclonal anti-capsid du VHC et des antigènes recombinants purifiés (NS3, NS4) et un peptide muté de la région capsid du VHC
R2	solution de lavage	Solution de lavage concentrée (20X) Tampon tris, NaCl, pH = 7,4
R3	sérum de control négatif	Tampon Tris HCl, contenant de la SAB
R4	sérum de control positif	Sérum humain contenant des anticorps anti-VHC et négatif pour l'antigène HBs et pour les anticorps anti-HIV1 et antiHIV2 dilué dans un tampon Tris HCl contenant de la SAB. Inactivé photo chimiquement
R6	Diluant des échantillons	Diluant des échantillons Tampon Citrate, couleur rose.
R7	Réactif conjugué	Anticorps souris anti-IgG humaines marqués à la peroxydase, Coloré en vert

R8	Tampon substrat	Acide citrique et solution acétate de sodium contenant H ₂ O ₂ et diméthyle sulfacide. PH=4
R9	Chromogène B	Solution contenant du tétraméthyl benzidine(TMB).
R10	Solution d'arrêt	Solution d'acide sulfurique 1 N.

c. Mode opératoire

- Après le prélèvement du sang dans des tubes secs (sans anticoagulant), centrifuger les tubes de 2 à 5min (2000tr/min) à la température ambiante.

-Préparer la microplaque selon le nombre d'échantillon.

- 1 puits pour contrôle négatif
- 2 puits pour contrôle positif
- 1 puits pour chaque échantillon

Tableau 14: Réactifs de chaque puits de la microplaque (protocole VHC)

N° de puits Réactifs	Puits de contrôle NEGATIF *	Puits ECHANTILLON (Ei) *	Puits de contrôle POSITIF **
Diluant des échantillons (R6)	100 µl	100 µl	100 µl
Echantillon (Ei)	—	50 µl	—
Sérum de contrôle positif (R4)	—	—	50 µl
Sérum de contrôle négatif (R3)	50 µl	—	—
Réactif Conjugué (R7)	100 µl	100 µl	100 µl
Tampon substrat (R8)	1 µl	1 µl	1 µl
Solution Chromogène B (R9)	10 µl	10 µl	10 µl
Solution D'arrêt (R10)	100 µl	100 µl	100 µl

**Essai en double

* Essai en simple

- Déposer 100µl du diluant dans chaque puits..
- Ajouté 50 µl contrôle négatif (R3) et de contrôle positif (R4) et des sérums des échantillons dans leurs puits respectivement.
- homogénéiser la plaque doucement (agitation manuelle)
- Couvrir la plaque et incuber pendant 60 minutes à 37°C dans un incubateur thermostaté pour assurer la stabilité l'humidité et la température.
- Après l'incubation sortir la plaque.
- Puis, avec un laveur (thermo) laver chaque puits cinq fois par la solution de lavage dilué.
- Ajouter 100µl de conjugué (R7) dans tous les puits.
- Couvrir la plaque et incuber pendant 30 minutes à 37°C dans un incubateur thermostaté pour assurer la stabilité et l'humidité.
- Après l'incubation sortir la plaque, Puis laver chaque puits cinq fois par la solution de lavage dilué*
- pour préparer la solution de lavage dilué, mettre 10 ml de solution de lavage dans 900 ml de l'eau distillé.
- Mélanger (1µl de Tampon substrat (R8) +10µl de Chromogène B (R9)) et ajouté dans tous les puits.
- homogénéiser la plaque doucement (agitation manuelle).
- Laisse la plaque quelques minutes dans l'obscurité jusqu'à l'obtention de la couleur Bleu foncé du contrôle positif et le Rose au contrôle négatif.
- Mettre 100µl de solution d'arrêt dans tous les puits pour produit la couleur Jaune dans le contrôle positif et la couleur transparente dans le contrôle négatif.
- Homogénéise doucement la plaque (agitation manuelle).
- la lecture de l'absorbance de la microplaque doit être réalisée dans la demi-heure de l'arrêt de la réaction à 450 nm.
- Vérifier et valider les résultats du contrôle qualifié par les 2 conditions suivants:
 - La DO de contrôle positif doit être supérieur ou égale à 0.800 à 450 nm.
 - La DO de contrôle négatif doit être inférieur à 0.100 à 450 nm.
- Calculer la valeur seuil (Vs) par la relation suivante :

$$Vs = \text{la moyenne de la DO du contrôle positif} \times 0.4$$

- Si la DO d'échantillon inférieur à la Vs, signifié absence de l'hépatite C.
- Si la DO d'échantillon supérieur à la Vs, contamination confirmé de l'hépatiteC.

IV.4.3. Diagnostic de VIH

Les méthodes utilisées pour identifier la présence du VIH ont pour cibles les particules suivantes :

- **Marqueurs sérologiques** : Anticorps anti-VIH-1 et anti VIH-2, ou Anticorps anti-VIH-1 et anti VIH-2, Antigène p24 du VIH (Ag p24)
- **Acide nucléique viral** : ARN du VIH.

a. Matériels

Le matériel utilisé est le même que celui des diagnostics de VHB et VHC, sauf le KIT

- KIT d'ELISA (Anticorps anti-VIH 1 et anti-VIH 2)

b. Réactifs

Tableau 15: composition de KIT de « BIO-RAD » destinée au dépistage du VIH

Réactif	Nature des réactifs
Conjugué	une bouteille contenant un tampon rouge contenant la peroxydaseconjugué antigène recombinant VIH
Sérum de control positif VIH-1	une bouteille contenant du sérum humain inactivé constitué par des anticorps à HIV 1 diluée dans un tampon contenant des protéines d'origine bovine
Sérum de control positif VIH-2	une bouteille contenant du sérum humain inactivé constitué par les anticorps monoclonaux dirigés contre le VIH 2 dilués dans un tampon contenant une protéine d'origine bovine
Sérum de control Négatif	une bouteille contenant du sérum humain normal dilué dans un tampon contenant une protéine d'origine bovine
Chromogène A	Solution peroxyde hydrogène
Chromogène B	Solution TMB
Solution stop	Solution d'arrêt
Solution de lavage Concentré	Ph= 4, dilué avant l'utilisation

c. Méthode de travail

- Après le prélèvement du sang dans des tubes secs (sans anticoagulant), centrifuger les tubes de 2 à 5min (2000tr/min) à la température ambiante.
- Préparer la microplaque
 - 2 puits pour contrôle négatif
 - 2 puits pour contrôle positif (CP1 et CP2)
 - Puits pour chaque échantillon

Tableau 16: Réactifs de chaque puits de la microplaque (protocole VIH)

N° de puits \ Réactifs	Puits de contrôle NEGATIF **	Puits ECHANTILLION (Ei) *	Puits de Contrôle POSITIF (CP2)*	Puits de contrôle POSITIF (CP1)*
Echantillon (Ei)	–	50 µl	–	–
Sérum de contrôle positif VIH-1	–	–	50 µl	50 µl
Sérum de contrôle négatif VIH-2	50 µl	–	–	–
Réactif Conjugué	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Solution Chromogène A	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Solution Chromogène B	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Solution D'arrêt	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl

**Essai en double

* Essai en simple

- Déposer 50µl de contrôle négatif et de contrôle positif et les sérums des échantillons dans leurs puits respectivement.
- Couvrir la plaque et incuber pendant 60 minutes à 37°C dans un incubateur thermostaté pour assurer la stabilité et l'humidité.
- Après l'incubation sortir la plaque.
- Puis, avec un laveur (thermo) laver chaque puits cinq fois par la solution de lavage diluée*.

* Pour préparer la solution de lavage diluée, mettre 25 ml de solution de lavage dans

1200 ml de l'eau distillé.

- Ajouter 100 µl de conjugué dans tous les puits.
- Couvrir la plaque et incuber pendant 30 minutes à 37°C dans un incubateur thermostaté pour assurer la stabilité et l'humidité de la température.
- Après l'incubation sortir la microplaque, Puis laver chaque puits cinq fois par la solution de lavage diluée.
- Ajouté 50µl de chromogène A et 50µl de chromogène B dans tous les puits.

* La réaction enzymatique entre les solutions de chromogène A et B produit la couleur Bleu dans le contrôle positif.

- Couvrir la plaque quelques minutes pour éviter la lumière.
 - Mettre 50µl de solution stop dans tous les puits pour produit la couleur Jaune dans le contrôle positif.
 - Homogénéise doucement la plaque (agitation manuelle).
 - La lecture de l'absorbance de la microplaque doit être réalisée dans la demi-heure de l'arrêt de la réaction à 450 nm.
 - - Vérifier et valider les résultats du contrôle qualifié par les 2 conditions suivants :
- La DO de contrôle positif doit être supérieur ou égale à 1.000 à 450 nm.
 - La DO de contrôle négatif doit être inférieur à 0.080 à 450 nm.
 - Calculer la valeur seuil (Vs) par la relation suivante :

$$Vs = \text{la moyenne de contrôle négatif} + 0.100$$

- Si la Vs inférieur a la DO d'échantillon, signifié absence du VIH.
- Si la Vs supérieur à la DO d'échantillon, contamination confirmé du VIH.

IV.4.4. Diagnostic de SYPHILIS

Le dépistage de la syphilis est obligatoire et doit être réalisé systématiquement cela est recommandé par la Ministère de la santé et l'Agence national du sang.

Actuellement, il existe des moyens efficaces de diagnostic qui reposent essentiellement sur la sérologie comme la technique VDRL (photo 24), ARCHITECT Syphilis TP(photo 25), ELISA(photo 26), TPHA (photo 27), ...



Photo 24: Réactifs de VDRL Charbon



Photo 25 : ARCHITECT Syphilis TP

**Photo 26 :** Réactifs d'EIA II

Dans notre laboratoire, Après centrifugation à 5000 tours/minute pendant 5 minutes des tubes de sang recueillis, le dépistage de la syphilis a été effectué par la technique du TPHA ou EIA selon la disponibilité des différents kits au laboratoire.

➤ **ELISA**

a. Principe :

Les trousse commercialisées sont des techniques EIA par compétition, indirectes ou par immunocapture qui utilisent des antigènes tréponémiques natifs ou recombinants fixes dans des puits de plaques à microtitration. Elles dépistent les anticorps anti-tréponémiques totaux ou de type IgG. Le résultat est qualitatif (présence ou absence d'anticorps anti tréponémiques), sans indication du titre d'anticorps.

Ces techniques sont présentées comme une alternative au TPHA. Leurs performances seraient équivalentes en termes de sensibilité et de spécificité. A l'heure actuelle, plus couteuses que le TPHA, elles présentent l'avantage d'une lecture objective et d'une possibilité d'automatisation sans appareillage spécifique pour les laboratoires déjà équipés d'automates d'immunoanalyse

b. Réactifs :

**Photo 28 :** Réactifs de kit ELISA**Photo 27 :** Réactifs du kit de TPHA

c. Méthode de travail

- Après le prélèvement du sang dans des tubes secs (sans anticoagulant), centrifuger les tubes de 2 à 5min (2000tr/min) à la température ambiante.

- Préparer la microplaque

- 2 puits pour contrôle négatif
- 1 puits pour contrôle positif
- 1 Puits pour chaque échantillon

Tableau 17: Réactifs de chaque puits de la microplaque (protocole VHB)

N° de puits Réactifs	Puits de contrôle NEGATIF **	Puits ECHANTILLON (Ei) *	Puits de contrôle POSITIF *
Echantillon (Ei)	—	50 µl	—
Sérum de contrôle positif	—	—	50 µl
Sérum de contrôle négatif	50 µl	—	—
Réactif Conjugué	50 µl	50 µl	50 µl
Solution Chromogène A	50 µl	50 µl	50 µl
Solution Chromogène B	50 µl	50 µl	50 µl
Solution Stop	50 µl	50 µl	50 µl

- Distribuez 50µl des contrôles (positif et négatif) et échantillons.
- Distribuez 50µl de conjugué dans chaque puits.
- Incubez pendant 30 minutes à 37°C.
- Lavage 5 fois avec la solution de lavage. Un moment de 30 secondes est recommandé entre chaque cycle de lavage.
- Distribuez 50µl de substrat. S'il ya présence de sérum positif, la coloration devient bleue.
- Incubez pendant 30 minutes à la température ambiante (18-30°C) dans l'obscurité.

- Distribuez 50µl de la solution d'arrêt. La coloration bleue devient jaune.
- Lire la DO à 450/620-690 nm.
- Vérifier et valider les résultats du contrôle qualifié par les 2 conditions suivants :

➤ La DO de contrôle négatif doit être inférieure ou égale à 0,080 à 450 nm. .

➤ La DO de contrôle positif doit être supérieure ou égale à 1 à 450 nm.

- Calculer la valeur seuil (Vs) par la relation suivante :

$$Vs = \text{la moyenne de contrôle négatif} + 0.1$$

- Les sérums dont la DO est inférieure à la valeur seuil sont considérés comme négatifs.
- Les sérums dont la DO est supérieure ou égale à la valeur seuil sont considérés comme positifs.

➤ TPHA :

a. Principe :

Le TPHA est une réaction sérologique d'hémagglutination passive réalisée sur microplaque en U. L'antigène est constitué d'un lysat de *Treponema pallidum* adsorbé sur des hématies.

Le TPHA détecte les anticorps sériques humains anti- *T. pallidum* par une méthode d'Hémagglutination indirecte (HAI). Des hématies aviaires sont sensibilisées avec des composants antigéniques de *T. pallidum* (souche de Nichol). En présence d'anticorps spécifiques anti- *T. pallidum*, les hématies sensibilisées (cellules tests) s'agglutinent et présentent un aspect caractéristique (présence d'un voile) dans les puits de microtitration.

Les éventuelles réactions non spécifiques sont détectées par l'utilisation de cellules de contrôle, qui sont des hématies aviaires non sensibilisées.

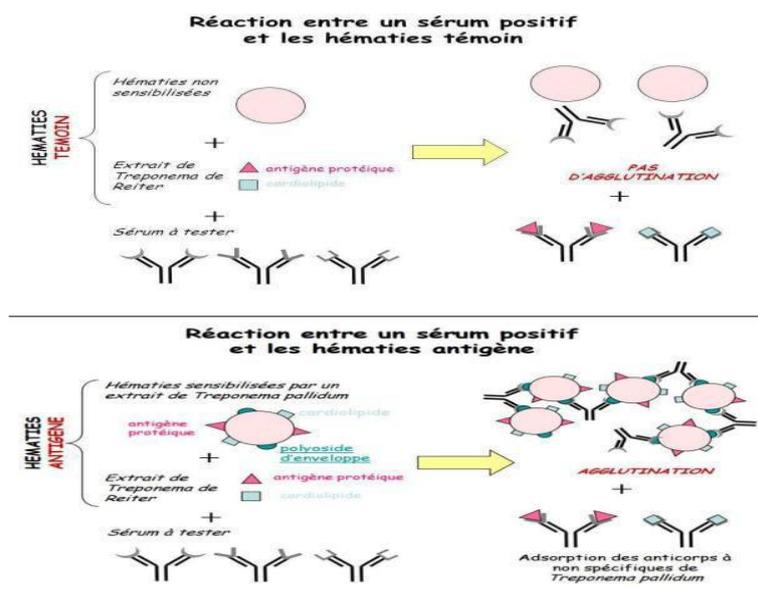


Figure 27 : mécanisme réactionnelle d'hémagglutination

b. Matériels :

- Centrifugeuse de paillasse adaptable aux tubes 5-10ml (2000 Tours /min)
- Micropipette réglable de (20-100 µl)
- Les cônes pour les micropipettes
- Portoir des tubes
- Plaque de microtitration à fond en U fournie dans le kit(photo 29)
- Conteneur des déchets
- gants en latex

**Photo 29 :** Plaque de microtitration**c. Réactifs :**

Hématies –test : Erythrocytes aviaires, enrobés d’antigènes de T. Pallidum

Hématies –témoins : Erythrocytes aviaires hématies, ne pas enrobés

Témoin positif : Sérum de lapin ; pré-dilué (c-t-dire dilué déjà 1/20)

Témoin négatif : Sérum de lapin ; pré-dilué

Diluant : Solution saline absorbante

**Photo 30 :** Réactifs du kit de TPHA

d. Protocole expérimental :

Le test TPHA est une technique qualitative qui permet de connaître si le test de dépistage de la syphilis est positif ou négatif.

Prévoir 3 puits de la plaque de microtitration par échantillon

1-Ramener chacun des composants à température ambiante.

2-Ajouter 190 μ L du diluant dans le puits 1.

3-Ajouter 10 μ L de sérum dans le puits 1.

4-A l'aide d'une micropipette, mélanger le contenu du puits 1 et transférer 25 μ L de cette dilution 1/20 dans les puits 2 et 3.

5-Remettre en suspension par retournement les cellules Test et Contrôle.

6-Ajouter 75 μ L de cellules Contrôle (témoin) dans le puits 2.

7-Ajouter 75 μ L de cellules Test dans le puits 3.

8-Homogénéiser manuellement ou mécaniquement le contenu des puits.

9-Couvrir la plaque et la placer à l'abri de la lumière, de la chaleur et de toutes sources de vibration.

10-Incuber 45-60 minutes à température ambiante. Lire les résultats.

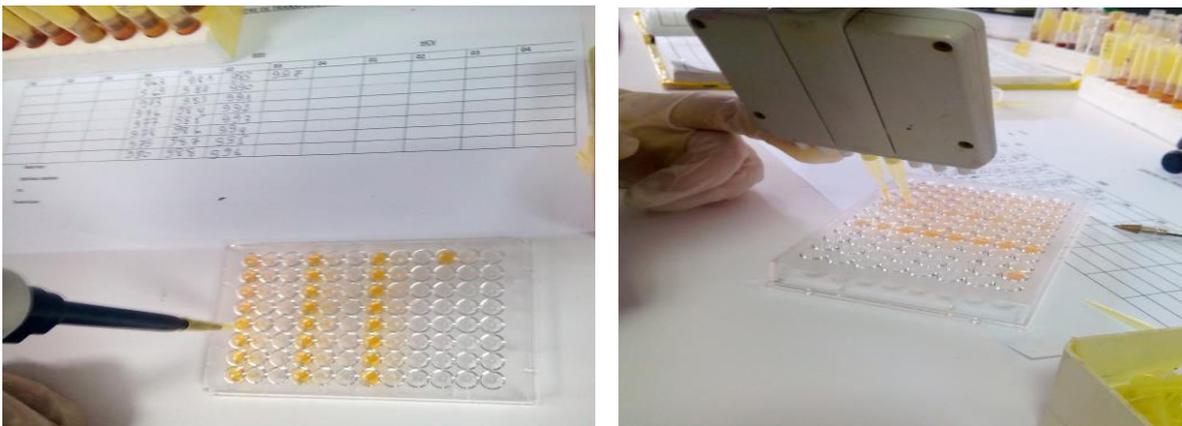


Photo 31 : les étapes de la technique d'hémagglutination

Chapitre V
Résultats et
interprétation

V.1. interprétation des résultats des groupages et phénotypes :

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



Résultat positifs (+)

Résultat négatifs (-)

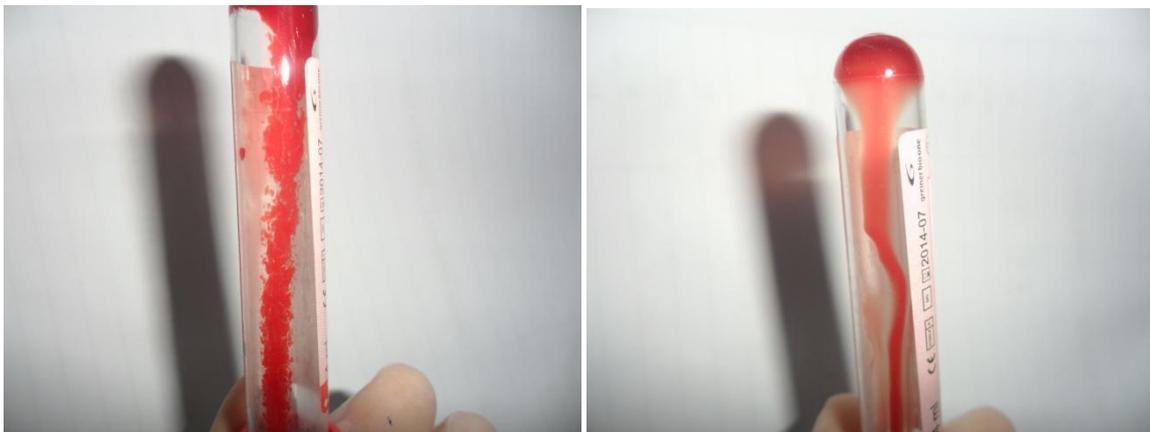
Photo 32 : Interprétation du résultat du test d'agglutination direct sur plaque

V.2. interprétation des résultats des tests de coombs :

En faisant pivoter en secouant légèrement les tubes, on a soit :

Un résultat positifs (+) : une agglutination visible des érythrocytes indique la présence de l'antigène correspondant.

Ou un résultat négatifs (-) : l'absence d'agglutination visible des érythrocytes indique l'absence de l'antigène correspondant.



Résultat positifs (+)

Résultat négatifs (-)

Photo 33 : Interprétation du résultat du test indirect à l'antiglobuline

V.3.interprétation des résultats des sérologies testées par ELISA

On peut déterminer les résultats après une comparaison entre les couleurs des cupules qui comportent des sérums du donneur avec les réactifs des contrôles positifs et négatifs et confirmer nos résultats par la comparaison de chaque absorbance enregistrée des échantillons à celle de la valeur seuil calculée.

➤ Résultats négatifs

Pour les cupules ne possédant aucune coloration (transparente) identique à celle des réactifs de contrôle négatif cela signifie :

- L'absence d'antigène HBs.
- L'absence d'anticorps anti-VHC.
- L'absence des anticorps anti- VIH 1 et anti-VIH 2.
- L'absence d'anticorps anti tréponémiques.

L'absence de la couleur indique qu'il n'ya pas une formation du complexe Ag-Ac et donc le substrat ne réagira pas avec la peroxydase.

➤ Résultats positifs

Pour les cupules possédant la couleur jaune identique à celle des réactifs de contrôle positif cela signifie

- La présence d'antigène HBs.
- La présence d'anticorps anti-VHC.
- La présence des anticorps anti- VIH 1 et anti-VIH 2.
- La présence d'anticorps anti tréponémiques.

Cette couleur jaune résulte d'une réaction entre l'enzyme peroxydase et le substrat, la réaction nécessite une formation précoce d'un complexe Ag-Ac sur lequel le substrat se joint au complexe et va réagir avec la peroxydase.

NB. Les résultats douteux (faux positif) devront être confirmés par répétition de méthode 3 fois.

➤ Calcul des résultats :

Comparaison de l'absorbance d'échantillon à celle de la valeur seuil calculée.

- Exemple d'une plaque de VHB :

Sérums	DO
--------	----

Contrôle négatif	0.51
Contrôle négatif	0.54
Contrôle positif	0.815
Echantillon 1	0.062
Echantillon 2	0.032

$V_s = \text{moyenne de contrôle négatif} \times 2.1$

$V_s = 0.525 \times 2.1$

$V_s = 1.102$

* la V_s inférieur a La DO des échantillons 1 et 2 (signifie l'absence de VHB sur les deux échantillons).

● Exemple d'une plaque de VHC :

Sérums	DO
Contrôle négatif	0.071
Contrôle positif	1.217
Contrôle positif	1.215
Echantillon 1	0.082
Echantillon 2	0.065

$V_s = \text{moyenne de contrôle positif} \times 0.4$

$V_s = 1.216 \times 0.4$

$V_s = 0.486$

* La DO d'échantillons 1 et 2 inférieur a la V_s (signifie l'absence de VHC sur les deux échantillons).

● Exemple d'une plaque de VIH:

Sérums	DO
Contrôle négatif	0.047
Contrôle négatif	0.038
Contrôle positif 1	2.15
Contrôle positif 2	2.09
Echantillon 1	0.082
Echantillon 2	0.032

$V_s = \text{moyenne de contrôle négatif} + 0.100$

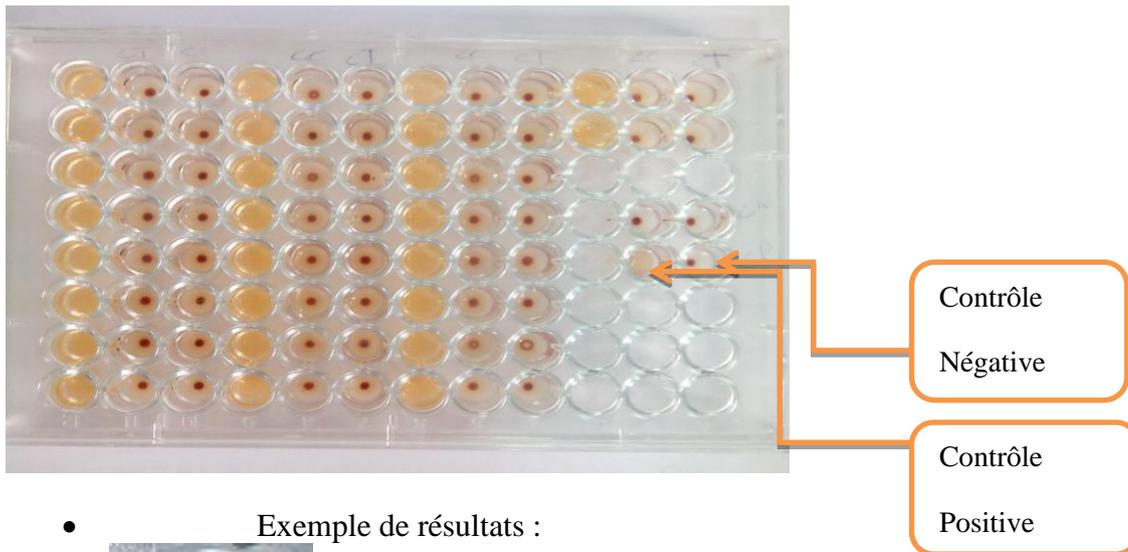
$V_s = 0.042 + 0.100$

$V_s = 0.142$

* La V_s inférieure à la DO des échantillons 1 et 2 (signifie l'absence de VIH sur les deux échantillons).

V.4. résultat et interprétation de la TPHA

V.4.1 Résultat



- Exemple de résultats :



Fortement négatif



Douteux



Fortement positif

V.4.2 interprétation des résultats

Résultat négatif : La formation d'un anneau très serré à bord net (absence de voile) indique qu'il s'agit d'une réaction négative : l'Ag n'est pas reconnue pas d'autres Ac du sérum.

Résultat positif : La formation d'un voile uniforme couvrant tout le puits indique qu'il s'agit d'une réaction positive (réaction efficace entre les Ac et Ag).

Résultat douteux : La formation d'un bouton de cellules avec un petit trou au milieu .Répéter le test avec un échantillon au résultat indéfini.

V.5. Exploitation des résultats

➤ Résultats négatifs

Le sang dont la sérologie est négatif (l'absence d'antigène HBs, anticorps anti-VHC, anticorps anti-VIH 1 et anti-VIH 2 et d'anticorps anti- T. pallidum).donc en peut entamer la production des PSL (Préparation, qualification et distribution).

➤ Résultats positifs

- Pour le malade : prise en charge médicale et psychologique et orienté vers les services spécialisés.
- Pour le sang infecté (sérologie) : ce dernier est incinéré grâce à un appareil utilisé pour la destruction des déchets hospitaliers (déchets d'activité de sang).

Conclusion

Ce travail nous a permis de nous familiariser avec:

➤ l'approche de la sécurité transfusionnelle qui est basée sur :

* une structure pyramidale (national, régional, locale « CTS »)

* Soumis à une réglementation très stricte sur plan technico-administratif

(toutes les procédures sont codifiées)

➤ L'apprentissage des techniques de dépistage, de détermination des groupes sanguins afin de mettre en œuvre les règles de compatibilité entre donneurs et receveurs

➤ Quel que soit les précautions décrites dans notre travail, la surveillance du transfusé est indispensable, des réactions attendues ou inattendues peuvent apparaître et imposent l'arrêt de la transfusion.

Résumé

Résumé

La transfusion sanguine est une thérapeutique essentielle et incontournable de nos jours, En revanche elle présente des risques directement liés à sa nature même par le transfert de liquide biologique d'un individu à un autre à l'origine des risques infectieux et immunologiques. Ces derniers sont essentiellement dus au polymorphisme génétique des antigènes érythrocytaires engendrant une allo-immunisation anti-érythrocytaire pouvant aboutir à des situations d'impasse transfusionnelle

La transfusion sanguine est très sécuritaire et peut, dans certains cas, être la seule façon de sauver une vie. Les mesures utilisées pour vérifier la qualité des produits sanguins sont de plus en plus sûres. Le choix des donneurs est basé sur des critères très sévères et tous les dons de sang sont soumis à des tests à la fine pointe de la technologie pour détecter les maladies et les virus connus.

Les produits sanguins labiles seront sélectionnés pour le receveur afin d'assurer sa compatibilité et le suivi du transfusé durant la transfusion et après la transfusion garantira la santé du malade.

Mots clés : La transfusion sanguine, allo-immunisation, produits sanguins.

summary

Blood transfusion is an essential and unavoidable therapy today, but it presents risks directly related to its very nature by the transfer of biological fluid from one individual to another at the origin of the infectious and immunological risks. The latter are mainly due to the genetic polymorphism of erythrocyte antigens giving rise to anti-erythrocyte alloimmunization which can lead to situations of transfusion impasse.

Blood transfusion is very safe and can, in some cases, be the only way to save a life. The measures used to check the quality of blood products are becoming safer. The choice of donors is based on very strict criteria and all donations of blood are subjected to state-of-the-art tests for known diseases and viruses.

The labile blood products will be selected for the recipient to ensure compatibility and transfusion monitoring during transfusion and after transfusion will ensure the patient's health.

Key words: Blood transfusion, alloimmunization, blood products

ملخص

نقل الدم هو علاج أساسي لا يمكن تجنبه اليوم ، لكنه يعرض المخاطر المرتبطة مباشرة بطبيعته بنقل السوائل البيولوجية من فرد إلى آخر عند أصل المخاطر المعدية والمناعة. هذا الأخير يرجع أساسا إلى تعدد الأشكال الوراثية من مستضدات كرات الدم الحمراء مما أدى إلى مكافحة التحصين الذاتي المضادة للكريات الحمراء التي يمكن أن تؤدي إلى حالات مأزق نقل الدم.

إن نقل الدم آمن للغاية ويمكن أن يكون، في بعض الحالات، الطريقة الوحيدة لإنقاذ حياة. أصبحت التدابير المستخدمة للتحقق من جودة منتجات الدم أكثر أمنا. يعتمد اختيار المانحين على معايير صارمة للغاية وتخضع جميع التبرعات من الدم لأحدث الاختبارات للأمراض والفيروسات المعروفة

سيتم اختيار منتجات الدم الشفافة للمتلقي لضمان التوافق ومراقبة نقل الدم أثناء نقل الدم وبعد نقل الدم سوف يتضمن صحة المريض

كلمات مفتاحية: نقل الدم ، تحفيز المناعة ، منتجات الدم.

Références

Références bibliographique

- 1- A. Sbaia, W. Bahab, H. Ougabraib Prévalence de l'infection par le virus de l'hépatite B et l'évaluation des facteurs de risque au Maroc
- 2- "Actualité du don de sang et de la transfusion", in tout sur la transfusion.com <https://www.toutsurlatransfusion.com/actualite-transfusion-et-don-du-sang/l-algerie-est-leader-en-afrique-du-don-de-sang.php> page consultée le 15 avril 2017.
- 3- Agence National du sang. Rapport d'activité de la transfusion sanguine(2014) <http://www.ans.dz/images/PDF/bilan%20ANS%202014.pdf>
- 4- Agence National de Sang ; 2005 ; les Bonnes pratiques de transfusionnelles ;
- 5- Aireche H. Polymorphisme érythrocytaire dans la population algérienne. Thèse de Doctorat en Sciences Médicales (Pharmacie), INESM (Institut National de l'Education en Sciences Médicales), Alger 1987.
- 6- "Analyse des produits sanguins", in tout sur la transfusion.com <https://www.toutsurlatransfusion.com/transfusion-sanguine/transfusion/risques-infectieux-transfusion.php> page consultée le 28 avril 2018.
- 7- ANS. Agence nationale du sang. Algérie
- 8- Antibiotiques (2007); p9 (3):199-203./ ET Nawel Imés. le soir d'Algérie.com Algéria news, actualités : SIDA en Algérie, Lundi 4 décembre 2017
- 9- " Anticorps et incidence ", <http://www.toutsurlatransfusion.com/transfusion-sanguine/medecine-transfusionnelle/anticorps-et-incidence-transfusionnelle.php> page consultée le 19 février 2018.
- 10- ARTHUR Caprin, directeur du centre bioéthique de l'université de Pennsylvanie.
- 11- Ayari R ; Gorgi Y ; Gorgi Y ; Aouadi H ; Ayed-Jendoubi S ; Ayed K., La PCR dans la détection de l'ADN du virus de l'hépatite B : choix des amorces. Immunoanalyse et biologie spécialisée 2006; 21: 308–313.
- 12- B.-N.Pham, P.-Y.Le Pennec, P.Rouger. Allo-immunisation anti-érythrocytaire. Transfusion Clinique et Biologique 19 (2012) : 321–332
- 13- Berkane S, S, Debzi N .8 janvier (2012). Prise en charge de l'hépatite chronique virale en algérie. Une conférence –débat au forum d'el Moudjahid, a la veille de la journée nationale des hépatites qui est célébrée le 12 janvier de chaque année.
- 14- Bernard.G ;Jean-Yves. M ;Janvier 1999 ; aide-mémoire Transfusion ;3ème édition ;

Références bibliographique

- Medcinescience; Flammarion ;
- 15- Bertrand.M ;Jean.C ;André.D; Dominique.F ;Jacques.P.B ;2008 ;Histologie Bases fondamentales ;PCEM ;OMNi science ;p275
- 16- C Tayou Tagny, S Owusu-ofori, D Mbanya, V Deneys. The blood donor in sub-saharan africa: a review. *Transfusion Medicine*. (Oxford, England) 2010;20(1):1-10.
- 17- C. Niederhausera, B. Mansouri Taleghania, M. Graziania Blood donor screening: how to decrease the risk of transfusion-transmitted hepatitis B virus? *Swiss Med Wkly*, 138 (2008), pp. 134–141
- 18- Centre national de transfusion sanguine. Aide-mémoire de promotion du don de sang.2000 :9
- 19- Chantal .K les cellules sanguines, 2010-2011 Université Médicale Virtuelle Francophone
- 20- Claude. T, Dora .M, *Transfusion Sanguine dans les Pays en développement*. Page 77
- 21- Claude. T, Dora .M, *Transfusion Sanguine dans les Pays en développement*. Page 82
Peumery JJ, Denis JB.
- 22- *Claude.T et Dora. M (2007). Manuel pratique du laboratoire de Transfusion Sanguine dans les pays en développement*
- 23- Coffin JM. Structure and classification of retroviruses. In: Levy JA, editor.
- 24- Contreras M (ed). ABC of transfusion (3rd ed) london BMJ books .1998
- 25- D.LAMARA, M/A.HEMATO HMRUC 2016
- 26- Daniels G. Human blood groups. Oxford:Blackwell Science. 1995
- 27- David .G, Gilles .F, Groupes, sanguins et conséquences médicales, Planet-Vie, 8 décembre 2016,
- 28- dépistage des infections transmissibles par transfusion dans les dons de sang OMS 2010 page 43
- 29- Dr.Francoise.D ; 2007; les Bonnes pratiques transfusionnelles ; Rappel del’Etablissement Française de Sang ;
- 30- Eugène C, Costentin L, Beaulieu S, (2004) .Les hépatites virales ,2éme édition, MASSON. (Consulté le : 30 mai 2012)
- 31- Flandrois ; 1997 ; Bactériologie médicale ; presses universitaires de Lyon ; page 246 ;
- 32- Gerard C., Sondag-Thull D., Watson-Williams E-J., Fransen L. Sécurité transfusionnelle dans les pays en développement. Principes.
- 33- Gerbase.AC ; Rowley.J.T ; Heymann.D.H.L. Berkley.S.F.B ; Piot.P ; 1998 ; Global

Références bibliographique

- prevalence and incidence estimates of selected curable STDs ; Sex Trans Infection ;
- 34- Gervais, Talbert - Willoquet -. Guide Pharmaco Clinique. s.l. : Wolters Kluwer France , 2011. 978-2-915585-95-7.
- 35- Gilles, F et Benjamin, P. (2016). Le virus du SIDA. 21 septembre 2016. Ressources en sciences de la vie pour les enseignants, ENS 9, 241-289
- 36- "Groupe sanguin et Transfusion" <http://www.toutsurlatransfusion.com/transfusion-sanguine/medecine-transfusionnelle/groupe-sanguin-et-transfusion-du-sang.php>. le 21 mars 2018
- 37- Gueudin M, Simon F, Septembre. Advantages and Limits in quantification of HIV -DNA. Comparaison of proviral DNA in HIV -1 and HIV -2
- 38- Guide de donneur ; Croix Rouge Belgique ; pdf ;
- 39- Guide pour la préparation, l'utilisation et l'assurance de qualité des composants sanguins. 14 ème édition. Edition du Conseil de l'Europe Avril 2010 Strasbourg
- 40- Guidoum Y. Agence Nationale du Sang. Transfusion sanguine. 2ème édition. (1998).
- 41- IDIDAR.A. . (2012). LA TRANSFUSION SANGUINE AU MAROC. Thèse de doctorat non publiée, Université MOHAMMED . FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT
- 42- "Immuno-Hématologie Erythrocytaire", in tout sur la transfusion.com <https://www.toutsurlatransfusion.com/immuno-hematologie/groupe-phenotypage/principe.php> page consultée le 10 juin 2018.
- 43- "Immuno-Hématologie Erythrocytaire Groupages Phénotypages ", in tout sur la transfusion.com <http://www.toutsurlatransfusion.com/immuno-hematologie/groupe-phenotypage/principe.php> page consultée le 05 juin 2017
- 44- "Immuno-Hématologie Erythrocytaire", Recherche d'anticorps. Le 05 juin 2017
- 45- ISM Copy Groupes sanguins Module d'Hématologie. 4eme année médecine – Rotation 3 – 2015/2016
- 46- J Hepatol, 44 (2006), pp. 6–9
- 47- J. Alter Miriam Epidemiology of viral hepatitis and HIV co-infection
- 48- J. Chiaroni, V. Ferrera, I. Dettori, F. Roubinet. Groupes sanguins érythrocytaires. EMC - Hématologie 2005:1-41 [Article 13-000-R-50].

Références bibliographique

- 49- J. Chiaroni. Les bonnes pratiques. d'immunohématologie clinique. JOURNEES EDUCATIONNELLES SFTS 2003. Transfusion Clinique et Biologique 10 (2003) : 244–251.
- 50- J.-J. Lefrère, G. Andreu, C. Barisien, P. Bierling, B. C. Barisien, P. Bierling, B. Danic, P. Morel, T. Peyrard, T. Schneider, J.-Y. Muller. Transfusion sanguine (I). Organisation, bases immunologiques et produits sanguins labiles. EMC-Hématologie 2012:1-18 [Article 13-054-A-10].
- 51- Jean-J, Philippe. R 5e édition. Transfusion sanguine page 22
- 52- Jean-J, Philippe. R 5e édition. Transfusion sanguine page 2
- 53- Laura Dean, Blood Groups and Red Cell Antigens, Bethesda (MD 20892-6510): National Center for Biotechnology Information (US) 2005
- 54- LEFRERE, J.J et ROUGER.Ph ; Pratique nouvelle G. Andreu, C. Barisien, P. Bierling, B. Danic, P. Morel, T. Peyrard, T. Schneider, J.-Y. Muller. Transfusion sanguine (I). Organisation, bases immunologiques et produits sanguins labiles
- 55- LEFRERE.J.J ; Jean-Yves.M ; 2012 ; Utilisation des produits sanguins ; Médecine science Lavoisier ;
- 56- "L'Ethique des dons du sang" in Don du Sang en France <https://www.toutsurlatransfusion.com/dondusang/don-du-sang/don-ethique.php> page consultée le 15 mars 2018.
- 57- Manuel de gestion ; Suisse 2008 ; maintenance et utilisation du matériel de la chaîne du froid pour le sang ; Département Technologies essentielles de la santé ; Organisation mondiale de la Santé;
- 58- Mokhtari F Gourari C, Makhlof S, Cerbah A, Harzaoui A, Mohammedi KH. Rapport de l'enquête de séro-surveillance du VIH et de la Syphilis. Alger : La documentation algérienne ; 2004. Direction de la Prévention. Commandité par Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière
- 59- Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine. Oxford : Blackwell Science, 1997
- 60- Mostefaoui Mohamed Amine., Les hépatites virales B et C. 2013-2014
- 61- Najman, E Verdy, G Potron, F Isnard-Grivaux. Hématologie, Précis des maladies du sang, Tome II. Edition Marketing, 2004 Paris
- 62- O. Atoufa, Bricka, N. Benseffaja, S. Ouadghiria, H. El Annazc, M. Essakalli. Recherche

Références bibliographique

- des anticorps anti-érythrocytaire en milieu hospitalier : à propos de 2027 patients marocains. *Immunoanalyse et biologie spécialisée* 28 (2013): 240-244
- 63- Odenheimer ; Beat Mullhaupt ; Andreas Cerny., L'hépatite B: 50 questions et réponses, 2e édition 2012.
- 64- Organisation et gestion, Donneurs de sang, Tests de dépistage sur le sang, Utilisation clinique du sang. Defrance, J. (1999). Rapport sur la SÉCURITÉ TRANSFUSIONNELLE DANS LE MONDE. World Health Organization, Switzerland
- 65- organisation. Commission Européenne, ECSC-EC-EAC, Bruxelles, 1997
- 66- OTMANI Module d'hémodiagnostic
- 67- Paubel.P ;Sauvageon.H ; ;Wallet.P ; mars 2000 ; Les médicaments dérivés du sang ;Amette ;
- 68- "Prélèvement des dons du sang", in tout sur la transfusion.com <http://www.toutsurlatransfusion.com/transfusion-sanguine/securite-de-la-transfusion/prelevement-don-du-sang.php> page consultée le 16 avril 2017.
- 69- "Prélèvement des dons du sang", in tout sur la transfusion.com <https://www.toutsurlatransfusion.com/transfusion-sanguine/securite-de-la-transfusion/prelevement-don-du-sang.php> page consultée le 29 avril 2018.
- 70- programme commun des Nations sur le VIH/SIDA ; avril 1998 ; sécurité transfusionnelle ;ONUSIDA/OMS
- 71- Recommandation de l'Organisation Mondiale de la Santé ; 2010 ; dépistage des infections transmissibles par transfusion dans le don de sang ;
- 72- Salmon C, Cartron JP, Rouger P. Les groupes sanguins chez l'homme. Paris : Masson, 1991
- 73- The International Society of Blood Transfusion (ISBT) mise à jour le 05/03/2018
- 74- The retroviridae. New York: Plenum Press; 1992. p. 19-50
- 75- Transfusion de globules rouges homologues : produits, indications, alternatives recommandations agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. août 2002 ; 4p 31
- 76- transfusion Site fixe. www.toutsurlatransfusion.com. [En ligne] juillet 2012. <http://www.toutsurlatransfusion.com/donusang/don-du-sang/collecte-mobile>
- 77- "Transfusion sanguine", in tout sur la transfusion.com <https://www.toutsurlatransfusion.com/transfusion-sanguine/transfusion/qu-est-ce-qu-une-transfusion-sanguine.php>, page consultée le 21 mars 2018.

Références bibliographique

78- Volume 2003, Issue 355, September 2003, Pages 29-32 Volume 2003, Issue 355

79- www.dondusang-larochefoucauld.fr (jeudi 11 février 2016) ; ET Akacem O ; Ardjoun M ; Bouguermouh A ; Ghorab T ; Hocine M ; Mohammedi D ; Tabani S ; les dernière édition de livre du procédure opératoire en sérologie infectieuse ; Agence National du Sang

80- www.mcr-ost.be/v3.2/images/CRB/MCR/documents/SR4_GUIDON_F_05.pdf

Annexe

A

Anticorps : Un anticorps est un complexe protéique. Si chaque organisme doté d'un système immunitaire code pour des milliards d'anticorps différents, ils possèdent tous les mêmes caractéristiques globales. Ce sont des glycoprotéines de la famille des immunoglobulines, formées de deux chaînes lourdes identiques (H pour heavy) et de deux chaînes légères identiques (L pour light).

Ils sont souvent représentés en Y, où les deux chaînes lourdes sont reliées entre elles par un pont disulfure au niveau de la tige du Y. Les deux chaînes légères sont associées aux chaînes lourdes au niveau des bras du Y, également par des ponts disulfures

Antigène : On appelle antigène toute substance étrangère à l'organisme capable de déclencher une réponse immunitaire visant à l'éliminer. Il s'agit le plus souvent de protéines ou de peptides (fragments de protéines) qui sont reconnus de manière spécifique par des anticorps et également par certains globules blancs, les lymphocytes T8. Les anticorps sont produits par les lymphocytes B et leur production est stimulée par les lymphocytes T4 qui jouent un rôle de chef d'orchestre du système immunitaire

C

Cirrhose : La cirrhose est une maladie chronique au cours de laquelle le foie se couvre de tissu fibreux, ce qui provoque la décomposition progressive du tissu hépatique qui se remplit de tissu graisseux. La cirrhose est le plus souvent la conséquence d'un alcoolisme de longue date mais elle peut aussi être provoquée par la malnutrition, l'hépatite ou d'autres infections.

G

Le génome : est l'ensemble du matériel génétique d'un organisme. Il contient à la fois les séquences codantes, c'est-à-dire celles qui codent pour des protéines, et les séquences

non codantes. Chez la majorité des organismes, le génome correspond à l'ADN présent dans les cellules. Cependant, chez certains virus appelés rétrovirus (par exemple le VIH), le matériel génétique est de l'ARN.

L'ADN est souvent comparé à un livre dont le langage est constitué de quatre bases azotées, également appelées nucléotides : l'adénine, la cytosine, la guanine et la thymine (A, C, G, T). La manière dont ces bases sont organisées constitue le code génétique. Ce dernier peut être lu par la machinerie cellulaire, qui peut le transcrire en ARN puis en protéines. Le séquençage de l'ADN permet de connaître l'enchaînement des nucléotides et de cartographier le génome. La taille du génome est très variable en fonction des organismes. Elle varie de quelques milliers à plusieurs millions de paires de bases. Le Projet génome humain, lancé en 1990, a permis le séquençage de l'ADN humain, composé d'environ 3,4 milliards de nucléotides. On dénombre à ce jour près de 25.000 gènes chez l'Homme.

H

Hépatite : est une inflammation du foie entraînant une destruction plus ou moins importante des hépatocytes, les principales cellules du foie

Hépatite chronique : Il faut distinguer le portage chronique du virus C quand la recherche du virus dans le sang par PCR reste positive plus de 6 mois après la contamination de l'inflammation du foie ou hépatite chronique

Hépatocyte : cellule du foie, qui sécrète des substances dans le sang et dans le tube digestif.

I

Inflammation : L'inflammation est un ensemble de réactions générées par l'organisme en réponse à une agression subie. Celle-ci peut être d'origine extérieure comme une

blessure, une infection, un traumatisme ou provenir de l'intérieur de l'organisme lui-même comme c'est le cas dans des pathologies auto-immunes.

L

Lymphocyte : Les lymphocytes sont une variété de globules blancs du sang.

La zone endémique : Désigne la présence habituelle d'une maladie dans une région ou une population déterminée

P

Parentéral : Qui n'emprunte pas la voie digestive, par opposition à entérale.

Qualifie l'administration d'un médicament (toutes les voies sauf par la bouche et directement dans l'estomac ou les intestins, par sonde).

R

Réplication : Mécanisme de production de nouvelles molécules nucléiques d'ADN ou d'ARN dans le cas de certains virus. Au niveau cellulaire, la copie de l'ADN résulte en la formation de deux molécules-filles identiques entre-elles et à la molécule-mère. Ce phénomène a lieu au niveau des chromosomes, avant la division cellulaire (réplication chromosomique).

ANNEXE 1/

INTERROGATOIRE TYPE

Date :

Codification

IDENTITE DU DONNEUR DE SANG

Nom : Prénom (s) :

Sexe : Masculin - Féminin

Date et lieu de naissance :

Etat-civil : Célibataire - Veuf (ve) - Marié (e)

Nombre d'enfants :

Profession :

Adresse personnelle :

Adresse professionnelle :

N° Téléphone : N° Fax :

HISTOIRE DU DON

Type de donneur :

Régulier Occasionnel Premier don Contre partie

Service :

Date du dernier don Lieu :Incidents post-don : Oui Non Précisez :

EXAMEN MEDICAL

* Etat général

- Poids : - Taille :

- Tension artérielle : - Pouls :

- Coloration Cutané-Muqueuse : - Notion d'amaigrissement :

- Taux d'Hémoglobine :

- Prise d'un léger repas : Oui Non - Grossesse : Oui Non - Allaitement : Oui Non - Menstruations : Oui Non * Antécédents pathologiques :

- Acte chirurgical : subi ou prévu

Date : Type : Lieu :

- Pathologie :

- Cardio-vasculaire :
- Gastro-entérologie (ex : ulcère, gastrite)
- Neurologique (ex : épilepsie)
- Endocrinologie (ex : tuberculose, asthme)
- Infections / - Paludisme
- HIV - SIDA
- Hépatites virales
- Brucellose
- Syphilis
- Gonococcie
- Diarrhées fébriles depuis 6 mois
- Antécédents de Maladie de Creutzfeld Jacod (MCJ)

- Thérapie :

- Médicament (ex : aspirine, antibiotiques)
- Vaccination : Type date :
- Transfusion sanguine date :
- Acupuncture : date :

- Voyage dans une zone d'endémie :

- Lieu : Date :
- Prise des mesures prophylactiques Oui Non
- Retour avec symptômes : Oui Non
- Retour sans symptômes : Oui Non

- Comportement social à risque : Oui Non Lequel :.....
Tatouage, scarification, perçage des oreilles, perçage de la peau, toxicomane par voie intra veineuse, relation sexuelle (infidèle, avec homosexuel, prostituée, toxicomane, hémophile, porteur d'hépatite virale ou HIV + avec une personne exposée au risque de contracter une maladie sexuellement transmissible). Etre une personne exposée au risque de contracter une MST.

* Aptitude au don de sang : Oui Non

* Contre-indication définitive : Raison :

* Contre-indication temporaire : Raison :

* Identité du médecin de collecte :
Nom : Prénom :

Signature

RÉACTIF POUR LE GROUPE SANGUIN

Antisérums des sous-types Rh

Flacon compte-gouttes 5 ml

Réf 410 Anti-E

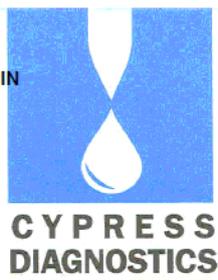
Réf 411 Anti-e

Réf 412 Anti-C

Réf 413 Anti-c

Réf 435 Anti-C^w

Pour la méthode sur lame et en tube



Antisérums des sous-types Rh

Sérum test pour le groupage sanguin

Antisérums agglutinants des sous-types Rh anti-C, anti-c, anti-C^w, anti-E, anti-e
(IgM monoclonale humaine)

Usage prévu

Le sérum de test Anti-C, -c, -C^w, -E, -e monoclonal agglutinant est produit à partir des surnageants de cultures de deux lignées cellulaires d'hétérohybridomes. Les cellules sécrètent un anticorps du type IgM, qui présente une réaction spécifique avec l'antigène correspondant. L'anticorps est une protéine humaine. Le sérum de test sert à déterminer si les érythrocytes humains possèdent ou non l'antigène du groupe sanguin correspondant. Ce sérum de test est conçu pour être utilisé uniquement par du personnel technique qualifié. Il est uniquement destiné à l'usage in vitro.

Principe de la méthode

Les méthodes utilisées avec ce réactif sont basées sur le principe d'agglutination. Les érythrocytes humains normaux possédant l'antigène correspondant s'agglutinent en présence de l'anticorps spécifique dirigé contre l'antigène.

Réactif

Le réactif contient des anticorps des clones suivants:

Anti-C agglutinant (IgM monoclonal humain clones MS-24 et P3x25513G8)

Anti-E agglutinant (IgM monoclonal humain, clones MS-12 et MS-260)

Anti-c agglutinant (IgM monoclonal humain, clone MS-33)

Anti-e agglutinant (IgM monoclonal humain, clones MS-15, MS-21 et MS-63)

Anti-C^w agglutinant (IgM monoclonal humain, clone MS-110)

Les réactifs contiennent < 0,1% (p/v) d'azotate de sodium comme

conservateur. Il se compose en outre d'anticorps actif, de chlorure de sodium, de macromolécules et d'albumine bovine.

Avertissement

Ce réactif a été préparé à partir de surnageants de cultures cellulaires. S'agissant d'un produit biologique, il doit être considéré comme potentiellement infectieux car un risque d'infection par des agents pathogènes ne peut jamais être complètement exclu. Le réactif contient de l'azotate de sodium, qui peut être toxique et réagir avec le plomb ou le cuivre pour former des sels hautement explosifs. C'est pourquoi ce réactif doit être manipulé avec tout le soin voulu.

Conservation

Conservez le produit entre 2 et 8 °C. Il peut rester à température ambiante (15 à 30 °C) pendant son utilisation. En principe, il ne faut conserver et utiliser les réactifs que jusqu'à la date d'expiration mentionnée.

Remarque

- La force des réactions positives est également fonction de l'âge du sang utilisé.
- Il faut effectuer des contrôles positifs et négatifs pour chaque test.
- Une conservation dans des conditions inadéquates altère l'efficacité du réactif.
- Une centrifugation avec une force centrifuge relative différant fortement de la valeur mentionnée peut donner de faux résultats.
- Les échantillons de sang à tester doivent être utilisés dès que possible. S'il n'est pas possible de tester les échantillons immédiatement, il faut les conserver entre 2 et 8 °C. Le sang recueilli sur de l'héparine ou de l'oxalate doit être testé dans les deux jours. Le sang recueilli sur du citrate de sodium ou de l'EDTA doit être testé dans les 14 jours. Le sang recueilli par piqûre d'un doigt peut être testé directement par la méthode sur lame mais, pour éviter une coagulation, le sang recueilli de cette manière doit être mélangé rapidement avec le réactif.
- Les méthodes décrites ci-dessous sont uniquement destinées au test manuel. En cas d'utilisation de dispositifs automatisés ou semi-automatisés, il y a lieu de suivre les instructions qui figurent dans le manuel d'utilisation fourni par le fabricant du dispositif. Les laboratoires doivent respecter les procédures de validation homologuées pour confirmer la compatibilité de ce produit avec les systèmes automatisés.
- Ce sérum de test doit être utilisé conformément à toutes les lois, réglementations et directives nationales en vigueur.

Préparation des réactifs

Les réactifs ne nécessitent aucune préparation. Utilisez les réactifs directement à partir des flacons.

Méthode

Matériel non fourni, mais nécessaire en plus:

avec la méthode sur lame

- Lame de verre
- Pipette Pasteur
- Baguette de mélange

avec la méthode de centrifugation en tube

- Tubes d'essai, 10 x 75 mm ou 12 x 75 mm
- Pipettes conçues pour distribuer environ 100 µl
- Centrifugeuse
- Saline isotonique (avec 0,85 à 0,9 % de chlorure de sodium)

Méthode de test

Méthode sur lame

- Utilisez uniquement le sédiment érythrocytaire ou le sang total.
- Disposez une goutte (environ 50 µl) du réactif approprié sur une lame de verre.
- À l'aide d'une pipette Pasteur, ajoutez une goutte de sédiment érythrocytaire ou de sang total (environ 50 µl) à la lame de verre.
- Mélangez bien les érythrocytes avec le réactif à l'aide d'une baguette et étalez la préparation sur un cercle de 2 cm de diamètre.
- En faisant pivoter légèrement la lame, contrôlez l'apparition d'une agglutination dans un délai de 1 minute (la réaction démarre en

quelques secondes). Des réactions non spécifiques peuvent se produire en raison du séchage durant la réaction ou si la lame est chauffée.

Méthode de centrifugation en tube

- Utilisez uniquement une solution à 2 à 5 % d'érythrocytes dans une solution saline isotonique (hématies lavées une fois ou jusqu'à trois fois avec la solution saline isotonique).
- Ajoutez 100 µl (solution alternative: une goutte = environ 50 µl) du réactif approprié à chaque tube.
- Ajoutez 100 µl (solution alternative: une goutte = environ 50 µl) de la suspension d'érythrocytes appropriée à chaque tube.
- Mélangez bien en secouant légèrement.
- Mettez le tube à incuber à température ambiante (15 à 30°C) pendant 15 minutes.
- Centrifugez le tube pendant 1 minute à 2 000 tours/min (environ 800 à 1 000 g).
- Remettez les érythrocytes doucement en suspension et contrôlez à l'œil nu l'apparition d'une agglutination dans un délai de 3 minutes. Notez le résultat.

Interprétation des résultats

En faisant pivoter/en secouant légèrement dans la méthode sur lame et la méthode en tube.

Résultats positifs (+): une agglutination visible des érythrocytes est un résultat positif, qui indique la présence de l'antigène correspondant.

Résultats négatifs (-): l'absence d'agglutination visible des érythrocytes est un résultat négatif, qui indique l'absence de l'antigène correspondant.

Limites de la méthode

- L'observation incorrecte des instructions figurant dans les paragraphes "Méthodes" et "Interprétation des résultats" peut entraîner des résultats inexacts.
- Aucune conclusion valable quant au résultat du test ne peut être tirée si les contrôles donnent des résultats incertains ou faux.
- Les érythrocytes traités par des enzymes peuvent réagir de façon non spécifique.
- En raison de la variabilité de l'expression antigénique, la réactivité de ces réactifs à l'égard de certains phénotypes peut être plus faible par rapport aux cellules témoins.
- Les érythrocytes recouverts d'alloanticorps ou d'autoanticorps dont la spécificité est identique ou similaire à celle du réactif (donc, des hématies qui sont positives au test direct à l'antiglobuline (DAT)) peuvent donner de faibles réactions. Dans des cas extrêmes, des résultats faux-négatifs peuvent également être observés.

Langdorp, 06.2005

www.diagnostics.be

Langdorpesteenweg 160 • 3201 Langdorp - Belgium • Tel. ++ 32 16 44 63 89 • Fax ++ 32 16 44 77 62 • E-mail: cypress@diagnostics.be

RÉACTIFS POUR LE GROUPE SANGUIN

Flacon compte-gouttes de 5 ml
IgM monoclonaux
Réf. 423 Anti-Kell
Pour test sur lame et en tube



Anti-Kell

Usage prévu

Le sérum de test anti-Kell (KELL1) monoclonal agglutinant est produit à partir des surnageants de cultures de deux lignées cellulaires d'hétérohybridomes. Les cellules sécrètent un anticorps du type IgM, qui présente une réaction spécifique avec l'antigène correspondant. L'anticorps est une protéine humaine. Le sérum de test sert à déterminer si les érythrocytes humains possèdent ou non l'antigène du groupe sanguin correspondant. Ce sérum de test est conçu pour être utilisé uniquement par du personnel technique qualifié. Il est uniquement destiné à l'usage in vitro.

Principe de la méthode

Les méthodes utilisées avec ce réactif sont basées sur le principe

d'agglutination. Les érythrocytes humains normaux possédant l'antigène correspondant s'agglutinent en présence de l'anticorps spécifique dirigé contre l'antigène.

Réactif

Le réactif contient des anticorps du clone suivant:
Anti-Kell agglutinant (IgM monoclonal humain, clone: MS-56)
Le réactif contient < 0,1% (p/v) d'azotate de sodium comme conservateur. Il se compose en outre d'anticorps actif, de chlorure de sodium, de macromolécules et d'albumine bovine.

Avertissement

Ce réactif a été préparé à partir de surnageants de cultures cellulaires. S'agissant d'un produit biologique, il doit être considéré comme potentiellement infectieux car un risque d'infection par des agents pathogènes ne peut jamais être complètement exclu. Le réactif contient de l'azotate de sodium, qui peut être toxique et réagir avec le plomb ou le cuivre pour former des sels hautement explosifs. C'est pourquoi ce réactif doit être manipulé avec tout le soin voulu.

Conservation

Conservez le produit entre 2 et 8 °C. Il peut rester à température ambiante (15 à 30 °C) pendant son utilisation. En principe, il ne faut conserver et utiliser les réactifs que jusqu'à la date d'expiration mentionnée.

Remarque

- La force des réactions positives est également fonction de l'âge du sang utilisé.
- Il faut effectuer des contrôles positifs et négatifs pour chaque test.
- Une conservation dans des conditions inadéquates altère l'efficacité du réactif.
- Une centrifugation avec une force centrifuge relative différant fortement de la valeur mentionnée peut donner de faux résultats.
- Les échantillons de sang à tester doivent être utilisés dès que possible. S'il n'est pas possible de tester les échantillons immédiatement, il faut les conserver entre 2 et 8 °C. Le sang recueilli sur de l'héparine ou de l'oxalate doit être testé dans les deux jours. Le sang recueilli sur du citrate de sodium ou de l'EDTA doit être testé dans les 14 jours. Le sang recueilli par piqûre d'un doigt peut être testé directement par la méthode sur lame mais, pour éviter une coagulation, le sang recueilli de cette manière doit être mélangé rapidement avec le réactif.
- Les méthodes décrites ci-dessous sont uniquement destinées au test manuel. En cas d'utilisation de dispositifs automatisés ou semi-automatisés, il y a lieu de suivre les instructions qui figurent dans le manuel d'utilisation fourni par le fabricant du dispositif. Les laboratoires doivent respecter les procédures de validation homologuées pour confirmer la compatibilité de ce produit avec les systèmes automatisés.
- Ce sérum de test doit être utilisé conformément à toutes les lois, réglementations et directives nationales en vigueur.

Préparation des réactifs

Les réactifs ne nécessitent aucune préparation. Utilisez les réactifs directement à partir des flacons.

Méthode

Matériel non fourni, mais nécessaire en plus:

avec la méthode sur lame

- Lame de verre
- Pipette Pasteur
- Baguette de mélange

avec la méthode de centrifugation en tube

- Tubes d'essai, 10 x 75 mm ou 12 x 75 mm
- Pipettes conçues pour distribuer environ 100 µl
- Centrifugeuse
- Saline isotonique (avec 0,85 à 0,9 % de chlorure de sodium)

Méthode de test

Méthode sur lame

- Utilisez uniquement le sédiment érythrocytaire ou le sang total.
- Disposez une goutte (environ 50 µl) du réactif approprié sur une lame de verre.
- À l'aide d'une pipette Pasteur, ajoutez une goutte de sédiment érythrocytaire ou de sang total (environ 50 µl) à la lame de verre.
- Mélangez bien les érythrocytes avec le réactif à l'aide d'une baguette et étalez la préparation sur un cercle de 2 cm de diamètre.
- En faisant pivoter légèrement la lame, contrôlez l'apparition d'une agglutination dans un délai de 1 minute (la réaction démarre en quelques secondes). Des réactions non spécifiques peuvent se produire en raison du séchage durant la réaction ou si la lame est chauffée.

Méthode de centrifugation en tube

- Utilisez uniquement une solution à 2 à 5 % d'érythrocytes dans une solution saline isotonique (hématies lavées une fois ou jusqu'à trois fois avec la solution saline isotonique).
- Ajoutez 100 µl (solution alternative: une goutte = environ 50 µl) du réactif approprié à chaque tube.
- Ajoutez 100 µl (solution alternative: une goutte = environ 50 µl) de la suspension d'érythrocytes appropriée à chaque tube.
- Mélangez bien en secouant légèrement.
- Mettez le tube à Incuber à température ambiante (15 à 30°C) pendant 15 minutes.
- Centrifugez le tube pendant 1 minute à 2 000 tours/min (environ 800 à 1 000 g).
- Remettez les érythrocytes doucement en suspension et contrôlez à l'œil nu l'apparition d'une agglutination dans un délai de 3 minutes. Notez le résultat.

Interprétation des résultats

En faisant pivoter/en secouant légèrement dans la méthode sur lame et la méthode en tube.

Résultats positifs (+): une agglutination visible des érythrocytes est un résultat positif, qui indique la présence de l'antigène correspondant.

Résultats négatifs (-): l'absence d'agglutination visible des érythrocytes est un résultat négatif, qui indique l'absence de l'antigène correspondant.

Limites de la méthode

- L'observation incorrecte des instructions figurant dans les paragraphes "Méthodes" et "Interprétation des résultats" peut entraîner des résultats inexacts.
- Aucune conclusion valable quant au résultat du test ne peut être tirée si les contrôles donnent des résultats incertains ou faux.
- Les érythrocytes traités par des enzymes peuvent réagir de façon non spécifique.
- En raison de la variabilité de l'expression antigénique, la réactivité de ces réactifs à l'égard de certains phénotypes peut être plus faible par rapport aux cellules témoins.
- Les érythrocytes recouverts d'alloanticorps ou d'autoanticorps dont la spécificité est identique ou similaire à celle du réactif (donc, des hématies qui sont positives au test direct à l'antiglobuline (DAT)) peuvent donner de faibles réactions. Dans des cas extrêmes, des résultats faux-négatifs peuvent également être observés.

Langdorp, 01.2005

www.diagnostics.be

Langdorpsesteenweg 160 • 3201 Langdorp • Belgium • Tel: ++ 32 16 44 63 89 • Fax: ++ 32 16 44 77 62 • e-mail: cypress@diagnostics.be

RÉACTIF POUR LE
GROUPE SANGUIN
Flacon compte-gouttes de 5 ml
Pour la méthode en tube
Réf: 414 Anti-Fy(a)
Réf: 415 Anti-Fy(b)
Réf: 416 Anti-Jk(a)
Réf: 417 Anti-Jk(b)
Réf: 421 Anti-S
Réf: 422 Anti-s
Réf: 424 Anti-Cellano
Réf: 425 Anti-Lu(a)
Réf: 426 Anti-Lu(b)
Réf: 427 Anti-Xg(a)
Réf: 428 Anti-Kp(a)
Réf: 429 Anti-Kp(b)
Réf: 430 Anti-Co(b)
Réf: 431 Anti-Di(a)
Réf: 432 Anti-Wr(a)



Sérums de test polyclonaux humains pour la réaction de Coombs

Réactif

Ces sérums de test pour le groupage sanguin proviennent de donneurs humains, et contiennent d'anticorps spécifiques du type IgG. Ils peuvent être utilisés pour le test indirect à l'antiglobuline humaine (Coombs) comme test de centrifugation en tube.

Test de centrifugation en tube:

- 0,1 ml sérum de test du flacon compte-gouttes
 - 0,1 ml suspension d'érythrocytes à 2 - 5 % dans une solution saline isotonique (0,85 - 0,90%) (hématies lavées une fois ou jusqu'à trois fois avec la solution saline isotonique)
- (Solution alternative: une goutte ($\pm 50 \mu\text{l}$) de chaque, réactif et suspension d'érythrocytes)
- Mélangez en secouant légèrement.
 - Incubation: 30 min à 37 °C,
 - Lavage: 3 fois avec une solution saline physiologique (froide)

- Ajoutez 0,1 ml de sérum antiglobulines humaines (sérum de Coombs)
- Centrifugation: 1 min à 1000 tours/min (180 - 270 g)
- Remettez les érythrocytes doucement en suspension et contrôlez macroscopiquement l'apparition d'une agglutination dans un délai de 3 minutes.

Interprétation des résultats

En faisant pivoter/en secouant légèrement dans la méthode en tube:

Résultats positifs (+): une agglutination visible des érythrocytes est un résultat positif, qui indique la présence de l'antigène correspondant.

Résultats négatifs (-): l'absence d'agglutination visible des érythrocytes est un résultat négatif, qui indique l'absence de l'antigène correspondant.

Remarques:

- Les échantillons de sang à tester doivent être utilisés dès que possible. S'il n'est pas possible de tester les échantillons immédiatement, il faut les conserver entre 2 et 8 °C. Le sang recueilli sur de l'héparine ou de l'oxalate doit être testé dans les deux jours. Le sang recueilli sur du citrate de sodium ou de l'EDTA doit être testé dans les 14 jours.
- Une turbidité faible du sérum n'affecte pas sa réactivité.
- La force de la réaction positive est fonction de l'âge des hématies.
- Les érythrocytes traités par des enzymes peuvent réagir de façon non spécifique.
- Il faut inclure des témoins positifs et négatifs.
- Conservation < 0,1 % azoture de sodium (nocif en cas d'ingestion, évitez tout contact avec la peau et les muqueuses).

Conservation et stabilité

- Stockage entre 2 et 8 °C. Une conservation dans des conditions inadéquates altère l'efficacité du réactif.
- Stabilité jusqu'à la date d'expiration mentionnée.

La matière première de ce produit a fait l'objet d'une recherche de l'HbsAg et des anticorps anti-HIV et HCV, qui s'est avérée négative. Ce produit biologique doit néanmoins être considéré comme potentiellement infectieux et traité avec le soin voulu, car un risque d'infection par des agents pathogènes ne peut jamais être complètement exclu. Langdorp, 03.2006

www.diagnostics.be

Langdorpsesteenweg 160 • 3201 Langdorp • Belgium • Tel: ++ 32 16 44 63 89 • Fax: ++ 32 16 44 77 62 • e-mail: cypress@diagnostics.be

BANQUE DE SANG DE-----

Fiche de délivrance des PSL

(Une fiche pour chaque produit)

Hôpital Demandeur : -----
Service demandeur : -----
Médecin prescripteur : -----
Noms et prénoms du patient : -----
Date de naissance : -----sexe : -----
Groupe sanguin ABO RhD du patient : -----
Indication de la transfusion sanguine : -----
Produit et quantité livrés // A transfuser avant le :
Sang total : -----//-----
Concentré érythrocytaire : -----//-----
Concentré érythrocytaire appauvri : -----//-----
Concentré érythrocytaire nourrisson : -----//-----
Concentré plaquettaire : -----//-----
Plasma frais congelé : -----//-----
Autres : -----//-----
Numéro de Tracabilité-----
Spécification particulière effectuée :
CMV négatif : oui non
Phénotypage Rh : oui non
Iso groupe : oui non
Produits d'autotransfusion : oui non
Réchauffé : oui non
Décongelé : oui non
Autres dépistages ou tests souhaités (HTLV, Paludisme, RAI, Titre...)
Spécifier : -----

Produit compatible au sang de M. -----
--

Validité de la compatibilité : -----Jours

Date et heure de la livraison : -----
Examens recommandés au chevet du lit du malade : -----

BANQUE DE SANG DE-----

Fiche de commande des PSL

Hôpital Demandeur : -----
Service demandeur : -----
Médecin prescripteur : -----
Noms et prénoms du patient : -----
Date de naissance : ----- sexe : -----
Groupe sanguin ABO RhD du patient : -----
Indication de la transfusion sanguine : -----
Produit et quantité demandée :
Sang total : -----

Concentré érythrocytaire : -----

Concentré érythrocytaire appauvri : -----

Concentré érythrocytaire nourrisson : -----
Concentré plaquettaire : -----

Plasma frais congelé : -----

Autres : -----

Spécification particulière demandée :
CMV négatif : oui non
Phénotypage Rh : oui non
groupe : oui non
Produits d'autotransfusion : oui non
Réchauffé : oui non
Décongelé : oui non
Autres dépistages ou tests souhaités (HTLV, Paludisme, RAI, Titre
...)
Spécifier : -----

Type et volume des échantillons fournis :
Tube EDTA : -----Tube Sec : -----

Date et heure de la livraison souhaitée : -----
Signature du médecin prescripteur :
Date et heure d'arrivée au laboratoire (réservée au laboratoire)----
Urgent : oui non

Année universitaire : 2017 /2018

**Présenté par : BAYAZA LAMIA
BOUDJADAR ASMA**

PLACE DE CERTAINS MARQUEURS BIOLOGIQUES DANS LA SÉCURITÉ TRANSFUSIONNELLE

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Nutrition Moléculaire et Santé

Résumé

La transfusion sanguine est une thérapeutique essentielle et incontournable de nos jours, En revanche elle présente des risques directement liés à sa nature même par le transfert de liquide biologique d'un individu à un autre à l'origine des risques infectieux et immunologiques. Ces derniers sont essentiellement dus au polymorphisme génétique des antigènes érythrocytaires engendrant une allo-immunisation anti-érythrocytaire pouvant aboutir à des situations d'impasse transfusionnelle

La transfusion sanguine est très sécuritaire et peut, dans certains cas, être la seule façon de sauver une vie. Les mesures utilisées pour vérifier la qualité des produits sanguins sont de plus en plus sûres. Le choix des donneurs est basé sur des critères très sévères et tous les dons de sang sont soumis à des tests à la fine pointe de la technologie pour détecter les maladies et les virus connus.

Les produits sanguins labiles seront sélectionnés pour le receveur afin d'assurer sa compatibilité et le suivi du transfusé durant la transfusion et après la transfusion garantira la santé du malade.

Mots clés : La transfusion sanguine, allo-immunisation, produits sanguins.

Jury d'évaluation :

- **Président du jury :** *ZITOUNI ABDELBAKI*
- **Rapporteur :** *HAFI AMMAR / HAFI LOUIZA*
- **Examineur :** *NECIB YUCEF*

Laboratoire de recherche : centre de transfusion sanguine sidi mabrouk (SMK)
Constantine

Date de soutenance : 04/07/2018