

Année: 2021

Thèse N°: 16

Les techniques en immuno-hématologie

THESE

Présentée et soutenue publiquement le : / /2021

PAR

Monsieur Walid DOGHMI
Né le 27 Juillet 1996 à Rabat

Pour l'Obtention du Diplôme de
Docteur en Pharmacie

Mots Clés : Hématologie; Techniques immunohématologiques;
Groupage ABO-RH; Transfusion sanguine

Membres du Jury :

Monsieur Azlarab MASRAR

Professeur d'Hématologie Biologique

Madame Souad BENKIRANE

Professeur d'Hématologie Biologique

Madame Mona NAZIH

Professeur d'Hématologie Biologique

Monsieur Anass JEAIDI

Professeur d'Hématologie Biologique

Président

Rapporteur

Juge

Juge

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا
إنك أنت العليم الحكيم



سورة البقرة: الآية: 31

بِسْمِ اللَّهِ
الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



UNIVERSITE MOHAMMED V
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
RABAT

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969: Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974: Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981: Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989: Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997: Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003: Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 - 2013: Professeur Najia HAJJAJ – HASSOUNI

ADMINISTRATION :

<i>Doyen</i>	Professeur Mohamed ADNAOUI
<i>Vice-Doyen chargé des Affaires Académiques et Estudiantines</i>	Professeur Brahim LEKEHAL
<i>Vice-Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération</i>	Professeur Toufiq DAKKA
<i>Vice-Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie</i>	Professeur Younes RAHALI
<i>Secrétaire Général</i>	Mr. Mohamed KARRA

*** Enseignants Militaires**

1 - ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS ET PHARMACIENS

PROFESSEURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR :

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
Pr. SETTAF Abdellatif

Médecine Interne – Clinique Royale
Anesthésie -Réanimation
Pathologie Chirurgicale

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed
Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne – Doyen de la FMPR
Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. TAZI Saoud Anas

Gynécologie -Obstétrique
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOUDA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZAD Rachid

Anesthésie Réanimation- Doyen de FMPO
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique Méd. Chef Maternité des Orangers

Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida
Pr. TAOUFIK Jamal

Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie- Dir. du Centre National PV Rabat
Chimie thérapeutique_____

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUDA Adil
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale Doyen de FMPT
Anesthésie Réanimation
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie

* *Enseignants Militaires*

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Noureddine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid

FMPA

Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques Doyen de la

Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale – Directeur du CHIS
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Chirurgie Générale
Gynécologie – Obstétrique
Dermatologie

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Urologie Inspecteur du SSM
Pédiatrie
Traumatologie – Orthopédie
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. EL MESNAOUI Abbes
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Néphrologie
Cardiologie Directeur HMI Mohammed V

* Enseignants Militaires

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BIROUK Nazha
Pr. FELLAT Nadia
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. TOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Neurologie
Cardiologie
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Psychiatrie *Directeur Hôp. Ar-razi Salé*
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. BENKIRANE Majid*

Neurologie *Doyen de la FMP Abulcassis*
Abdesslam Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Hématologie

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUAMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI AI Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumo-phtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie *Directeur Hôp. My Youssef*
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae

Neurologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie - *Directeur Hôp. Cheikh Zaid*
Urologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Pédiatrie

* Enseignants Militaires

Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBAAH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Pédiatrie - **Directeur Hôp. Univ. Cheikh Khalifa**
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale **Directeur Hôpital Ibn Sina**
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique **V-D chargé Aff Acad. Est.**
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakiya

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie **Dir.-Adj. HMI Mohammed V**
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique

*** Enseignants Militaires**

Pr. CHOHO Abdelkrim *
Pr. CHKIRATE Bouchra
Pr. EL ALAMI EL Fellous Sidi Zouhair
Pr. EL HAOURI Mohamed *
Pr. FILALI ADIB Abdelhai
Pr. HAJJI Zakia
Pr. JAAFAR Abdeloihab*
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RAISS Mohamed
Pr. SIAH Samir *
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH EI Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*
Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOUIRIK Fatima
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre *
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina

Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Dermatologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Pédiatrie
Gynécologie Obstétrique
Oto-Rhino-Laryngologie
Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Rhumatologie
Ophtalmologie
Rhumatologie
Pédiatrie

Directeur Hôp. Al Ayachi Salé

*** Enseignants Militaires**

Pr. BENYASS Aatif
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. HAJJI Leila
Pr. HESSISSEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najja

Cardiologie
Biophysique
Cardiologie (*mise en disponibilité*)
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BIYI Abdelhamid*
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*

Rhumatologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio – Vasculaire. *Directeur Hôpital Ibn Sina*

Marr.

Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal
Pr. FELLAT Ibtissam
Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
Pr. JROUNDI Laila
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saida*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Médecine Interne
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. ACHOUR Abdessamad*

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Chirurgie générale

* Enseignants Militaires

Pr. AIT HOUSSA Mahdi *
Pr. AMHAJJI Larbi *
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed *
Pr. BALOUCH Lhoussaine *
Pr. BENZIANE Hamid *
Pr. BOUTIMZINE Nouridine
Pr. CHERKAOUI Naoual *
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *
Pr. EL BEKKALI Youssef *
Pr. EL ABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GHARIB Noureddine
Pr. HADADI Khalid *
Pr. ICHOU Mohamed *
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LOUZI Lhoussain *
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed *
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. MRANI Saad *
Pr. OUZZIF Ez zohra *
Pr. RABHI Monsef *
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine *
Pr. SIFAT Hassan *
Pr. TABERKANET Mustafa *
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour *
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali *
Pr. AGADR Aomar *
Pr. AIT ALI Abdelmounaim *
Pr. AKHADDAR Ali *

Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Anesthésie réanimation
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie générale
Chirurgie cardio-vasculaire
Chirurgie générale
Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Microbiologie
Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo phtisiologie
Hématologie biologique
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie-orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Médecine interne
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Neuro-chirurgie

* Enseignants Militaires

Pr. ALLALI Nazik
Pr. AMINE Bouchra
Pr. ARKHA Yassir
Pr. BELYAMANI Lahcen *
Pr. BJIJOU Younes
Pr. BOUHSAIN Sanae *
Pr. BOUI Mohammed *
Pr. BOUNAIM Ahmed *
Pr. BOUSSOUGA Mostapha *
Pr. CHTATA Hassan Toufik *
Pr. DOGHMI Kamal *
Pr. EL MALKI Hadj Omar
Pr. EL OUENNASS Mostapha*
Pr. ENNIBI Khalid *
Pr. FATHI Khalid
Pr. HASSIKOU Hasna *
Pr. KABBAJ Nawal
Pr. KABIRI Meryem
Pr. KARBOUBI Lamyia
Pr. LAMSAOURI Jamal *
Pr. MARMADÉ Lahcen
Pr. MESKINI Toufik
Pr. MESSAOUDI Nezha *
Pr. MSSROURI Rahal
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. OUKERRAJ Latifa
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. CHADLI Mariama*
Pr. CHEMSI Mohamed*
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. DARBI Abdellatif*
Pr. DENDANE Mohammed Anouar
Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
Pr. EL MAZOUZ Samir

Radiologie
Rhumatologie
Neuro-chirurgie *Directeur Hôp.des Spécialités*
Anesthésie Réanimation
Anatomie
Biochimie-chimie
Dermatologie
Chirurgie Générale
Traumatologie-orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Hématologie clinique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Médecine interne
Gynécologie obstétrique
Rhumatologie
Gastro-entérologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Chimie Thérapeutique
Chirurgie Cardio-vasculaire
Pédiatrie
Hématologie biologique
Chirurgie Générale
Radiologie
Cardiologie
Pneumo-Phtisiologie

Anesthésie réanimation
Médecine Interne *Directeur ERSSM*
Physiologie
Microbiologie
Médecine Aéronautique
Biochimie- Chimie
Radiologie
Chirurgie Pédiatrique
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Plastique et Réparatrice

* Enseignants Militaires

Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. LAMALMI Najat
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Urologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Hématologie
Anatomie Pathologique

Decembre 2010

Pr. ZNATI Kaoutar

Anatomie Pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil *
Pr. BENCHEBBA Driss *
Pr. DRISSI Mohamed *
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
Pr. EL OUAZZANI Hanane *
Pr. ER-RAJI Mounir
Pr. JAHID Ahmed
Pr. RAISSOUNI Maha *

Chirurgie pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Traumatologie-orthopédie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Pneumophtisiologie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie Pathologique
Cardiologie

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENNANA Ahmed*
Pr. BENSghir Mustapha *
Pr. BENYAHIA Mohammed *
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjoub
Pr. CHAIB Ali *
Pr. DENDANE Tarek

Pharmacologie
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie
Informatique Pharmaceutique
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique et Bromatologie
Traumatologie orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale

* Enseignants Militaires

Pr. DINI Nouzha *	Pédiatrie
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali	Anesthésie Réanimation
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa	Radiologie
Pr. ELFATEMI Nizare	Neuro-chirurgie
Pr. EL GUERROUJ Hasnae	Médecine Nucléaire
Pr. EL HARTI Jaouad	Chimie Thérapeutique
Pr. EL JAOUDI Rachid *	Toxicologie
Pr. EL KABABRI Maria	Pédiatrie
Pr. EL KHANNOUSSI Basma	Anatomie Pathologique
Pr. EL KHLOUFI Samir	Anatomie
Pr. EL KORAICHI Alae	Anesthésie Réanimation
Pr. EN-NOUALI Hassane *	Radiologie
Pr. ERRGUIG Laila	Physiologie
Pr. FIKRI Meryem	Radiologie
Pr. GHFIR Imade	Médecine Nucléaire
Pr. IMANE Zineb	Pédiatrie
Pr. IRAQI Hind	Endocrinologie et maladies métaboliques
Pr. KABBAJ Hakima	Microbiologie
Pr. KADIRI Mohamed *	Psychiatrie
Pr. LATIB Rachida	Radiologie
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra	Médecine Interne
Pr. MEDDAH Bouchra	Pharmacologie
Pr. MELHAOUI Adyl	Neuro-chirurgie
Pr. MRABTI Hind	Oncologie Médicale
Pr. NEJJARI Rachid	Pharmacognosie
Pr. OUBEJJA Houda	Chirurgie Pédiatrique
Pr. OUKABLI Mohamed *	Anatomie Pathologique
Pr. RAHALI Younes	Pharmacie Galénique <i>Vice-Doyen à la Pharmacie</i>
Pr. RATBI Ilham	Génétique
Pr. RAHMANI Mounia	Neurologie
Pr. REDA Karim *	Ophtalmologie
Pr. REGRAGUI Wafa	Neurologie
Pr. RKAIN Hanan	Physiologie
Pr. ROSTOM Samira	Rhumatologie
Pr. ROUAS Lamiaa	Anatomie Pathologique
Pr. ROUIBAA Fedoua *	Gastro-Entérologie
Pr SALIHOUN Mouna	Gastro-Entérologie
Pr. SAYAH Rochde	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. SEDDIK Hassan *	Gastro-Entérologie
Pr. ZERHOUNI Hicham	Chirurgie Pédiatrique
Pr. ZINE Ali *	Traumatologie Orthopédie

* Enseignants Militaires

AVRIL 2013

Pr. EL KHATIB MOHAMED KARIM *

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale

MARS 2014

Pr. ACHIR Abdellah
Pr. BENCHAKROUN Mohammed *
Pr. BOUCHIKH Mohammed
Pr. EL KABBAJ Driss *
Pr. EL MACHTANI IDRISSE Samira *
Pr. HARDIZI Houyam
Pr. HASSANI Amale *
Pr. HERRAK Laila
Pr. JANANE Abdellah *
Pr. JEAIDI Anass *
Pr. KOUACH Jaouad*
Pr. LEMNOUER Abdelhay*
Pr. MAKRAM Sanaa *
Pr. OULAHYANE Rachid*
Pr. RHISSASSI Mohamed Jaafar
Pr. SEKKACH Youssef*
Pr. TAZI MOUKHA Zakia

Chirurgie Thoracique
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Thoracique
Néphrologie
Biochimie-Chimie
Histologie- Embryologie-Cytogénétique
Pédiatrie
Pneumologie
Urologie
Hématologie Biologique
Génycologie-Obstétrique
Microbiologie
Pharmacologie
Chirurgie Pédiatrique
CCV
Médecine Interne
Généologie-Obstétrique

DECEMBRE 2014

Pr. ABILKACEM Rachid*
Pr. AIT BOUGHIMA Fadila
Pr. BEKKALI Hicham *
Pr. BENZAOU Salma
Pr. BOUABDELLAH Mounya
Pr. BOUCHRIK Mourad*
Pr. DERRAJI Soufiane*
Pr. DOBLALI Taoufik
Pr. EL AYOUBI EL IDRISSE Ali
Pr. EL GHADBANE Abdedaim Hatim*
Pr. EL MARJANY Mohammed*
Pr. FEJJAL Nawfal
Pr. JAHIDI Mohamed*
Pr. LAKHAL Zouhair*
Pr. OUDGHIRI NEZHA
Pr. RAMI Mohamed
Pr. SABIR Maria
Pr. SBAI IDRISSE Karim*

Pédiatrie
Médecine Légale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Maxillo-Faciale
Biochimie-Chimie
Parasitologie
Pharmacie Clinique
Microbiologie
Anatomie
Anesthésie-Réanimation
Radiothérapie
Chirurgie Réparatrice et Plastique
O.R.L
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Psychiatrie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.

* Enseignants Militaires

AOUT 2015

Pr. MEZIANE Meryem
Pr. TAHIRI Latifa

Dermatologie
Rhumatologie

PROFESSEURS AGREGES :

JANVIER 2016

Pr. BENKABBOU Amine
Pr. EL ASRI Fouad*
Pr. ERRAMI Noureddine*
Pr. NITASSI Sophia

Chirurgie Générale
Ophtalmologie
O.R.L
O.R.L

JUIN 2017

Pr. ABBI Rachid*
Pr. ASFALOU Ilyasse*
Pr. BOUAYTI El Arbi*
Pr. BOUTAYEB Saber
Pr. EL GHISSASSI Ibrahim
Pr. HAFIDI Jawad
Pr. OURAINI Saloua*
Pr. RAZINE Rachid
Pr. ZRARA Abdelhamid*

Microbiologie
Cardiologie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Oncologie Médicale
Oncologie Médicale
Anatomie
O.R.L
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Immunologie

NOVEMBRE 2018

Pr. AMELLAL Mina
Pr. SOULY Karim
Pr. TAHRI Rajae

Anatomie
Microbiologie
Histologie-Embryologie-Cytogénétique

NOVEMBRE 2019

Pr. AATIF Taoufiq *
Pr. ACHBOUK Abdelhafid *
Pr. ANDALOUSSI SAGHIR Khalid *
Pr. BABA HABIB Moulay Abdellah *
Pr. BASSIR RIDA ALLAH
Pr. BOUATTAR TARIK
Pr. BOUFETTAL MONSEF
Pr. BOUCHENTOUF Sidi Mohammed *
Pr. BOUZELMAT Hicham *
Pr. BOUKHRIS Jalal *

Néphrologie
Chirurgie Réparatrice et Plastique
Radiothérapie
Gynécologie-obstétrique
Anatomie
Néphrologie
Anatomie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Traumatologie-orthopédie

* Enseignants Militaires

Pr. CHAFRY Bouchaib *	Traumatologie-orthopédie
Pr. CHAHDI Hafsa *	Anatomie Pathologique
Pr. CHERIF EL ASRI Abad *	Neurochirurgie
Pr. DAMIRI Amal *	Anatomie Pathologique
Pr. DOGHMI Nawfal *	Anesthésie-réanimation
Pr. ELALAOUI Sidi-Yassir	Pharmacie Galénique
Pr. EL ANNAZ Hicham *	Virologie
Pr. EL HASSANI Moulay EL Mehdi *	Gynécologie-obstétrique
Pr. EL HJOUJI Abderrahman *	Chirurgie Générale
Pr. EL KAOUI Hakim *	Chirurgie Générale
Pr. EL WALI Abderrahman *	Anesthésie-réanimation
Pr. EN-NAFAA Issam *	Radiologie
Pr. HAMAMA Jalal *	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Pr. HEMMAOUI Bouchaib *	O.R.L
Pr. HJIRA Naoufal *	Dermatologie
Pr. JIRA Mohamed *	Médecine Interne
Pr. JNIE NE Asmaa	Physiologie
Pr. LARAQUI Hicham *	Chirurgie Générale
Pr. MAHFOUD Tarik *	Oncologie Médicale
Pr. MEZIANE Mohammed *	Anesthésie-réanimation
Pr. MOUTAKI ALLAH Younes *	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. MOUZARI Yassine *	Ophtalmologie
Pr. NAOUI Hafida *	Parasitologie-Mycologie
Pr. OBTEL Majdoline	Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Pr. OURRAI Abdelhakim *	Pédiatrie
Pr. SAOUAB Rachida *	Radiologie
Pr. SBITTI Yassir *	Oncologie Médicale
Pr. ZADDOUG Omar *	Traumatologie Orthopédie
Pr. ZIDOUH Saad *	Anesthésie-réanimation

* Enseignants Militaires

2 - ENSEIGNANTS-CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS/Prs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie-chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BARKIYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia	Biochimie-chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire/Biotechnologie
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. YAGOUBI Maamar	Environnement, Eau et Hygiène
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie

Mise à jour le 11/06/2020

KHALED Abdellah

Chef du Service des Ressources Humaines

FMPR

* Enseignants Militaires



Dédicaces



A Mes très chers parents

Aucune phrase, aucun mot ne saurait exprimer à sa juste valeur le respect et l'amour que je vous porte.

Vous m'avez entouré d'une grande affection, et vous avez été toujours pour moi un grand support dans mes moments les plus difficiles.

Sans vos précieux conseils, vos prières, votre générosité et votre dévouement, je n'aurais pu surmonter le stress de ces longues années d'étude.

Vous m'avez apporté toute la tendresse et l'affection dont j'ai eu besoin. Vous avez veillé sur mon éducation avec le plus grand soin.

Vous êtes pour moi l'exemple de droiture, de lucidité et de persévérance.

A travers ce modeste travail, je vous remercie et prie dieu le tout puissant qu'il vous garde en bonne santé et vous procure une longue vie que je puisse vous combler à mon tour.

Sans vous je ne suis rien. Je vous dois tout.

A la mémoire de mes grands- pères

*J'aurais bien voulu que vous soyez parmi nous en ce jour mémorable.
Que la clémence de dieu règne sur vous et que sa miséricorde apaise vos
âmes.*

A mes grands-mères

*Ces quelques lignes ne sauraient exprimer toute l'affection et tout l'amour
que je vous dois.
Que dieu vous préserve et vous accorde santé et prospérité.*

A ma chère sœur

*Pour votre soutien et vos encouragements, puisse ce travail être le
témoignage de ma profonde affection.*

*Que dieu vous comble de bonheur, de santé, de succès et de prospérité dans
votre vie et vous protège*

A tous les oncles, tantes, cousins et cousines

Puisse ce travail témoigner de l'estime que je vous portes

A toutes mes amies et tous mes amis

*En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments
que nous avons passé ensemble*

A tous les membres de ma famille petits et grands

A tous ceux qui me sont chers

Je dédie ce modeste travail.



Remerciements



A notre maître et Président de thèse

Monsieur AZLARAB MASRAR

Professeur d Hématologie biologique

Nous vous remercions pour le grand honneur que vous nous faites en acceptant de présider cette thèse.

Votre compétence, votre dynamisme, ainsi que vos qualités humaines et professionnelles exemplaires ont toujours suscité notre admiration.

Qu'il soit permis, cher maître, de vous exprimer notre sincère reconnaissance, notre profond respect et notre plus grande estime.

A notre maître et rapporteur de thèse

Madame BENKIRANE SOUAD

Professeur d'Hématologie biologique

Nous vous remercions de nous faire avoir fait l'honneur de nous confier ce travail. Acceptez, cher maître, l'hommage de notre gratitude qui, si grande qu'elle puisse être, ne sera jamais à la hauteur de votre dévouement.

A notre maître et juge de thèse

Madame MONA NAZIH

Professeur d'Hématologie biologique

C'est pour nous un immense plaisir de vous voir siéger le jury de notre thèse.

Vous avez suscité notre grande admiration par votre compétence, votre gentillesse et votre modestie.

A notre maître et juge de thèse
Monsieur ANASS JEAIDI
Professeur d Hématologie biologique

*C'est pour nous un immense privilège de vous voir accepter de
juger ce travail.*

*Veillez croire cher maître à notre très haute considération et notre profond
respect.*

*Enfin qu'il nous soit permis d'exprimer globalement nos remerciements à
tous ceux et à toutes celles qui ont manifesté leur
appui et ont facilité notre travail.*



Liste des abréviations



Abréviations

Ac	: Anticorps.
Ag	: Antigène.
AHAI	: Anémie hémolytique auto-immune.
CGR	: Concentré de globules rouges.
CQI	: Contrôle qualité interne.
CQI	: Contrôle qualité interne.
CSH	: Cellules souches hématopoïétiques.
Hb	: Hémoglobine.
IFM	: Incompatibilité fœto-maternelle
IgG	: Immunoglobines G.
IgM	: Immunoglobines M.
MAIEA	: Monoclonal-antibody-specific immobilisation of erythrocyte antigens.
MHNN	: Maladie hémolytique du nouveau-né.
RAI	: Recherche d'agglutinines irrégulières.
TCD	: Test de coombs direct.
TDA	: Test direct à l'antiglobuline.
IgA	: Immunoglobines A.



Liste des illustrations



Liste des figures

Figure 1: Membrane érythrocytaire avec certains antigènes de groupe sanguin	7
Figure 2: Organisation générale du gène ABO chez l'homme	15
Figure 3: Technique de groupage ABO sur plaque	21
Figure 4: Réalisation épreuve de Beth Vincent et épreuve de Simonin groupage ABO.....	22
Figure 5: Technique de détermination des groupes sanguins ABO en tube	24
Figure 6: Technique carte gel groupage ABO	24
Figure 7: APPARENCE DE LA CARTE	26
Figure 8: Schéma de la technique de regroupement en avant	28
Figure 9 : Schéma de la méthode de regroupement inverse	29
Figure 10: Observation de la lame sous microscope (grossissement 100x)	36
Figure 11: Résultat d'une agglutination en tube	38
Figure 12: Les deux gènes du système Rhesus	49
Figure 13: Schéma explicatif d'un TCD	53
Figure 14: Test direct à l'antiglobuline en tube	54
Figure 15: Représentation schématique d'un microtube	58
Figure 16: Exemples de revêtements érythrocytaires par des IgG et C3d ou par des IgG	60
Figure 17: Test indirect à l'antiglobuline humaine	62
Figure 18: Position centrale du dépistage d'anticorps anti-érythrocytaires dans la prise en charge transfusionnelle et obstétricale	73
Figure 19: Carte de contrôle ultime au lit du patient	82

Liste des tableaux

Tableau I: Nomenclatures des principaux systèmes et antigènes des groupes sanguins	8
Tableau II: Antigènes et anticorps du système sanguin ABO.....	14
Tableau III: Phénotypes et génotypes possibles du système sérique ABO	16
Tableau IV: Sucres spécifiques au système ABO.....	18
Tableau V: Nomenclature et prévalence des haplotypes Rh	31
Tableau VI: Fréquence de la répartition des antigènes K et k.....	41
Tableau VII: Devenir des nouveau-nés lors d'alloimmunisation anti-Kell dans 4 études	41
Tableau VIII: Prévalence des phénotypes RH	50
Tableau IX: Exemple de gamme d'hématies test de.....	67
Tableau X: Calendrier des RAI.....	84
Tableau XI: Signification du taux des anticorps (d'après Brossard)	87



Sommaire



I- Introduction	2
II. Généralités	5
1. Historique	5
2. Groupage sanguin	7
III- Les techniques en Immuno-hématologie	10
1- Généralités Immuno-hématologie (Notion Antigène-Anticorps)	10
2- Définition du statut Immuno-hématologique du patient	11
3- Quand prescrire ces analyses ?	12
Prescrire les analyses en vue de détecter une allo-immunisation post-transfusionnelle.....	12
4- Groupage standard chez l'Homme.....	13
4-1 Système ABO	13
4-1.1 Définition du groupage sanguin ABO	13
4-1-2 Génétique du système ABO	14
4-1-3 Nature biochimique du système ABO	16
4-1-4 Les techniques et leurs interprétations	18
4-1-4-1 Sang à tester	18
4-1-4-2 Sérums tests	18
4-1-4-3 Hématies-tests (hématies étalons lavées et prêtes à l'emploi)	18
4-1-4-4 Petits matériels	19
4-1-4-5 Mode opératoire	19
4-1-4-6 Les techniques manuelles	20
4-1-4-6-1 Plaque d'opaline.....	20
4-1-4-6-2 Tube à hémolyse	23
4-1-4-6-3 Carte gel	24
4-1-4-7 Les techniques automatiques	28
4-1-4-7-1 Microplaque.....	28
4-2 Système RH.....	29
4-2.1 Définition du système immunogène.....	29
4-2.2 Nature génétique biochimique et du système RH	31
4-2.3 Techniques et interprétations	34
4-2.3.1 Plaque d'opaline	34

4-2.3.2 Tube à hémolyse.....	37
4-2.3.3 Carte gel.....	38
4-2.3.4 Microplaque	38
4-2.3.5 Problèmes possibles dans le groupage Rhésus	39
4-3 Autres Systèmes de groupes sanguins.....	40
4-3.1 Définition des systèmes	40
4-3.1.1 Système KELL	40
4-3.1.2 Système KIDD	41
4-3.1.3 Système DUFFY.....	42
4-3.1.4 Système MNSs	42
4-3.2 Géotypage des systèmes de groupe sanguin KELL, FY, JK, MNS	43
5- Les prélèvements pour l'analyse.....	44
5-1 La feuille de demande d'examen	44
5-2 Les renseignements cliniques nécessaires à l'interprétation en immuno-hématologie	45
5-3 Le prélèvement des tubes échantillons	46
6- Phénotype RH KELL.....	47
7- Les différents types de techniques en Immuno-hématologie	51
7-1 Test de Coombs (Test direct à l'anti globuline humaine)	51
7-1-1 Définition.....	51
7-1-2 Intérêt et circonstances de réalisation.....	51
7-1-3 Techniques et interprétations	53
7-1-3.1 Technique en tube	53
7-1-3.1.1 Préparation des hématies.....	54
7-1-3.1.2 Réactifs	55
7-1-3.1.3 Répartition.....	56
7-1-3.1.4 Etapes d'incubation	56
7-1-3.1.5 Centrifugation.....	56
7-1-3.1.6 Remises en suspension des hématies	56
7-1-3.1.7 Lecture et interprétation des réactions.....	57
7-1-3.1.8 Contrôle du système analytique.....	57
7-1-3.2 Technique sur gel	58
7-1-3.2.1 Préparation des hématies.....	59

7-1-3.2.2 Réactifs	59
7-1-3.2.3 Lecture et interprétation des résultats	59
7-1-3.3 La technique d'immunoadhérence en microplaque	60
7-1-4 Sensibilité et limites	60
7-1-4.1 Faux positifs	60
7-1-4.2 Faux négatifs	61
7-2 Test de Coombs Indirect (Test à l'anti globuline humain indirect)	61
7-2-1 Définition de la RAI	61
7-2-2. Recherche des anticorps anti-érythrocytaires (RAI)	62
7-2-3 Les différents procédés	66
7-2-4 Les étapes de la RAI	66
7-2-4-1 Dépistage	66
7-2-4-2 Identification	68
7-2-5 Les différentes techniques de rai	68
7-2-5-1 Le test indirect à l'antiglobuline	68
7-2-5-2 Le test aux enzymes protéolytiques	69
7-2-6 Interprétation et rendu des résultats	70
7-2-7 Les enjeux cliniques d'une RAI	72
7-2-7-1 Sécurité transfusionnelle	72
7-2-7-2 Diagnostic de l'incompatibilité fœto-maternelle	74
7-2-7-3 Prévention de l'allo-immunisation anti-RH1 chez les femmes enceintes	75
7-2-8 Difficultés	76
IV Applications	79
1- Transfusion	79
1-1 L'immuno-hématologie « donneur »	79
1-2 L'immuno-hématologie « receveur »	80
1-3 Les dérogations en conditions d'urgence	81
1-4 L'entourage sécuritaire per- et post transfusionnel	81
2- Surveillance immuno hematologique de la femme enceinte	83
2-1 Le dépistage de l'allo-immunisation	83
2-1-1 Détermination du typage érythrocytaire ABO-RH-KEL1	83
2-1-2 RAI	83

2-2 La surveillance de l'allo-immunisation	85
2-2-1 Méthodes d'évaluation du risque hémolytique in utero	85
2.2.1.1. Le titrage.....	85
2.2.1.2. Le dosage pondéral	86
2.2.1.3. L'association dosage pondéral et titrage.	86
2-2-2 Détermination du phénotype paternel	87
2-2-3 Détermination du phénotype du fœtus	87
2-2-4 Détermination du génotype du fœtus	87
2.2.4.1. Méthode invasive.	87
2.2.4.2. Méthode non invasive.	88
2-2-5 Mesure de la bilirubinémie	88
2-3 Place des tests biologiques dans la surveillance des grossesses	88
3- Greffe et transplantation	89
3-1 Transplantation rénale	89
3-2 Transplantation hépatique	89
3-3 Transplantation cardiaque	90
3-4 Greffe de moelle osseuse.....	90
3-5 Greffe de peau	90
3-6 Greffe d'os.....	91
3-7 Greffe de cornée.....	91
Conclusion	92
Résumés	94
Bibliographie et webographie	98



Introduction



I- Introduction

L'**immuno-hématologie** ou **immunohématologie** est la science consacrée à l'étude des propriétés antigéniques du sang, des réactions immunologiques correspondantes, et des pathologies qui y sont associées.

Sont ainsi concernés les groupes sanguins, le système HLA, certaines pathologies auto-immunes, les incompatibilités fœto-maternelles, les réactions immuno-allergiques touchant les éléments figurés du sang, etc.

Cette activité spécialisée est régie par l'**arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale**. Les champs d'application concerne les analyses d'immuno-hématologie érythrocytaire suivantes

- le groupage ABO-RH1 (RhD) ;
- le phénotypage RH-KEL 1 (Rh-K) ;
- le phénotypage étendu ;
- la recherche d'anticorps anti-érythrocytaires (RAI) ;
- le titrage des anticorps anti-érythrocytaires autres que anti-A, anti-B et le dosage pondéral des anti-RH ;
- l'épreuve directe de compatibilité au laboratoire ;
- le test direct à l'antiglobuline, [1].

Les analyses d'immunohématologie visent prioritairement à assurer la sécurité des transfusions sanguines. Ces analyses sont utilisées dans le suivi des femmes enceintes et des nouveau-nés, dans la transplantation, ainsi que dans certains domaines de l'hématologie (diagnostic et suivi des anémies hémolytiques auto-immunes) Contrairement aux autres disciplines de la biologie clinique, ces analyses se caractérisent par le fait qu'à ce jour elles sont incomplètement automatisées.

Le risque immuno-hémolytique des transfusions sanguines est directement lié au caractère immunogène des systèmes de groupes érythrocytaires. Selon les données d'hémovigilance nationale, le risque immunologique est estimé à 1/8900 produits sanguins labiles (PSL) transfusés. Le risque relatif à l'incompatibilité ABO en représente environ 7 % et celui lié aux autres systèmes érythrocytaires y contribue à hauteur de 17 %. L'analyse de ces événements met essentiellement en évidence des défaillances humaines. Les analyses immuno-hématologiques à mettre en œuvre doivent permettre de définir les antigènes et de détecter les anticorps présents dans le PSL et chez le patient. Ces tests permettent de sélectionner les unités ne comportant pas les ou l'antigène(s) correspondant(s) aux anticorps du patient les ou l'anticorps correspondant(s) à l'antigène du patient. Les analyses réalisées en situation habituelle sont le groupage ABO-RH1, le phénotype RH-KEL1 et la recherche d'anticorps anti-érythrocytaires. D'autres tests sont nécessaires en transfusion néo-natale et dans les situations de conflit immunologique. Leur réalisation analytique et leur exploitation représentent des étapes critiques du processus transfusionnel. Leur fiabilisation repose sur des critères techniques définis par la réglementation, sur l'automatisation et sur les transferts informatiques de données. Les phases de prélèvement et d'identification du patient, souvent mises en cause dans les accidents immuno-hémolytiques, doivent faire l'objet de la plus grande rigueur [2].

Ainsi nous évoquerons dans notre travail toutes ces techniques et leurs principales applications.



Généralités



II. Généralités

1. Historique

La médecine transfusionnelle a été révolutionnée par diverses disciplines, en particulier par la génétique, la biologie moléculaire et l'immunologie. La mise en évidence des anticorps produits par les patients contre les antigènes érythrocytaires et en général contre les antigènes sanguins est à la base de l'immunohématologie. Nous avons donc cherché des techniques appropriées pour les mettre en évidence et ainsi fournir aux patients une transfusion qui ne leur cause pas de préjudice. L'une des grandes découvertes fondamentales à cet égard a été la réaction de Coombs, qui occupe une place très importante dans divers domaines de la médecine et joue un rôle prépondérant en immunohématologie. Même certaines techniques modernes sont encore basées sur cette découverte [3]. Une bonne gestion de la réaction antigène-anticorps en immunohématologie implique une parfaite connaissance des facteurs qui l'affectent, tels que : le déséquilibre constant des réactions, l'influence de la température, du pH, du temps d'incubation, de la force ionique du milieu, des proportions d'antigène et d'anticorps etc... ; ainsi que les facteurs qui peuvent inhiber, augmenter ou annuler cette réaction. Comme nous l'avons déjà mentionné, le test antiglobulino-humain a été une découverte fondamentale dont l'application a été étendue jusqu'à nos jours. En 1945, Coombs, Mourant y Race a décrit les procédures de détection des anticorps qui ne produisaient pas d'agglutination. L'antisérum le plus couramment utilisé dans cette technique est la polyspèce qui contient des anticorps contre les IgG et contre le C3d humain, peut également contenir des anti-C3b, anti C4b et anti C4d, leur rôle dans la plupart est la détection des IgG, l'activité anti-complémentaire est plus important dans l'étude d'anémies hémolytiques auto-immunes, puisque dans certains patients la seule chose détectable sur les globules rouges est le C3d. Les réactifs monospécifiques sont utiles pour caractériser les protéines qui recouvrent les érythrocytes, afin qu'ils nous aident à distinguer les schémas de réactivité dans les cas où un sérum contient des anticorps activant le complément, comme ceux qui ne déclenchent pas de plug-ins [4]. Un autre élément clé dans la progression du diagnostic la plus appropriée des patients a été le recours les érythrocytes de phénotype connu, qui permettent d'identifier la spécificité des anticorps trouvés, tels d'une manière qui permettra de trouver plus facilement

le sang convenable pour les patients en utilisant les connaissances de la fréquence antigénique dans différentes populations ce qui permet de planifier une recherche fructueuse de sang compatible [5].

En plus des éléments de base que nous avons ici Les nouvelles technologies pour la détection des réactions antigènes-anticorps, telles que les tests d'adhésion en phase solide qui immobilise l'antigène ou l'anticorps dans un microplaque, liaison de colonne dans laquelle elle est utilisée une petite colonne chargée d'un milieu de séparation, en haut de la colonne la réaction entre le sérum et les globules rouges et en passant les cellules dans la colonne après centrifugation les cellules non agglutinées sont séparées des cellules agglutinées, certains tests incluent des antisérums au milieu de la colonne afin que le test puisse être effectué de l'antiglobuline humaine ou être utilisé pour effectuer le phénotypage des érythrocytes, ces méthodes ont été développées grâce aux études de Lapierre en 1986 [4,6]. ; une autre technologie qui a été développée par rapport à la précédente a été l'automatisation de la détection des réactions antigène anticorps pour l'immunohématologie, L'immunofluorescence est utilisée avec la cytométrie pour la détection de l'hémorragie fœtale, mesurer de très faibles niveaux d'IgG liés aux cellules et distinguer l'expression des antigènes sanguins homozygotes et hétérozygote[7] parmi de nombreuses autres applications ; également elle a été utilisée dans les essais radioimmunologiques, les tests ELISA et l'immobilisation spécifique des antigènes érythrocytaires par des anticorps monoclonaux, MAIEA pour son acronyme en anglais, cette méthode a été utilisée pour isoler les structures membranaires spécifiques qui permettent d'effectuer des études sur les antigènes des groupes sanguins[4]. Nous avons commenté les techniques les plus connus parmi lesquelles nous ne devons pas perdre de vue les avantages et les limites des techniques de base et nous demander pourquoi nous avons arrêté, si c'est ce que c'était discuté avec son style pointu le chimiste Javier Bautista, sans Toutefois, un tableau beaucoup plus large se dessine comme vous nous l'avez dit dans le dr. George Garratty permettra de poursuivre le développement de l'immunohématologie.

2. Groupage sanguin

Le groupe sanguin ou phénotype des globules rouges correspond aux antigènes membranaires trouvés à la surface des globules rouges. Leur expression est déterminée par une série de systèmes génétiques polymorphes [8]. Un groupe érythrocytaire comprend tous les antigènes régulés par un même locus génique ou par un ensemble de gènes hautement liés qui ne présentent pas ou peu de recombinaison entre eux [9].

Ces antigènes peuvent être des protéines, des glycoprotéines ou des glycolipides exerçant des fonctions diverses à la surface des globules rouges. La majorité de ces antigènes est synthétisée et ancrée dans la membrane de la cellule au cours de la maturation de la lignée érythroïde, les autres sont produits et sécrétés par d'autres cellules puis adsorbés à la surface des hématies.

Tout antigène érythrocytaire est défini par rapport à sa reconnaissance par un anticorps polyclonal spécifique d'origine humaine. Ces antigènes érythrocytaires localisés à la membrane des hématies sont aussi, dans de nombreux cas, retrouvés dans d'autres cellules et tissus. Ils sont majoritairement faits de protéines ou de glycoprotéines codées par les gènes de groupes sanguins correspondants [10].

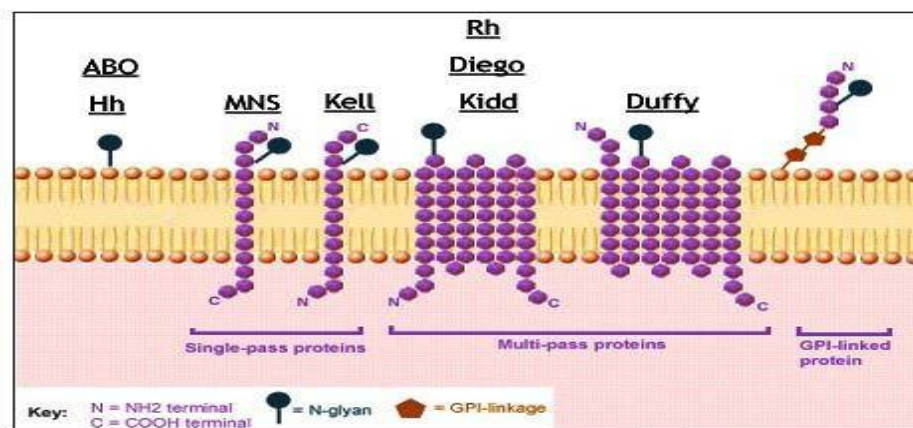


Figure 1: Membrane érythrocytaire avec certains antigènes de groupe sanguin [10].

Tableau I: Nomenclatures des principaux systemes et antigènes des groupes sanguins [11]

<i>Système</i>	<i>Symbole</i>	<i>Principaux antigènes</i>	
		<i>Appellation courante</i>	<i>Nomenclature internationale</i>
ABO	ABO	A	ABO1
		B	ABO2
MNS	MNS	M	MNS1
		N	MNS2
		S	MNS3
		s	MNS4
Rhésus	RH	D	RH1
		C	RH2
		E	RH3
		c	RH4
		e	RH5
Kell	KEL	K	KEL1
		k	KEL2
Duffy	FY	Fy ^a	FY1
		Fy ^b	FY2
Kidd	JK	Jk ^a	JK1
		Jk ^b	JK2
Lewis	Le	Le ^a	LE1
		Le ^b	LE2
Luthéran	Lu	Lu ^a	LU1
		Lu ^b	LU2



***Les techniques en
Immuno-hématologie***



III- Les techniques en Immuno-hématologie :

1- Généralités Immuno-hématologie (Notion Antigène-Anticorps)

Un antigène (Ag) est compris comme toute molécule qui peut être spécifiquement reconnue par chacun des composants du système immunitaire. Au sens strict, l'antigène est toute molécule capable d'induire la production d'anticorps spécifiques et l'activation des **lymphocytes T** , également précise.

Des anticorps (Ac), aussi connu comme les **immunoglobulines** , sont un groupe de molécules sériques produites par les **lymphocytes B** . Différents types d'anticorps ont une structure de base commune à tous, mais le site par lequel ils se lient à l'antigène est spécifique à chacun; La partie de la molécule qui se lie à l'antigène est appelée la **région Fab** , tandis que la zone qui interagit avec d'autres éléments du système immunitaire est appelée la **région Fc** .

Les lymphocytes B et T sont génétiquement programmés pour coder et reconnaître un récepteur de surface spécifique d'un antigène particulier, avant même qu'ils ne soient en contact avec lui, après quoi ils se multiplient et se différencient en plasmocytes qui produisent les anticorps.

Lors d'un contact entre le lymphocyte et l'antigène, les lymphocytes capables de le reconnaître entament un processus de prolifération, appelé **sélection clonale** , qui conduit en quelques jours à l'existence d'un nombre suffisant pour provoquer une réponse immunitaire permettant l'élimination de cette substance.

Une fois le contact initial avec un antigène donné, les rencontres successives avec le même antigène seront caractérisées par l'obtention d'une réponse beaucoup plus rapide et plus énergique que la première, car cela se traduit par la production de lymphocytes T et B. mémoire

Les anticorps se lient aux agents pathogènes ou aux antigènes dans l'espace extracellulaire et assurent la protection de l'organisme par trois processus:

1. Ils peuvent neutraliser l'agent pathogène ou ses produits toxiques en y adhérant et en prévenant les infections ou la toxicité.

2. Ils peuvent faciliter la capture d'agents pathogènes par les cellules phagocytaires (opsonisation).
3. Ils peuvent activer le système du complément, composé d'une série de protéines plasmatiques qui aident les phagocytes à ingérer et à détruire les bactéries. Tous les agents pathogènes et les particules étrangères liées aux anticorps se retrouveront entre les mains des phagocytes, ce qui les détruira. Le système du complément et les phagocytes ne reconnaissent pas l'antigène; Ce sont les anticorps qui indiquent leur existence [13].

2- Définition du statut Immuno-hématologique du patient

A- Prescrire des analyses pour détecter les anticorps chez les patients afin d'éviter les conflits immunologiques:

La détermination du groupe sanguin ABO est basée sur deux tests supplémentaires. Analyses sanguines, y compris la recherche des antigènes A et B sur la membrane des globules rouges. Les tests plasmatiques incluent la recherche d'anticorps anti-A et anti-B qui correspondent à l'antigène globulaire manquant. Cette analyse est indissociable de la détermination de l'antigène RH1 (D). Afin de rendre le regroupement efficace, deux échantillons différents doivent être déterminés deux fois. Le phénotype RH-KEL1 et les antigènes RH2 (C), RH3 (E), RH4 (c) et RH5 (e) doivent être déterminés sur chaque échantillon.

La recherche d'anticorps anti-érythrocytes: En utilisant une gamme légalement définie de globules rouges humains, nous effectuons un dépistage dans le sérum ou le plasma, puis identifions les anticorps contre les antigènes des globules rouges autres que A. B. La recherche d'anticorps anti-érythrocytaires implique deux étapes:

- Un dépistage au terme duquel le laboratoire pourra répondre « dépistage positif » ou « dépistage négatif » d'anticorps anti-érythrocytaires. En cas de dépistage positif, l'identification de l'anticorps est obligatoire
- Une identification consistant à déterminer la spécificité du ou des anticorps présents.

Le test de compatibilité directe en laboratoire (dont les instructions sont limitées) est une analyse supplémentaire du RAI, qui comprend un échantillon du receveur qui teste les globules rouges dans le pipeline de produits sanguins recevant la transfusion sanguine. S'il n'y a pas de réponse, l'unité est déclarée compatible.

B- En prescrivant des méthodes analytiques pour déterminer la présence d'antigènes, pour éviter l'allogénéisation de certains patients:

- Le phénotypage **RH-KEL1** comprend l'étude des antigènes **RH2, 3, 4 et 5 et KEL1**.
- Le phénotypage étendu consiste à rechercher un ou plusieurs antigènes érythrocytaires autres que ceux qui sont définis par le groupage ABO-RhD et par le phénotypage RH-KEL1. Les principaux systèmes concernés sont les systèmes Duffy, Kidd, MNSs [14].

3- Quand prescrire ces analyses ?

- Groupage **ABO-RH1** (Rhésus D) : avant toute transfusion potentielle en l'absence d'un document déjà validé.
- Recherche d'anticorps anti-érythrocytes : dans les 72 heures qui précèdent une transfusion.
- Epreuve directe de compatibilité : dès l'apparition d'un anticorps anti-érythrocytaire
- Phénotypage **RH-KEL1** : jeune fille ou femme avant la ménopause, patients devant recevoir des transfusions itératives, patients à greffer, patients présentant un anticorps irrégulier.
- Phénotypage élargi : patients devant recevoir des transfusions itératives, patients à transplanter, patients présentant un anticorps irrégulier dans un des systèmes concernés.

Prescrire les analyses en vue de détecter une allo-immunisation post-transfusionnelle

Ce point repose sur la prescription d'une RAI trois mois après le dernier épisode transfusionnel (deux fois par an pour les transfusions itératives) conformément aux dispositions réglementaires [14].

4- Groupage standard chez l'Homme

4-1 Système ABO

4-1.1 Définition du groupage sanguin ABO

Système utilisé pour regrouper le sang humain en différents types en fonction de la présence ou de l'absence de certains marqueurs à la surface des globules rouges. Les quatre principaux types de sang sont A, B, O et AB. Pour une transfusion sanguine, le système de groupe sanguin ABO est utilisé pour faire correspondre le type sanguin du donneur avec celui de la personne recevant la transfusion. Les personnes de groupe sanguin O peuvent donner du sang à n'importe qui et elles sont appelées donneurs universels. Les personnes de groupe sanguin AB peuvent accepter le sang de tous les donneurs et sont appelées receveurs universels. Les personnes de type A ou B peuvent recevoir du sang du même type de leur propre sang ou de type O.

Le système ABO présente un intérêt dans divers domaines scientifiques. En plus des quatre groupes sanguins (A, B, AB et O), il est connu qu'il existe des sous-groupes supplémentaires qui présentent différents modèles et degrés d'agglutination. Les antigènes A et B ont d'abord été identifiés sur la membrane érythrocytaire puis sur la surface d'autres types de cellules, ainsi que dans certaines sécrétions. Par conséquent, le système ABO est également appelé système de groupe histo-sanguin, plutôt que système de groupe sanguin. Parce que ces antigènes existent dans des cellules autres que les érythrocytes, la compatibilité ABO est importante non seulement dans la transfusion sanguine, mais aussi dans la transplantation de cellules, de tissus et d'organes. De même, la médecine légale prend en compte le groupe sanguin ABO lors de l'analyse des preuves sur les lieux du crime, telles que le sang, la salive, le liquide séminal et les cheveux [15-16].

L'expression des antigènes ABO présente des changements au cours du développement foetal et individuel, en particulier dans les premières années de la vie et chez les personnes âgées, et dans la pathogenèse de certaines maladies; Par exemple, la perte d'expression de l'antigène ABO dans le cancer de la prostate a été documentée [17-18]. Par conséquent, l'expression des gènes ABO est un sujet d'intérêt dans différents domaines de la santé, tels que la biologie du cancer et la biologie moléculaire, cellulaire et du développement.

Tableau II: Antigènes et anticorps du système sanguin ABO

Groupe	Sous-groupe	Antigènes érythrocytaires	Anticorps (agglutinines sériques)
O	—	Aucuna	Anti-A Anti-A1 Anti-B Anti-ABb
A	A1 A2	A + A1	Anti-B
B	—	B	Anti-A Anti-A1
AB	A1 B A2 B	A + A1 + B A+B	Aucunc

a. Les érythrocytes ont généralement l'antigène H, mais la quantité de H est influencée par le groupe ABO: les cellules O ont la plus grande quantité de H et les érythrocytes A1B le moins.

b Inséparable

c Anti-A1 chez 1% à 8% des personnes A2 et chez 22% à 35% des personnes A2B.

4-1-2 Génétique du système ABO

Le gène ABO, situé sur le chromosome 9, possède trois allèles A, B et O, qui varient en fonction des substitutions nucléotidiques, qui déterminent les spécificités des enzymes pour lesquelles ils codent. L'allèle A code pour l'enzyme transférase A qui catalyse l'addition d'un résidu de N-acétylgalactosamine (GalNAc) à l'antigène H, générant ainsi l'antigène A. L'allèle B code l'enzyme transférase B qui catalyse l'addition d'un résidu de D-galactose (Gal) à

l'antigène H, générant l'antigène B. L'allèle O ne diffère de l'allèle A que par la délétion d'un nucléotide (guanine G en position 261), ce qui se traduit par un changement du cadre de lecture ou frameshift et la production d'une protéine sans activité transférase [19-20].

Le gène Se, également situé sur le chromosome 19, code pour une enzyme (fucosyltransférase) qui est exprimée dans l'épithélium des tissus sécrétoires, y compris les glandes salivaires et les voies respiratoires et gastro-intestinales. Cette enzyme catalyse la production d'antigène H dans les sécrétions corporelles; ainsi, les individus "sécrétoires" possèdent au moins une copie du gène Se (Se / Se ou Se / se) qui code pour une enzyme fonctionnelle, produisant de l'antigène H dans les sécrétions, qui à son tour est traité comme antigène A et / ou B, selon le génotype ABO de l'individu. En revanche, les individus "non sécréteurs" sont homozygotes pour le gène nul (se / se) et ne peuvent donc pas produire la forme soluble de l'antigène H [21].

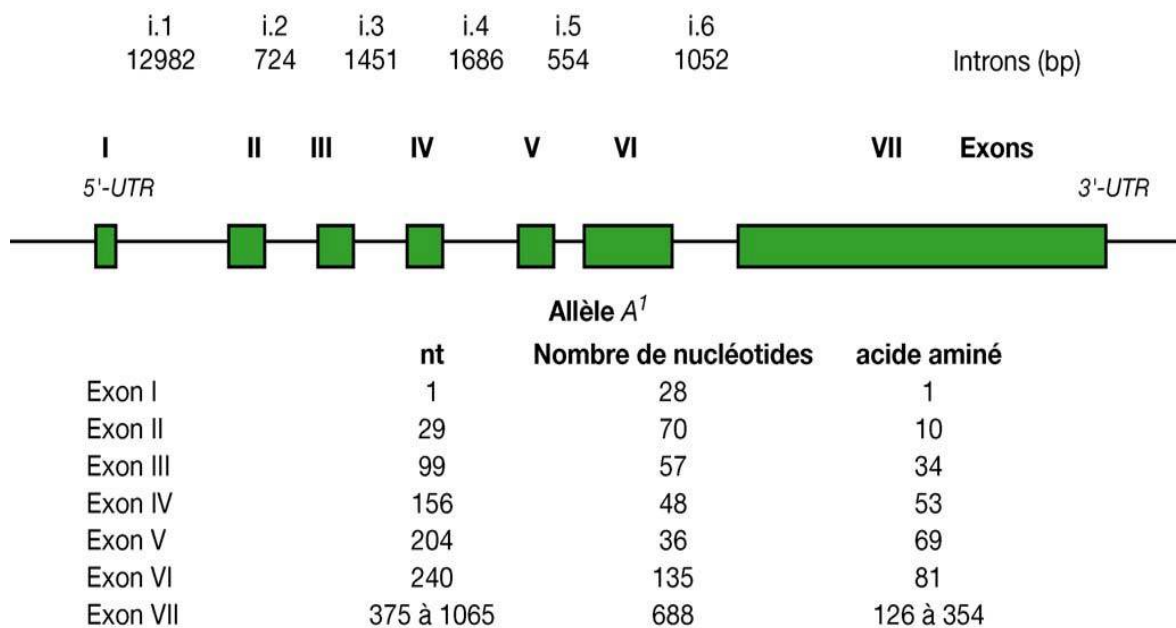


Figure 2: Organisation générale du gène ABO chez l'homme [22].

Tableau III: Phénotypes et génotypes possibles du système sérique ABO [23].

Groupe	Phénotype	Génotype possible	Anticorps sériques
A	A1	A1/A1 ou A1/A2 ou A1/O	Anti –B
	A2	A2/A2 ou A2/O	Anti- B Anti- A1
B	B	B/B	Anti- A+ A1
		B/O	
AB	A1B	A1/B	Anti – A1
	A2B	A2/B	
O	O	O/O	Anti – A+A1
			Anti- B

4-1-3 Nature biochimique du système ABO

Les antigènes de groupe ABO ne sont pas les produits primaires des gènes qui les codent. Sur le plan biochimique, les déterminants antigéniques A, B, et H sont de nature glucidique. Ce sont les sucres terminaux des chaînes latérales glucidiques des glycoprotéines et des glycosphingolipides. Ils proviennent de glycosyltransférases, qui combinent des sucres avec des substances basiques. La synthèse des substances A et B nécessite la génération de l'antigène H à l'avance [24,25].

Ce sont des sucres qui soutiennent les groupes sanguins. Les antigènes ABH sont des glycosphingolipides dans les globules rouges et des glycoprotéines dans d'autres tissus. Les glucides terminaux sont les mêmes, et bien sûr ils ont les mêmes sucres doux immuns, y compris la substance H pour le fucose, la substance A pour le N-acétylgalactose et la substance B pour le galactose. [24].

La première étape de la biosynthèse des antigènes ABO est l'addition d'un L-fucose au galactose terminal (Gal) d'un précurseur commun (substance précurseur) lié aux lipides ou aux protéines membranaires, par l'enzyme α 1, 2 fucosyltransférase (transférase H), donnant naissance à l'antigène H. Par la suite, les déterminants des groupes sanguins A ou B sont formés par l'action des enzymes transférases, qui catalysent l'ajout de sucres spécifiques: la transférase A pour ceux qui auront le groupe A et la transférase B pour ceux qui auront le groupe B, formant ainsi les antigènes A et B, respectivement. Dans le cas des personnes du groupe O, une transférase O est produite qui est inactive, laissant l'antigène H inchangé. Les personnes qui synthétisent exclusivement l'antigène A auront le groupe sanguin A; ceux qui synthétisent exclusivement l'antigène B auront le groupe sanguin B; et ceux qui produisent à la fois les antigènes A et B, auront le groupe AB [26-27].

Les antigènes qui composent les groupes sanguins font partie intégrante de la membrane érythrocytaire et peuvent traverser complètement la membrane une fois, laissant son extrémité N-terminale à l'extérieur de la cellule et son extrémité C-terminale à l'intérieur (ces antigènes ils sont appelés Type 1); il existe également le type 2, qui laisse son extrémité N-terminale dans la partie intérieure de la cellule et son extrémité C-terminale à l'extérieur; Type 3, qui traverse la membrane plusieurs fois et peut avoir les deux extrémités, N et C-terminal, à l'intérieur, ou avoir le C-terminal à l'intérieur et le N-terminal à l'extérieur de la cellule (comme c'est le cas avec glycoprotéine Duffy); et enfin, ils peuvent ne pas traverser la membrane, mais y être ancrés par une structure lipidique (glycosyl phosphatidylinositol ou GPI), qui serait de type 5. Il n'y a pas de glycoprotéines de type 4 dans la membrane des érythrocytes [28].

Dans le cas du système sanguin ABO, on sait très peu de choses sur les fonctions de ces sucres dans les érythrocytes, sauf qu'ils font partie du glucocalix, une matrice de sucre qui entoure la cellule et la protège des dommages chimiques et de l'invasion d'agents pathogènes. [28].

Tableau IV: Sucres spécifiques au système ABO

Groupe sanguin	Sucres terminaux
A	Acétylgalactosamine + fructose
B	Galactose + Fructose
O	Fructose
AB	Acétylgalactosamine + fructose; Galactose + Fructose

4-1-4 Les techniques et leurs interprétations

4-1-4-1 Sang à tester

Le sang est généralement prélevé sur EDTA ou éventuellement sur citrate de sodium..

4-1-4-2 Sérums tests [12]

Sérums polyclonaux d'origine humaine provenant de donneurs sélectionnés (= *allo-antisérum*)

Anticorps monoclonaux d'origine murine (= *hétéro-antisérum*) :

Sérum test anti-A (coloration bleue)

Sérum test anti-B (coloration jaune)

Sérum test anti-A et anti-B (coloration naturelle du sérum)

« Sérums » d'origine animale ou végétale (= *hétérosérum*) :

Sérum ou solution test anti-H = sérum d'anguille (*xénoantisérum*) ou phytoagglutinine extraite de graines *d'Ulex europaeus*.

Solution test anti-A1 = phytoagglutinine extraite de graines de *Dolichos biflorus*

4-1-4-3 Hématies-tests (hématies étalons lavées et prêtes à l'emploi) [12]

Hématies étalons A1, (Rh -)

Hématies étalons A2, (Rh -) ne sont plus obligatoires

Hématies étalons B, (Rh -)

Hématies étalons 0, (Rh +)

Ce sont des hématies humaines prélevées sur anticoagulant. Le lavage a été réalisé 3 fois en sérum physiologique puis remises en suspension dans une solution conservatrice.

Les concentrations des suspensions globulaires dépendent de la technique retenue et des indications données par le fabricant pour chaque réactif

Techniques sur plaque	10% (V/V)
Techniques en tubes à hémolyse	5% (V/V)
Techniques en microtubes (ou microplaque)	1 à 2 % (V/V)

4-1-4-4 Petits matériels [12]

Plaque d'opaline et/ou plaque alvéolée à usage unique.

Pipettes Pasteur ou Psipettes

Agitateur en verre

Tubes de Khan et Portoir.

Centrifugeuse

4-1-4-5 Mode opératoire [12]

Le groupage ABO doit être effectué dans des conditions très précises et rigoureuses. Le **GBEA** (Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale) impose les conditions suivantes :

La réalisation du groupage sanguin nécessite :

• **une épreuve globulaire de Beth Vincent** □ **recherche des Ag érythrocytaires A (ABO1) et B (ABO2) avec les Ac monoclonaux anti-A (anti-ABO1) et anti-B (anti-ABO2) et anti-AB (anti- ABO3)**

Il est à noter que le réactif anti-B utilisé ne peut pas avoir de réaction croisée avec l'antigène B obtenu. L'un des deux agents, anti-A ou anti-AB, doit être capable de reconnaître les globules rouges d'Ax.

• une épreuve plasmatique de Simonin □ recherche des Ac anti-A et Anti-B avec les hématies tests A1 et B. Au moins une de ces hématies doit être de phénotype RH -1

Une détermination du groupe sanguin : deux définitions

– **1er cas : technique totalement automatisée** (groupage + contrôles + enregistrement des échantillons et des prescriptions):

→ 1 détermination = 1 réalisation exécutée par un lot de réactif et un technicien

– **2ème cas : technique manuelle ou semi-automatisée :**

→ 1 détermination = 2 réalisations exécutées par 2 techniciens différents. La saisie manuelle doit aussi être réalisée par une double saisie par 2 personnes différentes.

Un groupe sanguin valide doit être réalisé sur 2 prélèvements différents, à des temps réellement différents, à raison d'une détermination par prélèvement.

4-1-4-6 Les techniques manuelles

4-1-4-6-1 Plaque d'opaline

Technique :

- Déposer en premier sur une lame ou une plaque d'opaline blanche une goutte de chaque sérum-test (anti-A, anti-B, anti-AB) espacée de 3 à 4 cm ;
- Déposer une goutte d'hématies issues du sang à grouper en face de chaque goutte de sérum.
- Animer la plaque d'un mouvement de rotation pendant 20 secondes pour faciliter l'agglutination ;

Lecture :

- Positif si formation d'agglutination nettement visible à l'œil nu
- Négatif si absence d'agglutination [29].



Figure 3: Technique de groupage ABO sur plaque [29].

Réalisation du groupage ABO : épreuve de Beth Vincent et épreuve de Simonin

Épreuve globulaire de Beth vincent

- Déposer une goutte des sérums tests anti-A, anti-B, anti-A+anti-B (et éventuellement anti-H).
- Déposer une goutte de suspension globulaire à tester.

Épreuve globulaire de Simonin

- Déposer une goutte de suspension globulaire à A1, A2, B.
- Déposer 2 gouttes du sérum à tester.

Épreuve complémentaire : à effectuer uniquement si le test révèle un groupe A ou AB.

- Déposer une goutte des sérums tests anti-A1 et anti-H (ou anti-A1 uniquement si l'anti- H est utilisé systématiquement)
- Déposer une goutte de suspension globulaire à tester.

Animer la plaque d'un mouvement de va et vient afin de faciliter l'agglutination.

Laisser reposer 30 secondes. Lire en imprimant un mouvement de « roulis » à la plaque et compléter par **une seconde lecture au bout de 3 minutes [12].**

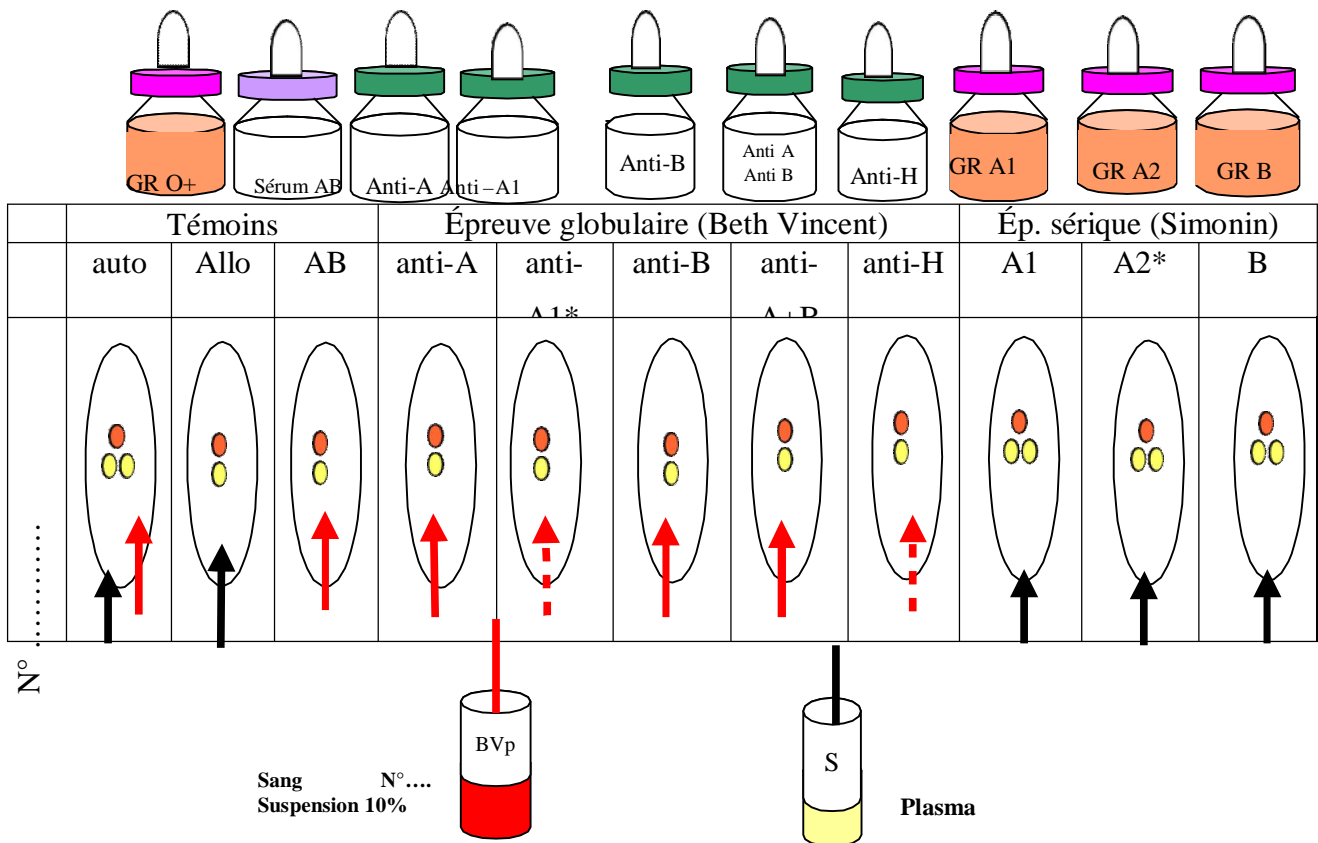


Figure 4: Réalisation épreuve de Beth Vincent et épreuve de Simonin groupage ABO[12].

* : épreuves complémentaires (non obligatoires par la législation)

Lecture

D'une manière générale, les agglutinats de l'épreuve sérique apparaissent plus lentement que ceux de l'épreuve globulaire. Noter l'absence ou la présence d'agglutinats et leur intensité.

- « +++ » 1 à 3 énormes agglutinats sur fond clair.
- « ++ » jusqu'à 10 agglutinats sur fond clair.
- « + » très nombreux agglutinats sur fond clair.
- « (+) » innombrables agglutinats à la limite du visible sur fond clair.
- « - » absence d'agglutinats-suspension rosée homogène.

Signaler aussi la présence éventuelle d'une image de double population (notée ++/--) ou d'une hémolyse partielle[12].

4-1-4-6-2 Tube à hémolyse

La base de la pratique est identique à la technique en plaque.

Les nouveaux-nés ne sont pas testés sur le sérum car les anticorps anti-A et anti-B ne sont pas produits avant l'âge de 3 à 6 mois. Si le nouveau-né possède l'un de ces anticorps, il sera d'origine maternelle.

La détection du groupe sanguin se fait en mélangeant des globules rouges de test avec un sérum anti-A et anti-B séparé. La présence d'agglutination dans chacun des mélanges est évaluée, car si elle agglutine, cela signifie la présence de l'antigène correspondant à l'anticorps utilisé. Ainsi, s'ils agglutinent les globules rouges mélangés à des anti-A, c'est parce que ces globules rouges ont des anti-A. S'ils se lient avec l'anti-B, ils ont l'anti-B. Et s'ils se lient aux deux, c'est parce que les globules rouges ont les deux antigènes A et B.

Lorsqu'aucun des deux ne s'agglutine, c'est parce que les globules rouges n'ont aucun des antigènes ou ont des antigènes faibles. Dans ce cas, les globules rouges sont confrontés à un sérum anti-AB. L'agglutination indique qu'il s'agit de groupes A ou B faibles. Les A faibles sont plus fréquents que les B faibles. S'il n'y a pas d'agglutination, le sang est classé dans le groupe O.

Les étapes

- .Étiqueter deux éprouvettes (A et B).
- . Versez une goutte de l'échantillon dilué à 3 % dans chacun des tubes.
- Ajoutez deux gouttes d'Anti-A et d'Anti-B dans chaque tube respectif.
- Mélanger et incuber pendant 15 minutes à température ambiante.
- Centrifuger pendant 2 minutes à 2000 tours/minute.
- Remettez les échantillons en suspension et observez l'agglutination.
- Confirmez les résultats en faisant une nouvelle préparation et en l'observant au microscope optique [30].

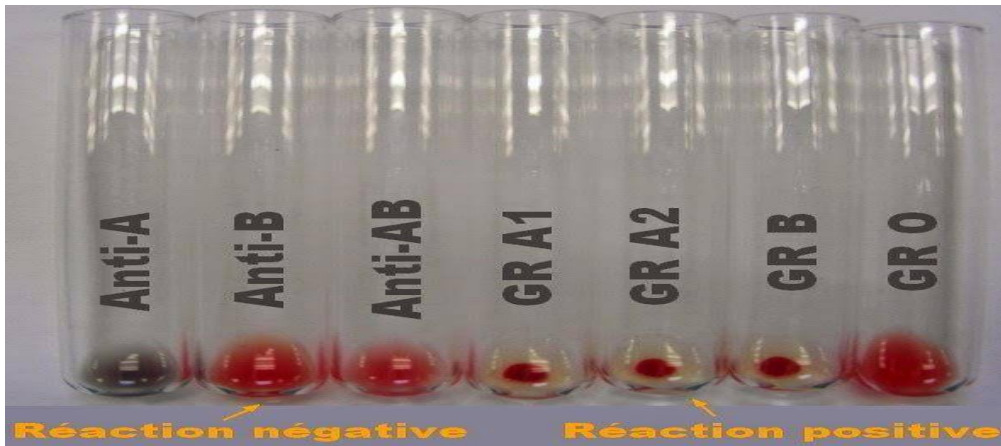


Figure 5: Technique de détermination des groupes sanguins ABO en tube [30].

4-1-4-6-3 Carte gel

La preuve est basée sur l'exclusion en fonction de la taille des éléments des réactifs qui ont lieu au sein d'une matrice immunologiquement inerte.

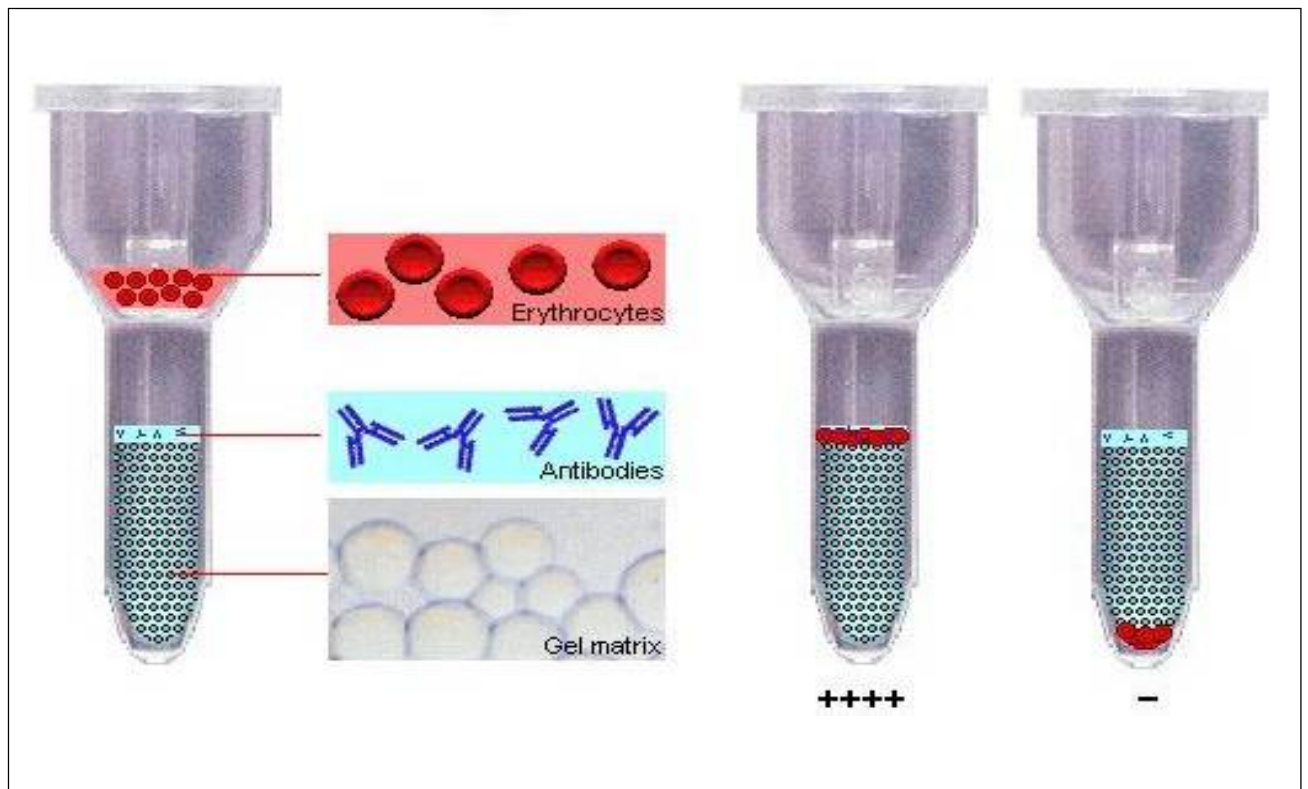


Figure 6: Technique carte gel groupage ABO [31].

Le DIAMED ID MICROTYPING SYSTEM incorpore dans la colonne de gel le réactif contenant : un anticorps spécifique, du NaCl ou du sérum d'antiglobuline humaine.

Les globules rouges sensibilisés réagissent avec l'antisérum spécifique pendant la centrifugation, laissant les fluides en réaction (y compris toute globuline non liée) dans la chambre de réaction.

Seuls les globules rouges entrent dans la matrice de gel.

Les globules rouges non sensibilisés, au stade de la centrifugation du test, forment un "point" ou un "bouton" à la base du microtube, tandis que ceux qui ont été agglutinés seront distribués le long de la colonne de gel. Selon l'intensité de la réaction, les globules rouges peuvent occuper le sommet de la colonne de gel ou être dispersés le long de la colonne de gel [31].

LA FORME DES MICROTUBES

Les microtubes sont incorporés dans une pièce intégrale de 70 millimètres de long sur 53 millimètres de haut, appelée "carte d'identité".

L'extrémité supérieure de la carte est large (4 mm de diamètre) pour permettre l'incubation des réactifs.

L'extrémité supérieure est également connue sous le nom de "REACTION CHAMBER".

La partie intermédiaire ou "COLONNE", est longue et étroite, ce qui permet en phase de centrifugation un contact prolongé des globules rouges avec le gel.

Le fond du microtube a l'air "CONIQUE". Lorsque les globules rouges traversent la colonne de gel pendant la phase de centrifugation, ils forment un point au bas de la colonne selon le gradient d'agglutination [31].

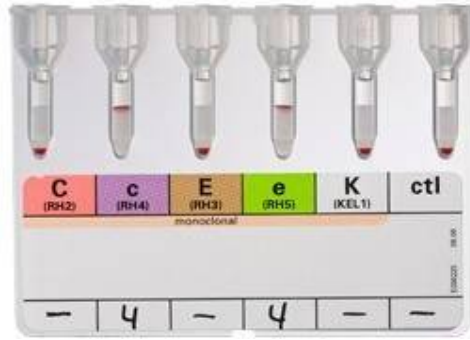


Figure 7: APPARENCE DE LA CARTE [31].

LA COMPOSITION DU GEL [31].

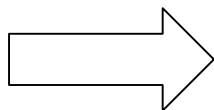
Le gel utilisé est le SEPADEX G ultrafin et se présente sous trois formes de base :



GEL NEUTRE.



GEL SPÉCIFIQUE.



GEL DE GLOBULINE ANTI-HUMAIN.

Neutre

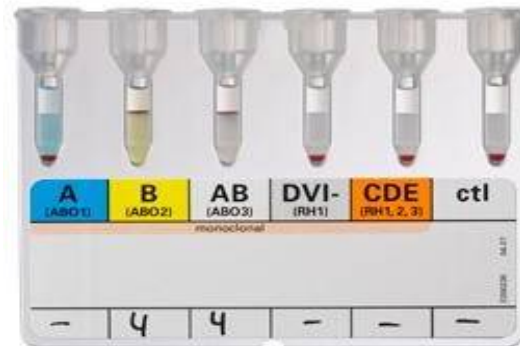
Pas d'antisérum spécifique

Contient du NaCl.



SPÉCIFIQUE

Mélange de gel et d'antisérum spécifique.



GEL DE GLOBULINE ANTI-HUMAIN.

Mélange de gel et de sérum d'antiglobuline humaine.



Les étapes

- Utiliser une solution à 0,8 % d'érythrocytes dans le diluant spécifique pour cartes.
- Ajouter 50 μ l de la suspension d'érythrocytes appropriée à chaque microtube.
- Ajouter 25 μ l du réactif approprié à chaque microtube. En cas d'utilisation des techniques automatisées ajouter 10 μ l de réactif. En principe, on peut également utiliser 10 μ l avec la méthode manuelle.
- Centrifuger les cartes dans une centrifugeuse à cartes appropriée après 30 minutes au plus tard.
- Contrôler à l'œil nu l'apparition d'une agglutination dans un délai de 30 minutes.
- Noter le résultat[32]..

4-1-4-7 Les techniques automatiques

4-1-4-7-1 Microplaque

Deux types de méthodes d'agglutination en microplaques seront décrits - sans et avec addition d'agarose. Dans les deux tests, l'agglutination se produit pendant une étape d'incubation sans nécessité de centrifugation dans Microplaques de fond en V. Le premier type d'agglutination (sans agarose) a été mis au point pour le groupage avant ; le second type (avec agarose) a été conçu pour le groupage arrière. Comme le montre la figure 8, l'incubation d'une suspension d'érythrocytes avec des anticorps monoclonaux hautement dilués de classe IgM avec groupe sanguin spécificités conduit à l'adhésion des globules rouges dans les puits de la plaque native.

En cas de réaction négative, les globules rouges forment une gouttelette au centre du puits. Dans la méthode de l'agarose, la réaction antigène-anticorps a lieu à la surface et dans l'agarose pendant le temps d'incubation. L'agarose est utilisé comme moyen de séparation et forme une couche entre l'agarose et la surface des puits. Les réactions positives sont indiquées par l'observation de nombre de globules rouges en l'espace des couches. Dans ce cas les globules rouges se rassemblent au centre des puits. Un diagramme schématique de réaction du regroupement inverse est représenté dans la figure 9 [33].

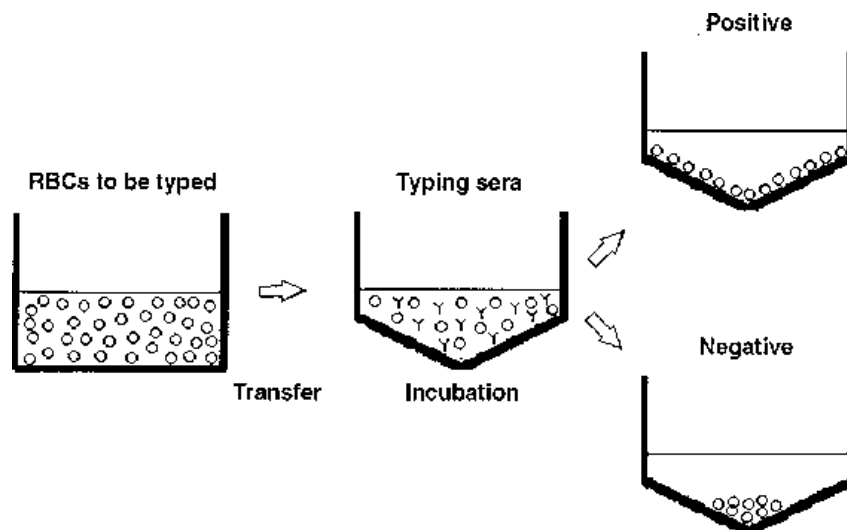


Figure 8: Schéma de la technique de regroupement en avant [33].

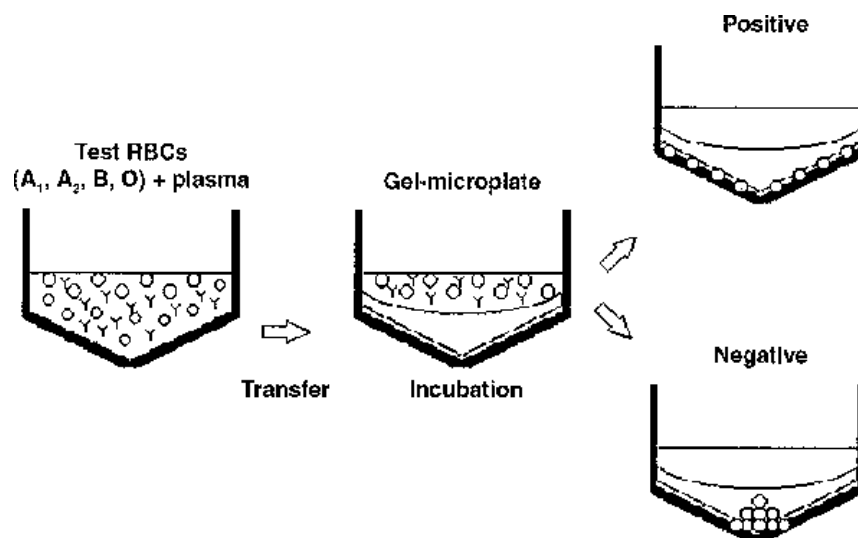


Figure 9 : Schéma de la méthode de regroupement inverse [33].

Dans le cas d'une réaction, l'adhérence des nombre de globules rouges se produit dans l'"espace de la couche limite" entre gel et toute la surface des puits.

4-2 Système RH

4-2.1 Définition du système immunogène

Le système de groupe sanguin Rh (C, c, E, e, D et plus de 50 autres antigènes) est le deuxième en importance clinique après ABO parce que les antigènes Rh, en particulier D, sont très immunogène et les anticorps peuvent entraîner des réactions transfusionnelles hémolytiques retardées (HTR) et une maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né (HDFN). Le locus RH est constitué de deux gènes homologues, RHD et RHCE, situés à proximité immédiate sur chromosome 1 et codant pour des protéines constituées de 417 acides aminés. Le D-négatif Le phénotype est associé à un gène RHD supprimé ou muté/inactif. Le système est complexe, en particulier dans les groupes ethniques africains noirs et hispaniques, tant sur le plan sérologique que génétiquement, car la ou les mutations ponctuelles et l'échange génétique entre les deux gènes génèrent de nouveaux épitopes sur les protéines Rh et de nouveaux antigènes. Alors que les antisérums sont commercialement disponibles pour détecter les antigènes communs D, C/c et E/e, les réactifs sérologiques ne sont pas disponibles pour identifier les nombreux autres antigènes ; toutefois, la détection est

possible par l'ADN les méthodes, c'est-à-dire le génotypage par RH. Le système Rh est associé à la production d'anticorps présentant des spécificités multiples et complexes qui peuvent rendre difficile la recherche de les produits à base de globules rouges (RBC). Test d'ADN pour déterminer le génotype RH du patient aide à la sélection des composants et à la gestion des transfusions, en particulier pour les patients la drépanocytose (SCD).

Le système Rh a plus de 50 antigènes, mais l'antigène conventionnel est D, qui est porté par la protéine RhD et codé par un gène appelé RHD, et les antigènes C, c, E et e, portés par la protéine RhCE codée par le gène nommé RHCE (Tableau V). Les antigènes sont exprimés de manière codominante. Les gènes RHD et RHCE, chacun constituées de 10 régions codantes (exons), sont des protéines codantes homologues à 97 %, qui diffèrent entre 32 ou 35 acides aminés. Les deux gènes sont hérités sous la forme d'un haplotype Rh. La prévalence des haplotypes Rh diffère selon le groupe ethnique. Un troisième gène, RHAG, est 47% identique dans la région de codage à RHD et RHCE et code la protéine ancestrale RhAG. Les antigènes Rh sont portés par des protéines transmembranaires hydrophobes à 12 passages. Le RhAG est important pour le trafic des protéines RhD et RhCE vers la membrane, et l'absence de RhAG se traduit par l'absence d'expression de l'antigène Rh (phénotype Rh-nul) ou une réduction marquée de l'expression de l'antigène Rh (phénotype Rh-mod). Rh et RhAG Les protéines forment le complexe du noyau Rh dans la membrane, et elles interagissent avec le CD47, la glycophorine B (porteuse des antigènes SsU), le LW et l'AE1 (également connu sous le nom de bande 3). Ce complexe est lié au squelette de la membrane par l'interaction Rh/RhAG-ankyrine et la protéine CD47 4.2 association. Le RhAG s'occupe du transport de l'ammoniac/ammonium et est important pour le solde des cations dans les globules rouge. Fonction des protéines du groupe sanguin Rh, RhD et RhCE n'est pas connu, mais les globules rouges dépourvus de tous les antigènes Rh présentent des anomalies structurelles (c'est-à-dire des stomatocytes). La RhAG est une protéine hautement conservée mais porte plusieurs antigènes ; deux des (RHAG1, RHAG3) et une de faible prévalence (RHAG2) [34].

Tableau V: Nomenclature et prévalence des haplotypes Rh [35]

Haplotype	Shorthand for Haplotype	Prevalence (%)		
		White	Black	Asian
DCE	R ₁	42	17	70
DcE	R ₂	14	11	21
Dce	R ₀	4	44	3
DCE	R _z	<0.01	<0.01	1
ce	r	37	26	3
Ce	r'	2	2	2
cE	r''	1	<0.01	<0.01
CE	ry	<0.01	<0.01	<0.01

4-2.2 Nature génétique biochimique et du système RH

Le système Rhésus est à l'origine de la grande majorité des allo-immunisations foeto-maternelles. Ce système est encore mystérieux, malgré 40 ans de recherches intensives. Les antigènes du système Rhésus sont portés par des protéines de 30-32kDa non glycolysées [36]. Deux de ces protéines possèdent des isoformes immunologiquement dissociables, nommées C, c et E, e. La protéine principale D ne possède pas d'isoforme correspondante. Le locus Rhésus, porté par le chromosome 1p34-p36 [37], est formé par deux structures génétiques adjacentes désignées RhCcEe et RhD [38]. La majeure partie (96 %) de la portion codante des deux gènes est identique. Cette similarité semble indiquer une origine ancestrale commune. Le premier gène, RhCcEe, code les deux protéines antigéniques C/c et E/e. Le second gène RhD code le principal antigène RhD. Si ce dernier est absent sur les deux chromosomes, l'individu est Rh. C'est donc l'absence ou la présence du gène RhD dans le génome qui détermine l'antigénicité D à la surface des hématies.

Cinq antisérums permettent de séparer cinq déterminants antigéniques; C, c, D, E, e. Certaines associations apparaissent plus fréquentes. Les anticorps Rhésus le plus souvent impliqués dans une MHP, sont, dans l'ordre décroissant: les anti-D, anti-E, anti-c, anti-C, anti-e. L'immunogénicité des antigènes varie suivant leur spécificité.

L'anti-c'est la cause la plus fréquente des maladies hémolytiques non A, B ou D. Une étude datant de 1977 décrit 63 femmes porteuses d'un anti-c dès leur premier contrôle de grossesse. Quarante-deux (77 %) nouveau-nés avaient l'antigène correspondant. Parmi eux, 32 présentaient un test de Coombs direct positif et 9 (12 %) une anémie sévère ayant nécessité une exsanguino-transfusion. Deux enfants sont décédés et 2 avaient des lésions cérébrales irréversibles [39].

L'atteinte est moins grave lors d'allo-immunisation avec anti-E, anti-C ou anti-e. Ces derniers sont souvent associés à d'autres anticorps appartenant préférentiellement au système Rhésus. Quelques cas d'hémolyse majeure sur allo-immunisation anti-C ont été décrits dans la littérature [40]. Les décès sur allo-immunisation anti-C, ou Ce sont extrêmement rares (4 à 5 cas décrits en 50 ans [40]).

En résumé, les anticorps Rhésus anti-D, anti-c, présentent un risque d'hémolyse majeur [41, 42], les anticorps Rhésus anti-E, anti-C, anti-e, anti-Ew, anti-Cw, anti-Cx, un risque d'hémolyse limité [43].

Dès 1943, Fischer, à partir de constatations sérologiques (réactions antithétiques entre anti-RH2 (C) et anti-RH4 (c) d'une part et entre anti-RH3 (E) et anti-RH5 (e) d'autre part) émet les hypothèses génétiques selon lesquelles le système RH comporte 3 couples d'allèles (D/d, C/c, E/e) situés sur 3 « loci » extrêmement liés et regroupés en 8 haplotypes différents transmis en bloc lors de la méiose.

Pour chacun de ces haplotypes et en fonction de la combinatoire allélique présente il établit une nomenclature spécifique dite en « R ». Ainsi à partir de constatations sérologiques (phénotypage) et en fonction des fréquences spécifiques de ces haplotypes, il propose de déduire le génotype probable (statistiquement le plus fréquent) et les génotypes possibles.

Exemple

Dénomination des phénotypes					
Réactions sérologiques					Terminologie du phénotype
Anti-RH1	Anti-RH2	Anti-RH3	Anti-RH4	Anti-RH5	
+	0	0	+	+	Génotype probable R ₀ Génotype possible : R ₀ R ₀

En fait les données de la biologie moléculaire ont démontré que le système RH comporte deux gènes liés RHD et RHCE présents sur le chromosome N° 1 qui contrôlent la synthèse des antigènes du système RH.

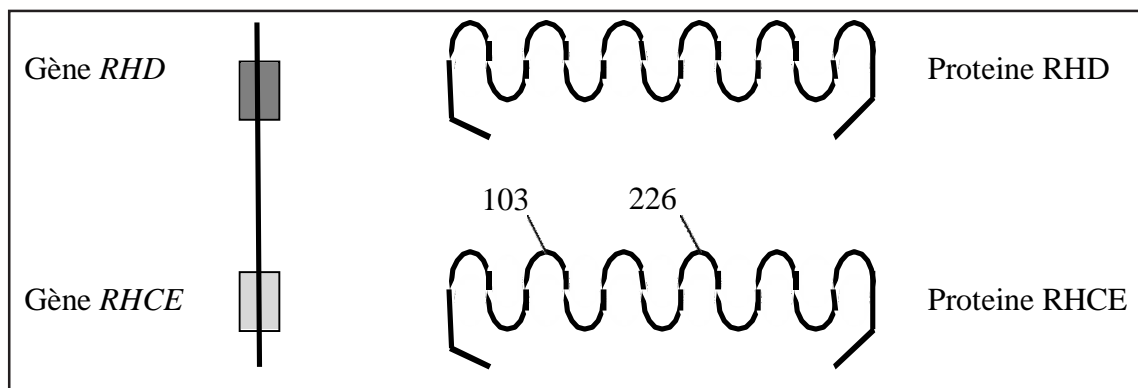
Le gène RHD code pour la protéine RHD et détermine la présence de l'antigène RH1 sur les hématies. Il est présent chez 85 % des sujets d'origine européenne qui sont dits RH1. Il est absent ou non fonctionnel chez 15 % des sujets dits RH :—1.

Le gène RHCE comporte, entre autres, quatre formes alléliques différentes qui déterminent, sur la protéine RHCE, la présence ou l'absence des antigènes concernés.

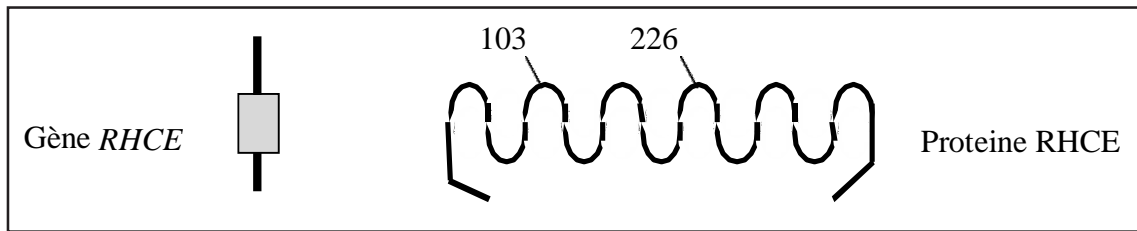
Gènes	Allèles	Antigènes présents sur la protéine CE
RHCE	RHCE	C (RH2) E (RH3)
RHCE	RHCe	C (RH2) e (RH5)
RHCE	RHcE	c (RH4) E (RH3)
RHCE	RHce	c (RH4) e (RH5)

Les produits des deux gènes RHD et RHCE sont des protéines de 416 acides aminés qui traversent la membrane érythrocytaire à 12 reprises, laissant ainsi apparaître de courtes boucles sur la face externe.

- Sujet porteur des gènes RHD et RHCE



- Sujet porteur uniquement du gène RHCE



Les antigènes antithétiques codés par les différentes formes alléliques du gène RHCE ne diffèrent que par un seul acide aminé spécifique en position 103 et 226.

Antigènes	Acides aminés	Position
RH2	Sérine	103
RH4	Proline	103
RH3	Proline	226
RH5	Alanine	226

Ces antigènes, contrairement à d'autres antigènes protéiques de groupes sanguins, ne comportent aucune glycosylation. Ils sont détectés uniquement sur les hématies et absents de toutes autres cellules hématopoïétiques ou non.

D'un point de vue fonctionnel, les molécules RH semblent jouer un rôle de transporteur de cations et de maintien de l'intégrité membranaire. En effet les exceptionnels sujets

« RH null » présentent des anomalies membranaires et une diminution de la durée de vie de leurs hématies dépourvues de tout antigène RH.

4-2.3 Techniques et interprétations

La détermination du groupe RhD est simple, mais exige des conditions techniques précises bien différentes de celles nécessaires pour le groupage ABO. Plusieurs techniques sont utilisées :

4-2.3.1 Plaque d'opaline

La détermination minimale du groupe Rhésus repose sur la mise en évidence de l'antigène D à la surface des globules rouges. Pour cela on utilise un sérum connu, dirigé contre l'antigène D. Ce sérum agglutine les globules rouges qui possèdent l'antigène D. **Pour la technique sur lame, le sérum anti-D doit être de type IgM.**

Echantillons

Sang à déterminer obtenu par prélèvement capillaire (ou sang veineux sur EDTA).

Réactifs et matériel :

Anti-D monoclonal Diaclon de Diamed pour méthode sur lame.

Carte de groupage (ou lames porte objet ou plaque d'opaline), minuterie, [lampe à alcool].

Technique:

1. [Préchauffez une lame porte objet ou une plaque d'opaline à 37°C : En raison de la qualité actuelle des sera test, ce préchauffage n'est nécessaire qu'en cas de test négatif].
2. Déposez sur la lame porte objet (ou sur une plaque d'opaline ou une carte de groupage) une goutte de sang à déterminer.
3. A côté de la goutte de sang, déposez une goutte de l'anti-D.
4. Mélangez le sang et le sérum test à l'aide du fond d'un tube.
5. Chaloupez la lame pendant 1 minute.
6. Lisez et notez immédiatement le résultat de l'agglutination.

Une réaction positive (présence d'agglutinations assez fines) indique un Rhésus positif. L'absence d'agglutination indique un Rhésus négatif [44].

S'il y a des doutes, observez la lame sous microscope (grossissement 100x) pour mieux distinguer les agglutinations. Pour faciliter la lecture, Inclinez légèrement la lame avant de l'observer sous le microscope, pour observer les globules rouges en mouvement.

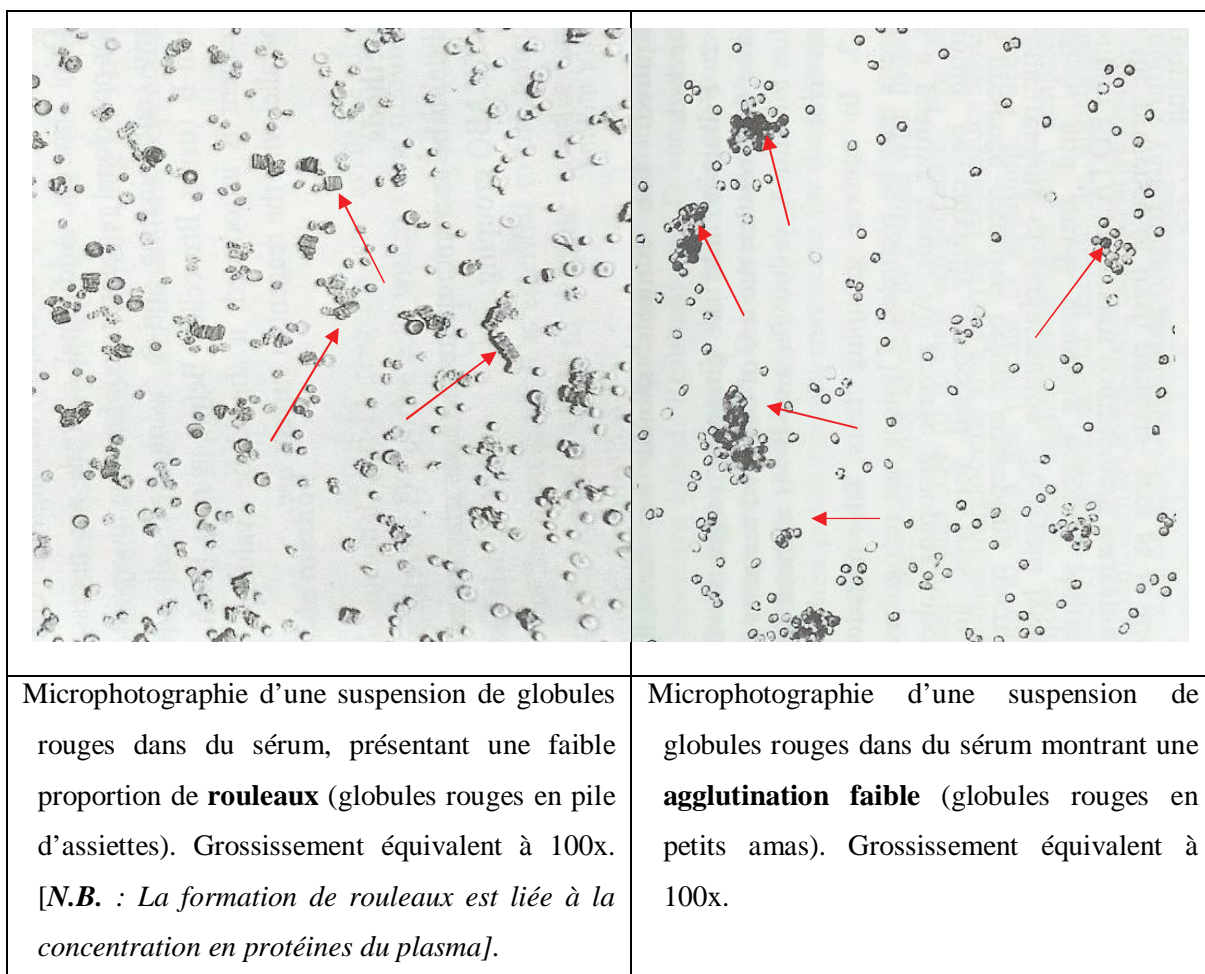


Figure 10: Observation de la lame sous microscope (grossissement 100x) [44].

Cette technique est uniquement valable pour l'antisérum anti-D monoclonal Diacon (Diamed). La technique peut varier en fonction du réactif utilisé. Toujours suivre les instructions particulières indiquées dans la notice du fabricant. Vérifier que l'antisérum peut être utilisé pour une réaction sur lame et qu'il contient des IgM.

4-2.3.2 Tube à hémolyse

Matériel et équipement :

- Ø 1 rack
- Ø 4 tubes 10 x 75
- Ø 4 tubes 13 x 100
- Ø 4 Pipettes Pasteur avec ampoule
- Ø Centrifugeuse
- Ø Sérum anti-D
- Ø Antiglobuline humaine
- Ø Solution saline sur une assiette
- Ø Bain Marie à 37°C

Technique : préparation d'une suspension de globules rouges dans une solution physiologique à 5%.

1. dans un tube à essai de 10 x 75, on place une goutte de sérum anti-Rho (D) et on ajoute une goutte de suspension de 5% des globules rouges à tester
2. elle est homogénéisée par un mouvement doux, centrifugée à 3 500 tours/minute pour 30".
3. La lecture est faite, en cherchant l'agglutination, en cas de doute elle est incubée pendant 15' ; après ce temps la lecture est faite, le sédiment est doucement mis en suspension.
4. de nouveau centrifugé pendant 30" à 3 500 tours/minute ; la lecture est faite
5. L'agglutination avec des grumeaux visibles est observée, en cas de doute la lecture est confirmée par l'observation microscopique [45].

Interprétation des résultats.

- Ø Si le sang examiné est Rho. positif, la formation de grumeaux est facilement observable à l'œil nu.
- Ø En cas de Rho. négatif, l'aspect est homogène, il n'y a pas d'agglutination



Figure 11: Résultat d'une agglutination en tube [12].

4-2.3.3 Carte gel

METHODE

cartes gel (DiaMed ID-Card "NaCl, enzyme test and cold agglutinins", BIO-RAD „Scangel neutral“ ou Diagnostic Grifols „DG Gel Neutral“); micropipette; centrifugeuse à cartes ; diluant spécifique pour cartes

Technique

1. Utiliser une solution à 0,8 % d'érythrocytes dans le diluant spécifique pour cartes.
2. Ajouter 50 µl de la suspension d'érythrocytes appropriée à chaque microtube.
3. Ajouter 25 µl du réactif approprié à chaque microtube (alternative une goutte). En cas d'utilisation de techniques automatisées, ajouter 10 µl de sérum-test. En principe, on peut également utiliser 10 µl avec la méthode manuelle.
4. Centrifuger les cartes dans une centrifugeuse à cartes appropriée après 30 minutes au plus tard.
5. Contrôler à l'œil nu l'apparition d'une agglutination dans un délai de 30 minutes. Noter le résultat [32].

4-2.3.4 Microplaque

METHODE

microplaque de 96 puits à fonds en U ; micropipette ; centrifugeuse ; agitateur ; saline isotonique (avec 0,85 à 0,9 % de chlorure de sodium)

Technique

1. Utiliser 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).
2. Ajouter 50 µl de la suspension d'érythrocytes appropriée à chaque puits.
3. Ajouter 50 µl de réactif approprié à chaque puits.
4. Mélanger les deux pendant 30 secondes sur un agitateur à vitesse maximale.
5. Centrifuger la microplaque dans une centrifugeuse appropriée pendant 30 secondes à 400 x g.
6. Secouer doucement pendant 30 secondes sur un agitateur à vitesse moyenne. Contrôler à l'œil nu l'apparition d'une agglutination. Noter le résultat [32].

4-2.3.5 Problèmes possibles dans le groupage Rhésus :

Réactions faussement négatives :

- D faible (faible expression de l'antigène).
- D partiel (Du).
- Qualité du réactif anti-D (titre en anticorps trop faible, ou IgG et non IgM).

Réactions faussement positives :

- Coagulation du sang à grouper.
- Présence d'agglutinines froides dans le sang à grouper.
- Contamination bactérienne du réactif de groupage.
- Modifications antigéniques au cours de pathologies malignes.
- Infections chroniques (formation de rouleaux due à l'augmentation en protéines plasmatiques).
- Infection par la trypanosomiase (présence d'auto-agglutinines et formation de rouleaux) [44].

4-3 Autres Systèmes de groupes sanguins

4-3.1 Définition des systèmes

4-3.1.1 Système KELL

L'importance du système Kell est due à la forte immunogénicité de l'antigène K. C'est l'un des antigènes les plus immunogènes après l'antigène D [46, 47]. La découverte du premier antigène date de 1946. Il a été mis en évidence par un anticorps trouvé dans le sérum de Mme Kellacher et qui réagissait avec les globules rouges de son nouveau-né, de sa fille aînée, de son mari et d'environ 7 à 9 % de la population (90 % de la population caucasienne est Kell négatif) (Tableau VI). Son antigène antithétique, appelé k, a lui été découvert par Levine en 1949.

Le système Kell n'est pas seulement limité à ces deux antigènes; en fait c'est un système complexe dont la structure moléculaire a été décrite récemment [48]. Les antigènes Kell se trouvent exclusivement sur la membrane des globules rouges.

Les antigènes K sont présents sur les hématies fœtales dès la 10^e semaine d'aménorrhée (SA), les antigènes k dès la 7^e [49]. La majorité des femmes ayant développé un anti-K ont été immunisées par transfusion [50, 51]. La prévention consiste à transfuser exclusivement du sang K négatif chez la jeune femme. Les anticorps appartiennent pour la plupart à la classe des IgG. Le suivi des grossesses avec allo-immunisation anti-K est sujet à discussion. En effet certains auteurs ont décrit des atteintes gravissimes de l'enfant alors que le résultat de l'amniocentèse était rassurant peu de temps avant la naissance [46, 52-54] (Tableau VII). Il semble que l'altération de l'érythropoïèse est le mécanisme principal lors de ces allo-immunisations [55]. La courbe de Liley [56] doit donc être utilisée avec réserve dans ces situations [54, 57] et le prélèvement de sang fœtal est la méthode de choix pour contrôler le bien-être fœtal.

Tableau VI: Fréquence de la répartition des antigènes K et k.

Phénotype		Fréquence en %	
K	k	Caucasiens	Noirs
+	-	0,2	<0,1
-	+	91	96,5
+	+	8,8	3,5

Tableau VII: Devenir des nouveau-nés lors d'alloimmunisation anti-Kell dans 4 études [53].

Études	Enfants atteints	Morts <i>in utero</i>	Morts néo-natales	Survivants
Pepprell <i>et al.</i> (1977)	6	1	2	3
Caine et Müller- Heubach (1986)	13	3	1	9
Farr et Gray (1988)	9	8	1	0
Leggat et Gibson (1991)	16	0	0	16

4-3.1.2 Système KIDD

Le système Kidd est un modèle simple représenté par deux antigènes antithétiques: Jka et Jkb. L'antigène Jka a été défini pour la première fois par un anticorps découvert à la suite d'une MHP dans le sérum de Mme Kidd. L'antigène Jkb a été mis en évidence deux ans plus tard. Le phénotype Jk(a-b-) est très rare et ces sujets peuvent produire un anti-Jk3 qui réagit avec les hématies Jk(a+) ou/et Jk(b+).

L'anti-Jka est un anticorps dangereux, souvent impliqué dans des hémolyses post-transfusionnelles retardées [58]. De plus, il est souvent difficile à identifier. Il est labile *in vivo* : un titre élevé d'anticorps peut rapidement décroître pour ne plus être décelable quelques semaines plus tard. Il est souvent « faible » et se trouve en combinaison avec d'autres anticorps. L'anti-Jka est plus fréquent que l'anti-Jkb. Les deux anticorps sont de classe IgG (IgG3), bien que des IgM aient été décrites. Ces deux anticorps peuvent apparaître dans le cadre d'une incompatibilité fœto-maternelle ou à la suite de transfusions sanguines. Les anticorps anti-Jka et Jkb sont responsables de MHP sévères [59]. L'anti-Jk3 est, exceptionnellement, responsable d'une MHP modérée (3 cas décrits) [52].

4-3.1.3 Système DUFFY

Le système Duffy doit son nom à un hémophile polytransfusé nommé Duffy, chez qui en 1950, a été mis en évidence un anti-Fya. L'antigène antithétique Fyb a été découvert une année plus tard. D'autres antigènes ont été numérotés selon leur ordre chronologique de découverte : Fy3, Fy4, Fy5, et Fy6. Le phénotype silencieux Fy(a-b-) est observé avec une très grande fréquence dans la population noire alors qu'il est exceptionnel chez les Caucasiens. *Plasmodium knowlesi* et *Plasmodium vivax* ne peuvent pénétrer les globules rouges Fy(a-b-).

Les antigènes Fya sont immunogènes. L'anti-Fya est responsable à la fois de MHP et de réactions hémolytiques post-transfusionnelles. L'anti-Fyb est plus rare et est souvent associé à d'autres anti-corps. Il n'y a aucun cas décrit d'allo-immunisation anti-Fyb à ce jour [52]. Deux cas d'anti-Fy3 ont été identifiés lors de maladies modérées du nouveau-né.

4-3.1.4 Système MNSs

A la suite de la découverte du système ABO, Levine et Landsteiner ont immunisé des lapins avec du sang humain à la recherche de nouveaux anti-gènes. Les anticorps mis en évidence lors de ces expériences ont été appelés anti-M et anti-N et furent décrits en 1927. En 1947, Walsh et Montgomery découvrent l'antigène S étroitement lié à MN sur une même paire de chromosomes. Son antigène antithétique a été trouvé en 1951. Le système est nommé MNSs. En 1953, un antigène de haute fréquence U a été inclus dans ce système car il est toujours présent en l'absence des antigènes S et s.

Ces antigènes sont présents sur les globules rouges fœtaux dès la 9^e semaine pour MN et la 12^e pour Ss [49]. Ils sont immunogènes [60, 61] et 50 à 80 % des anti-M sont des IgG; une allo-immunisation sévère peut survenir et des cas de mort in utero ont été rapportés [52]. Un seul cas de MHP de gravité moyenne liée à un anti-N a été décrit [52]. Les anti-S peuvent être responsables d'une hémolyse faible et les anti-s peuvent entraîner des anémies de degrés variables. L'antigène U est un antigène public mais peut faire défaut chez 1 % des noirs. Ceux-ci peuvent alors développer des anti- corps spécifiques entraînant une MHP.

4-3.2 Génotypage des systèmes de groupe sanguin KELL, FY, JK, MNS

Le principal mécanisme génétique impliqué dans la plupart des polymorphismes des groupes sanguins est le polymorphisme mononucléotidique, ou SNP (polymorphisme nucléotidique unique). Il s'agit d'un type de polymorphisme de l'ADN dans lequel deux chromosomes diffèrent d'une paire de bases sur un segment donné. L'affichage de ces SNP peut impliquer plusieurs technologies, telles que la PCR-RFLP, la PCR spécifique à un allèle et la PCR en temps réel. Dans la pratique actuelle, le génotypage des systèmes FY, JK et MNS est devenu en quelques années l'outil de base des laboratoires d'immunohématologie spécialisés pour répondre à la sécurité des transfusions sanguines avec des antécédents de transfusion sanguine et / ou de tests. . Directement contre l'antiglobuline positive de type IgG. L'analyse génétique de ces trois systèmes et la détermination des allèles permettent les antigènes FY1 (Fya), FY2 (Fyb), JK1 (Jka), JK2 (Jkb), MNS3 (S) et MNS4. Dans certains cas, les données doivent être disponibles sur le système KEL. Ensuite, l'analyse génétique permet de déduire des phénotypes à partir des génotypes des antigènes KEL1 (K) et KEL2 (k). Le développement de la technologie de génotypage des systèmes de groupes sanguins dans les laboratoires de biologie médicale a essentiellement rencontré plusieurs problèmes: l'interprétation des données, l'existence de variantes «silencieuses» (le risque de faux positifs) ou la prévention des polymorphismes génétiques. Preuve d'allèles (phénomène de «perte d'allèle», provoquant de faux négatifs), disponibilité de réactifs disponibles dans le commerce. La génétique de la population de globules rouges implique un ensemble parfois complexe de paramètres, ce qui peut rendre difficile l'interprétation des résultats du génotypage. En

immunohématologie, le concept de «phénotype silencieux» illustre les limites de la biologie moléculaire. Un exemple est le système Fengyun. Le polymorphisme antigénique FY1 / FY2 (Fya / Fyb) est codé par c.125G> et est un polymorphisme génétique situé dans l'exon 2 du gène FY. Si l'étude en position 125 du deuxième exon du gène FY montre que le nucléotide A est présent à l'état homozygote, la logique indiquera que le phénotype déduit de ce génotype est FY: -1,2 [FY (a -B +)]. Cependant, chez des individus d'origine africaine / caribéenne, une mutation (ie 67t> c dans la région promotrice du gène FY) a été décrite, dont la présence empêche la transcription de l'allèle codant pour l'antigène FY2 (Fyb). Par conséquent, le manque de recherche sur la région promotrice du gène FY peut conduire au résultat du phénotype FY déduit d'un génotype faux positif.

Le deuxième problème du génotypage est la présence d'une variation phénotypique dans le système des groupes sanguins. En l'absence de développement technique pour des variantes spécifiques, les techniques de génotypage conventionnelles ne peuvent pas identifier les variantes. Le problème ultime rencontré par le laboratoire d'immunohématologie est lié à la disponibilité des réactifs disponibles dans le commerce. Actuellement, certains systèmes de groupe sanguin n'ont pas été testés en routine sur des plateformes de génotypage (telles que KN, JMH, RHAG, etc.) [62].

5- Les prélèvements pour l'analyse

5-1 La feuille de demande d'examen

Elle doit contenir les informations nécessaires pour identifier le patient et le prescripteur autorisé. Elle doit préciser les analyses demandées et fournir, le cas échéant, les données cliniques pertinentes nécessaires à l'interprétation des résultats.

- Identité du patient : nom de naissance, nom usuel ou marital et prénom(s) dans l'ordre de l'état civil,
- Date de naissance du patient
- Sexe (pour les besoins de l'interprétation du résultat)

- Identification du prescripteur et ses coordonnées (Etablissement, service, téléphone)
- Signature du prescripteur
- Identification du préleveur (nom, prénom et qualité)
- Signature du préleveur
- Nature des prélèvements échantillons : sang veineux.
- Nature des examens à réaliser
- Date et heure du prélèvement de chaque échantillon (dans le cas où 2 déterminations sont transmises simultanément, chaque demande et chaque échantillon doivent être horodatés)
- Degré d'urgence si nécessaire
- Données cliniques pertinentes [63].

5-2 Les renseignements cliniques nécessaires à l'interprétation en immuno-hématologie

- Antécédents transfusionnels et date de la dernière transfusion et incidents transfusionnels
- Indication de la transfusion si demande associée de produits sanguins labiles
- Anémie < 7g/dl
- Diagnostic clinique ou chirurgical
- Traitements médicaux
- Renseignements obstétricaux (ATCD de grossesse, grossesse en cours et stade, accouchement)
- En cas d'injection récente d'immunoglobulines anti-D : date de l'injection et résultats datés de la dernière RAI avant injection

- Si le patient est un nouveau-né : informations concernant la mère :
 - Identité complète (nom de naissance, nom marital, prénom et date de naissance)
 - Groupe sanguin ABO-D et phénotype RH-KEL
 - Date et résultat de la dernière RAI maternelle [63].

5-3 Le prélèvement des tubes échantillons

Toutes les analyses réalisées au laboratoire d'immunohématologie s'effectuent à partir de prélèvement de sang veineux prélevé sur TUBE EDTA (bouchon violet). Le prélèvement ne requière pas de préparation spécifique du patient (notamment il n'est pas nécessaire d'être à jeun), hors respect des règles générales relatives à toute ponction veineuse.

Pour les examens de groupe sanguin et de phénotype RH-Kell ou étendu, on vérifiera l'absence d'antécédent transfusionnel récent (<4 mois) susceptible d'engendrer des résultats erronés.

- quantité : un seul tube EDTA suffit pour la réalisation de : groupe ABO-D + phénotype RH-KEL + RAI. S'il s'agit d'un patient non groupé, un tube est nécessaire pour chaque détermination (soit 2 tubes identifiés selon les recommandations ci-dessous)
- volume : 7 ml ou 5 ml ; pour les nouveaux nés et les patients difficiles à prélever, un prélèvement de 2,5ml ou 2 ml peut être accepté pour chaque détermination, s'il n'y a pas d'examens supplémentaires à réaliser (se renseigner auprès du laboratoire sur la compatibilité des tubes bébé en fonction des automates utilisés)

Étiquetage des tubes échantillons : l'identification des tubes constitue l'étape la plus critique de la réalisation d'un examen d'immuno-hématologie. Compte tenu des risques en cas d'erreur (incompatibilité transfusionnelle), une attention particulière doit être portée à sa bonne exécution. L'étiquetage des récipients contenant l'échantillon biologique doit être fait au moment du prélèvement par la personne ayant réalisé celui-ci, immédiatement après remplissage du tube et en présence du patient et doit laisser apparaître si possible, l'échantillon de sang (niveau, hémolyse..). L'étiquetage doit être conçu pour éviter toute

erreur sur l'identité de la personne. Il doit mentionner:

- *Le nom de naissance, le cas échéant le nom usuel (ou marital), le(s) prénom(s) et la date de naissance, déclinées par le patient lui-même dans la mesure du possible.*
 - *le sexe,*
 - *la date et l'heure du prélèvement*
- Ces informations sur les tubes accompagnant la demande sont strictement identiques à celles inscrites sur la prescription.*



Remarque : règle de la double détermination

Pour être valide, un groupage sanguin doit être réalisé à partir de :

-2 demandes d'analyses

-2 prélèvements de tubes échantillons différents prélevés soient :

- par 2 préleveurs différents

- par un même préleveur mais à des moments différents (important de noter l'heure)

Ces exigences s'appliquent tout particulièrement si les prélèvements sont acheminés simultanément [63].

Remarque : La transmission de sérum ou plasma décantés ne permettra pas la réalisation des examens.

6- Phénotype RH KELL

Le concept de polymorphisme des groupes sanguins dans la population peut être expliqué par le système RH, qui est le système le plus complexe et le plus immunogène du système des groupes sanguins. Les antigènes du système RH sont codés par deux gènes, le gène RHD et le gène RHCE (figure 12). Le gène RHD code une protéine avec l'antigène principal de RH1 (D), tandis que le gène RHCE code une protéine avec les polymorphismes RH2 / RH4 (C / c) et RH3 / RH5 (E / e), avec différentes combinaisons: RH2 / RH5, RH4 / RH5, RH2 / RH3, RH4 / RH3 (Ce, ce, CE ou cE). La fréquence des allèles des gènes RHD et

RHCE varie en fonction de la race de l'individu, donc la prévalence du phénotype RH varie avec la population (Tableau VIII). Le phénotype RH rencontre parfois des difficultés liées aux «variants RH». Chez certains individus, l'expression de la protéine RH au niveau de la membrane des globules rouges montre des changements qualitatifs et quantitatifs. Cette variabilité de l'expression de l'antigène du système RH correspond au concept de «variants RH». Les gènes RHD et RHCE sont des gènes homologues étroitement apparentés (96% d'identité), et leur organisation spécifique favorise de nombreux réarrangements de gènes, qui sont à l'origine des variantes RH. Les variantes de l'antigène RH1 (D) sont appelées variantes RHD, et les variantes de l'antigène RH2 (C), RH3 (E), RH4 (c) ou RH5 (e) sont appelées variantes RHCE. Les variants RHD et RHCE sont caractérisés par une expression réduite par rapport aux antigènes normaux (antigènes RH faibles), un manque de certains épitopes immunogènes (faisant partie des antigènes RH) ou même aucune expression d'antigène. La haute fréquence est liée à la possible expression de nouveaux épitopes (l'apparition d'antigènes à basse fréquence).

Seuls des exemples de variantes RHD sont discutés ici. Il existe de nombreuses listes à ce jour. S'il est démontré que des individus porteurs d'un variant RHD donné peuvent être immunisés par exposition à l'antigène RH1 (D) intact pendant une transfusion sanguine ou une grossesse, et synthétiser des alloanticorps anti-RH1 (D), alors le variant RHD est considéré comme RH1 (D)) Une partie de l'antigène. Compte tenu des conséquences de la transfusion sanguine de l'allo-immunisation anti-RH1 (D), il est important de déterminer le type de variants RHD pour déterminer s'ils font partie de l'antigène RH1 (D). Du point de vue de l'immunohématologie, si l'expression de l'antigène RH1 (D) est affaiblie ou si les résultats obtenus en utilisant deux réactifs différents dans le processus de mise en œuvre sont incohérents, alors le phénotype RHD variant RH1 (D) est suspecté. Seules les études de biologie moléculaire des gènes RHD (génotypage RHD) peuvent déterminer de manière fiable les types de variants RHD [64].

Phénotype étendu

Sur le plan réglementaire, cet examen consiste à rechercher un ou plusieurs antigènes érythrocytaires autres que ceux définis par le groupe ABO-RH1 et par le phénotype RH-KEL1. En cas de polymorphisme « bi-alléliques », les deux antigènes doivent être déterminés. En pratique courante, ce terme sous-entend la détermination des antigènes FY1, FY2, JK1, JK2, MNS3, MNS4 [64].

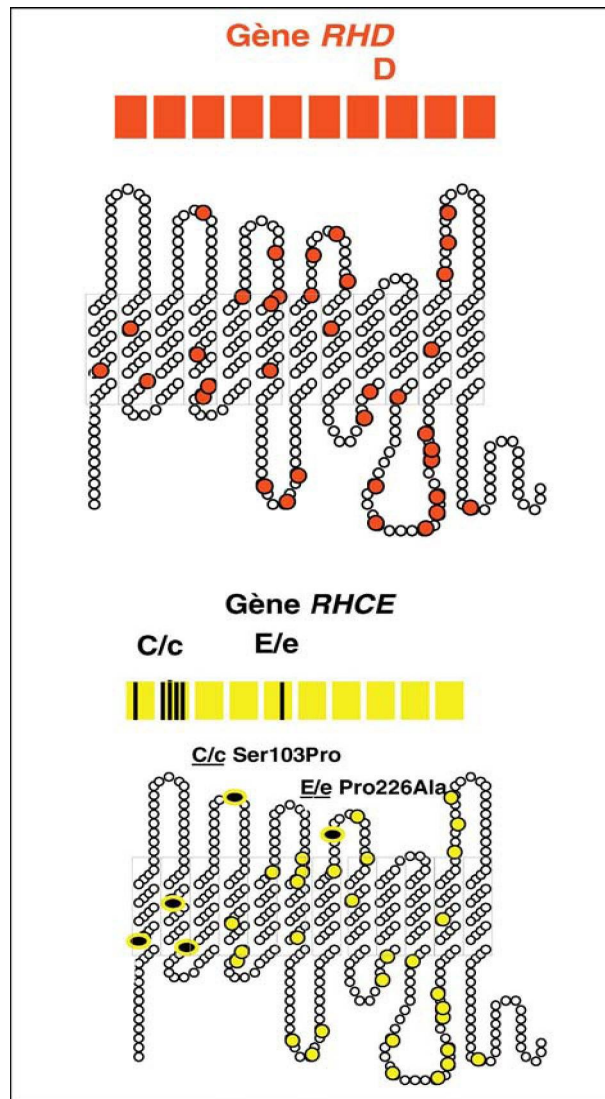


Figure 12: Les deux gènes du système Rhesus [64].

Tableau VIII: Prévalence des phénotypes RH [65]

	Caucasiens	Afro-Antillais	Asiatiques
RH:1,2,-3,-4,5 (DCe)	42 %	17 %	70 %
RH:-1,2,-3,-4,5 (Ce)	2 %	2 %	2 %
RH:1,-2,3,4,-5 (DcE)	14 %	11 %	21 %
RH:-1,-2,3,4,-5 (cE)	1 %	0	0
RH:1,-2,-3,4,5 (Dce)	4 %	44 %	3 %
RH:-1,-2,-3,4,5 (ce)	37 %	26 %	3 %
RH:1,2,3,-4,-5 (DCE)	0	0	1 %
RH:-1,2,3,-4,-5 (CE)	0	0	0

Phénotypage érythrocytaire et ses limites

Le phénotypage érythrocytaire reste un gold standard de l'immunohématologie. Cependant, les limites de son utilisation sont atteintes en cas d'antécédents transfusionnels, de positivité du test direct à l'antiglobuline ou d'indisponibilité de réactifs commercialisés :

- Nous parlons de l'histoire de la transfusion sanguine lors de la transfusion de globules rouges dans les 4 mois précédant le prélèvement. En tant que traitement de première intention, sauf pour une pathologie particulière, les phénotypes des globules rouges FY, JK et MNS (phénotype étendu) ne sont pas réalisés. Le patient a été perfusé avec un concentré de globules rouges compatible avec le groupe sanguin ABO-RH1 et le phénotype RH-KEL1. Si le besoin de transfusion sanguine du patient s'avère plus important que n'importe quelle évaluation pré-transfusionnelle, il y a des raisons d'empêcher l'allo-immunisation contre les systèmes de groupe sanguin FY, JK et MNS. Cependant, il est impossible d'effectuer une analyse phénotypique post-transfusionnelle, et les résultats de l'analyse phénotypique peuvent correspondre à l'analyse des globules rouges du receveur et / ou du donneur;
- Le deuxième cas où l'analyse phénotypique des globules rouges n'est pas possible est lorsque le test direct à l'antiglobuline est positif pour le type IgG (exemple de maladie auto-immune), et la technique de phénotypage nécessite l'utilisation d'un test antiglobuline indirect (risque de faux positif);

- le troisième cas est en rapport avec l'indisponibilité de réactifs commercialisés. C'est l'exemple du système de groupe sanguin DO (Dombrock).

Dans ces trois cas, la détermination des antigènes des globules rouges déduits de l'analyse des groupes sanguins par des techniques de biologie moléculaire (génotypage) est particulièrement importante [64].

7- Les différents types de techniques en Immuno-hématologie

7-1 Test de Coombs (Test direct à l'anti globuline humaine)

7-1-1 Définition

Le test direct à l'antiglobuline (TDA) a été signalé pour la première fois dans 1908 [66] mais a trouvé une notoriété plus étendue après avoir été décrit en 1945 par Coombs et al. [67]. Fondamentalement, le TDA est utilisée pour déterminer si les globules rouges ont une immunoglobuline G (IgG) liée à la surface et/ou un complément. La principale utilité du TDA est de classer l'hémolyse en immunodépendance ou en immuno-indépendance. Ce se concentre sur l'utilité clinique et les pièges du TDA.

7-1-2 Intérêt et circonstances de réalisation

Le test direct de Coombs, actuellement appelé "Direct Antiglobulin Test (TDA)", peut prouver la sensibilisation (liaison) des anticorps aux globules rouges.

Les globules rouges sensibilisés par les anticorps sont agglutinés par le sérum «antiglobuline humaine multivalente».

En raison du sérum d'antiglobuline humaine, ce test peut révéler la présence d'anticorps immobilisés sur l'antigène correspondant à la surface des globules rouges dans le corps et peut provoquer sa destruction (hémolyse).

L'antiglobuline utilisée est essentiellement de deux classes : un anti-IgG ou un anti-Complément (anti-C3d).

- L'antiglobuline Anti-IgG peut mettre en évidence des anticorps de type IgG fixés sur les globules rouges testés.

- L'antiglobuline de type anti-complément est essentiellement composée d'anti-C3d. Une fois que certains complexes immuns anticorps-antigène ont activé le complément, C3d est abondamment présent à la surface des globules rouges sensibilisés dans le corps.

La positivité d'un TDA est le témoin de la sensibilisation des hématies in vivo. Pour que la réaction puisse être positive, il faut au minimum 200 molécules d'Ig ou de C3d sur le globule rouge.

Ce Test Direct à l'Antiglobuline est essentiellement utilisé pour le diagnostic de l'Anémie Hémolytique Auto-Immune (AHAI), mais aussi de :

- La maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN),
- D'une réaction transfusionnelle (après transfusion incompatible (allo-anticorps spécifique de groupe)),
- Des syndromes lymphoprolifératifs (myélomes)
- Et d'anémie hémolytique d'origine médicamenteuse afin de révéler un conflit immunologique (Ac dirigé contre un Ag médicamenteux fixé sur l'hématie).

* Un test de Coombs direct positif ne permet pas de porter le diagnostic d'AHAI en l'absence de signes francs d'hémolyse.

Par conséquent, dans certaines conditions pathologiques, le test de Coombs peut être positif sans hémolyse: diverses maladies auto-immunes, syndrome lymphoprolifératif, cirrhose du foie.

Au contraire, un test négatif ne signifie pas qu'il n'y a pas d'hémolyse causée par un conflit immunitaire. [68].

Test de Coombs direct / Test direct à l'antiglobuline

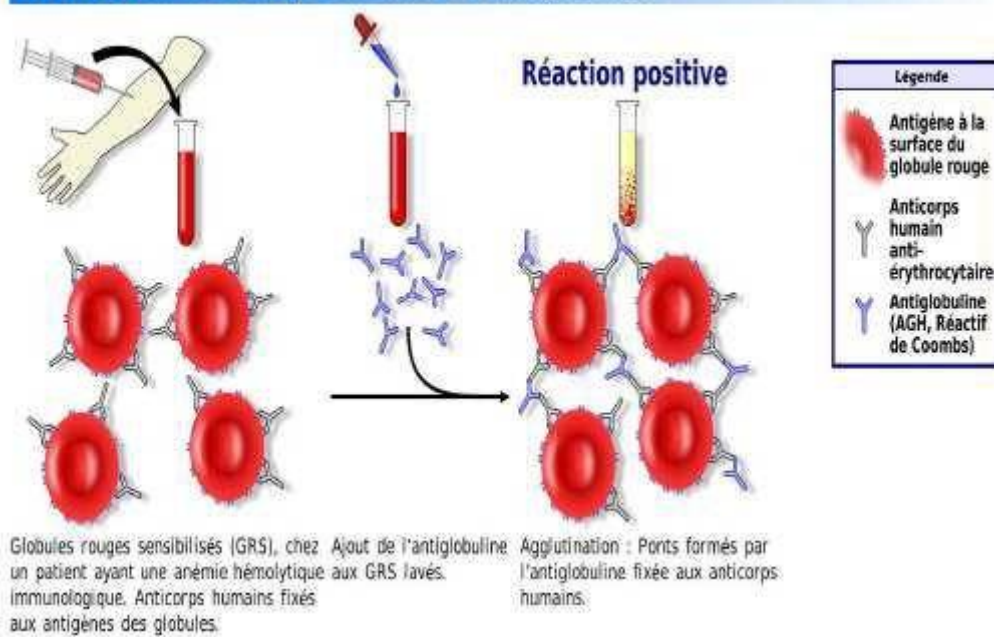


Figure 13: Schéma explicatif d'un TCD [68].

7-1-3 Techniques et interprétations

7-1-3.1 Technique en tube

Cette technique n'est pas utilisée dans les techniques conventionnelles. Il s'agit de diluer les globules rouges du patient avec de l'eau physiologique après avoir lavé les globules rouges, puis de mettre en contact les globules rouges dilués avec de l'antiglobuline IgG ou de l'antiglobuline C3d. Le lavage des globules rouges est une étape importante car il peut éliminer le plasma contenant des immunoglobulines non liées et éviter la neutralisation de l'antiglobuline réactive par des anticorps dans le plasma. Afin de garantir les résultats de l'analyse, un contrôle de réaction doit être effectué. Le contrôle réactif se compose des mêmes composants que les autres réactifs (anti-IgG et anti-C3d) et ne contient pas d'anticorps spécifiques. Toute attitude positive du témoin ne permet pas de vérifier l'analyse.

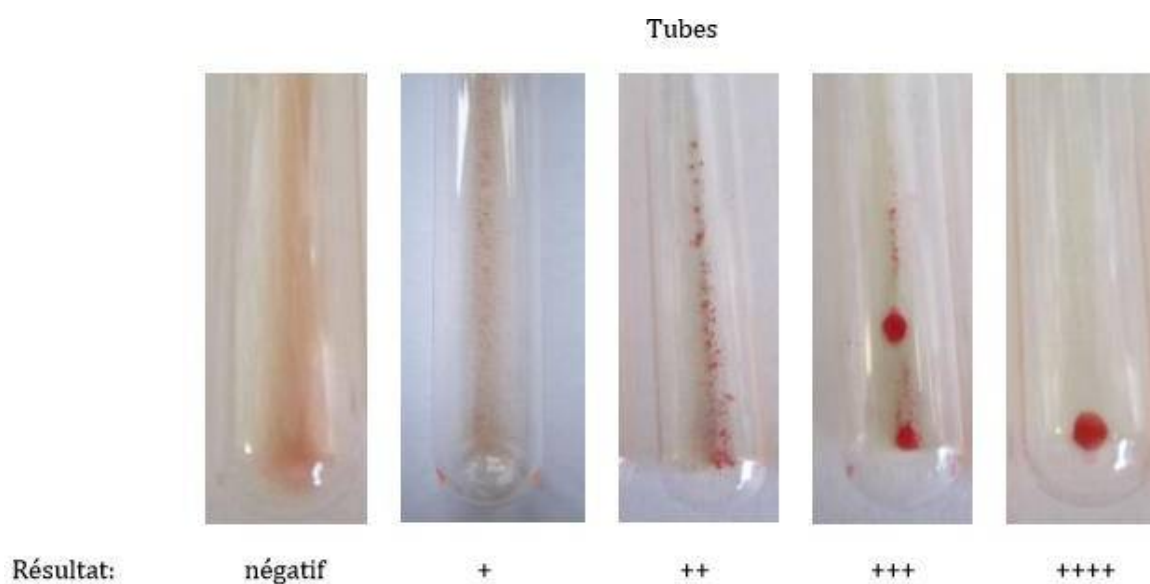


Figure 14: Test direct à l'antiglobuline en tube [69].

7-1-3.1.1 Préparation des hématies

- **Les lavages** : dans la technique en tube , les hématies doivent être lavées 4 à 6 fois au préalable afin d'éliminer toutes les globulines humaines fixées de façon non spécifique sur le GR et qui pourraient être source de faux négatifs par inhibition de l'antiglobuline ou de faux positifs par adsorption érythrocytaire aspécifique .Il convient de rappeler aussi que , afin d'éviter toute inhibition de l'action d'une antiglobuline , il est nécessaire d'utiliser une verrerie totalement dépourvue de protéines humaines.

- **La mise en suspension** : la concentration des hématies doit respecter les instructions du fournisseur. Habituellement, en tube, une suspension érythrocytaire de l'ordre de 3% à 5% est utilisée. Des suspensions érythrocytaires trop concentrées ou trop diluées donneraient des rations incorrectes en termes de nombre de cellules /nombre d'anticorps pouvant aboutir à des faux négatifs.

7-1-3.1.2 Réactifs

- **Les antiglobulines humaines :**

Des réactifs "antiglobulines" spécifiques à l'espèce sont obtenus en immunisant des animaux avec du sérum humain, de chien, de chat ou de cheval. Le sérum contient des immunoglobulines (IgG, IgM) ou des facteurs de complément de l'espèce que vous souhaitez utiliser le réactif, et est injecté régulièrement (généralement une fois par semaine pendant cinq semaines) à des animaux sélectionnés à des intervalles spécifiques. Pour les lapins ou les chèvres, ces immunoglobulines sont antigéniques, elles vont donc synthétiser des anticorps de lapin ou de chèvre contre les immunoglobulines humaines, de chien, de chat ou de cheval. Une semaine après la dernière injection, les animaux ont été saignés et le sérum a été séparé par centrifugation. De cette manière, on obtient du sérum de lapin ou de chèvre contre des immunoglobulines humaines, de chien, de chat ou de cheval. Par conséquent, cette antiglobuline d'origine animale se lie spécifiquement à l'épitope isotopique de l'immunoglobuline humaine, chien, chat ou cheval.

Le réactif était à l'origine multispécifique (anti-IgG, anti-IgM et anti-C3), puis a développé un réactif monospécifique pour reconnaître spécifiquement une classe d'immunoglobulines, IgG, IgA, IgM ou composants du complément, qui peuvent être liés à C4, C3b et C3d des globules rouges.

Ces réactifs peuvent être préparés par technologie polyclonale ou par technologie monoclonale. Les anticorps polyclonaux sont un mélange d'anticorps qui reconnaissent différents épitopes sur un antigène donné, et chaque idiotype est cloné et sécrété par différentes plasmocytes (cellules qui sécrètent des anticorps). Au cours de la réponse immunitaire, l'organisme va synthétiser des anticorps contre plusieurs épitopes de l'antigène: cette réaction est appelée réaction polyclonale. En fait, les anticorps monoclonaux sont des anticorps qui ne reconnaissent qu'un seul épitope sur un antigène donné. Par définition, ils sont tous identiques et sont produits par un seul clone de plasmocytes. En raison de la courte durée de vie des plasmocytes, il a été difficile de produire des anticorps monoclonaux in vitro pendant longtemps. L'anticorps est ensuite obtenu in vivo en injectant à l'animal un antigène donné et en collectant l'anticorps dans le sang.

- **Témoin négatif** :le guide de bonne exécution des analyses (GBEA) impose l'utilisation systématique d'un réactif témoin qui est caractérisé par le diluant du réactif dépourvu de l'Ac .L'objectif de ce réactif témoin est de valider toute réaction positive en l'attribuant à l'action spécifique de l'antiglobuline et non pas à une sensibilisation préalable des hématies par un Ac spontanément agglutinant comme par exemple un Ac actif à +4°C de classe IgM et qui aboutirait à une interprétation erronée de TDA positif mixte alors qu'il est en fait de type uniquement Complément.

7-1-3.1.3 Répartition

- **Le volume de répartition** : les volumes de suspension érythrocytaire et de réactif doivent respecter les instructions du fournisseur afin d'assurer un « cell ration » optimal.

- **La séquence de répartition** : en vue d'éviter un oubli de répartition des antiglobulines, il est conseillé de répartir les réactifs en premier afin de vérifier leur présence avant la répartition des suspensions globulaires .De plus, pour faciliter cette vérification, certains fournisseurs ont coloré les réactifs.

7-1-3.1.4 Etapes d'incubation

Une incubation préalable est parfois requise et demandée par le fabricant pour sensibiliser les réactions avec certaines antiglobulines anti-C3d, Il faut respecter strictement les instructions.

7-1-3.1.5 Centrifugation

Il s'agit d'une opération particulièrement sensible car, insuffisante elle aboutit à un rapprochement non optimal des hématies qui peut être source de faux négatifs et, excessive, elle peut rendre difficile une remise en suspension dont l'intensité peut casser des agglutinats et les rendre invisibles.

7-1-3.1.6 Remises en suspension des hématies

Elle doit être douce et réalisée sous les yeux de l'opérateur au-dessus d'un fond blanc. Cette opération manuelle est source de nombreux faux négatifs.

7-1-3.1.7 Lecture et interprétation des réactions

- **Une réaction positive** est caractérisée par la présence d'agglutinats plus ou moins nombreux et de taille variable, allant du gros agglutinats unique et qualifié de ++++ à une image de « sable » au fond du tube, qualifiée (+) et pouvant facilement disparaître en cas de remise en suspension excessive.

- **Une réaction négative** correspond à la remise en suspension totale des hématies dont la cinétique est classiquement décrite en «nuage de fumée ou fumerole» permettant de la différencier d'une remise en suspension par morcellement avec des petits agglutinats transitoires qui doit être considérée comme une réaction positive .En cas de doute sur la positivité d'une réaction , une lecture au microscope permet de différencier d'authentiques agglutinats d' un phénomène de rouleaux caractérisé par un empilement des hématies en «piles d'assiettes » qui se retrouverait d'ailleurs aussi avec le réactif témoin.

- **Une image de double population (DP)** : est caractérisée par la présence d'agglutinats coexistant avec une remise en suspension totale des hématies. En cas de doute, la vérification au microscopique permet de révéler la présence d'agglutinats baignant dans une mer d'hématies libres.

7-1-3.1.8 Contrôle du système analytique

- **Le contrôle interne de qualité (CIQ)** : la réglementation impose la mise en œuvre de CIQ au moins une fois par jour. En ce qui concerne le TDA, il repose sur l'analyse, dans les mêmes conditions techniques, de 2 échantillons d'hématies sensibilisées respectivement par un anticorps IgG et par des fractions C3d du Complément.

- **Le contrôle de l'étape de lavage des hématies** : chaque réaction négative devrait être contrôlée avec des hématies de contrôle sensibilisées qui, en donnant une réaction positive, permettent d'éliminer le faux négatif dû à un oubli de répartition des antiglobulines ou à l'inhibition de celles-ci par un mauvais lavage des hématies [69].

7-1-3.2 Technique sur gel

Que ce soit en technologie manuelle ou en équipement automatisé, cette technologie est actuellement la technologie la plus utilisée. Cette technologie nécessite l'utilisation d'un élément filtrant avec une coupelle micro-filtre recouvrant la colonne filtrante. La colonne filtrante contient des billes ou du gel et de l'anti-globuline (IgG ou C3d).

Après avoir placé les globules rouges du patient dans la coupe, centrifuger la boîte. Lors de cette centrifugation, les globules rouges sont guidés vers le bas de la colonne filtrante. Pendant cette phase de migration, l'antiglobuline se liera aux globules rouges sensibilisés. Les globules rouges immobilisés avec de l'antiglobuline seront bloqués par des billes ou du gel. Par conséquent, ils n'atteindront pas le bas de la colonne. Ces kits ont également un contrôle réactif (contrôle), qui doit être négatif pour interpréter les résultats.

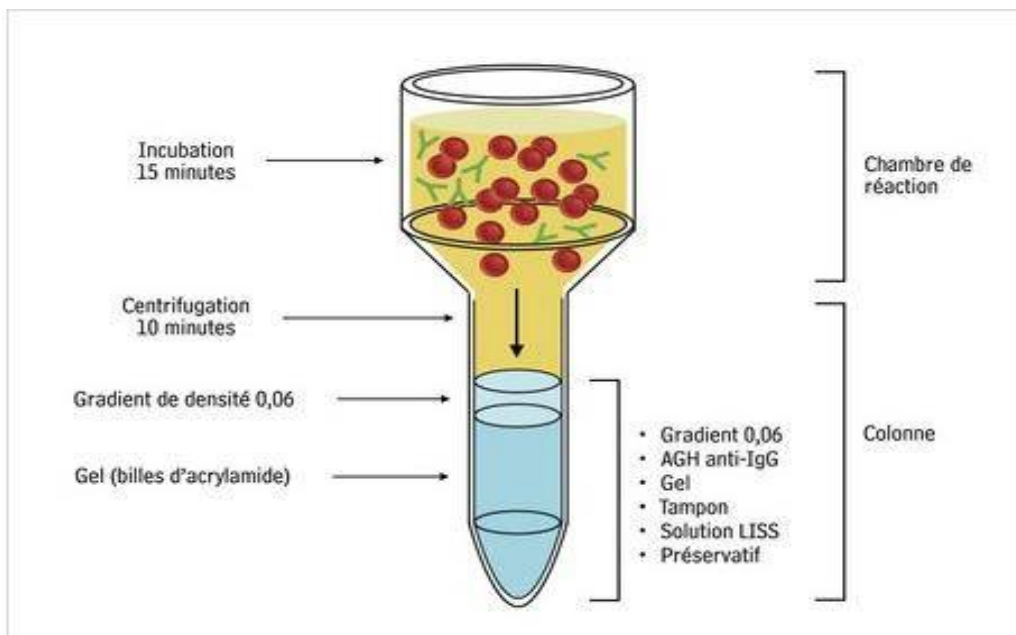


Figure 15: Représentation schématique d'un microtube [70].

7-1-3.2.1 Préparation des hématies

- **Les lavages** : sont inutiles pour les techniques de filtration. Elles utilisent, en effet, la centrifugation comme procédé mécanique pour extraire les hématies qui, par gravité différentielle arriveront les premières au contact des antiglobulines. Cette approche technologique, associée à un excès d'antiglobuline, évite tout risque d'inhibition des antiglobulines, même en absence de lavage.

- **La mise en suspension** : classiquement, en filtration, une suspension érythrocytaire de l'ordre de 0,8 % est utilisée. Comme pour d'autres techniques, des suspensions inadéquates peuvent être sources de faux négatifs.

7-1-3.2.2 Réactifs

Les antiglobulines : les deux antiglobulines monospécifiques anti-IgG et anti-C3d imposées par la réglementation sont prédistribuées dans les colonnes ainsi qu'un réactif témoin. Il existe, notamment pour le TDA chez le N-né, des supports avec uniquement de l'anti-IgG.

7-1-3.2.3 Lecture et interprétation des résultats

- **Une réaction positive** est caractérisée par la présence d'agglutinats piégés dans la colonne. L'intensité des réactions repose sur le niveau de blocage des hématies dans la colonne qui peut aller d'un arrêt total qualifié de 4+ à des hématies dispersées sur toute la hauteur de la colonne pour les réactions faibles.

- **Une réaction négative** est caractérisée par le rassemblement de toutes les hématies au bas de la colonne car celles-ci, non agglutinées, l'ont traversée sans s'y arrêter.

- **Une image de DP** est caractérisée par la présence d'agglutinats plus ou moins dispersés dans la colonne avec une proportion significative d'hématies situées au bas de la colonne. Ces réactions sont à distinguer de réactions faibles qui peuvent parfois laisser totalement passer des hématies faiblement sensibilisées. En cas de doute, la réalisation d'un test direct en tube avec contrôle microscopique permettra, dans la majorité des cas, de lever l'ambiguïté [71].

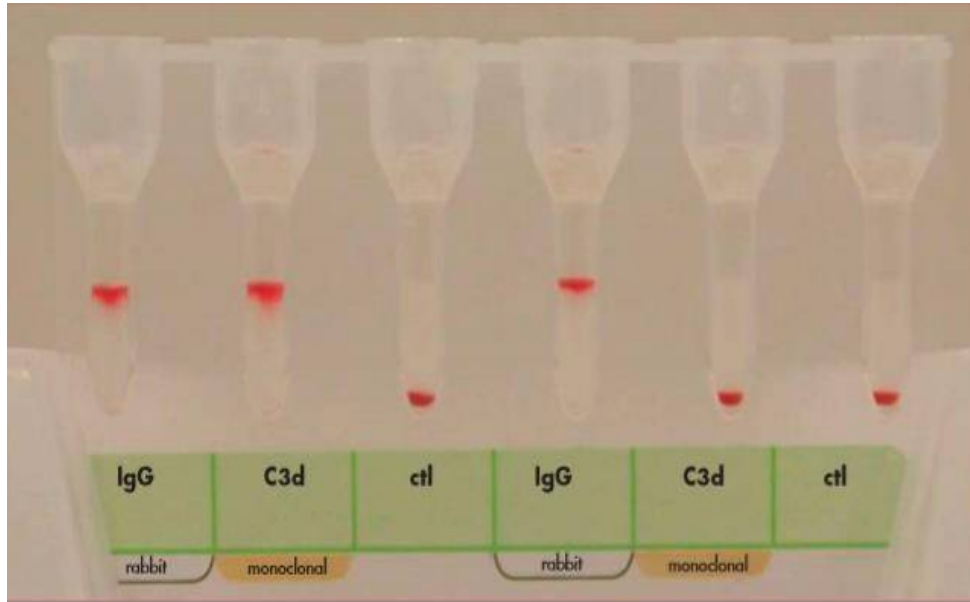


Figure 16: Exemples de revêtements érythrocytaires par des IgG et C3d ou par des IgG [72].

7-1-3.3 La technique d'immunoadhérence en microplaque

Les hématies du patient sont magnétisées extemporanément par la mise en suspension dans une solution magnétisante puis réparties dans le puits dans lequel est fixée l'antiglobuline. La microplaque est ensuite placée sur un aimant qui, attirant les hématies vers le fond du puits, se substitue à la centrifugation. Si les hématies sont sensibilisées, elles se fixent sous forme d'une monocouche homogène sur l'ensemble du puits. En absence de sensibilisation, elles se concentrent dans le centre du puits comme dans la technique d'immunocapture [73].

7-1-4 Sensibilité et limites

7-1-4.1 Faux positifs

- La positivité du test de Coombs peut s'observer en dehors d'une hémolyse auto-immunes, particulièrement après transfusion sanguine, à la suite d'injection de produits thérapeutiques d'origine humaine ou animale.
- Il est exceptionnel d'observer un test de Coombs positif en l'absence d'hémolyse auto-immune bien que la présence d'IgG ou de certaines fractions du C ait pu être décrit chez les sujets normaux.

- Un test de Coombs direct positif ne signifie pas obligatoirement AHAI (nombreux faux positifs.) peut notamment s'observer en cas d'adsorption non spécifique d'Ig dans diverses circonstances (hypergammaglobulinémie polyclonale, autre MAI, suites de l'administration d'Ig polyvalentes, myélome...)...) ou encore en cas d'anémie hémolytique de mécanisme immunologique induite par un médicament.

7-1-4.2 Faux négatifs

A l'inverse, le TDA peut être faussement négatif dans d'authentiques AHAI (~ 5 % des AHAI) :

- Lorsque les auto-anticorps sont présents en quantité trop faible (< 150-200 par GR)
- Lorsque l'affinité de l'auto-anticorps est faible et que celui-ci est éliminé lors du lavage des GR.

En raison d'un problème et/ou d'une erreur technique : lavage insuffisant des GR, test réalisé sur échantillon de sang non fraîchement prélevé (qui peut induire surtout une fixation isolée de C3).

- Lorsqu'il s'agit d'un AC de type IgA, ce qui est le cas dans environ 2 à 3 % des AHAI [19-75]. Ce qui explique la nécessité de demander systématiquement un TDA avec une antiglobuline anti-IgA lorsque le test est négatif en IgG et C3 .

Le diagnostic d'AHAI à TDA négatif stricto sensu ne peut donc être retenu qu'après avoir exclu les autres causes d'anémies hémolytiques constitutionnelles ou acquises, pouvant se révéler à l'âge adulte et doit être remis en question en l'absence de réponse à une corticothérapie [74].

7-2 Test de Coombs Indirect (Test à l'anti globuline humain indirect)

7-2-1 Définition de la RAI

On détecte des anticorps spécifiques à certains antigènes qui ne sont pas nécessairement présents dans les globules rouges du patient, mais qui peuvent l'être dans ceux d'autres personnes. Si le sérum prélevé sur un patient contenant ces anticorps est mélangé à des

globules rouges qui présentent ces antigènes spécifiques, les globules rouges seront recouverts d'anticorps. Une fois recouvertes, les cellules s'agglutineront après exposition au réactif de Coombs. Dans le diagnostic de l'érythroblastose fœtale, le sérum prélevé sur la mère Rh- ne réagit pas avec son propre sang, mais avec celui de son fœtus Rh+. Le sérum de la mère, qui contient des anticorps spécifiques au facteur Rh, est mélangé aux globules rouges Rh+. Les anticorps présents dans le sérum se lient aux cellules. Des anticorps anti-humains sont ensuite ajoutés pour lier les globules rouges. Le sérum peut être dilué et testé à plusieurs reprises, pour quantifier les anticorps dans le sérum [75].

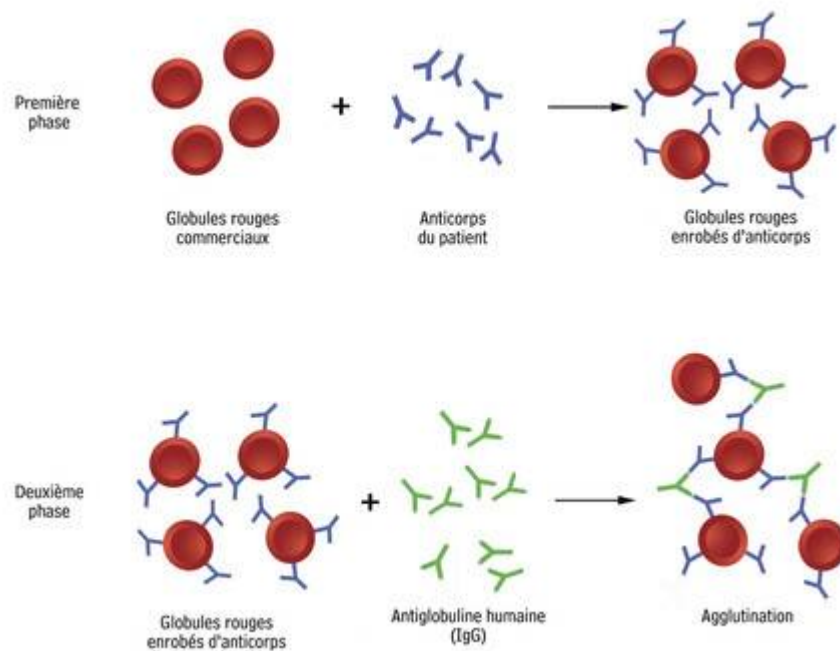


Figure 17: Test indirect à l'antiglobuline humaine [75].

7-2-2. Recherche des anticorps anti-érythrocytaires (RAI)

La RAI comporte 2 étapes dont l'enchaînement est sous la responsabilité du biologiste. En cas de RAI positive, l'identification obligatoire doit être pratiquée extemporanément ou adressée par le biologiste à un laboratoire référent.

La gamme d'HT de dépistage est désormais constituée a minima de 3 variétés permettant d'inclure les AG suivants :

RH1, RH2, RH3, RH4, RH5, RH6, KEL1, KEL2, KEL4, FY1, FY2, JK1, JK2, MNS1, MNS2, MNS3, MNS4, LE1,

LE2, P1 et LU2, et aussi une expression phénotypique

« homozygote » pour les AG les plus immunogènes : RH1, RH2, RH3, RH4, RH5, FY1, JK1, JK2, MNS3, et si possible FY2 et MNS4. Ces dispositions permettent d'augmenter le seuil de détection des AC.

En ce qui concerne la gamme d'HT d'identification, il est justifié d'imposer, en plus du nombre minimal de 10 HT, que les AG les plus immunogènes soient représentés a minima sur 2 hématies d'expression « homozygote » pour les antigènes RH1, RH2, RH3, RH4, RH5, RH6, FY1, FY2, JK1, JK2, MNS3, MNS4. L'identification de la spécificité de chaque anticorps, pour être exacte, nécessite de tester un nombre suffisant d'HT informatives. Il a été fixé à 3 possédant l'AG correspondant à l'AC suspecté et 3 dépourvus de ce même AG.

Par le passé la RAI était réalisée par la technique traditionnelle en tube et comportait 2 tests : le TIA et le test enzymatique. Ce dernier permettait un gain de sensibilité notamment pour détecter les anti-RH. Cependant la technique universelle permettant de mettre en évidence l'ensemble des AC cliniquement significatifs quelle que soit leur spécificité est le TIA dont la sensibilité était, lors d'une étude nationale réalisée en 1978 par la SFTS [76], d'environ 20 ng. L'avènement du procédé de filtration a permis d'augmenter le seuil de sensibilité du TIA, mais aussi celui du test enzymatique provoquant ainsi une « hypersensibilité » de détection d'« autopapaïne ».

Différentes études [77-78] montrent que le maintien de la technique enzymatique n'est plus justifié. En effet, celle d'Issitt portant sur 10 000 patients transfusés montre que les AC anti-érythrocytaires dépistés uniquement par la technique enzymatique ne présentent pas d'intérêt clinique. Une étude prospective française [79] portant sur 1060 échantillons de sérums de patients contenant des allo-AC confirme la bonne détection de ceux-ci par l'ensemble des procédés de filtration et TIA. Cependant, elle fait état de nombreuses réactions faussement positives et d'auto-AC en technique enzymatique.

Enfin, l'étude de plus de 3000 échantillons de sérums de patients avec des gammes industrielles et des préparations secondaires d'HT réalisées par l'établissement de transfusion a permis d'obtenir des dépistages d'AC positifs respectivement 606 et 506 fois. Les résultats de cette étude montrent :

- Que l'ensemble des AC immuns mis en évidence uniquement par le TIA : anti-KEL1, anti-FY, anti-JK, anti-MNS3 et anti-MNS4 ont été décelés;
- Une différence minime de sensibilité pour des AC décelables uniquement par la technique enzymatique et à des taux infradéTECTABLES : 1 anti-RH1, 1 anti-RH2, 8 « anti-RH3 » et 4 « anti-RH8 » sur les 135 anti-RH.

Il convient de rappeler que les examens d'immunohématologie ne sont pas des tests quantitatifs et que le seuil de détection des AC est de l'ordre de plusieurs nanogrammes.

La différence essentielle entre les 2 types d'HT utilisées porte sur la détection d'« auto-AC » dirigés contre les HT traitées par la papaine : 200 avec les HT commerciales contre 117 avec celles préparées à l'ETS. Une trop grande sensibilité entraîne de nombreuses fausses réactions positives qui sont fonction du traitement enzymatique et probablement du délai entre le prélèvement de sang et son traitement. Une étude relative à la réactivité des AG des HT en solution de conservation avait permis de le constater [80]. Cet excès de détection des « auto-AC » est préjudiciable aux patients, car il nécessite la mise en œuvre d'adsorptions fastidieuses et non dénuées de risque (dilution des sérums et des éventuels allo-AC masqués), entraînant un retard dans le rendu des résultats et la transfusion.

Il convient en revanche, de mentionner que la majorité des anti-RH3 et anti-RH8 actifs uniquement vis-à-vis des HT traitées par les enzymes, sont des anticorps « naturels » [81] ou des « auto-AC » reconnaissant préférentiellement les hématies possédant les AG spécifiques correspondants, imitant ainsi des allo-AC [82].

Une étude française portant sur 71 800 patients transfusés a montré également que 6 % des AC dépistés uniquement en technique enzymatique en post-transfusionnel (essentiellement des anti-RH3 et anti-RH8) n'avaient aucun intérêt transfusionnel et étaient « apparus » après transfusion de concentrés globulaires dépourvus des AG correspondants [83].

Enfin, une étude récente effectuée par le groupe immunohématologie de la SFTS [84] a précisé que le seuil de sensibilité du TIA vis-à-vis d'un standard anti-RH1 quel que soit le procédé de filtration est pour l'ensemble des 10 laboratoires participants de 5 ng. En technique enzymatique, le seuil de détection est similaire [85].

Quant au suivi des grossesses, l'étude anglaise de 1999 [78] réaffirme la non utilité de pratiquer la RAI en test enzymatique comme cela était mentionné dans le Guidelines [86]. La RAI est réalisée à la déclaration de la grossesse et son renouvellement vers les trente-quatrième–trente-sixième semaines d'aménorrhée si le premier examen est négatif. En effet, parmi les 7065 patientes testées, 230 (soit 3,26 %) présentaient une RAI positive et 62 seulement possédaient un AC actif uniquement en test enzymatique (soit 0,9 %). Cinquante-deux pour cent de ces AC pouvaient avoir une incidence clinique en raison de leur spécificité anti-RH : 22 anti-RH3, 7 anti-RH8, 2 anti-RH1 et 1 anti-RH4. Seulement 3 de ces AC devinrent actifs en TIA pendant la grossesse, tous furent détectés lors de l'examen du troisième trimestre et aucun des nouveau-nés ne fut atteint de maladie hémolytique néonatale.

La refonte des textes réglementaires de 1985 et 1992 [87,88] concernant les 2 prescriptions minimales obligatoires de RAI chez les femmes enceintes RH1 et sans antécédent transfusionnel ou obstétrical facilitera la tâche des prescripteurs.

Par ailleurs, la RAI peut être effectuée aussi bien sur plasma que sur sérum, par le TIA et les différents procédés de filtration. Deux études prospectives, l'une internationale [89] portant sur 3000 RAI et l'autre française [90] ayant étudié 3264 échantillons de patients possédant un AC, ont confirmé cette possibilité. Dans ces 2 études, l'ensemble des AC immuns ont été mis en évidence sur des échantillons de plasma. Étant donné la technique retenue pour la RAI, le CQI doit être pratiqué avec un AC actif en TIA et uniquement en TIA. La spécificité la plus représentative est l'anti-FY1, en effet, l'AG FY1 est très sensible aux enzymes, notamment celles élaborées par certaines bactéries comme la neuraminidase, témoin d'une contamination in vitro du réactif. Cette enzyme est en revanche, excrétée de façon physiologique par les hématies sénescents.

7-2-3 Les différents procédés

Plusieurs procédés sont utilisables : les techniques traditionnelles en tube ont été remplacées par les nouveaux procédés : colonnes de filtration, immuno-adhérence.

Les deux derniers sont préférables car ils présentent l'avantage de limiter les interventions manuelles et donc les risques d'erreur liés à certaines étapes de la méthodologie qui se trouve standardisée. Par ailleurs, ils sont entièrement automatisables et informatisables.

Quel que soit le procédé retenu, les réactifs doivent posséder un numéro d'enregistrement auprès de l'AFSSAPS et un numéro de conformité après contrôle du CNRGS.

Les nouveaux procédés de filtration permettent d'éliminer les deux causes d'erreurs essentielles dans la réalisation du test indirect à l'antiglobuline : les lavages qui sont souvent défectueux et l'omission d'addition d'antiglobuline.

Dans les techniques de filtration, après la phase d'incubation des hématies-tests avec les sérums, les hématies plus denses que les immunoglobulines plasmatiques pénètrent, lors de la centrifugation, dans la colonne de gel ou de microbilles, et peuvent réagir avec l'antiglobuline incorporée dans la colonne, en cas de sensibilisation. La phase plasmatique reste au-dessus de la colonne. Les étapes de centrifugation et de lecture restent néanmoins critiques.

Le biologiste se doit de choisir les procédés les plus performants, compte tenu de l'impact des résultats sur les risques transfusionnels ou obstétricaux et leur prise en charge.

7-2-4 Les étapes de la RAI [91-95]

7-2-4-1 Dépistage

La législation :

– oblige d'utiliser une gamme de dépistage comportant au moins trois hématies-tests O phénotypées qui doit permettre la détection des anticorps correspondants aux antigènes RH1 (D), RH2 (C), RH3 (E), RH4 (c), RH5 (e), KEL1 (K), KEL2 (Cellano), KEL4 (Kpb),

FY1 (Fya), FY2 (Fyb), JK1 (Jka), JK2 (Jkb), MNS1 (M), MNS2 (N), MNS3 (S), MNS4 (s), LE1 (Lea), LE2 (Leb), P1, LU2 (Lub).

Les phénotypes RH suivants doivent être obligatoirement représentés sur la gamme de dépistage :

RH : 1,2,-3,-4,5 ;

RH : 1,-2,3,4,-5 ;

RH : -1,-2,-3,4,5.

De plus, une expression phénotypique « homozygote » doit être respectée pour les antigènes FY1, JK1, JK2, MNS3 et recommandée pour les antigènes FY2 et MNS4.

En aucun cas ces hématies ne feront l'objet de mélange.

- indique comment exprimer les résultats :
- en cas de dépistage négatif : absence d'anticorps contre les antigènes étudiés,
- en cas de dépistage positif : présence d'anticorps anti-érythrocytaire dont la spécificité reste à déterminer,
- le résultat doit comporter par ailleurs les antigènes testés, le nombre d'hématies-tests utilisé et les techniques utilisées.

Tableau IX: Exemple de gamme d'hématies test de dépistage.

	RH 1 _{RH}	rR H2	rR H3	RH 4 _{RH}	RH 5 _{RH}	RH 8 _{RH}	KE L1 _K	KE L2 _K	KE L3 _K	KE L4 _K	FY 1 _{FY}	FY 2 _{FY}	JK 1 _{JK}	JK 2 _{JK}	LE 1 _{LE}	LE 2 _{LE}	P1	MN S1 _M	MN S2 _M	MN S3 _M	MN S4 _M	LU 1 _{LU}	LU 2 _{LU}
	D	C	E	c	e	Cw	K	k	Kpa	Kpb	Fy a	Fy b	Jk a	Jkb	Le a	Le b	P1	NS1	NS2	NS3	NS4	Lu a	Lub
I	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+
II	+	0	+	+	0	0	0	+	+	+	0	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	+	+
III	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	0	+

Les hématies sont numérotées de I à III. Les «+ » et « 0 » correspondent respectivement à la présence et l'absence d'antigènes érythrocytaires. Les phénotypes représentés répondent à des exigences réglementaires, exceptés les antigènes RH8, KEL3 et LU1 [10]. De plus, une expression « homozygote » doit être respectée pour les antigènes FY1 (Fya), JK1 (Jka), JK2 (Jkb), MNS3 (S) et recommandée pour les antigènes FY2 (Fyb) et MNS4 (s). De plus, les antigènes suivants doivent être représentés (sans exigence particulière) : KEL1 (K), KEL2 (cellano), KEL4 (Kpb), MNS1 (M), MNS2 (N), LE1 (Lea), LE2 (Leb), P1 et LU2 (Lub).

7-2-4-2 Identification

La spécificité des anticorps présents est déterminée en comparant la distribution des réactions positives et négatives obtenues avec la distribution de l'antigène dans la gamme des globules rouges utilisés.

Si possible, cette étape est réalisée sur des échantillons non décantés et non ouverts, si elle est réalisée par un laboratoire différent du laboratoire effectuant le dépistage.

Cette étape repose sur l'utilisation, outre la gamme de dépistage, d'au moins 10 hématies- tests. L'ensemble de ces hématies de groupe O doit comporter les antigènes suivants : RH1, RH2, RH3, RH4, RH5, RH6, RH8 (Cw), KEL1, KEL2, KEL3 (Kpa), KEL4, FY1, FY2, JK1, JK2, MNS1, MNS2, MNS3, MNS4, LE1, LE2, P1, LU1 (Lua), LU2.

Les phénotypes suivants doivent être représentés au moins sur deux hématies : KEL1, FY : 1,-2, FY : -1,2, JK : 1,-2, JK : -1,2, MNS : 3,-4, MNS : -3,4, P : -1.

Cette phase doit permettre l'identification d'un anticorps courant isolé ainsi qu'une orientation dans cette identification des mélanges d'anticorps.

L'interprétation des réactions positives et négatives observées est complexe et nécessite qualification, formation et expérience certaine.

7-2-5 Les différentes techniques de rai [91-95]

7-2-5-1 Le test indirect à l'antiglobuline

Le test indirect à l'antiglobuline (IAT) est la réaction fondamentale dans la recherche des anticorps anti-érythrocytaires. Il existe plusieurs variantes qui ont leurs avantages propres.

1- Le test indirect normal

- * **Lavage** : la gamme d'hématies-tests doit être lavée trois fois en solution saline 0,15M et mise en suspension à 3 % en solution saline 0,15M.
- * **Sensibilisation** : mettre en présence dans un tube à hémolyse identifié 100 mL de sérum à tester 50 mL de la suspension globulaire. Laisser incuber à + 37 °C durant 35 min au bain-marie ou 40 min à l'étuve.

- * **Lavage** : les hématies sensibilisées doivent de nouveau être lavées trois fois en solution saline en décantant tout le surnageant après chaque lavage.
- * **Phase antiglobuline** : ajouter dans chaque tube 100 ml d'antiglobuline, puis centrifuger pendant 1 min à 130 g. La lecture est macroscopique ou microscopique

2- Le test indirect en basse force ionique

L'utilisation d'un milieu basse force ionique (BFI) entraîne une réduction du temps d'incubation à 12 min au bain-marie et à 15 min à l'étuve.

3- Le test indirect par filtration (gel ou billes)

Le test indirect par filtration doit être effectué selon les recommandations du producteur. C'est le test le plus performant, le plus sécurisant et le plus utilisé de nos jours.

4- Le test indirect en phase solide

Le test indirect en phase solide doit être effectué selon les conditions techniques décrites par le producteur.

7-2-5-2 Le test aux enzymes protéolytiques

Le traitement des hématies-tests lavées de la gamme doit être réalisé selon les conditions précisées par le producteur sur la notice d'utilisation. Les temps de traitement doivent être scrupuleusement respectés et suivis immédiatement de lavages préconisés.

1- Technique par filtration

Le test par filtration sur hématies traitées par les enzymes doit être effectué selon les procédures validées et décrites par le producteur.

2- Technique en phase solide

Le test en phase solide doit être effectué selon les conditions techniques décrites par le producteur.

7-2-6 Interprétation et rendu des résultats [91-95]

Le dépistage est soit négatif, soit positif. Si le dépistage est négatif, la RAI est négative. Si le dépistage est positif, il convient de déterminer la spécificité des anticorps.

L'identification de la spécificité nécessite de trouver la relation entre les réactions positives et négatives observées, qui est liée à la présence ou à l'absence d'antigène sur les globules rouges correspondant à l'anticorps suspecté.

Dans tous les cas, il faudra, a minima, procéder :

- à une validation phénotypique pour vérifier l'absence de l'antigène correspondant à l'anticorps suspecté,
- Au phénotypage RH-KEL1, puisque tout patient possédant (ou ayant possédé) un anticorps doit être transfusé avec du sang qualifié phénotypé et compatibilisé.

L'identification nécessite de comprendre la fréquence des différents phénotypes dans tous les systèmes de groupes sanguins. L'anticorps le plus courant est dû à l'immunogénicité de l'antigène correspondant. L'intensité de l'antigène des globules rouges du donneur changera. Selon le système impliqué, l'effet de la dose de certains anticorps dépend de l'utilisation. La méthode de détection des anticorps est la technologie prioritaire, etc., pour tester un autre type différent de réaction d'agglutination.

Plusieurs situations peuvent être rencontrées :

1 - L'identification la plus simple est celle qui met en évidence un anticorps unique à condition :

- Qu'il soit en concentration suffisante pour agglutiner toutes les hématies testées quelle que soit leur expression phénotypique homozygote ou hétérozygote pour un antigène donné,
- Que le nombre de réactions positives observées soit suffisant, sinon, il faudra tester le sérum sur plusieurs hématies-tests supplémentaires possédant l'antigène concerné.

2 - Les résultats de l'étude des réactions positives et négatives obtenues avec les hématies-tests de la gamme d'identification font suspecter un mélange d'anticorps. Chacune des spécificités suspectées doit être confirmée de façon séparée en utilisant plusieurs gammes différentes d'hématies-tests d'identification. Dans certaines situations,

il est parfois nécessaire de procéder à des adsorptions du sérum sur des hématies-tests sélectionnées, possédant l'un des antigènes concernés par le mélange d'anticorps. On procède ensuite à une élution secondaire de l'anticorps fixé sur ces hématies, pour obtenir l'isolement d'un premier anticorps à l'état libre. Le sérum adsorbé sera de nouveau testé sur les différentes gammes d'hématies-tests d'identification pour confirmer la ou les spécificité(s) du ou des anticorps non adsorbé(s).

3 - Le sérum testé agglutine toutes les hématies-tests des différentes gammes d'identification. Dans ce cas, il peut s'agir là encore d'un mélange complexe d'anticorps, d'un anticorps dirigé contre un antigène de grande fréquence ou « public », ou d'un auto-anticorps.

On procède alors à la réalisation du témoin autologue :

- S'il s'avère positif, il convient d'adsorber l'auto-anticorps pour déceler et identifier un éventuel allo-anticorps masqué. Les modalités d'adsorption dépendent des antécédents transfusionnels ou obstétricaux proches ou lointains (adsorption homologue avec des hématies-tests dépourvues de l'ensemble des antigènes immunogènes, ou auto-adsorption) ;
- S'il s'avère négatif, il s'agit d'un problème encore plus complexe concernant :
- L'identification correcte des anticorps, qui nécessite de disposer de gammes d'hématies-tests (conservées en azote à $-160\text{ }^{\circ}\text{C}$) informatives ou dépourvues d'antigènes de grande fréquence,
- Mais aussi la disponibilité d'unités de sang rare, en cas de besoin transfusionnel.

L'étude des problèmes complexes d'identification précités relève d'un laboratoire référent régional de l'établissement français du sang qui fera éventuellement appel au CNRGS.

Dans tous les cas, les résultats de RAI positive doivent mentionner les spécificités des anticorps identifiés et la validation du phénotype du patient. Le résultat sera complété par une mention biologique faisant état de l'obligation de demander, en cas de besoin transfusionnel, du sang phénotypé RH-KEL1 a minima et qualifié compatible. Pour les anticorps dirigés contre un antigène de grande fréquence, un programme de transfusion autologue programmée pourra éventuellement être envisagé en fonction de l'état du patient, sinon, il faudra recourir au CRNGS. S'il s'agit d'une femme enceinte, il sera fait état du risque d'incompatibilité foeto-maternelle et de la nécessité de sa prise en charge par un laboratoire référent régional de l'EFS en coordination, initialement, avec un centre spécialisé dans le diagnostic anténatal, puis secondairement avec le centre régional de thérapie fœtale.

7-2-7 Les enjeux cliniques d'une RAI

7-2-7-1 Sécurité transfusionnelle

RAI est un examen qui doit être réalisé dans le cadre de la prévention des accidents d'hémolyse immunitaire transfusionnelle: tout patient pouvant être transfusé dans un court laps de temps; dans les transfusions sanguines répétées, il est prédominant dans une série de transfusions sanguines; une partie du suivi après transfusion sanguine recommandé par la réglementation est réalisée sur des patients transfusés. traitement. La RAI doit également être pratiquée pendant la transplantation ou la transplantation et pendant la période prénatale ou périnatale conformément à la réglementation relative au suivi de la grossesse. En l'absence de prescription, cet examen doit être réalisé à l'initiative du biologiste [96-97]. Une RAI doit généralement être réalisée dans un délai maximal de 3 jours avant une transfusion de CGR [96] et constitue un des piliers de la prévention des effets indésirables receveurs (EIR) par incompatibilité immunologique. Ces EIR ont un délai de survenue et une sévérité variables, aboutissant au décès du patient dans les cas les plus graves [98]. Cependant, grâce aux procédures de sécurité transfusionnelle appliquées en France, 99,3 % des EIR liés aux allo-immunisations anti-érythrocytaires étaient non sévères en 2012, et aucun décès n'a été rapporté [99]. Ainsi, toute RAI ayant permis l'identification d'une allo-immunisation anti-érythrocytaire impose la transfusion de CGR compatibles au laboratoire. Cette épreuve directe de compatibilité (EDC) au laboratoire consiste à mettre en présence, dans les mêmes

conditions techniques que la RAI, le plasma du receveur et les hématies du CGR devant lui être transfusées. Seuls les CGR pour lesquels l'épreuve directe de compatibilité est négative pourront être transfusés [97]. Dès lors qu'un patient présente ou a présenté une allo-immunisation antiérythrocytaire, il devra être transfusé tout au long de sa vie avec des CGR compatibilisés « un anticorps un jour, un anticorps toujours ». En cas d'urgence transfusionnelle dite « vitale », le prescripteur peut être amené à réaliser des transfusions avant l'obtention des résultats des RAI et des éventuelles EDC. Trois niveaux d'urgence ont ainsi été définis : l'urgence vitale immédiate, l'urgence vitale et l'urgence relative, pour lesquels les CGR doivent être respectivement délivrés sans délai, dans un délai de 30 minutes et de 3 heures [96]. Le délai minimal de réalisation d'un dépistage de RAI étant de 45 minutes, il est impossible pour le LBM de répondre dans les délais d'une urgence vitale (figure 18).

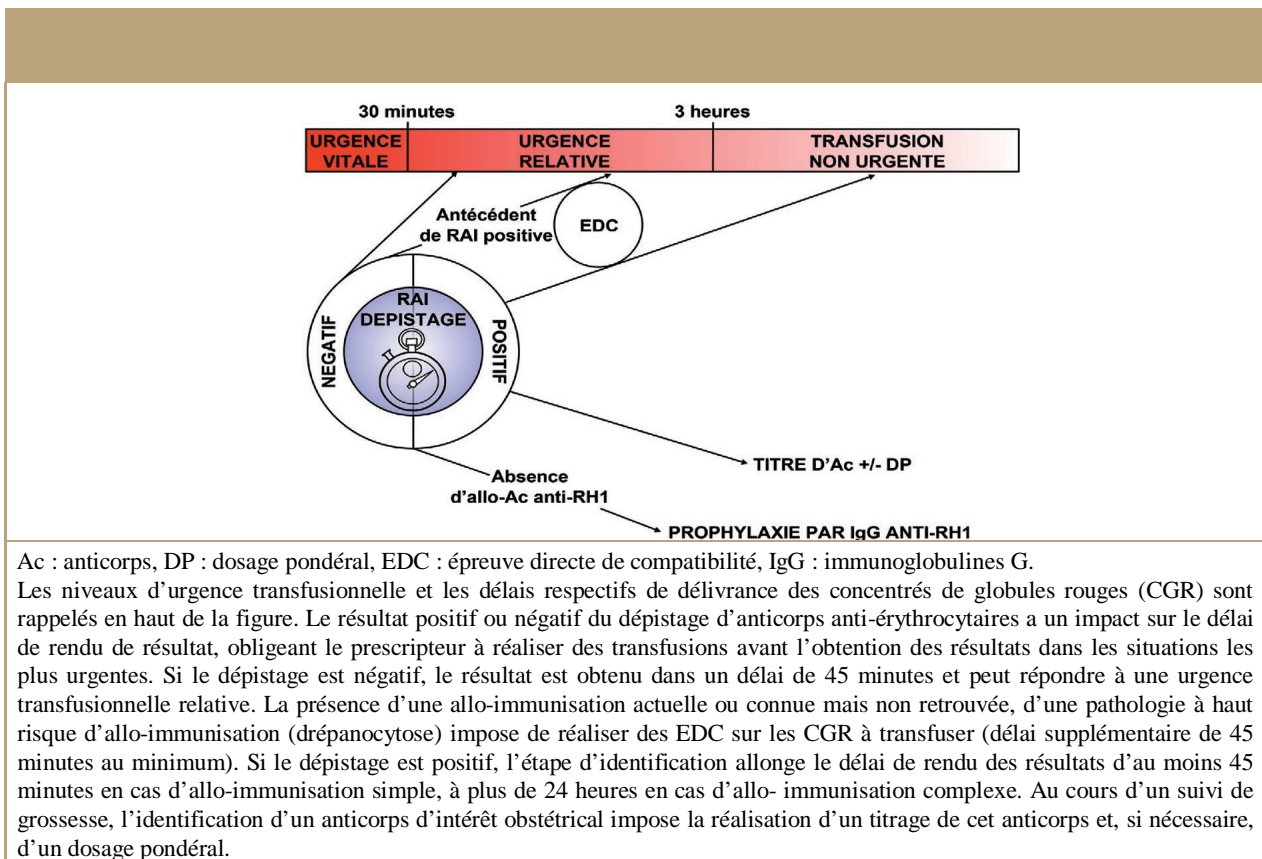


Figure 18: Position centrale du dépistage d'anticorps anti-érythrocytaires dans la prise en charge transfusionnelle et obstétricale [137].

Par conséquent, dans les situations d'urgence vitale, la sécurité transfusionnelle peut être fragilisée, avec un risque immunologique supplémentaire à mettre en balance avec le risque vital de la pathologie en cours. La proximité et la coopération entre les LBM et les services de délivrance de produits sanguins labiles (PSL) sont donc de première importance pour adapter au plus vite la conduite transfusionnelle. Selon les données publiées, il y aurait moins de 1 % d'incidents immunohémolytiques aigus dans les situations d'urgence vitale [100, 101]. Ces chiffres doivent cependant être interprétés avec prudence, car ils sont issus d'enquêtes rétrospectives. La prescription d'une RAI est également obligatoire dans un délai de 1 à 3 mois suivant un épisode transfusionnel, dans le cadre de l'hémovigilance [96]. La rigueur de ce suivi est primordiale, car l'allo-immunisation anti-érythrocytaire reste un événement de survenue imprévisible et les allo-anticorps apparaissent et disparaissent au rythme des stimulations. Les anticorps dépistés et identifiés dans les semaines qui suivent une transfusion de CGR, peuvent ne plus être détectables à distance de la transfusion, et exposent donc le patient au risque d'incident transfusionnel potentiellement sévère par incompatibilité immunologique. Dans une population caucasienne, la prévalence globale de l'allo-immunisation survenant après une première transfusion de CGR de phénotype non compatible est faible, entre 2 et 3 % [102, 103]. L'incidence cumulée d'allo-immunisation augmente graduellement avec le nombre de CGR transfusés, respectivement de 1 à 6,5 % après un premier épisode transfusionnel de 5 à 40 CGR [102]. De nombreux autres facteurs interviennent dans le processus d'allo-immunisation, expliquant que la prévalence varie selon la sous-population de patients considérée [104]. Chez les patients drépanocytaires, elle peut atteindre 58 % du fait des particularités antigéniques de leurs phénotypes érythrocytaires, de la difficulté à trouver des CGR phénocompatibles, du nombre éventuellement élevé d'épisodes transfusionnels, de l'état inflammatoire chronique et de la physiopathologie particulière de la drépanocytose [104, 105].

7-2-7-2 Diagnostic de l'incompatibilité fœto-maternelle

L'objectif premier est de dépister et identifier les alloanticorps d'intérêt obstétrical, c'est-à-dire susceptibles d'induire, par incompatibilité fœto-maternelle, une maladie hémolytique chez le fœtus et/ou le nouveau-né. Même si de nombreuses spécificités

d'anticorps peuvent être identifiées dans le plasma maternel, les trois allo-anticorps d'intérêt obstétrical les plus fréquents sont les anti-RH1 (anti-D), anti-RH4 (anti-c) et anti-KEL1 (antiKell), représentant respectivement 35 %, 37 % et 13 % des allo-anticorps identifiés ; ils sont à l'origine, respectivement, de 88 %, 8 % et 2 % des incompatibilités fœto-maternelles sévères [106]. De plus, la connaissance de la présence d'un allo-anticorps est indispensable en cas de complications hémorragiques au moment de l'accouchement, nécessitant des transfusions de CGR.

7-2-7-3 Prévention de l'allo-immunisation anti-RH1 chez les femmes enceintes

la RAI est pratiquée dans le cadre de la prévention de l'allo-immunisation anti-RH1 chez les femmes enceintes de phénotype RH :-1 (D-) [107, 108]. En effet, l'antigène RH1 est le seul pour lequel il existe une immunoprophylaxie, sous la forme d'une solution injectable d'immunoglobulines IgG anti-RH1. Dans les jours qui précèdent la réalisation de cette prophylaxie, il est impératif de vérifier l'absence d'allo-immunisation anti-RH1, car cette dernière est inutile et inefficace si la patiente est déjà immunisée contre l'antigène RH1 [107]. En résumé, au cours de la grossesse, la RAI a principalement un rôle « sentinelle ». L'identification d'un alloanticorps anti-érythrocytaire chez la femme enceinte génère un bilan complémentaire visant à évaluer son retentissement sur le fœtus, et à orienter la prise en charge [109, 110]. Parmi les examens complémentaires, l'évaluation du titre des allo-anticorps anti-érythrocytaires d'intérêt obstétrical et le dosage pondéral des allo-anticorps anti-RH ont une bonne valeur prédictive du risque hémolytique in utero [106]. Ils sont effectués en complément de la RAI, pour suivre l'évolution de l'alloimmunisation au cours de la grossesse. L'existence d'une allo-immunisation anti-érythrocytaire dangereuse pour le fœtus ou le nouveau-né justifie que la patiente soit prise en charge dans une maternité spécialisée dans le suivi des grossesses à risque. Le rôle du biologiste est donc déterminant pour orienter cette prise en charge dans les meilleurs délais et fournir les éléments immunohématologiques pertinents au suivi.

7-2-8 Difficultés [111]

La RAI est une analyse essentielle pour assurer la sécurité des patients dans le cadre :

- de la prévention et du diagnostic des incompatibilités anti-érythrocytaires en transfusion sanguine ;
- de la surveillance des incompatibilités foeto-maternelles non ABO en obstétrique.

La RAI est un examen simple sur le plan technique mais dont l'interprétation en cas de positivité peut être extrêmement difficile. Là encore, comme tout examen immunohématologique, la RAI doit faire l'objet de CQI au minimum quotidiens permettant de valider le process utilisé. En cas de dépistage positif, l'identification de la spécificité nécessite de trouver une relation entre les réactions positives et négatives observées avec la présence ou l'absence d'un antigène sur les hématies testées correspondant à l'anticorps suspecté. De plus, l'interprétation des résultats nécessite une validation phénotypique pour vérifier l'absence de l'antigène correspondant à l'anticorps suspecté.

L'identification du ou des anticorps fait appel aux connaissances des fréquences des différents phénotypes dans tous les systèmes de groupes sanguins, les anticorps les plus fréquemment rencontrés en raison de leur immunogénicité, les effets doses de certains anticorps, les techniques préférentielles de mise en évidence des anticorps en fonction des procédés utilisés, etc.

Des difficultés peuvent être rencontrées dans l'interprétation des identifications dans les cas suivants :

- Un seul anticorps mais de concentration faible. Cette faible concentration n'entraîne l'agglutination que des hématies d'expression homozygote et non pas celles d'expression hétérozygote. Une telle situation peut compliquer l'étape d'interprétation ;
- Le nombre de réactions positives observées est faible du fait de la rareté de l'antigène ;

- Le nombre de réactions négatives est très faible ne permettant pas d'éliminer simplement une association avec un autre anticorps. Il faut donc augmenter le nombre d'hématies-tests utilisées dans l'étape d'identification ;
- Un niveau supérieur de difficulté peut être représenté par l'association de plusieurs anticorps. Dans le cas d'un mélange d'anticorps irréguliers, chacune des spécificités anticorpales rencontrées doit être considérée de façon séparée. Ceci implique l'utilisation de plusieurs gammes différentes d'hématies-tests d'identification. Dans certaines situations il est également parfois nécessaire de procéder à des adsorptions du sérum sur des hématies-tests sélectionnées possédant un des antigènes concernés par le mélange des anticorps. On procède ensuite secondairement à une élution de l'anticorps fixé sur ces hématies pour l'isolement du premier anticorps. Le sérum adsorbé sera de nouveau testé sur les différentes gammes d'hématies-tests d'identification pour confirmer la ou les spécificités du ou des anticorps non adsorbés ;
- Un troisième niveau de difficultés peut être représenté par un sérum qui agglutine toutes les hématies-tests ou la quasi-totalité des hématies-tests des différentes gammes d'identification. Il peut bien entendu s'agir d'un mélange complexe d'anticorps, des anticorps dirigés contre un antigène de très grande fréquence ou d'un auto anticorps. Il est alors impératif de réaliser le témoin autologue.
 - S'il s'avère positif, il s'agit d'un auto anticorps. Il convient alors d'adsorber cet auto anticorps à la recherche d'un éventuel allo-anticorps masqué. Les modalités d'adsorption dépendent de l'existence d'antécédents transfusionnels obstétricaux. (autoadsorption ou allo-adsorption) ;
 - Si le témoin autologue est négatif, il s'agit alors d'un mélange très complexe d'allo anticorps ou d'un allo anticorps reconnaissant un antigène public. L'identification nécessitera alors le recours à des hématies informatives rares conservées en azote liquide et dépourvues d'antigène de grande fréquence. La résolution de ce dernier type de problème nécessite le recours à un laboratoire référent et éventuellement au Centre national de référence sur les groupes sanguins.



Applications



IV Applications

1- Transfusion

1-1 L'immuno-hématologie « donneur »

La définition des caractéristiques immuno-hématologiques du produit sanguin a une fiabilité qui repose, pour chaque don, sur le lien indéfectible « don-tube échantillon-donneur » au moment du prélèvement et au laboratoire et sur la qualité des analyses de qualification biologique du don (QBD). La sécurité est ici fondée sur le strict respect des bonnes pratiques spécifiques à ces laboratoires dont l'automatisation complète inclut obligatoirement le transfert des résultats dans le logiciel médico-technique de l'opérateur [112] ; sans intégration informatique préalable des résultats, le produit fini ne peut être ni étiqueté ni libéré. Ces analyses comportent : le groupage ABO et RH:1(D) standard du don, qui détermine obligatoirement ces groupes par deux réalisations lors des deux premiers dons puis systématiquement sur une seule réalisation lors de tous les dons suivants ; le phénotypage RH-KEL:1, qui détermine obligatoirement les antigènes RH:2 à 5 (C,c,E,e) du système RH et l'antigène KEL:1 (K ou Kell) du système KEL. Cette analyse obligatoire est réalisée lors des deux premiers dons et chaque détermination est basée sur deux réalisations. Elle est alors considérée comme acquise et sera désormais inscrite sur l'étiquette des dons suivants ; le phénotypage étendu à d'autres systèmes de groupes sanguins est une analyse optionnelle qui consiste à ajouter la détermination d'Ag qui peuvent occasionnellement poser des problèmes. En pratique, il s'agit des systèmes FY/Duffy, JK/ Kidd et MNS. Lorsque deux déterminations ont été réalisées, le donneur est considéré comme identifié pour ces groupes-là et les résultats pourront en être exploités ultérieurement sans avoir à refaire les analyses ; l'introduction du génotypage érythrocytaire à haut débit par biologie moléculaire fait aujourd'hui l'objet de réflexions. Il permettrait de réaliser à une forte cadence la détermination des groupages déjà cités et d'étendre le génotypage en tant que de besoin pour la prise en charge de certains patients (ou certaines populations de patients) ; la détection des Ac anti-érythrocytaires est obligatoirement répétée sur chaque don; elle est réalisée par un test indirect à l'antiglobuline sur un panel d'hématies poolées. Une détection positive impose d'inscrire la spécificité sur

l'étiquette du PSL afin qu'il ne soit pas transfusé à un patient possédant l'Ag correspondant ; la détection des Ac anti-A et anti-B « immuns », caractérisés par un titre élevé d'agglutinines et leur nature IgG, identifie les dons comme « dangereux ». Les produits correspondants pourraient entraîner une hémolyse chez les patients possédant l'Ag correspondant. Cela ne concerne que les PSL riches en plasma. La mention : « à réserver à la transfusion isogroupe » sera portée sur l'étiquette du produit.

1-2 L'immuno-hématologie « receveur »

La sécurité immuno-hématologique de tous les patients repose sur la prévention des erreurs d'identification et concerne les phases pré, per, et post-transfusionnelles. La sécurité transfusionnelle comporte une identification rigoureuse du patient, du prescripteur et des tubes d'analyses prélevés pour le laboratoire. Les examens immuno-hématologiques pré-transfusionnels doivent être valides et impérativement vérifiés, en cas de doute notamment sur l'identification du patient. Ils sont réglementairement définis dans une annexe du guide de bonne exécution des analyses (GBEA) [113]. La délivrance d'un PSL exige toujours ou nécessite selon les cas les examens suivants : un groupage ABO valide, reposant sur une double détermination réalisée sur deux prélèvements différents. Chaque détermination doit comporter une ou deux réalisations indépendantes, selon que la méthode utilisée est respectivement automatique ou manuelle. Tout résultat ambigu, discordant ou incohérent avec les données antérieures impose des investigations complémentaires avant de rendre le résultat ; un groupage RH:1 doit toujours être associé au groupage ABO, recherchant la présence de l'Ag RH:1/D détectable par un réactif « anti-D » monoclonal ; un phénotypage RH-KEL:1 qui consiste à rechercher les 4 autres Ag principaux du système RH et l'antigène KEL:1 du système KEL à l'aide d'Ac monoclonaux ; la RAI qui doit être réalisée à l'aide d'une technique indirecte à l'antiglobuline (test de Coombs indirect). Elle comporte une première étape de dépistage qui consiste à tester le sérum ou le plasma du patient vis-à-vis d'un panel d'hématies standardisées comportant une gamme d'Ag réglementairement définie. La validité d'un résultat négatif est de 72 h (elle peut être allongée à 3 semaines en l'absence d'antécédents de transfusion ou de grossesse dans les 6 derniers mois). Un dépistage positif impose une deuxième étape d'identification qui consiste à tester le sérum ou le plasma vis-à-vis d'un panel

discriminant et informatif dont la composition antigénique est réglementairement définie ; chez les patients ayant une immunisation connue ou les polytransfusés itératifs on ajoutera : un phénotypage étendu [FY, JK, MNS] qui consiste à rechercher, en routine, 6 Ag (FY:1, FY:2, JK:1, JK:2, MNS:3 et MNS:4) à l'aide des Ac correspondants ; une épreuve de compatibilité au laboratoire avant transfusion, qui consiste à tester les hématies sélectionnées vis-à-vis du sérum ou du plasma du patient. Elle est indiquée chez les patients ayant ou ayant eu une RAI positive et chez certains polytransfusés comme les patients drépanocytaires ; l'ensemble du processus analytique de groupage est encadré par la pratique quotidienne d'un contrôle de qualité interne (CQI).

1-3 Les dérogations en conditions d'urgence

Les situations d'urgence peuvent conduire à moduler l'attitude vis-à-vis des examens nécessaires. L'urgence vitale immédiate (UVI) impose de prélever l'analyse et de mettre immédiatement en œuvre la transfusion de sang supposé compatible en l'ajustant ensuite en fonction des résultats immuno-hématologiques ; l'urgence vitale (UV), différée à 30 minutes, permet de transfuser du sang compatible avec un groupage, ABO, RHD, et un phénotype Rh-Kell en prenant ultérieurement en compte les résultats de la RAI. Au-delà de ce délai, un examen complet doit être réalisé.

1-4 L'entourage sécuritaire per- et post transfusionnel

La sécurité immuno-hématologique per- et post-transfusionnelle comporte plusieurs étapes identifiées: contrôle lors de la délivrance, contrôle de conformité à la réception dans le service, injection du PSL dans les 6 heures après la délivrance, contrôle ultime au lit du malade (pour les CGR) dont l'objet est de vérifier la compatibilité ABO (figure19). La surveillance pertransfusionnelle doit s'attacher à détecter le plus tôt possible tout signe de mauvaise tolérance et spécifiquement ici tout signe évocateur d'un accident d'incompatibilité qui conduirait à un arrêt immédiat de la transfusion et à la mise en œuvre du traitement, des investigations et de la procédure d'information du système d'hémovigilance. En phase post-transfusionnelle, la traçabilité du PSL doit être assurée sous la responsabilité de l'établissement de soins (ES) et de l'établissement de transfusion (ETS) ainsi que la tenue à

jour du dossier transfusionnel par l'établissement transfuseur. Après la fin de l'épisode transfusionnel, une prescription de RAI doit être impérativement faite ; celle-là devra être réalisée dans un délai de 1 à 3 mois et ses résultats seront impérativement transmis au prescripteur.

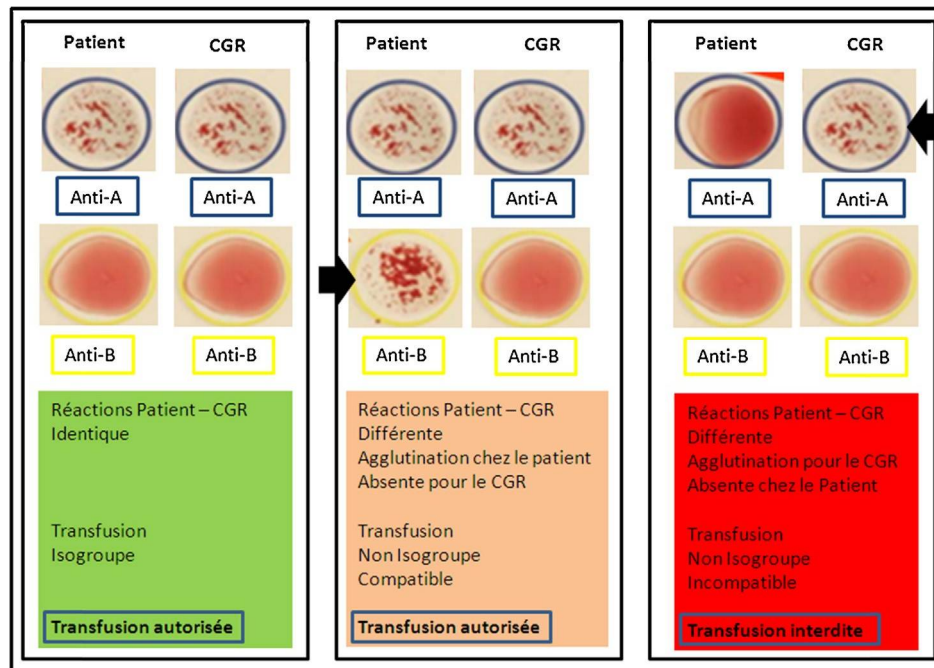


Figure 19: Carte de contrôle ultime au lit du patient [138].

Conduite à tenir

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

2- Surveillance immuno hématologique de la femme enceinte

La surveillance immuno-hématologique de la femme enceinte a quatre objectifs :

- Dépister l'allo-immunisation ;
- Surveiller son évolution ;
- Assurer la sécurité transfusionnelle ;
- Mettre en œuvre la prophylaxie RH.

Depuis 1940, des tests immunohématologiques pour le diagnostic prénatal sont disponibles. Après plus de 60 ans de pratique, elles se sont développées, mais elles ne peuvent à elles seules déterminer la gravité d'éventuelles maladies hémolytiques périnatales. Les tests de laboratoire peuvent aider les obstétriciens avec d'autres indicateurs à prédire les dommages fœtaux.

2-1 Le dépistage de l'allo-immunisation

Il convient de respecter les textes réglementaires concernant les prescriptions obligatoires [114,115].

2-1-1 Détermination du typage érythrocytaire ABO-RH-KEL1

La détermination des groupes sanguins ABO-RH1 et du phénotype RH-KEL1 au 3ème mois et au 6ème ou 7ème mois de la grossesse.

2-1-2 RAI

Le dépistage (Tableau X) de l'allo-immunisation dépend du statut immunologique de la mère. Comme le montre le Tableau la RAI doit être programmée à :

- Au moins à deux reprises (premier et sixième ou septième examens prénatals) chez les femmes enceintes de phénotype RH1 et sans antécédent transfusionnel ;
- Au moins à quatre reprises (premier, quatrième, sixième et septième examens prénatals) chez les femmes enceintes de phénotype RH1 avec antécédent transfusionnel et chez les femmes de phénotype RH :-1 ;

- A l'accouchement chez les femmes de phénotype RH :-1 avant l'injection d'«immunoglobuline anti-RH » ;
- Et chez toutes les femmes quel que soit leur phénotype RH en cas de besoin transfusionnel.

Il est désormais possible de réaliser une RAI sur des échantillons de sang avec des anticoagulants en utilisant une seule technique: le test indirect à l'antiglobuline (TIA). Elle se déroule toujours en deux étapes: dépistage et identification. Si un dépistage positif est réalisé, un test d'identification des anticorps anti-érythrocytaires doit être réalisé sans attendre les tests prénataux de suivi [116]. Il comprend la détermination de la spécificité des anticorps présents et la vérification de l'absence d'antigènes correspondants pour identifier les patients à risque d'IFM. S'il y a des anticorps susceptibles de provoquer un accident IFM, le RAI doit être identifié et titré (ainsi que le poids anti-RH) dans un court laps de temps de trois à quatre semaines, jusqu'au 20^e elle. De plus, une comparaison doit être envisagée toutes les deux semaines.

Dans certains cas d'immunisation sévère, un contrôle fréquent est nécessaire, même avant la vingtième SA, et d'autant plus en fin de grossesse où le rythme peut être hebdomadaire.

Tableau X: Calendrier des RAI.

Femme enceinte	Date des RAI
Femme RH1 primigeste sans antécédents transfusionnel	Avant la fin du 3ème mois Au cours du 8ème ou 9ème mois
Femme RH1 primigeste avec antécédents transfusionnel	Avant la fin du 3ème mois Au cours du 6ème mois Au cours du 8ème mois Au cours du 9ème mois
Femme RH : -1	Avant la fin du 3ème mois Au cours du 6ème mois Au cours du 8ème mois Au cours du 9ème mois Avant l'injection d'immunoglobuline anti-RH Dans les huit semaines suivant l'accouchement
Chez toutes les femmes	En cas de besoin transfusionnel
Femme allo-immunisées	RAI régulièrement avec titrage et dosage pondéral (pour les anti-RH)

2-2 La surveillance de l'allo-immunisation

2-2-1 Méthodes d'évaluation du risque hémolytique in utero

Le risque d'hémolyse in utero est estimé en étudiant les antécédents médicaux obstétricaux, notamment si le fœtus est incompatible avec le fœtus, les titres et les concentrations d'anticorps qui augmentent généralement de manière significative pendant la grossesse. Quelle que soit la spécificité, tout anticorps IgG ayant un titre supérieur ou égal à 1/16 ou une concentration supérieure ou égale à 0,7 g / ml (pour les anti-RH) peut provoquer une anémie foetale. C'est pourquoi il doit y avoir des femmes enceintes vaccinées spécialisées dans les services de diagnostic prénatal et les services d'immunohématologie impliqués dans ce domaine d'activité. Recherche sur les anticorps, y compris le titrage TIA et la détermination du poids.

2.2.1.1. Le titrage.

La titration des anticorps doit être effectuée pendant la grossesse. Il comprend le test du plasma ou du sérum et sa dilution géométrique par rapport aux globules rouges, avec un rapport de 2, et l'antigène des globules rouges correspond à l'anticorps identifié immédiatement. La technique de référence est la technique du tube à essai TIA, qui utilise des globules rouges naturels dans une solution saline à 0,15 M. Ce contrôle doit être effectué à partir de la douzième WA, en fonction de nombreux paramètres, tels que les concentrations d'anticorps et d'antigène, les réactifs et les méthodes de lecture, notamment la constante d'affinité de l'anticorps. Par conséquent, le titrage est une méthode insuffisante et inefficace car elle ne mesure que le nombre d'anticorps qui peuvent se lier pour tester les globules rouges in vitro (le nombre dépend de la constante d'affinité), et non la quantité totale. Anticorps. Surtout, il est peu reproductible d'un laboratoire à un autre, c'est pourquoi l'évolution du titre doit être estimée dans des conditions très rigoureuses, par rapport à un standard anti-RH1 de titre et concentration connus, en parallèle avec l'échantillon de sang maternel précédent. Néanmoins, le seuil dangereux est fixé au 1/16ème pour les anti-RH1. Quant aux anti-RH4, ils peuvent être dangereux en dépit d'un titre inférieur.

2.2.1.2. Le dosage pondéral .

Le dosage pondéral applicable à l'ensemble des anti-RH, permet d'exprimer la concentration en mg/ml de ces anticorps IgG. Il est à réaliser dès la douzième SA pour permettre une approche de la concentration réelle en IgG anti-RH1 (anti-RH4, anti-RH3...) dans le sang maternel. Il s'agit d'une technique d'agglutination automatisée et donc reproductible, où la constante d'affinité intervient peu. Elle consiste en un dosage comparatif par rapport à un standard anti-RH1 et ses dilutions de concentrations connues. Deux variantes techniques « deux temps » et « un temps » sont utilisées :

- Dans la variante « deux temps » l'ensemble des sous classes d'IgG anti-RH est dosé;
- Dans la variante « un temps », il est classique d'observer la destruction des anticorps IgG3 anti-RH. Par contre, elle valorise les anticorps de haute affinité dont la concentration apparente est souvent supérieure à celle obtenue dans la technique « deux temps ».

Le seuil dangereux est de 0,7 mg/ml pour les anti-RH1 et 3 mg/ml pour les anti-RH4.
[117]

2.2.1.3. L'association dosage pondéral et titrage.

L'association dosage pondéral et titrage des anticorps, permet une meilleure appréciation du risque d'immuno-hémolyse in utero car l'activité fonctionnelle d'un anticorps dépend de sa concentration et de son affinité [118]. A concentration égale, un anticorps ayant un titre puissant entraîne un risque hémolytique majeur in utero, alors qu'un anticorps de titre faible n'entraîne pas de risque anténatal grave (à l'exception de l'anti-RH4). L'association de ces deux examens permet aussi de limiter les gestes invasifs que représentent les ponctions de liquide amniotique et de sang fœtal, de mieux préciser le moment où il faudra les pratiquer et de détecter les réactivations qui se produisent dans environ 50 % des cas de grossesses incompatibles, et de façon imprévisible quant au moment et à l'intensité . C'est pourquoi ces examens doivent être réalisés dès le début de la grossesse et reprogrammés régulièrement tous les mois jusqu'à la vingtième SA puis tous les 15 jours au-delà, voire toutes les semaines en

cas d'immunisation sévère. Le taux des anticorps est relativement bien corrélé au risque hémolytique [119]. Les valeurs de titre et concentration doivent par ailleurs être interprétés par rapport au terme de la grossesse (Tableau XI).

Tableau XI: Signification du taux des anticorps (d'après Brossard)

Risque anténatal dés		18SA	24SA	28SA	32SA	36SA
Anti-RH1	Dosage pondéral mg/ml	>4	3	2	1	0.7
Anti-RH4	Dosage pondéral mg/ml	8	6	4	3	2
Anti-RH3	titre	>128	128	64	16	16

2-2-2 Détermination du phénotype paternel

Même si le fœtus est compatible, même si les anticorps sont puissants, l'allo-immunisation maternelle est sans danger. Par conséquent, il est nécessaire de déterminer le phénotype de la cellule progénitrice pour comprendre si elle possède l'antigène correspondant, et si l'expression de cette dernière est hétérozygote ou homozygote.

2-2-3 Détermination du phénotype du fœtus

En cas d'hétérozygotie paternelle et s'il existe des antécédents d'implication fœtale grave, des méthodes pour déterminer le phénotype des globules rouges fœtaux peuvent être utilisées. Cela peut être fait tôt dans l'échantillon de biopsie du trophoblaste, et le risque de HHF dans le sang fœtal est de 50% ou plus. Cependant, isoler le phénotype du sang fœtal est dangereux et n'est pas recommandé car l'échantillon nécessite des gestes iatrogènes.

2-2-4 Détermination du génotype du fœtus

2.2.4.1. Méthode invasive.

Depuis plus de 13 ans [120], il est possible de pratiquer le génotypage RHD fœtal par PCR sur liquide amniotique à partir de la quatorzième à la quinzième SA. Cette pratique est relativement sécurisée en raison d'une grande quantité d'ADN et de la présence du gène homologue RHCE utilisé comme témoin interne [121]. L'avantage par rapport au phénotypage est le moins grand risque d'aggravation de l'allo-immunisation mais le risque traumatique que peut provoquer l'amniocentèse persiste. Les génotypages « RH4, RH3, KEL1... » sont également réalisables.

2.2.4.2. Méthode non invasive.

La découverte par Lo [122] d'ADN fœtal dans la circulation sanguine maternelle a permis le développement du génotypage RH1 fœtal après extraction et concentration de l'ADN du plasma des femmes enceintes RH :-1 [123-125]. Cet ADN apparaît très précocement et augmente avec l'âge gestationnel (3,4 % au premier trimestre et 6,2 % au troisième trimestre). Le génotypage RH1 fœtal est particulièrement utile pour la prise en charge et la surveillance des patientes RH :-1 immunisées anti-RH1. Sa sensibilité étant excellente au-delà de la quinzième SA, cette méthode permet d'éviter la potentialisation de l'allo-immunisation engendrée par un geste invasif. La technique de choix est l'amplification génique par PCR en temps réel avec des sondes d'hybridations spécifiques.

2-2-5 Mesure de la bilirubinémie

La présence de bilirubine dans le liquide amniotique se traduit par une augmentation de la densité optique à 450 nm (indice de Liley). Le diagramme établi en reportant en abscisse les SA et l'indice de Liley en ordonnée est interprétable désormais à partir de la vingt-deuxième SA.

2-3 Place des tests biologiques dans la surveillance des grossesses

Dans tous les cas, ce sont les méthodes biologiques d'évaluation du risque hémolytique qui permettent de définir le mode de prise en charge de la grossesse qui consiste en :

- Une simple surveillance biologique du titre des anticorps et de la concentration des anti-RH, associée à des méthodes non invasives d'évaluation de l'atteinte hémolytique fœtale : échographie, mouvements fœtaux, rythme cardiaque fœtal et plus récemment le doppler au niveau des artères cérébrales...;
- Une surveillance biologique associée à la mesure de la bilirubinémie après amniocentèse à partir de la dix-huitième SA quand le titre et la concentration excèdent respectivement 1/16ème et 1 mg/ml ;
- Un accouchement provoqué en cas d'atteinte fœtale moyenne ;
- Des transfusions in utero lorsque l'atteinte fœtale est sévère [116].

3- Greffe et transplantation

3-1 Transplantation rénale

La transplantation rénale doit respecter les compatibilités ABO. En cas de compatibilité sans identité, des épisodes hémolytiques peuvent survenir quelques jours après l'intervention chirurgicale. Néanmoins, plusieurs équipes pratiquent des transplantations de reins A2 à des receveurs O et B afin de traiter un plus grand nombre de patients. Les résultats récents sont convaincants. Un programme de plasmaphérèse peut être réalisé pour baisser le taux des anti-A et diminuer ainsi le risque de rejet aigu. La splénectomie ne semble pas nécessaire [126–127]. Dans un récent bilan (...), les pionniers concluent « 20 ans après » que la plasmaphérèse peut être remplacée par l'immunoabsorption, que la splénectomie est souhaitable et que les anticorps anti-CD20 remplacent efficacement les immunoglobulines intraveineuses. Néanmoins, le suivi de ces travaux démontre que la prise de greffe n'est pas un phénomène binaire, mais dépend d'équilibres multifactoriels [128]. Récemment, une étude multivariante sur le sursis à long terme (sept ans) conclut à l'utilité de respecter le phénotype Rh (D).

3-2 Transplantation hépatique

Les artères, les veines, de même que les canaux biliaires expriment des antigènes ABH. En pratique, la compatibilité ABO est requise ; les résultats en situation d'incompatibilité sont mauvais [129].

En cas de transplantation compatible non identique (donneur O–receveur A) des épisodes hémolytiques, liés aux alloanticorps ABO peuvent survenir. Ces anticorps sont produits par les lymphocytes B résiduels du donneur. De même, des cas sévères d'anémie hémolytique peuvent survenir chez des receveurs RH:1 ayant reçu un foie provenant d'un donneur RH : –1. Dans cette situation, les lymphocytes présents dans le greffon ont produit un antiRH : 1 (anti-D) suite à une immunisation préalable du donneur. Le phénomène est transitoire. La même situation a déjà été observée pour des anti-JK : 1 (anti-jka) et anti-FY : 1 (anti-fya) [130]. Pour les transfusions, il est souhaitable de respecter le phénotype du donneur. Plusieurs équipes évaluent actuellement la pertinence de transplanter des foies A2 à des receveurs O : les premiers résultats sont favorables.

3-3 Transplantation cardiaque

La présence des antigènes ABH sur les endothéliums des vaisseaux des valves et du cœur a été largement démontrée ; ces antigènes n'ont pas été mis en évidence dans le muscle cardiaque. Ainsi les transplantations ABO incompatibles conduisent souvent à un rejet aigu.

Les transplantations ABO compatibles non identiques peuvent induire des complications hémolytiques en particulier [131]. La situation est différente pour la pratique de la transplantation de valves cardiaques et de veines. L'analyse des résultats des études réalisée en plus de 20 ans ne permet pas d'établir de liens entre l'échec de la prise et une incompatibilité ABO : la fonctionnalité et la durée de vie du greffon ne sont pas significativement différentes.

3-4 Greffe de moelle osseuse

La greffe de moelle ne nécessite pas de compatibilité ABO. Les cellules précurseurs n'expriment que très faiblement les antigènes A et B. Néanmoins, au moment de la prise de greffe, la maturation des antigènes rend les cellules différenciées accessibles aux anticorps anti-A et anti-B (par exemple donneur A–receveur O). Dans ces cas d'incompatibilité ABO, il peut être nécessaire de retirer les globules rouges du greffon et/ou de procéder à des plasmaphèreses chez le receveur [132,133]. Très récemment, le rôle neutre de l'incompatibilité ABO a été de nouveau soulevé ; les conclusions sont toutes en faveur de l'absence d'effets défavorables à long terme, en dehors des complications immunohématologiques à court terme. Des réactions hémolytiques retardées peuvent survenir en cas de greffe d'une moelle de sujet O à un sujet A, B, ou AB du fait de la durée de vie des lymphocytes B du greffon qui poursuivent la synthèse des anti-A et anti-B. Des situations identiques ont été observées pour l'antigène Rh (D).

3-5 Greffe de peau

Les cellules de l'épiderme possèdent à des niveaux divers des antigènes du système selon un gradient allant des couches profondes aux couches superficielles. Les cellules basales expriment des précurseurs glycosylés, les couches moyennes présentent des antigènes Lea , Leb , Lex , H... et les couches superficielles des antigènes A et B bien développés.

Malgré de très nombreux travaux expérimentaux, les conséquences d'une incompatibilité ABO ne sont pas univoques. Globalement, le rejet est rare et est fonction d'une éventuelle hyperimmunisation sévère du receveur. En pratique médicale, il n'y a que peu de conséquences, en particulier chez les brûlés [134].

3-6 Greffe d'os

Les antigènes ABH ne sont pas exprimés dans la matrice osseuse proprement dite mais à la surface des cellules endothéliales des vaisseaux, des cellules sanguines et de cellules de la moelle osseuse. La congélation-décongélation ne fait qu'altérer la masse antigénique disponible. Plusieurs études suggèrent que la simple greffe n'est pas influencée par le statut immunogénétique ABO, en dehors de certaines réactions immunes liées aux cellules hématopoïétiques résiduelles, lesquelles n'influencent pas le résultat chimique [135].

3-7 Greffe de cornée

La cornée est faite en majorité d'éléments non cellulaires. Un fin épithélium possédant des antigènes ABH se situe à la partie antérieure de même que des endothéliums. Pour la majorité des auteurs, il n'est donc pas utile de respecter les compatibilités ABO. Néanmoins, des travaux récents concluent que chez des sujets fragiles, le respect des compatibilités pourrait améliorer le résultat [136].



Conclusion



Au fil des années, le travail du laboratoire au sein des services de transfusion a subi d'importants changements, parmi lesquels la migration des techniques manuelles vers les technologies automatisées, ce qui a rendu obligatoire la mise en place d'un système de contrôle qualité. De même, la demande de soins a augmenté, et il est donc impératif de travailler selon des normes de qualité dans tous les laboratoires et nécessaire de disposer de systèmes efficaces permettant une gestion de la qualité.

Un point déterminant de la qualité est d'avoir un personnel formé et mis à jour capable de résoudre les problèmes de transfusion, de clarifier les écarts dans les groupes sanguins, d'appliquer des programmes de contrôle de la qualité des processus et d'analyser les résultats qui permettent d'appliquer une thérapie transfusionnelle adéquate et d'accorder composant idéal au bénéfice des patients que nous servons.



Résumés



Résumé

Titre : Les techniques en Immuno-hématologie

Auteur : Doghmi Walid

Mots clés : Hématologie, Techniques immuno-hématologiques, Groupage ABO-RH, Transfusion sanguine.

L'immunohématologie est une discipline de la biologie médicale qui étudie les antigènes de groupes sanguins érythrocytaires et les anticorps dont ils peuvent être la cible. , les techniques de mise en évidence et de caractérisation des antigènes et des anticorps antiérythrocytaires, ainsi que l'évaluation de leur impact clinique éventuel, ont beaucoup évolué. L'un des objectifs premiers de ce travail est de faire le point sur les différentes analyses immunohématologiques existantes. Il en décrit les objectifs, les contraintes de réalisation, les exploitations possibles quant à leurs résultats. c'est dans des circonstances cliniques bien précises que les groupes sanguins jouent tout leur rôle : transfusion sanguine, grossesse, et quelques pathologies le plus souvent en liaison avec des désordres immunologiques complexes et parfois auto-immuns.

Abstract

Title: Techniques in immunohematology

Author: Doghmi Walid

Keywords: Hematology, Immuno-hematological techniques, ABO grouping, Blood transfusion.

Immunohematology is a discipline of medical biology that studies the antigens of red blood cell groups and the antibodies they may target. In recent years, techniques for the detection and characterization of anti-erythrocyte antigens and antibodies, as well as the evaluation of their potential clinical impact, have evolved significantly. One of the primary objectives of this work is to take stock of the various existing immunohematological assays. It describes their objectives, the constraints of their realization, and the possible exploitations of their results. It is in very specific clinical circumstances that blood groups play their full role: blood transfusion, pregnancy, and some pathologies most often related to complex immunological and sometimes autoimmune disorders.

ملخص

العنوان: تقنيات في علم الدم المناعي

الكاتب: الدغمي وليد

الكلمات الأساسية: أمراض الدم، تقنيات أمراض الدم المناعية، نجميع ABO-Rh، تحاقن الدم

علم الدم المناعي هو أحد فروع علم الأحياء الطبي الذي يدرس مستضدات فصيلة الدم في كرات الدم الحمراء والأجسام المضادة التي قد تكون أهدافًا لها. تطورت بشكل كبير تقنيات اكتشاف وتوصيف المستضدات والأجسام المضادة لكريات الدم الحمراء ، وكذلك تقييم تأثيرها السريري المحتمل. أحد الأهداف الأساسية لهذا العمل هو تقييم التحليلات المناعية المختلفة الموجودة. يصف الأهداف وقيود التحقيق والاستغلال المحتمل لنتائجها. في ظروف سريرية محددة للغاية ، تلعب فصائل الدم دورها الكامل: نقل الدم ، والحمل ، وبعض الأمراض المرتبطة في أغلب الأحيان بالاضطرابات المناعية المعقدة وأحيانًا المناعية الذاتية.



Bibliographie et webographie



- [1] <https://labosud.fr/nos-expertises/immuno-hematologie/>
- [2] Virginie Ferrera, Dominique Legrand, Jacques Chiaroni EFS Alpes-Méditerranée
149 Bd Baille, 13392 Marseille Cedex 5.
- [3] Coombs RRA, Mourant AE, Race RR. A new test for the detection of weak and "incomplete" Rh agglutinins. *Br J Exp Pathol* 1945;26:255-266.
- [4] Brecher ME. Technical Manual. American Associations of Blood Banks. Bethesda MD, USA. 2003.
- [5] Quintanar-García E. Uso del panel de eritrocitos de fenotipo conocido. Experiencia nacional, En Memorias 35 aniversario Banco Central de Sangre del CMN Siglo XXI. Rodríguez MH, Mejía A MH, Novelo GB, Escobar H ML, Hernández CT, Rivera RL México: IMSS;1997.
- [6] Lapierre Y, Rigal D, Adam J et al. The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions. *Transfusion* 1990;30:109-13.
- [7] Garraty G, Arnt P. Applications of flow cytometry to transfusion science. *Transfusion* 1994;35:157-178.
- [8] Ferrera V, Legrand D, Chiaroni J. L'immuno-hématologie des receveurs de sang : quels tests utiles ? *Hematol.* 2008 ;14,2 : 143-50.
- [9] Daniels G. Human blood groups. 2nd Edition. Oxford, UK: Blackwell Science; 2002, p.560.
- [10] Pham BN, Le Pennec PY, Rouger P. Allo-immunisation anti-érythrocytaire. *Transfus Clin Biol.* 2012 ; 19:321-32.
- [11] Biologie médicale. N° 26. Mars 2002. immunohématologie et groupe sanguin. C
AHIER DE. N° 26 - Mars 2002 - CAHIER DE FORMATION BIOFORMA
- [12] Chantal Muller Immunohématologie Livret 4 d'activités technologiques.

- [13] <http://www.icarito.cl/2009/12/60-137-9-antigeno-y-anticuerpo-2.shtml/>
- [14] <http://www.chups.jussieu.fr/polys/hemato/POLY.Chp.20.5.html>
- [15] De Soyza K. Evaluation of an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) method for ABO and Lewis typing of body fluids in forensic samples. *Forensic Sci Int* 1991; 52: 65-76.
- [16] Ferri G, Bini C, Ceccardi S, Ingravallo F, Lugaresi F, Pelotti S. Minisequencing-based genotyping of Duffy and ABO blood groups for forensic purposes. *J Forensic Sci* 2006; 51: 357-360.
- [17] Abel PD, Marsh C, Henderson D, Leathem A, Powell PH, Williams G. Detection of blood group antigens in frozen sections of prostatic epithelium. *Br J Urol* 1987; 59: 430-435.
- [18] Ulger AF, Keklik T, Kumbasar OO, Arbak P, Demirkazyk A, Gungor A, et al. Prognostic significance of blood group antigen expression of tumor tissue in lung cancer patients. *Tumori* 2002; 88: 395-399.
- [19] Yamamoto F, Clausen H, White T, Marken J, Hakomori S. Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system. *Nature* 1990; 345: 229-233.
- [20] Yamamoto F, Hakomori S. Sugar-nucleotide donor specificity of histo-blood group A and B transferases is based on amino acid substitutions. *J Biol Chem* 1990; 265: 19257-19262.
- [21] Dean L. The ABO blood group. In: Dean L, ed. *Blood groups and red cell antigens*. Bethesda;NCBI. 2005.
- [22] Chiaroni J, Ferrera V, Dettori I, Roubine F. Groupes sanguins érythrocytaires. *EMC Hématologie*. 2005 Juin ; 2 : 53-112.
- [23] Manessier L, Chiaroni J, Robinet F, Leveille A. Les difficultés du groupage sanguin. *Hématologie*. 2002 Septembre-Octobre ; 8 (5) :370-5.

- [24] Chiaroni J, Ferrera V, Dettori I, Roubinet F. Groupes sanguins érythrocytaires. EMC-Hématologie 2005 Juin;2:53-112.
- [25] Lefrère JJ, Berche P. Karl Landsteiner découvre les groupes sanguins. Transfus Clin Biol . 2010 ;17 : 1-8.
- [26] Oriol R. Genetic control of the fucosylation of ABH precursor chains. Evidence for new epistatic interactions in different cells and tissues. J Immunogenet 1990; 17: 235-245.
- [27] Schachter H, Michaels MA, Tilley CA, Crookston MC, Crookston JH. Qualitative differences in the N-acetyl-D-galactosaminyltransferases produced by human A1 and A2 genes. Proc Natl Acad Sci U S A 1973; 70: 220-224.
- [28] Daniels G, Bromilow I. An introduction to blood groups. In: Daniels G, Bromilow I, eds. Essential guide to blood groups. Oxford; Wiley-Blackwell. 2006.
- [29] Organisation mondiale de la Santé. Evaluation externe de la qualité des pratiques des laboratoires de biologie transfusionnelle : recommandations pour la mise en place d'un système d'évaluation externe de la qualité appliqué à la sérologie des groupes sanguins. WHO/EHT/04.09. Septembre 2004. Disponible à l'adresse URL : http://www.who.int/topics/blood_transfusion/fr
- [30] <https://www.franzmn.com/determinacion-del-grupo-hematico-abo-en-tubo/>
- [31] http://donasangre.uy/wp-content/uploads/2014/07/Microtecnica_de_Aglutinacion_en_Gel.pdf
- [32] http://www.diagnostics.be/sites/default/files/import/files/Fr_Groupage_sanguin_CE.pdf
- [33] Spindler, J. H., Kluter, H., & Kerowgan, M. (2001). A novel microplate agglutination method for blood grouping and reverse typing without the need for centrifugation.

- [34] Transfusion Medicine and Hemostasis (Third Edition) Clinical and Laboratory Aspects 2019, Page 149 Sunitha Vege, MS and Connie M. Westhoff, PhD, SBB
- [35] Modified from Hillyer, C. D., Strauss, R. G., & Luban, N. L. C. (Eds.). (2004). *Handbook of pediatric transfusion medicine*. San Diego, CA: Elsevier Academic Press.
- [36] Cartron JP. Génétique moléculaire des groupes sanguins Rh. TCB 1994; 2 :99-102.
- [37] Chérif-Zahar B, Mattei MG, Le Van Kim C, Bailly P, Cartron JP, Colin Y. Localization of the human Rh blood group gene structure to chromosome region 1p34.3-1p36.1 by in situ hybridation. Hum Genet 1991; 86 :398-400.
- [38] Colin Y, Chérif-Zahar B, Le Van Kim C, Raynal V, Van Huffel V, Cartron JP. Genetic basis of the RhD-positive and RhD-negative blood group polymorphism as determined by southern analysis. Blood 1991; 78 :2747-52.
- [39] Astrup J, Kornstad L. Presence of anti-c in the serum of 42 women giving birth to c positive babies: serological and clinical findings. Acta Obstet Gynecol Scand 1977; 56 :185-8.
- [40] Bowman JM, Pollock JM, Manning FA, Harman CR. Severe anti-C hemolytic disease of the newborn. Am J Obstet Gynecol 1992; 166 :1239-43.
- [41] Pellet B, Chessex D, Schneider Ph, Hohlfeld P. Allo-immunisations Rhésus à faibles titres et autres allo-immunisations en cours de grossesse. Rev Med Suisse Romande 1991; 111:693-9.
- [42] Kornstad L. New cases of irregular blood group antibodies other than anti-D in pregnancy. Acta Obstet Gynecol Scand 1983; 62 :431-6.
- [43] Brossard Y. Surveillance et traitement anténatal des incompatibilités foeto-maternelles érythrocytaires. In : Wechsler B, Janse-Marec J, Péchère JC, eds. Pathologies maternelles et grossesse. Paris, Medsi/McGraw-Hill, 1988:555-67.

- [44] 140819_HDB_pg Hématologie tropicale pratique notions de base.doc.
- [45] Manual de Prácticas de Inmunohematología José Bernardo Héctor Escobar Henriquez.
- [46] Caine ME, Mueller-Heubach E. Kell sensitization in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1986;154:85-90.
- [47] Marsch WL, Redman CM. The Kell blood group system: A review. *Transfusion* 1990;30:158-67.
- [48] Redmann CM, Lee S. The Kell group system. *TCB* 1995;4:243-249.
- [49] Harmening D. Modern blood banking and transfusion practices. 2nd ed. Philadelphia, Davis Company, 1989.
- [50] Copel J, Scioscia AL, Grannum PA, Romero R, Reece EA, Hobbins JC. Percutaneous umbilical blood sampling in the management of Kell immunization. *Obstet Gynecol* 1986; 67:288-90.
- [51] Frère MC, Schaaps JP, Thoumsin H, Retz MSC, Rif J, Rigo J et al. Maladie hémolytique fœtale à développement rapide et sévère due à un anti-Kell. *Rev Med Liege* 1995;50:63-6.
- [52] Monestier M, Rigal D, Juron-Dupraz F, Meyer F. Maladies hémolytiques du nouveau-né par allo-immunisations maternelles contre les antigènes érythrocytaires autres que A, B, et Rhésus D. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 1984;13:671-80.
- [53] Leggat HM, Gibson JM, Barron SL, Reid MM. Anti-Kell in pregnancy. *Br J Obstet Gynecol* 1991;98:162-5.
- [54] Bowman JM. Kell sensitization in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1986;155:912-4.

- [55] Vaughan JI, Warwick RM, Letsky EA, Nicolini U, Rodeck CH, Fisk NM. Erythropoietic suppression in fetal anemia because of Kell alloimmunization. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171:247-52.
- [56] Liley AW. Liquor amnii analysis in the management of the pregnancy complicated by Rhesus sensitization. *Am J Obstet Gynecol* 1961;82:1359-70.
- [57] Berkowitz RL, Beyth Y, Sadovsky E. Death in utero due to Kell sensitization without excessive elevation of the \square D450 value in amniotic fluid. *Obstet Gynecol* 1982;60:746-9.
- [58] Tissot JD, Schneider Ph. Les hémolyses post-transfusionnelles retardées d'origine immunologique. *Méd Hyg* 1992; 50:1325-6.
- [59] Merlob P, Litwin A, Reisner SH, Cohen IJ, Zaizov R. Hemolytic disease of the newborn caused by Anti-Jka. *Pediatr Hematol Oncol* 1987;4:357-60.
- [60] Thomson DJ, Stults DZ, Daniel SJ. Anti-M antibody in pregnancy. *Obstet Gynecol Surv* 1989;44:637-41.
- [61] Mayne KM, Bowell PJ, Green SJ, Entwistle CC. The significance of anti-S sensitization in pregnancy. *Clinical and laboratory haematology* 1990;12:105-7.
- [62] Lefrère†, J.-J., & Rouger, P. (2015). Immunologie transfusionnelle. *Transfusion Sanguine*, 123-124 . doi:10.1016/b978-2-294-74496-9.00003-9
- [63] http://www.dondusang972.net/wp-content/uploads/2013/04/EFS972_Manuel_de_prelevement_IHE01MP_v2.pdf
- [64] Lefrère†, J.-J., & Rouger, P. (2015). Immunologie transfusionnelle. *Transfusion Sanguine*, 119-123 . doi:10.1016/b978-2-294-74496-9.00003-9.
- [65] Reid ME, Lomas-Franci C. *The Blood Group Antigen FactsBook*. Elsevier Academic Press ; 2004.

- [66] Moreschi C. Neue Tatsachen uber die Blutkorperchen-Agglutination. Zentralbl Bakteriologie Parasitenkunde Infektionskrankheiten 1908;46:49–51.
- [67] Coombs RR, Mourant AE, Race RR. A new test for the detection of weak and incomplete Rh agglutinins. Br J Exp Pathol 1945;26:255–266.
- [68] <http://www.dr-karazaitri-ma.com/pages/divers/pathologies/hemato/divers/test-de-coombs-direct.html>
- [69] Roubinet F, Chiaroni J. Les analyses immunohématologiques et leurs applications cliniques. EFC ;2011.79-80p.
- [70] <https://monde.ccdmd.qc.ca/ressource/?id=55950&demande=desc>
- [71] Roubinet F, Chiaroni J. Les analyses immunohématologiques et leurs applications cliniques. EFC ;2011.80-81p.
- [72] Leporrier M. Anémies hémolytiques auto-immunes. Caen : service d'hémodiagnostic clinique CHRU Clémenceau. 2008 ; 14 (6) : 432-41.
- [73] Le test direct à l'antiglobuline [en ligne]. 2011[révisé le 31 mars 2018]. Disponible sur : <https://www.toutsurlatransfusion.com>.
- [74] Chiaroni J, Roubinet F. Les analyses immunohématologiques et leurs applications cliniques. EFC ;2011.12-18p.
- [75] Geha, Raif; Fred Rosen (2008). «Case 45: Hemolytic Disease of the Newborn». Case Studies in Immunology (en inglés) (5^{ta} edición). Garland. p. 267.
- [76] Rouger P, le groupe de travail contrôle de qualité des techniques et réactifs en immunohématologie. Étude de la sensibilité du test indirect à l'antiglobuline par la technique de référence en tube. Réunion scientifique de la Société nationale de transfusion sanguine. Paris. Juin 1978.
- [77] Issitt PD, Combs MR, Bredehoeft, et al. Lack of clinical significance of “enzyme only” red cell allo-antibodies. Transfusion 1993;33: 284–93.

- [78] Clark D, Greiss MA, Urbaniak SJ. A prospective study of routine antenatal enzyme antibody screening demonstrates lack of clinical value in predicting haemolytic disease of the newborn. *Br J Haematol* 1999;106:824–6.
- [79] Mannessier L, Chiaroni J. Étude comparative des différents procédés de filtration : application à la recherche d’agglutinines irrégulières. *Rev Franç Lab* 2000;325:33–6.
- [80] Mannessier L, Lejealle A, Raba M. Étude de la réactivité des anti- gènes des hématies–tests en solution de conservation. *Transfus Clin Biol* 1994;4:305–6.
- [81] Contreras M, de Silva M, Teesdale P, Mollison PL. The effect of naturally occurring Rh antibodies on the survival of serologically incompatible red cells. *Br J Haematol* 1987;65:475–8.
- [82] Issitt P.D. *Applied Blood Group Serology*. 4th ed. Montgomery Scientific Publications; 1998.
- [83] Rugeri L., Gross S., Vannier V. et al. Étude des immunisations anti- érythrocytaires dans 12 hôpitaux de Province. Troisième congrès national d’hémovigilance. Lille, 15–17 Septembre 1999.
- [84] Le Pennec P.Y., Mannessier L. et le groupe immunohématologie de la Société française de transfusion sanguine. Réunion scientifique de la SFTS. Paris, 28 novembre 2002.
- [85] Le Pennec. Communication personnelle.
- [86] British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Guidelines for blood grouping and red cell antibody testing during pregnancy. *Transfus Med* 1995;5:145–50.
- [87] Arrêté du 19 avril 1985 (JO du 30 mai 1985) relatif aux examens médicaux prénatals et postnatals.

- [88] Décret no 92-143 du 14 février 1992 (JO du 18 février 1992) relatif aux examens obligatoires prénuptial, prénatal et postnatal.
- [89] Scott Y, Parker P, Ardle B, Wallis JP. Comparison of plasma and serum for antibody detection using Diamed microtubes. *Transfus Med* 1996; 6:65–7.
- [90] Mannessier L, Roubinet F, pour le groupe immunohématologie de la Société française de transfusion sanguine. Recherche d'anticorps irréguliers anti-érythrocytaires (RAI) par un test indirect à l'antiglobuline en milieu de basse force ionique. *Transfus Clin Biol* 1999;6:174–9.
- [91] MANNESSIER L., LEJEALLE A., RABA M., le Groupe Immunohématologie de la Société Française de Transfusion Sanguine. Etude de la réactivité des antigènes des hématies-test en solution de conservation. *TCB*.1994, 4, 905-906.
- [92] LAMY B., TISSOT C., HEYD C., LAMY C. Red cell antibody screening, red cell antibody identification and compatibility testing with the Column Agglutination Technology (CAT). The Biovue System. *TCB*, 1994, 2, 121-127.
- [93] Arrêté du 4 janvier 1995 (JO du 31 janvier 1995) portant homologation du règlement de l'Agence Française du Sang relatif aux bonnes pratiques de qualification biologique du don et pris en application de l'article L.668-3 du code de la santé publique.
- [94] SHULMAN L.A., PETZ L.D. Red cell compatibility testing. *Clinical practice of transfusion medicine*. New York. Churchill. Livingston, ed 1996, 199.
- [95] Arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale.
- [96] Décision du 6 novembre 2006 définissant les principes de bonnes pratiques prévus à l'article L. 1223-3 du Code de la santé publique.
- [97] Arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale.

- [98] Vamvakas EC, Blajchman MA. Transfusion-related mortality : the ongoing risks of allogeneic blood transfusion and the available strategies for their prevention. *Blood* 2009 ;113 (15):3406-17.
- [99] Rapport d'activité hémovigilance 2012, ANSM Janvier 2014.
- [100] Mulay SB, Jaben EA, Johnson P, et al, Risks and adverse outcomes associated with emergency-release red blood cell transfusion. *Transfusion* 2013 ;53(7):1416-20.
- [101] Goodell PP, Uhl L, Mohammed M, et al. Risk of hemolytic transfusion reactions following emergency-release RBC Transfusion. *Am J Clin Pathol* 2010 ;134(2):202-6.
- [102] Zalpuri S, Zwaginga JJ, le Cessie S, et al. Red-blood-cell alloimmunization and number of red-blood-cell transfusions. *Vox Sang* 2012 ;102(2):144-9.
- [103] Zalpuri S, Middelburg RA, Schonewille H, et al. Intensive red blood cell transfusions and risk of alloimmunization. *Transfusion* 2014 ;54(2):278-84.
- [104] Yazdanbakhsh K, Ware RE, Noizat-Pirenne F. Red blood cell alloimmunization in sickle cell disease : pathophysiology, risk factors, and transfusion management. *Blood* 2012 ;120(3):528-37.
- [105] Chou ST, Jackson T, Vege S, et al. High prevalence of red blood cell alloimmunization in sickle cell disease despite transfusion from Rh-matched minority donors. *Blood* 2013 ;122(6):1062-71.
- [106] Mannessier L. La surveillance immunohématologique de la femme enceinte et la nouvelle politique de prévention de l'allo-immunisation anti-RH1. *Transfus Clin Biol* 2007 ;14(1):112-9.
- [107] Collège national des gynécologues et obstétriciens français. Prévention de l'allo-immunisation rhésus-D fœto-maternelle. Recommandations pour la pratique clinique 2005.

- [108] Recommandations professionnelles de la Haute Autorité de Santé. Suivi et orientation des femmes enceintes en fonction des situations à risque identifiées. 2007.
- [109] Mannessier L. Suivi immunohématologique des femmes enceintes : nouvelles recommandations. *Transfus Clin Biol* 2009 ;16(2): 195-200.
- [110] Bricca P, Guinchard E, Guitton Bliem C. Prise en charge des alloimmunisations foeto-maternelles antiérythrocytaires. *Transfus Clin Biol* 2011 ;18(2):269-76.
- [111] Roubinet, F., Mannessier, L., & Chiaroni, J. (2003). Les difficultés techniques en immunohématologie clinique. *Transfusion Clinique et Biologique*, 10(3), 252–257. doi:10.1016/s1246-7820(03)00050-8
- [112] Ministère de la Santé. Arrêté du 10 septembre 2003 portant homologation du règlement de l'Afssaps définissant les principes de bonnes pratiques dont doivent se doter les ETS. Annexe : principes de bonnes pratiques transfusionnelles. *JORF* 2003 [édition numéro 226, 30 septembre 2003].
- [113] Ministère de la santé. Arrêté du 26 avril 2002. Bonne exécution des actes de biologie médicale. *JORF* 2002 [édition numéro 104, 04 mai 2002].
- [114] Arrêté du 19 avril 1985 (JO du 30 mai 1985), relatif aux examens médicaux pré et postnatals.
- [115] Arrêté du 26 avril 2002 (JO du 4 mai 2002) modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale.
- [116] Mannessier L, Valat AS, Codaccioni X, Puech F, Huart JJ. La surveillance immunohématologique des femmes enceintes. *Rev Gynécol* 1994;7(2):425–30.
- [117] Brossard Y, Poissonnier MH, Chavinié J. Incompatibilité foeto-maternelle érythrocytaire. *Immunologie de la reproduction*. Flammarion;1990. p. 333–372.

- [118] Goudemand M, Salmon CH. Immunohématologie et immunogénétique. Chapitre XI. Flammarion Médecine-Sciences; 1980.
- [119] Brossard Y. Cytopénies immunes néonatales. Rev Prat 2001;51:1571–6.
- [120] Bennett PR, Le Van Kim C, Colin Y, et al. Prenatal determination of fetal RhD type by DNA amplification. N Engl J Med 1993;329:607–10.
- [121] Mannessier L, Dourieux S, Delsalle A, Huart JJ, Puech F. Groupage Rh par PCR sur cellules amniotiques. J Gynecol Obstet Biol Reprod 1995;24:827–8.
- [122] Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. Lancet 1997;350:485–7.
- [123] Lo YM, Hejelm NM, Fidler C, Sargent IL, Murphy MF, Chamberlain PF, et al. Prenatal diagnosis of fetal RhD status by molecular analysis of maternal plasma. N Engl J Med 1998;339:1734–8.
- [124] Costa JM, Giovangrandi Y, Ernault P, Lohmann L, Nataf V, El Halali N, et al. Fetal RhD genotyping in maternal serum during the first trimester of pregnancy. Br J Haematol 2002;119:255–60.
- [125] Rouillac C, Brossard Y. Génotypage RHD fœtal à partir du sang maternel. Médecine fœtale et échographie en gynécologie; 2002, n°49/ 9-1.
- [126] Napier JAF. Blood transfusion therapy. 2nd ed. Chichester: John Wiley and Sons; 1995.
- [127] Toma H. ABO - Incompatible renal transplantation. Urol Clin North Am 1994;21:299–310.
- [128] Squiffet JP, De Meyer M, Malaise J, et al. Lessons learned from ABO-incompatible living donor kidney transplantation: 20 years later. Experimental and Clin Transplant 2004;2:208–13.

- [129] Farge O, Nucci Kalil A, Samuel D, et al. Long term results of ABO incompatible liver transplantation. *Transplant Proc* 1995;27:1701–2.
- [130] Fung MK, Sheikh H, Eghtesad B, Lopez-Plaza I. Severe hemolysis resulting from D incompatibility in a case of ABO identical liver transplant. *Transfusion* 2004;44:1635–9.
- [131] Cooper DK. Clinical survey of heart transplantation between ABO Blood group - incompatible recipients and donors. *J Heart Transplant* 1990;9:376–81.
- [132] Raimondi R, Soli M, Lamparelli T, et al. ABO incompatible bone marrow transplantation: a GITMO survey of current practice in Italy and comparison with the literature. *Bone Marrow Transplant* 2004;34:321–9.
- [133] Canals C, Muniz-Diaz E, Martinez C, et al. Impact of ABO incompatibility on allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation after reduced intensity conditioning. *Transfusion* 2004;44:1603–11.
- [134] Rouger, P. (2005). Influence des antigènes de groupes sanguins en transplantation. *Transfusion Clinique et Biologique*, 12(5), 403–408. doi:10.1016/j.tracli.2005.11.002
- [135] Eastlund T. The histo-blood group ABO system and tissue transplantation. *Transfusion* 1998;38:975–88.
- [136] Borderie Vm Loper M, Védie F, et al. ABO antigen blood group compatibility in corneal transplantation. *Cornea* 1997;16:1–16.
- [137] Cohen-Bacrie, S., Joubaud, P., Krausé, C., & Morel, P. (2014).
- [138] Muller, J.-Y., Chiaroni, J., & Garraud, O. (2015). Sécurité immunologique des transfusions. *La Presse Médicale*, 44(2), 200–213. doi:10.1016/j.lpm.2014.06.035



Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisée de mes confrères si je manquais à mes engagements.*

جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
- الرباط -

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

وأحس بالله العظيم



- ◀ أن أراقب الله في مهنتي
- ◀ أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- ◀ أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- ◀ أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- ◀ أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- ◀ لأحظى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالالتزاماتي.

"والله على ما أقول شهيد"



المملكة المغربية
جامعة محمد الخامس بالرباط
كلية الطب والصيدلة
الرباط



جامعة محمد الخامس بالرباط
Université Mohammed V de Rabat

أطروحة رقم: 16

سنة : 2021

تقنيات أمراض الدم المناعية

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم : / / 2021

من طرف

السيد وليد الدغمي

المزاد في 27 يوليوز 1996 بالرباط

لنيل شهادة

دكتور في الصيدلة

الكلمات الأساسية : أمراض الدم؛ تقنيات أمراض الدم المناعية؛ فئات الدم ABO-RH ؛ تحاقن الدم

أعضاء لجنة التحكيم:

رئيس

السيد عز العرب مسرار

مشرف

أستاذ في علم الدم البيولوجي

السيدة سعاد بنكيران

عضو

أستاذة في علم الدم البيولوجي

السيدة منى نزيه

عضو

أستاذة في علم الدم البيولوجي

السيد أنس الجعيدي

أستاذ في علم الدم البيولوجي