

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT  
SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAÏD  
FACULTE DE MEDECINE  
DR. B. BENZERDJE - TLEMCEM



وزارة التعليم العالي  
والبحث العلمي

جامعة أبو بكر بلقايد  
كلية الطب  
د. ب. بن زرجب - تلمسان

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE POUR  
L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE

THÈME :

**Prévalence du phénotype RH : 1 faible chez les donneurs du sang  
RH : -1 au centre de wilaya de transfusion sanguine -Tlemcen-**

Présenté par :

Mr. MAMMAD NASSIR

Mr. HANAFI MOHAMMED

*Soutenu publiquement le 16 juin 2014*

**Le Jury**

**Président :**

Pr. A. GHAF FOUR

Professeur en hémodiologie-transfusion sanguine

**Membres :**

Pr. N. MERAD BOUDIA

Maître de conférences classe A en hémodiologie-transfusion sanguine

Dr. A. KHECHIBA

Maître assistant en hémodiologie-transfusion sanguine

Dr. S. AYAD

Assistante principale de santé publique en hémodiologie-transfusion sanguine

**Encadreur :**

Dr. F. ADDA

Maître assistante en hémodiologie-transfusion sanguine

## **Remerciement**

***Nous remercions ALLAH tout puissant, qui nous a tracé le chemin de notre vie,  
avec lequel nous avons pu réaliser cette modeste tâche.***

***Ce travail a été effectué au CHU de Tlemcen, dirigé par le Pr. A. GHAF FOUR  
comme médecin chef du CWTS de Tlemcen et président de jury.***

***Nous tenons à le remercier sincèrement.***

***Nous tenons à remercier notre encadreur : DR.F.ADDA qui nous a aidées par ses  
orientations et ses précieux conseils.***

***Nous avons eu le privilège et l'honneur d'apprécier la qualité  
de son travail et son sérieux.***

***Nous remercions aussi tous ce qui a rendu ce travail possible  
en particulier :***

***PR. N. MERAD BOUDJA pour son bon accueil au sein du service  
d'hémobiologie et d'avoir accepté de juger ce mémoire.***

***Nous sommes également reconnaissants au DR. A. KHECHJBA d'avoir  
accepté de participer à cette commission de jury.***

***Nous sommes également reconnaissants au DR. S. AYAD d'avoir accepté de  
participer à cette commission de jury.***



***Nous remercions tous particulièrement***

***DR.M.RAMDAOUI pour son aide, sa patience ainsi que sa disponibilité, et sa compréhension au sein du laboratoire d'hémodiologie.***

***DR. BOURSALJ pour son aide et sa correction des statistiques au sein de la faculté de médecine.***

***DR.N.ABOUREJEL qui nous a fortement aidées tout le long de cette année***

***Nos remerciements vont également tout le personnel du centre de transfusion sanguine et du service d'hémodiologie.***

***Nous adressons nos remerciements pour la sympathie qu'ils nous ont témoignés.***

***Merci aussi à tous nos collègues et ami(e)s de CHU de TLEMCEN.***

***Nous leur exprimons notre profonde sympathie et leur souhaitons beaucoup de bien et beaucoup de courage pour la suite de leur vie professionnelle.***

## Dédicace :

---

*A l'être le plus cher au monde qui m'a poussé et motivé  
et n'a pas cessé de me fournir son soutien, qui m'a partagé sa patience  
et à qui je dois ma place pour ses sacrifices..... **A MON PERE***

*A celle qui m'a fait voir la lumière, qui m'a fait goûter la joie, qui m'a appris le  
sourire, qui a toujours été là pour moi, qui a veillé durant mes nuits pour faire la  
réussite de mes jours, à qui je dois tout et que rien ne suffira pour la  
remercier..... **A MA TRES CHERE MAMAN***

*Mes chers parents : Les mots me manquent pour vous qualifier, tout ce que  
j'aurais à dire ne saurait, exprimer à fond tout le sacrifice et l'endurance que  
vous avez dû subir pour m'élever. Je vous demande pardon et vos bénédictions  
nuits et jours. Je ne saurais jamais vous remercier assez. Seul Dieu peut vous  
gratifier de tout ce que vous avez fait pour moi. Que Dieu le tout puissant vous  
accorde longue vie, bonne santé et bonheur à nos côtes et qu'il puisse me donner  
les moyens nécessaires pour affronter les épreuves de la vie ; **AMEN !***

*A ceux qui m'ont transmis leurs sagesses et leurs conseils, et qui m'ont appris de  
la vie et continuent à le faire,*

*A mes très chères sœurs **HADJIRA, SALIMA, ILHAM**. Plus particulièrement  
la petite; puisque cette journée coïncide avec son anniversaire alors joyeux  
anniversaire **HANANE**.*

*Mon affection pour vous est sans limite, votre soutien a sans doute été  
important pour le bon déroulement de mes études. Soyez en remerciés.*

*A mes très chers collègues et amis, qui m'ont inspiré la joie aux moments durs de  
ce travail, trouveront ici l'expression de mon profond respect*

*A toute ma famille, **HANAFI, BADRAOUI**  
A toutes les personnes qui me sont chères...*

*..... **HANAFI Mohammed***

## **Dédicaces**

*A mes parents pour leur soutien sans faille et permanent, leurs encouragements dans les moments difficiles, leur totale confiance en nous et pour les valeurs qu'ils nous ont inculquées. Que Dieu les accorde longue et heureuse vie auprès de nous.*

*A mon frères **Redouane** et mes sœurs **Nacira**, **Zahira**, **Halima**, **Sekina** pour leurs encouragements et leur soutien tout au long de nos études et également pour les bons moments passés et à venir.*

*La fraternité est à l'abri de toutes les intempéries. Ce travail est le fruit de notre union.*

*A mes collègues **HABIB**, **HAMZA**, **MOHAMMED**, **AMINE**, **RACHID**, **DJAMEL**, **AZZIZ**, **ABDOU**, **SIDALI** pour les bons moments partagés.*

*Puisse ce travail être un souvenir pour nous. Que Dieu les protège et réalise leurs vœux.*

*Au pharmacien **Midoune Mohammed** pour ces encouragements incessants et son soutien moral, que dieu le protège et le donne une vie pleine de réussite et de bonheur.*

**Ainsi qu'à toute la famille **MAMMAD ET BENAZZA****

**petits et grands, sans exception.**



# Sommaire

---

<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	iv
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	v
<b>LISTE DES ABREVIATIONS ET SIGLES</b> .....	vi
<b>I. INTRODUCTION</b> .....	1
<b>II. PARTIE THEORIQUE</b> .....	3
1. Définition .....	5
2. Historique.....	5
3. Caractéristiques générales du système RH .....	6
4. Nomenclature.....	6
4.1. Nomenclature internationale ISBT .....	6
4.2. Nomenclature de FISHER et RACE.....	7
4.3. Nomenclature de WIENER .....	7
4.4. Nomenclature de ROSENFELD.....	7
4.5. Récapitulation.....	8
5. Étude des antigènes et des phénotypes du système RH .....	10
5.1. Ontogénèse et distribution .....	10
5.2. Antigène standard RH1 (D).....	10
5.3. Antigènes communs : RH2 (C), RH4 (c), RH3(E), RH5 (e).....	10
5.4. Autres antigènes.....	11
5.4.1. Variant du système RH .....	11
5.4.1.1. Variant de RH1 .....	11
5.4.1.1.1. Variant D faible ou D <sup>u</sup> .....	11
5.4.1.1.2. Variant Del.....	12
5.4.1.1.3. RH1 partielle (D partiel).....	13
5.4.1.1.4. Variant RH null.....	13
5.4.1.2. Variants de RH2 et RH4.....	14
5.4.1.3. Variants de RH3 et RH5.....	14
5.4.1.4. Antigènes composés .....	14
5.4.2. Anomalies d'expression du phénotype .....	15
5.4.2.1. Haplotypes partiellement affaiblis.....	15
5.4.2.2. Haplotypes partiellement silencieux.....	15
5.4.2.3. Haplotypes totalement silencieux.....	16
6. Réactivité des antigènes RH aux enzymes et aux produits chimiques.....	16

## Sommaire

---

7. Bases moléculaires de système RH.....	17
7.1. Étude génétique de système RH .....	17
7.1.1. Gène du <i>RHD</i> et <i>RHCE</i> .....	17
7.1.2. Gène <i>RHAG</i> .....	17
7.1.3. Bases moléculaires du polymorphisme de système RH.....	18
7.1.3.1. Polymorphisme RH : 1 et RH : -1 .....	18
7.1.3.2. Polymorphisme RH2/RH4 – RH3/RH5 .....	18
7.1.3.3. Bases moléculaires des variants .....	19
7.1.3.3.1. Bases moléculaires de phénotype D faible .....	19
7.1.3.3.2. Bases moléculaires de phénotype D partiels.....	21
7.1.3.3.3. Base moléculaire de phénotype RH null.....	22
7.1.4. Gènes du complexe protéique (LW-CD47-GPB- FY).....	22
7.2. Étude biochimique de système RH.....	23
7.2.1. Les protéines <i>RHD</i> et <i>RHCE</i> .....	23
7.2.2. La protéine <i>RHAG</i> .....	23
7.2.3. Complexe protéique (LW - CD47 - GPB - FY).....	24
7.2.3.1. CD47 .....	24
7.2.3.2. La protéine LW.....	24
7.2.3.3. La Glycophorine B (GPB).....	24
7.2.3.4. La protéine FY.....	24
8. Les anticorps de système RH.....	25
8.1. Les allo-anticorps.....	25
8.2. Les hétéro-anticorps.....	25
8.3. Les auto-anticorps.....	25
9. Méthodes d'étude du système RH .....	26
9.1. Techniques immunologiques .....	26
9.1.1. Groupage <i>RHD</i> .....	26
9.1.2. Phénotypage restreint.....	26
9.1.3. Recherche de phénotype D faible.....	26
9.1.3.1. Par le test indirect à l'antiglobuline.....	26
9.1.3.2. Par le test aux enzymes.....	27
9.1.4. Recherche des anticorps érythrocytaires (RAE) .....	27
9.2. Techniques de biologie moléculaire (PCR).....	27
10. Applications du système RH.....	27



# Sommaire

---

<b>III. PARTIE PRATIQUE</b> .....	28
1. Objectifs.....	30
1.1. Objectif principale.....	31
1.2. Objectif secondaire.....	31
2. Cadre de l'étude.....	33
2.1. Lieu d'étude.....	33
2.2. Type et période d'étude.....	33
2.3. Population d'étude.....	33
2.3.1. Critères d'inclusion.....	33
2.3.2. Critères de non inclusion.....	33
3. Matériels et méthodes.....	35
3.1. Prélèvements, matériels, consommables et réactifs.....	35
3.1.1. Prélèvements.....	34
3.1.2. Matériels.....	35
3.1.3. Consommables.....	35
3.1.4. Réactifs.....	35
3.2. Méthodes.....	36
3.2.1. Étude sérologiques.....	36
3.2.1.1. Groupage RH1.....	36
3.2.1.2. Recherche d'antigène D <sup>u</sup> par le TIA.....	37
3.2.2. Etude statistique.....	41
3.2.2.1. Recueil de données.....	41
3.2.2.2. Analyse de données.....	41
4. Résultats et interprétations.....	43
4.1. Répartition des donneurs selon le sexe.....	43
4.2. Répartition des donneurs selon le groupage ABO-RH.....	44
4.3. Répartition des donneurs selon le sexe et le groupage RH.....	45
4.4. Fréquence d'antigène D <sup>u</sup> après le TIA.....	46
4.5. Répartition des donneurs RH après le TIA.....	47
5. Discussion.....	47
<b>IV. CONCLUSION</b> .....	49
<b>V. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	51
<b>VI. ANNEXES</b> .....	54



## Liste des tableaux

---

<b>Tableau I :</b> Nomenclature des antigènes RH selon l'ISBT et FISHER/RACE .....	8
<b>Tableau II :</b> Nomenclature des haplotypes selon FISHER/RACE et WIENNER .....	8
<b>Tableau III:</b> Exemple de nomenclatures génotypes selon FISHER/RACE et WIENNER .....	8
<b>Tableau IV :</b> Liste des génotypes possibles selon FISHER/RACE .....	9
<b>Tableau V:</b> Liste des phénotypes possibles selon FISHER/RACE et ISBT .....	9
<b>Tableau VI:</b> Phénotypes courants défini par l'anti-RH1 et leurs fréquences. ....	10
<b>Tableau VII :</b> Réactivités des antigènes RH2/RH4 vis à vis des anticorps correspondants. ....	11
<b>Tableau VIII :</b> Réactivités des antigènes RH3/RH5 vis à vis des anticorps correspondants.....	11
<b>Tableau IX:</b> Profil réactionnel des antigènes composés. ....	14
<b>Tableau X:</b> Formes alléliques des autres antigènes composés.....	15
<b>Tableau XI:</b> Affaiblissement de la réactivité antigénique des autres antigènes RH. ....	15
<b>Tableau XII :</b> Haplotypes partiellement silencieux .....	16
<b>Tableau XIII:</b> Bases moléculaires du polymorphisme des antigènes RH2/RH4 et RH3/RH5.....	19
<b>Tableau XIV :</b> Génotypes et phénotypes D <sup>u</sup> [6] .....	19
<b>Tableau XV :</b> Nombre de sites antigéniques des principaux phénotypes D faible .....	20
<b>Tableau XVI :</b> Exemples de mutations responsables des principaux phénotypes D faible .....	21
<b>Tableau XVII :</b> Dilutions d'anti-RH1 pour la sensibilisation .....	38
<b>Tableau XVIII :</b> Répartition des donneurs selon le sexe.....	43
<b>Tableau XIX :</b> Répartition des donneurs selon le groupage sanguin ABO-RH .....	44
<b>Tableau XX :</b> Répartition des donneurs selon le sexe et le groupage RH .....	45
<b>Tableau XXI :</b> Fréquence d'antigène D <sup>u</sup> après le TIA .....	46
<b>Tableau XXII :</b> Répartition des donneurs RH après le TIA .....	47

## Liste des figures

---

<b>Figure 1</b> : Densité antigénique d'antigène Rhésus standard D .....	11
<b>Figure 2</b> : Protéine RHD chez le variant Del .....	12
<b>Figure 3</b> : Modèle de cartographie des épitopes D.....	13
<b>Figure 4</b> : Organisation des gènes du système RH.....	17
<b>Figure 5</b> : Polymorphisme RH D positif - RH D négatif .....	18
<b>Figure 6</b> : Bases moléculaires du polymorphisme du D faible.....	19
<b>Figure 7</b> : Mutations des gènes <i>RHAG</i> et <i>RH</i> chez les RH <sub>null</sub> .....	22
<b>Figure 8</b> : Structure des protéines RHD et RHCE et polymorphisme C/c et E/e .....	23
<b>Figure 9</b> : Structure de la protéine RHAG.....	23
<b>Figure 10</b> : Protéines membranaires érythrocytaires.....	24
<b>Figure 11</b> : Lecture de groupage RH.....	36
<b>Figure 12</b> : Principe du test indirect à l'antiglobuline.....	37
<b>Figure 13</b> : Préparation des dilutions d'anti-D.....	38
<b>Figure 14</b> : Étape de sensibilisation (1).....	39
<b>Figure 15</b> : Étape de sensibilisation (2).....	39
<b>Figure 16</b> : Étape de révélation .....	40
<b>Figure 17</b> : Étape de lecture .....	40
<b>Figure 18</b> : Répartition des donneurs selon le sexe .....	43
<b>Figure 19</b> : Répartition des donneurs selon le groupage sanguin ABO-RH .....	44
<b>Figure 20</b> : Répartition des donneurs selon le sexe et le groupage RH.....	45
<b>Figure 21</b> : Fréquence d'antigène D <sup>u</sup> après le TIA .....	46
<b>Figure 22</b> : Répartition des donneurs RH après le TIA.....	47

## Liste des abréviations et sigles

---

- A** : Adénine  
**aa** : Acide aminé  
**ADN** : Acide désoxyribonucléique  
**AET** : Aminoethylisothiuronium bromide  
**AGH** : Antiglobuline humaine  
**AHAI** : Anémie hémolytique autoimmune  
**C** : Cytosine  
**CD** : Clusters différenciation  
**CHUT** : Centre hospitalo-universitaire de Tlemcen  
**cm** : Centimètre  
**CTS** : Centre de transfusion sanguine  
**CWTS** : Centre de wilaya de transfusion sanguine  
**°C** : Degré Celsius  
**DI** : Délité  
**DTT** : Dithiothreitol  
**EFF** : Effectif  
**EPI** : Epitope  
**F** : Femmes  
**G** : Guanine  
**GPB** : Glycophorine B  
**H** : Hommes  
**IC** : Intracellulaire  
**Ig** : Immunoglobuline  
**ISBT** : International society of blood transfusion  
**Kb** : Kilo base  
**KDa** : Kilo dalton  
**LF** : Low frequence  
**LMC** : Leucémie myéloïde chronique  
**µL** : Microlitre  
**mL** : Millilitre  
**mn** : Minute  
**nl** : Normal  
**OMS** : Organisation mondial de santé



## Liste des abréviations et sigles

---

**Pb** : Paire de base

**PCR** : Polymerase chain reaction

**pdl** : Partiellement délité

**%** : Pour cent

**RAE** : Recherche d'agglutinines érythrocytaires

**SMP**: Small membrane protein

**SPSS** : Package for Social Sciences

**T** : Thymine

**TIA** : Test indirect à l'antiglobuline

**TM** : Transmembranaire

# **INTRODUCTION**

## Introduction

---

Les groupes sanguins érythrocytaires correspondent à des antigènes membranaires du globule rouge, dont l'expression est déterminée par plus de 33 systèmes polymorphes <sup>[1]</sup> déterminés génétiquement.

Ces antigènes, introduits dans un organisme qui les reconnaît comme étrangers, peuvent être la cible d'anticorps sériques naturels ou immuns, responsables d'une lyse cellulaire parfois grave, voire mortelle. Cette situation de conflit immunologique s'exprime dans deux situations importantes : les accidents immunologiques transfusionnels et les incompatibilités fœto-maternelles.

Le système RH, du point de vue clinique, est le deuxième système de groupe sanguin le plus important derrière le système ABO. Il s'agit également du plus immunogènes des systèmes de groupes sanguins par son principal antigène RH1 (antigène standard D). Cet antigène présente plusieurs variants dont le plus fréquent est le phénotype RH faible (D faible ou D<sup>u</sup>) <sup>[2]</sup>.

Le phénotype RH : 1 faible se caractérise par une diminution de l'expression d'antigène standard D (déficit quantitatif) avec expression de tous les épitopes, d'où il est absolument impératif de dépister ce variant notamment lors de la qualification biologique du don du sang et de le considérer comme positif. La fréquence de cet antigène varie avec la méthode utilisée, le réactif utilisé et la population raciale testée <sup>[2]</sup>.

L'antigène D (RH1) étant responsable d'allo-immunisation transfusionnelle, en cas de négativité, le Centre de Wilaya de Transfusion Sanguine (C.W.T.S) du CHU de Tlemcen poursuit les investigations afin de déterminer si une poche de sang présente un vrais Rhésus D négatif ou un Rhésus D faible (D<sup>u</sup>) qui sera considéré positif.

Vu la forte immunogénicité de cet antigène en transfusion sanguine, nous avons voulu situer sa fréquence dans la population des donneurs de sang reçues au C.W.T.S du CHU de Tlemcen, et surtout connaître le taux de son variant faible afin de prédire de l'intérêt de la systématisation de sa recherche chez tous les donneurs de sang groupés Rhésus négatif conformément aux recommandations de l'OMS et selon la réglementation Algérienne « *Arrêté du 24 Mai 1998 fixant les règles de bonnes pratiques des qualifications biologiques du don de sang* » (annexe I).



## **Introduction**

---

La problématique de notre étude est donc de répondre à la question suivante :

- Quel est la prévalence du phénotype D faible ( $D^u$ ) dans une population de donneurs du sang au sein du CWTS du CHU de Tlemcen ?

L'objectif de cette étude est d'estimer la prévalence du phénotype RH : 1 faible au niveau du centre de wilaya de transfusion sanguine (CWTS) du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen (CHUT) en utilisant les résultats des techniques sérologiques.

Le présent travail est introduite tous d'abords par une revus de littérature sur le système de groupe sanguin RH. Suivis de la description du matériels, des réactifs ainsi que les méthodes utilisées : d'abords les techniques immunologiques puis les tests statistiques. Ainsi les résultats, leur interprétation et en termine par une discussion.

# **PARTIE THEORIQUE**

## 1. Définition :

Le système RH (004 ou Rhésus) est un système allotypique de groupe sanguin érythrocytaire défini par deux gènes-allèles *RHD* et *RHCE* localisés sur le chromosome 1p34-36.2, qui déterminent plus de 59 antigènes <sup>[1]</sup> identifiés (**annexe II**) dont les cinq principaux sont :

- L'antigène RH1 (ou rhésus standard D) et son absence RH : -1.
- Et deux couples d'antigènes antithétiques RH2/RH4 (C/c) et RH3/RH5 (E/e).

L'allèle silencieux *d* est responsable de la négation d'expression de l'antigène standard D : RH : -1.

## 2. Historique <sup>[3], [4]</sup> :

- En 1939, LEVINE et STETSON constatent que le sérum d'une femme ayant accouchée d'un enfant atteint de maladie hémolytique néo-natale agglutine non seulement les hématies de l'enfant et du père mais aussi celles de 85 % des sujets testés. Cette femme, transfusée en urgence avec du sang pourtant ABO compatible, a présentée un accident hémolytique grave, presque mortel.
- En 1940, LANDSTEINER et WIENER constatent que le sérum dilué d'un lapin immunisé par des hématies d'un singe « Macacus rhésus » agglutine les hématies des mêmes sujets, cet hétéro-anticorps :
  - \* Est comparable à l'allo-anticorps observé par LEVINE et STETSON.
  - \* Définit actuellement le système RH.
  - \* Définit en réalité, le système LW.
- En 1941, découverte de l'antigène « C » par WIENER, de l'antigène antithétique « c » par LEVINE.
- En 1943, découverte de l'antigène « E » par WIENER.
- En 1945, MOURANT, COOMBS et RACE mettent en évidence le test indirect à l'antiglobuline, et de ce fait ils découvrent l'antigène « e ».
- En 1946, découverte de l'antigène D faible par SRATTON.
- En 1990, CARTRON caractérise les antigènes RH puis en 1993 il caractérise les gènes-allèles *RHD* et *RHCE*.
- En 2000, WAGNER et FLEGEL décrivent l'organisation des gènes-allèles *RHD* et *RHCE*.



### 3. Caractéristiques générales du système RH :

- Les déterminants antigéniques de système RH sont de nature polypeptidique, ils sont propres à l'homme et restreints aux globules rouges.
- Les antigènes de système RH sont antithétiques.
- Leur expression est précoce au cours de l'ontogenèse et sont bien exprimés à la surface des globules rouges à la naissance.
- Le système RH est très immunogène, les sujets présentant une allo-immunisation fœto-maternelle ou transfusionnelle développent des anticorps immuns responsables d'accidents hémolytiques retardés.

### 4. Nomenclature :

#### 4.1. Nomenclature internationale ISBT<sup>[1]</sup> :

Cette nomenclature a été proposée par un comité d'expert de l'ISBT en 1980.

##### ▪ Principe :

Le principe de cette nomenclature repose sur le classement par ordre chronologique de description de 33 groupes sanguins connus (**annexe III**), numéroté de 001 à 033, le système RH prend ainsi le numéro 004.

##### ▪ Description :

- Chaque système est désigné par un numéro de trois chiffres correspondant à l'ordre de sa découverte. Le système RH prend ainsi le numéro 004.
- Chaque antigène est désigné par un numéro de six chiffres :
  - \* Les trois premiers correspondent au système (004 pour le système RH).
  - \* Les trois derniers correspondent à la spécificité antigénique (004001 pour l'antigène RH1).
- On peut également décrire un antigène par le symbole du système suivi du numéro d'antigène (RH001 ou RH1).
- Les phénotypes sont indiqués par le symbole du système, suivi de la liste des numéros des antigènes, séparés par une virgule, les antigènes absents sont précédés du signe moins (RH : 1, -2,3, 4, -5 pour DccEE).
- Les gènes sont indiqués par le symbole du système en italique, suivi d'un espace ou d'un astérisque (\*), puis du numéro de l'antigène (*RH\*1* ou *RH 1*).

- Les génotypes sont indiqués en italique par le symbole du système, suivi d'un astérisque, suivi des numéros des gènes, allèles ou haplotypes, séparés par une barre oblique (exemple : *RH\*2,3/RH\*2,4*), les gènes amorphes sont indiqués par un 0 (exemple : *RH\*2,3/0* ou *RH\*2,3/RH\*0*).
- **Intérêt :**

L'intérêt de cette nomenclature est l'uniformisation de la nomenclature et l'informatisation des groupes sanguins notamment dans le cadre de l'application de ces groupes sanguins dans la discipline transfusionnelle.

#### **4.2.Nomenclature de FISHER et RACE <sup>[3]</sup>:**

- La nomenclature de FISHER et RACE est la plus utilisée en pratique, elle est basée sur l'utilisation des lettres DCE et dce.
- Cette nomenclature est basée sur l'hypothèse de l'existence de trois pseudo-allèles situés sur trois locus étroitement liés : (*D/d, C/c, E/e*) et où l'antigène d n'a jamais été décrit.
- Un haplotype est transmis comme une unité génétique complète (en bloc) lors de la méiose (exemples : DCe, dce...).

#### **4.3.Nomenclature de WIENER <sup>[3]</sup>:**

La nomenclature de WIENER est basée sur l'utilisation des lettres :

- R (0, 1, 2, Z) pour désigner les haplotypes positifs.
- r (r, r', r'', r<sup>y</sup>) pour désigner les haplotypes négatifs.
- Mais aussi pour désigner les génotypes.

#### **4.4.Nomenclature de ROSENFELD <sup>[3]</sup> :**

La nomenclature de ROSENFELD est moins utilisée, basée sur l'utilisation des lettres :

- RH pour désigner les phénotypes positifs.
- Hr pour désigner les phénotypes négatifs.

#### 4.5. Récapitulation :

On compte cinq antigènes principaux qui définissent 8 haplotypes, 18 phénotypes et 36 génotypes :

- **Nomenclature des antigènes** <sup>[1] [3]</sup>:

**Tableau I : Nomenclature des antigènes RH selon l'ISBT et FISHER/RACE**

Principaux antigènes	Nomenclature de FISHER et RACE		Nomenclature ISBT	
		D		RH : 1
		C		RH : 2
		E		RH : 3
		C		RH : 4
		E		RH : 5

- **Nomenclature des haplotypes** <sup>[3]</sup>:

On compte 4 haplotypes positifs et 4 haplotypes négatifs :

**Tableau II : Nomenclature des haplotypes selon FISHER/RACE et WIENNER**

Haplotypes positifs		Haplotypes négatifs	
FISHER et RACE	WIENER	FISHER et RACE	WIENER
Dce	R <sup>0</sup>	dce	r
DCe	R <sup>1</sup>	dCe	r <sup>'</sup>
DcE	R <sup>2</sup>	dcE	r <sup>''</sup>
DCE	R <sup>z</sup>	dCE	r <sup>y</sup>

- **Nomenclature des génotypes** <sup>[3]</sup>:

On compte 36 génotypes différents voici quelques exemples :

**Tableau III: Exemple de nomenclatures génotypes selon FISHER/RACE et WIENNER**

Génotypes (FISHER et RACE)	Génotypes (WIENER)	Phénotypes
Dce/dce	R <sup>0</sup> /r	DCcee
DCe/ Dce	R <sup>1</sup> /R <sup>0</sup>	DCcee
Dce/dCe	R <sup>0</sup> /r <sup>'</sup>	DCcee
Dce/DcE	R <sup>0</sup> /R <sup>2</sup>	DccEe



□ Liste des génotypes possibles <sup>[3]</sup>:

Les génotypes suivants sont obtenus par l'association de deux haplotypes, il existe 36 génotypes différents.

Tableau IV : Liste des génotypes possibles selon FISHER/RACE<sup>[5] [6]</sup>

DCE/DCE							
DCE/Dce	DCe/DCe						
DCE/DcE	DCe/DcE	DcE /DcE					
DCE/Dce	DCe/Dce	DcE /Dce	Dce /Dce				
DCE/dCE	DCe/dCE	DcE /dCE	Dce /dCE	dCE /dCE			
DCE/dCe	DCe/dCe	DcE /dCe	Dce /dCe	dCE /dCe	dCe /dCe		
DCE/dcE	DCe/dcE	DcE /dcE	Dce /dcE	dCE /dcE	dCe /dcE	dcE /dcE	
DCE/dce	DCe/dce	DcE/dce	Dce /dce	dCE /dce	dCe /dce	dcE /dce	dce /dce

▪ Nomenclature des phénotypes <sup>[1] [3]</sup>:

18 phénotypes principaux ont été individualisés, 9 phénotypes positifs et 9 phénotypes négatifs.

Tableau V: Liste des phénotypes possibles selon FISHER/RACE et ISBT

Anti-D	Anti-C	Anti-c	Anti-E	Anti-e	Phénotypes (FISHER et RACE)	Phénotypes (ISBT)
+	+	-	+	-	DCCEE	RH:1, 2, 3,-4,-5
+	+	-	+	+	DCCEe	RH:1, 2, 3,-4,5
+	+	-	-	+	DCCee	RH:1, 2,-3,-4,5
+	+	+	+	-	DCcEE	RH:1, 2, 3, 4,-5
+	+	+	+	+	DCcEe	RH:1, 2, 3, 4,5
+	+	+	-	+	DCcee	RH:1, 2,-3, 4,5
+	-	+	+	-	DccEE	RH:1,-2, 3, 4,-5
+	-	+	+	+	DccEe	RH:1,-2, 3, 4,5
+	-	+	-	+	Dccee	RH:1,-2,-3, 4,5
-	+	-	+	-	dCCEE	RH:-1, 2, 3,-4,-5
-	+	-	+	+	dCCEe	RH:-1, 2, 3,-4,5
-	+	-	-	+	dCCee	RH:-1, 2,-3,-4,5
-	+	+	+	-	dCcEE	RH:-1, 2, 3, 4,-5
-	+	+	+	+	dCcEe	RH:-1, 2, 3, 4,5
-	+	+	-	+	dCcee	RH:-1, 2,-3, 4,5
-	-	+	+	-	dccEE	RH:-1,-2, 3, 4,-5
-	-	+	+	+	dccEe	RH:-1,-2, 3, 4,5
-	-	+	-	+	dccee	RH:-1,-2,-3,4,5

## 5. Étude des antigènes et des phénotypes du système RH :

Le système RH comporte au moins 59 antigènes <sup>[1]</sup>, constituant pour la plupart d'entre eux de variants rares relatifs aux cinq antigènes les plus courants : RH1 (D), RH2 (C), RH4 (c), RH3 (E), RH5 (e).

### 5.1. Ontogénèse et distribution <sup>[4]</sup>:

- L'antigène RH1 est bien développé à la naissance.
- Les antigènes de système RH sont strictement limités aux globules rouges.
- La densité antigénique est en fonction du phénotype, chaque hématie comporte entre 10 000 et 30 000 sites par globule rouge.

### 5.2. Antigène standard RH1 (D) <sup>[3]</sup>:

- C'est la présence ou l'absence de l'antigène RH1 qui détermine les phénotypes RH : 1 ou RH :-1.
- Ainsi les sujets porteurs de cet antigène sont dits « RH : 1 ou RHD ou RH positif » et les sujets non porteurs de cet antigène sont dits « RH : -1 ou RH négatif ».
- Cet antigène est défini par l'allo-anticorps anti-RH1 (ou anti-D), permettant ainsi de définir deux phénotypes courants :

Tableau VI: Phénotypes courants défini par l'anti-RH1 et leurs fréquences.

Phénotypes	Fréquence en Algérie <sup>[6]</sup> (%)	Fréquence en Europe <sup>[7]</sup> (%)	Fréquence au Japon <sup>[7]</sup> (%)
RH : 1 (D)	91	85	99,9
RH : -1 (d)	9	15	0,1

### 5.3. Antigènes communs : RH2 (C), RH4 (c), RH3(E), RH5 (e) <sup>[3]</sup> :

- Ces quatre antigènes sont antithétiques deux à deux, c'est-à-dire que si l'un est absent l'autre est forcément présent en double dose.
- Ils sont représentés par :
  - ✳ RH2 (C) défini par l'anti-RH2 et RH4 (c) défini par l'anti-RH4, qui sont les produits des allèles *C* et *c* respectivement.
  - ✳ RH3 (E) défini par l'anti-RH3 et RH5 (e) défini par l'anti-RH5 qui sont les produits des allèles *E* et *e* respectivement.
- La présence ou l'absence de ces quatre antigènes est analysée dans le cadre du phénotype restreint.



Tableau VII : Réactivités des antigènes RH2/RH4 vis à vis des anticorps correspondants.

Réaction avec l'anti-RH2 (anti-C)	Réaction avec l'anti-RH4 (anti-C)	Sujet
+	-	RH2RH2
+	+	RH2RH4
-	+	RH4RH4

Tableau VIII : Réactivités des antigènes RH3/RH5 vis à vis des anticorps correspondants.

Réaction avec l'anti-RH3 (anti-E)	Réaction avec l'anti-RH5 (anti-e)	Sujet
+	-	RH3RH3
+	+	RH3RH5
-	+	RH5RH5

#### 5.4. Autres antigènes :

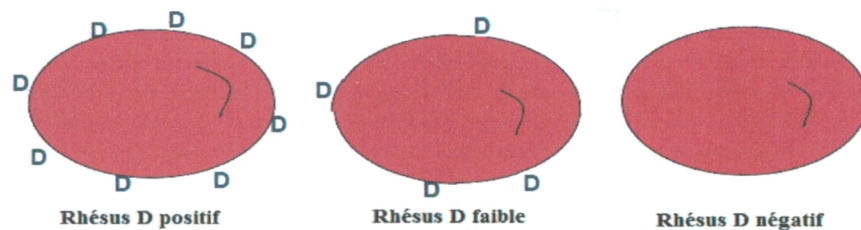
##### 5.4.1. Variant du système RH :

##### 5.4.1.1. Variant de RH1 :

##### 5.4.1.1.1. Variant D faible ou D<sup>u</sup> [4] [8] :

###### ▪ Définition :

- \* Classiquement et en fonction du phénotype, une hématie RH1 comporte entre 10000 et 30000 sites RH1.
- \* Le phénotype RH1 faible est caractérisé par un déficit quantitatif en sites antigéniques RH1 mais avec présence de tous les épitopes. Ce déficit abouti, en fonction du seuil de sensibilité de la technique utilisée, à un affaiblissement de la réactivité voir une absence de détection de cet antigène.
- \* Les phénotypes RH1 faible existe chez 3/1000 à 4/1000 des individus de la race blanche, beaucoup plus fréquents chez les individus de la race noire.
- \* Compte tenu de l'évolution des réactifs et des techniques, la fréquence des antigènes RH1 dites faibles a donc diminuée.

Figure 1 : Densité antigénique d'antigène Rhésus standard D<sup>[8]</sup>



- **Intérêt** <sup>[2] [9]</sup>:

Le phénotype RH1 faible ne s'immunise pas contre le RH1. On conçoit, en termes de risque sanitaire, que la détection de ce type d'antigène doit être prise en compte :

- ✗ **Dans le cadre de la qualification biologique du don** : les techniques de groupage doivent permettre de détecter les individus RH1 faible, qui sont donc Rhésus positif.
- ✗ **Lors du groupage d'un nouveau né du mère RH : -1** : un enfant RH1 faible (donc Rhésus positif) né d'une mère RH : -1, peut engendrer une allo-immunisation fœto-maternelle.
- ✗ **Lors du groupage d'une femme enceinte** : les femmes RH1 faible, sont Rhésus positif, et la prévention de la maladie hémolytique du nouveau-né par gammaglobulines n'est pas nécessaire.

L'intérêt est plus limité chez les patients receveurs de concentrés érythrocytaires.

- **Nomenclature** <sup>[10]</sup>:

Il existe 83 types d'antigène RH1 faible, la nomenclature veut qu'on les appelle « Type » suivi d'un numéro allant de 1 à 76. Les Types 1, 2, 3 représentent approximativement 90 % des cas en Europe.

#### 5.4.1.1.2. Variant Del <sup>[3]</sup>:

- Les sujets RH : -1 sont rares en orient et le développement d'anticorps anti-RH1 est exceptionnel chez eux.
- En fait, il a été montré que ceux-ci, apparemment RH :-1, possédaient à la surface de leurs hématies de très faibles quantités d'antigène RH1 qui ne peut être démontrée que par des techniques d'élution.
- Ces phénotypes ont été regroupés sous la dénomination de Del et sont présents chez 30% des sujets apparemment RH :-1 en Asie du Sud-est.

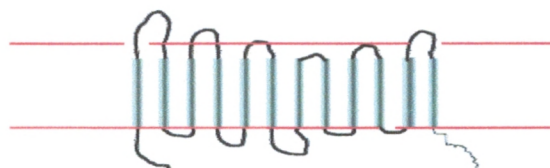


Figure 2 : Protéine RHD chez le variant Del<sup>[8]</sup>

#### 5.4.1.1.3. RH1 partielle (D partiel) <sup>[3][11]</sup>:

- L'antigène RH1 a normalement une structure dite en mosaïque, comprenant un grand nombre d'épitopes antigéniques.
- Lorsqu'un ou plusieurs de ces épitopes manque(nt), les individus peuvent s'allo-immuniser contre la(es) partie(s) manquante(s) et sont considérés comme receveurs RH : -1.
- Les phénotypes D partiel ne sont pas détectés par certains anticorps monoclonaux, des panels d'anticorps monoclonaux permettent mieux les caractériser et de les classer en différentes catégories.
- La discrimination entre le phénotype D faible et D partiel est parfois rendue difficile par le fait que plusieurs phénotypes D partiel expriment l'antigène D en faible quantité à la surface des globules rouges.

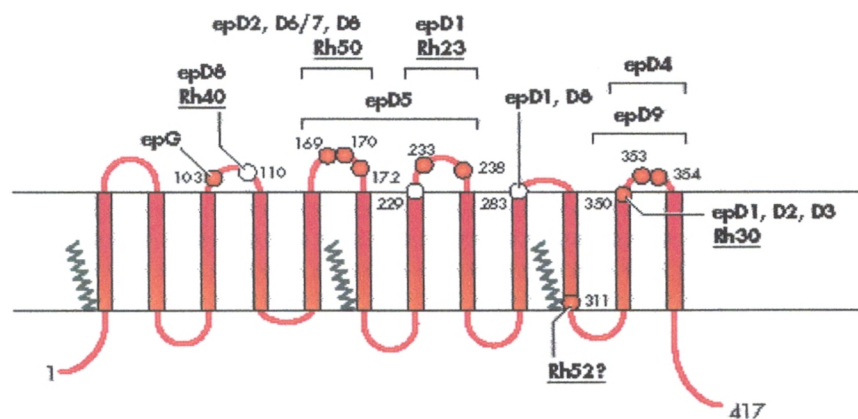


Figure 3: Modèle de cartographie des épitopes D <sup>[12]</sup>

#### 5.4.1.1.4. Variant RH null <sup>[4]</sup>:

- Le phénotype RH null est caractérisé par l'absence totale d'expression de l'antigène RH1 sur les globules rouges des individus concernés.
- Ces individus sont atteints d'anémie avec des degrés variables, stomatocytose et sphérocytose.
- On compte deux types de RH null :
  - × Type régulateur.
  - × Type amorphe.

**5.4.1.2. Variants de RH2 et RH4 <sup>[3]</sup>:**

Le variant le plus important est l'antigène RH8 (C<sup>w</sup>) :

- La présence de cet antigène est liée à l'existence d'un allèle au gène *RHCE* le plus souvent chez les sujets RH : 1.
- Sa fréquence est de 0,5 % (4 % en Finlande).
- Il est mis en évidence par un anticorps spécifique : l'anti-RH8, mais aussi par l'anti-RH2.
- Caractérisé par une mutation d'un nucléotide (A122G), qui se traduit par une modification d'un acide aminé (aa) (Gln41Arg), situé sur la première boucle extracellulaire de la protéine.

**5.4.1.3. Variants de RH3 et RH5 <sup>[3]</sup>:**

- Les variants les plus importantes sont RH11 (E<sup>w</sup>) et RH24 (E<sup>T</sup>),
- Le variant « E<sup>U</sup> » est un antigène faible détecté par le TIA.
- Dans la race noire, il existe de nombreuses variants de l'antigène RH5 accompagnées souvent de l'absence des antigènes publics du système RH.

**5.4.1.4. Antigènes composés <sup>[3]</sup>:**

- Ce type d'antigène désigne le produit de la collaboration de deux allèles en position cis sur le même chromosome.
- La forme allélique RHce du gène *RHCE* contrôle non seulement la synthèse des 2 antigènes courants RH4 et RH5 mais aussi celle d'un épitope supplémentaire reconnu par un anticorps spécifique : l'antigène RH6 (ce).
- Les sujets, ne possédant pas cet antigène, peuvent s'immuniser contre celui-ci, et synthétiser un allo-anticorps anti-RH6 dont l'identification repose sur un profil réactionnel spécifique défini dans le tableau ci après.

**Tableau IX: Profil réactionnel des antigènes composés <sup>[3]</sup>.**

Phénotypes gamme d'hématies tests	Génotypes	Réactions obtenues avec anti-RH6
DCCee	<i>DCE/DCE</i>	0
Dccee	<i>Dce/dce</i>	+
Ddccee	<i>Dce/dce</i>	+
DccEE	<i>DCE/DCE</i>	0
DCcEe	<i>DCE/DCE</i>	0
DCcEe	<i>DCE/dce</i>	+



- D'autres formes allélique du gène *RHCE* font l'objet de cette collaboration et codent les différents antigènes définis dans le tableau suivant :

Tableau X: Formes alléliques des autres antigènes composés <sup>[3]</sup>

Haplotypes	Antigènes codés
RHCe	RH2, RH5, RH7 (ou Cc)
RHcE	RH4, RH3, RH27 (ou cE)
RHCE	RH2, RH3, RH22 (ou CE)

#### 5.4.2. Anomalies d'expression du phénotype <sup>[3]</sup>:

##### 5.4.2.1. Haplotypes partiellement affaiblis <sup>[3]</sup>:

L'affaiblissement de la réactivité antigénique peut concerner non seulement l'antigène RH1 mais aussi les autres antigènes classiques du système RH. A titre d'exemple certains sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau XI: Affaiblissement de la réactivité antigénique des autres antigènes RH <sup>[3]</sup>.

	D	C	E	RH32	RH46	RH35
Noir	S	W	W	+0		
Blanc type 1	N	W	W	/	/	+
Blanc type 2	S	W	W	/	/	0

S : strong : renforcement d'activité.

W : weak : affaiblissement de réactivité.

##### 5.4.2.2. Haplotypes partiellement silencieux <sup>[3]</sup>:

- La survenue de Crossing-over entre les gènes *RHD* et *RHCE* est à l'origine des gènes hybrides *D - CE - D* dont les produits de synthèse aboutissent à une perte totale ou partielle de l'antigène CE.
- Des antigènes de grande fréquence avec éventuellement une modification de l'expression de l'antigène RH1 voire l'expression d'épitopes rares.
  - ✗ D - - (D exalté : ↑ de la réactivité de l'antigène D) D ash.
  - ✗ D- - (D affaibli) D Tar.
  - ✗ D. . (D est renforcé ou activité normale) D Evans.

- Certains de ces haplotypes sont, à titre d'exemple, présentés dans le tableau suivant :

Tableau XII : Haplotypes partiellement silencieux <sup>[3]</sup>

	D	C	E	C	e	RH17	RH18	RH29	LF
D - -	S	0	0	0	0	0	0	+	
D - -	W	0	0	0	0	0	0	+	Tar
D ..	S	0	0	0	0	0	0	+	Evans
Dc-	S	0	0	w	0	0	0	+	
DC <sup>w-</sup>	S	0	0	0	0	0	0	+	(Cw)
DIV (C) -	W	W	0	0	0	0	0	+	Goa

LF : antigène de faible fréquence.

#### 5.4.2.3. Haplotypes totalement silencieux <sup>[3]</sup> :

- Les antigènes RH sont regroupés sous forme d'un complexe composé de sous unités maintenues par liaisons non covalentes. Ce complexe comporte le cœur du complexe (RHD-RHCE-RH50) et des chaînes (CD47- LW- GPB).
- Le phénotype RH nul est caractérisé par une absence de tous les antigènes RH à la surface membranaire. Deux mécanismes peuvent être à l'origine de l'absence du cœur du complexe :
  - \* Soit une mutation homozygote des gènes *RHD* et *RHCE* constituant le RH nul type amorphe.
  - \* Soit une mutation homozygote du gène *RH50* n'appartenant pas au système RH : RH nul type régulateur.
- Les conséquences liées à ce type de phénotypes sont multiples :
  - \* Anomalies membranaires : (stomatocytose-sphérocytose),
  - \* Anémie hémolytique chronique sévère nécessitant une splénectomie.
  - \* Absence ou diminution des antigènes : LW, CD47, GPB (MNS3 - MNS4-MNS5), FY5.

#### 6. Réactivité des antigènes RH aux enzymes et aux produits chimiques<sup>[12]</sup>:

- Résistants aux enzymes donc exacerbation de leur expression à la surface des globules rouges.
- Insensible aux produits chimiques comme le DTT et AET.

## 7. Bases moléculaires de système RH :

### 7.1. Étude génétique de système RH :

#### 7.1.1. Gène du *RHD* et *RHCE* <sup>[3] [11]</sup>:

- Les deux gènes liés *RHD* et *RHCE*, localisés sur le chromosome 1p34-36.2, contrôlent la synthèse des différents antigènes RH.
- Les gènes *RHD* et *RHCE* sont constitués de 10 exons séparés de 30 Kb contenant le gène *SMP1* (Small membrane protein 1).
- Les gènes *RHD* et *RHCE* sont orientés de manière opposée «tête-bêche», les deux parties terminales 3' se faisant face.
- Les gènes *RHD* et *RHCE* présentent 96 % d'homologie et proviennent vraisemblablement d'un gène ancestral commun par duplication.
- Les spécificités C/c sont codées au niveau de l'exon 2.
- Les spécificités E/e sont codées au niveau de l'exon 5.

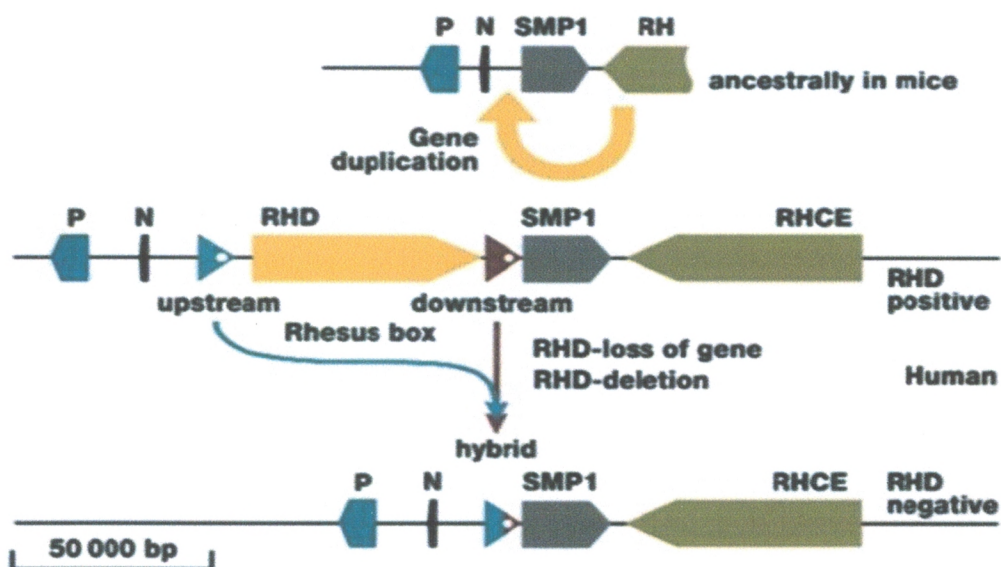


Figure 4: Organisation des gènes du système RH <sup>[13] [14]</sup>

#### 7.1.2. Gène *RHAG* <sup>[11]</sup>:

- Le gène *RHAG* (RH50) est situé sur le chromosome 6p11-21.1.
- Le gène *RHAG* présente 47 % d'homologie aux autres gènes *RHD* et *RHCE*.



### 7.1.3. Bases moléculaires du polymorphisme de système RH:

#### 7.1.3.1. Polymorphisme RH : 1 et RH : -1 :

- Le gène *RHD* code pour la protéine RHD et détermine la présence ou l'absence de la protéine RHD (antigène D) sur les hématies.
- ✖ Les individus RH positif possèdent un ou deux gènes *RHD*.
- ✖ L'absence de ce gène caractérise les individus RH négatif.
- ✖ Il n'existe pas d'allèle *Rhd*, ni d'antigène d.

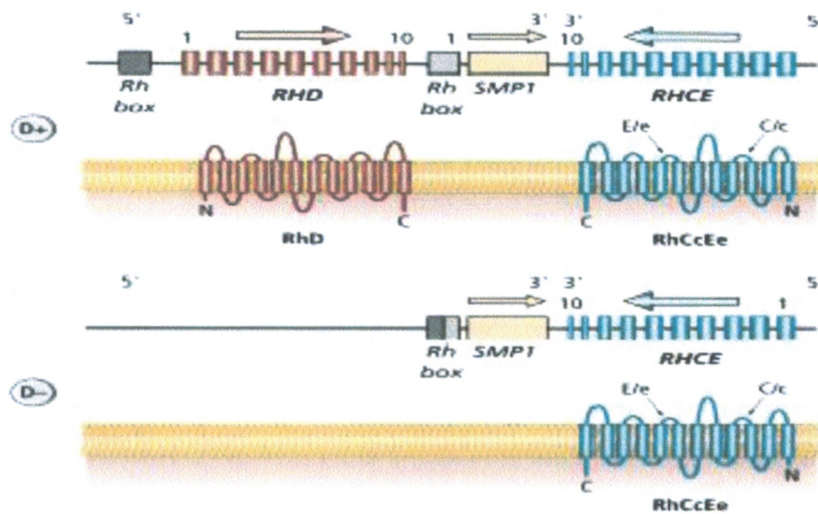


Figure 5 : Polymorphisme RH D positif - RH D négatif <sup>[15]</sup>

- L'absence totale de la protéine RHD se manifeste par deux mécanismes <sup>[3]</sup> :
  - ✖ Soit délétion de la totalité du gène *RHD* (retrouvé chez les blancs).
  - ✖ Soit dans d'autres cas (retrouvé chez les noires) :
    - ✓ Un gène *RHD* normal avec une insertion de 37 paires de base supplémentaires, associée à une mutation conduisant à un codon stop avec arrêt prématuré du cadre de lecture.
    - ✓ Un gène hybride *RHD-CE-D* caractérisé par l'expression de l'antigène C mais pas l'antigène D.

#### 7.1.3.2. Polymorphisme RH2/RH4 – RH3/RH5 <sup>[3]</sup>:

- Les antigènes antithétiques RH2/RH4 (C/c) et RH3/RH5 (E/e) sont codés par les différentes formes alléliques du gène *RHCE* :
  - ✖ Les antigènes C et c diffèrent par un aa critique en position 103.
  - ✖ Les antigènes E et e, diffèrent d'un aa critique en position 226.

- Il est donc possible de synthétiser les antigènes C ou c et E ou e selon les nucléotides présents au niveau des exons 2 et 5.

Tableau XIII: Bases moléculaires du polymorphisme des antigènes RH2/RH4 et RH3/RH5 <sup>[3]</sup>

Antigènes	Acides aminés	Position	Exons (mutation)	Fréquence (%)
RH2	Sérine	103	2	68
RH4	Proline	103	2	81
RH3	Proline	226	5	29
RH5	Alanine	226	5	98

7.1.3.3. Bases moléculaires des variants :

7.1.3.3.1. Bases moléculaires de phénotype D faible <sup>[16]</sup>:

Le phénotype D<sup>u</sup> (D faible) se manifeste suite à des mutations ponctuelles (plus de 80 mutations décrites), dans les domaines : intracytoplasmique et transmembranaire de la protéine RHD.

- \* L'antigène D<sup>u</sup> dépend d'un gène allèle de D<sup>u</sup>.
- \* L'allèle D étant dominant par rapport à l'allèle D<sup>u</sup>.
- \* Le facteur D<sup>u</sup> ne s'observe que chez les hétérozygotes D<sup>u</sup>/d et les rares homozygotes D<sup>u</sup>/D<sup>u</sup>.
- \* Le génotype D<sup>u</sup>/D produit un antigène D normal.

Tableau XIV : Génotypes et phénotypes Du

Phénotype	Génotype
D	D/Du
Du	Du/d
Du	Du/Du

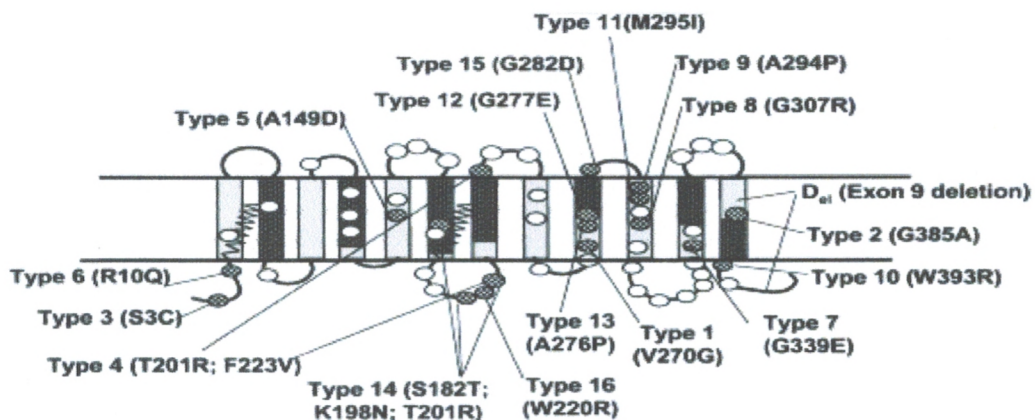


Figure 6 : Bases moléculaires du polymorphisme du D faible <sup>[14][16][17][18]</sup>

- \* Ainsi, 83 RHD faible <sup>[19]</sup>, du type 1 au type 76 (annexe IV) :
  - ✓ 68 faux-sens simple non-exofacial
  - ✓ 9 faux-sens dispersées exofacial
  - ✓ 2 conversions du gène
  - ✓ 1 mutation unique exofacial faux-sens
  - ✓ 1 mutation de site d'épissage
  - ✓ 1 délétion
  - ✓ 1 non déterminé / RHD faible type 4.0
  - ✓ 25 autres allèles avec une expression faible de RHD ne sont pas bien caractérisés ou alors le mécanisme n'est pas connu

**Tableau XV : Nombre de sites antigéniques des principaux phénotypes D faible <sup>[12]</sup>**

Phénotype D faible	Nombre de sites antigénique D
Type 1	1285
Type 2	489
Type 3	1932
Type 4	2288
Type 4.1	3811
Type 5	296
Type 6	1053
Type 7	2407
Type 8	972
Type 9	248
Type 10	1186
Type 11	183
Type 12	96
Type 13	956
Type 16	235
Type 17	66
Type 21	5200



Tableau XVI : Exemples de mutations responsables des principaux phénotypes D faible <sup>[19]</sup>

Phénotype	Acides aminés substitués	Segment affecté par la substitution
Type 1	Val par Gly en 270	TM
Type 2	Gly par Ala en 385	TM
Type 3	Ser par Cys en 3	IC
Type 4.0	Thr par Arg en 201 Phe par Val en 223	TM TM
Type 4.1	Trp par Cys en 16 Trp par Arg en 201 Phe par Val en 223	TM TM TM
Type 4.2	Thr par Arg en 201 Phe par Val en 223 Ile par Thr en 342	TM TM TM
Type 5	Ala par Asp en 149	TM
Type 11	Met par Ile en 295	TM
Type 15	Gly par Asp en 282	TM
Type 20	Phe par Ser en 417	IC

TM : transmembranaire ; IC : intracellulaire.

#### 7.1.3.3.2. Bases moléculaires de phénotype D partiels <sup>[3]</sup>:

Le phénotype D partiel se manifeste selon deux mécanismes :

- \* Soit des mutations ponctuelles du gène *RHD* avec changement d'acides aminés sur la partie extracellulaire de la protéine.
- \* Soit suite à la formation de protéines hybrides, due à un échange de matériel génétique par double crossing over entre les gènes *RHD* et *RHCE*.
  - ✓ Les gènes hybrides sont notés *RHD-C (2-9)-D*, indiquant que les exons 2 à 9 du gène *RHD* ont été remplacés par ceux du gène *RHCE*.
  - ✓ Mutation en position 110 : substitution Leu-Pro l'épitope manquant : 8.
  - ✓ Mutation en position 229 : substitution Arg-Lys : les épitopes 6-7 sont manquants.

### 7.1.3.3.3. Base moléculaire de phénotype RH null <sup>[11]</sup> <sup>[20]</sup>:

Deux types de RH null ont été individualisés : le type régulateur et le type amorphe.

- Dans le type régulateur, des mutations du gène *RHAG* ont été décrites. Elles ont pour conséquence:
  - ✗ Soit l'absence de protéine *RHAG*.
  - ✗ Soit des anomalies qui provoquent son catabolisme accéléré.
  - ✗ Soit des anomalies d'interactions entre la protéine *RHAG* et les protéines du complexe *RH30*.
  - ✗ Dans 80% des cas, il résulte de l'homozygotie d'un gène autosomique suppresseur *Xr* qui est indépendant au locus *RH*, mais jamais du à l'altération des protéines associées.
- Dans le type amorphe, différentes altérations du gène *RHCE* ont été décrites en association avec l'absence du gène *RHD* : due à l'homozygotie de l'allèle silencieux *--/--*. Les anomalies du gène *RHCE* ont été observées au niveau de différents exons (exon 4 à 7).

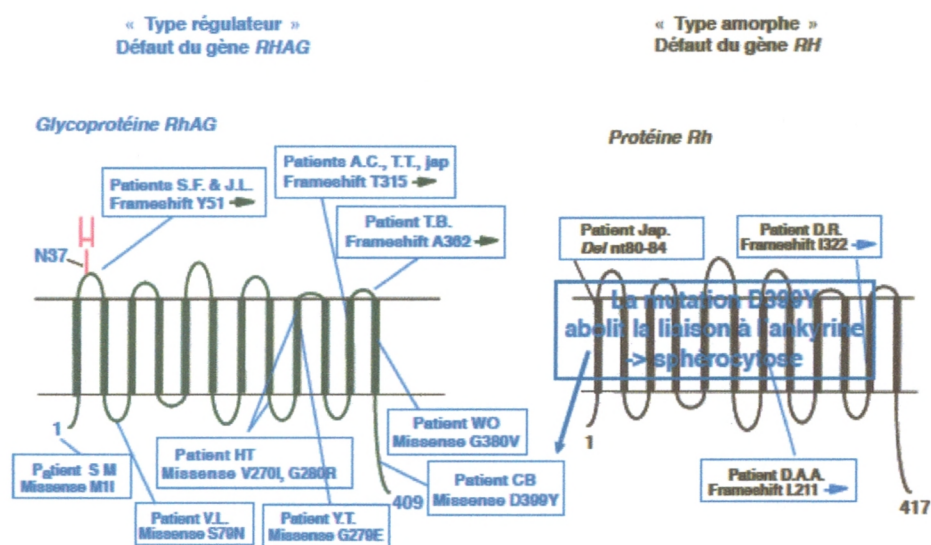


Figure 7 : Mutations des gènes *RHAG* et *RH* chez les *RH null* <sup>[20]</sup>

### 7.1.4. Gènes du complexe protéique (LW-CD47-GPB- FY) :

- La protéine CD 47 est codée par un gène situé sur le chromosome numéro 6.
- La GPB est codée par le gène situé sur le chromosome 4q28-31.
- La protéine FY est codée par le gène situé sur le chromosome 1q22-25.
- La protéine LW est codée par le gène situé sur le chromosome 19p13.

## 7.2. Étude biochimique de système RH :

### 7.2.1. Les protéines RHD et RHCE <sup>[11]</sup>:

Les antigènes RH sont localisés sur deux protéines RH: RHD et RHCE, qui se trouvent dans la membrane érythrocytaire, ces protéines sont caractérisées par :

- Un poids moléculaire de 30-33 KDa.
- Sont constituées de 417 aa.
- Chaque protéine comporte 12 domaines transmembranaires et 6 boucles extracellulaires.
- Sont de nature hydrophobe et ne présentent pas de glycosylation.
- Les protéines RHD et RHCE diffèrent par 36 aa.

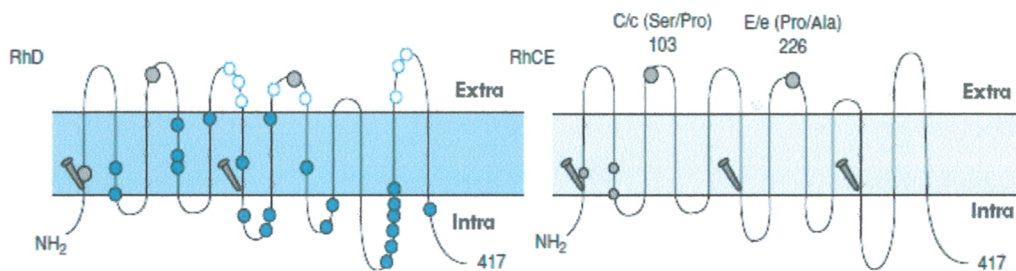


Figure 8: Structure des protéines RHD et RHCE et polymorphisme C/c et E/e <sup>[11]</sup>

### 7.2.2. La protéine RHAG <sup>[11]</sup>:

La protéine RHAG possède une structure similaire au complexe RHD-RHCE :

- Constitué de 409 aa avec 12 domaines transmembranaires.
- C'est une protéine glycosylée.
- Cette protéine permet l'expression des antigènes RH.
- Les hématies RH null n'expriment pas ou expriment faiblement cette protéine.

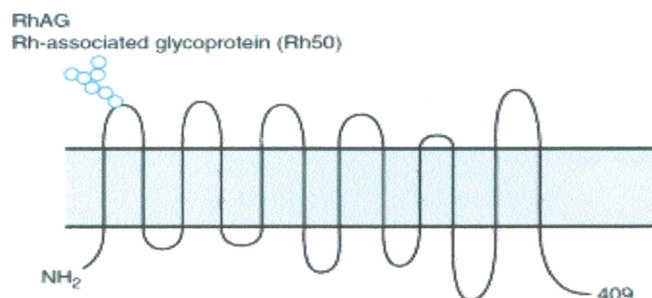


Figure 9 : Structure de la protéine RHAG <sup>[11]</sup>



### 7.2.3. Complexe protéique (LW - CD47 - GPB - FY) :

#### 7.2.3.1. CD47 :

La protéine CD47 est une glycoprotéine d'un poids moléculaire de 52 KDa. Elle est fixée à la protéine 4.2 et indispensable à la reconnaissance des hématies par le système immunitaire, son absence entraîne leur destruction car les auto-anticorps anti-RH agissent par ce mécanisme en cachant le CD47.

#### 7.2.3.2. La protéine LW :

La protéine LW qui porte les antigènes du système LW est une glycoprotéine de 270 aa. Elle présente un domaine transmembranaire et deux domaines « Ig-like » dans l'extrémité N-terminal.

#### 7.2.3.3. La Glycophorine B (GPB) :

La glycophorine B qui porte les antigènes MNS3 et MNS4 du système MNS est une glycoprotéine de 72 aa dont l'expression est réduite dans 70 % des cas des rhésus nuls régulateurs.

#### 7.2.3.4. La protéine FY :

La protéine qui porte les antigènes FY est une glycoprotéine de 336 aa, avec un poids moléculaire de 35,7 KDa.

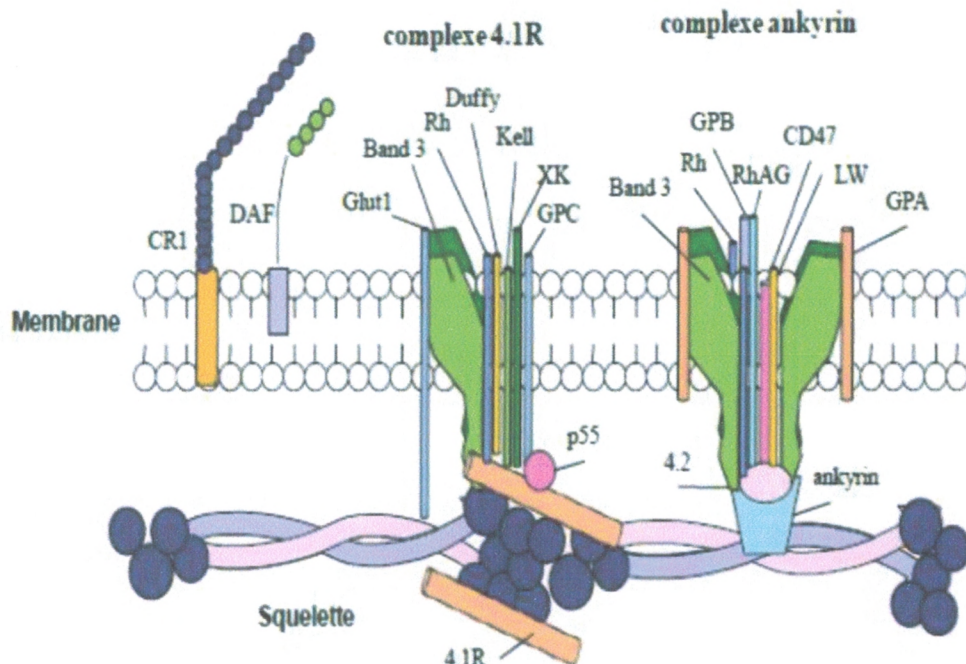


Figure 10: Protéines membranaires érythrocytaires portant les antigènes de groupes sanguins <sup>[4]</sup>

## 8. Les anticorps de système RH <sup>[3]</sup>:

### 8.1. Les allo-anticorps :

- **Origine :**
  - Allo-immunisation foeto-maternelle.
  - Allo-immunisation transfusionnelle.
- **Type :**
  - IgG (surtouts IgG1)
  - Rarement IgM naturels.
- **Propriétés :**
  - Actifs à 37 °C.
  - Traverse le placenta.
  - Fixent et activent le complément.
  - Mise en évidence :
    - \* En milieu macromoléculaire.
    - \* Par le test indirect à l'antiglobuline.
    - \* Par le test aux enzymes (exacerbation)

### 8.2. Les hétéro-anticorps :

Des anticorps anti-E et anti-C<sup>w</sup> ont été observés en dehors de toute transfusion et/ou grossesse, il s'agit d'hétéro-anticorps.

### 8.3. Les auto-anticorps :

- Des anticorps de type IgG et de spécificité RH, actifs contre les propres hématies du sujet, sont mis en évidence au cours de certaines anémies hémolytiques auto-immunes, voire en dehors de tout processus hémolytique.
- Les cibles de ces auto-anticorps sont des antigènes RH spécifiques dirigés contre les antigènes communs du système RH. Il s'agit en général des anti-nl (normal), anti-pdl (partiellement délité) ou anti-dl (délité).
- Ces auto-anticorps sont généralement retrouvés à la suite des hémopathies malignes, maladies de système et certains déficits immunitaires.
- Les auto-anticorps anti-RH sont de type IgG (ou IgG –IgM).
- Ils sont actifs à 37°C et ne fixent pas le complément.

**9. Méthodes d'étude du système RH :****9.1. Techniques immunologiques :**

- Depuis quelques années, un grand nombre de laboratoire ont utilisé des anticorps polyclonaux comme réactifs de laboratoire, ces anticorps :
  - \* Sont produits suite à l'immunisation des animaux (cheval, lapin...etc.)
  - \* Sont actifs à 37°C en milieu macromoléculaire <sup>[2]</sup><sup>[21]</sup>.
- Actuellement des anticorps monoclonaux ont été produits par technique d'hybridation de cellules de myélome et de lymphocytes B. Ces anticorps :
  - \* Sont actifs à 22°C.
  - \* Présente plus de spécificité.
  - \* Certaines peuvent détecter les variants faibles.

**9.1.1. Groupage RHD :**

Le principe de groupage RHD repose sur la recherche de la présence ou de l'absence de l'antigène RH1 sur les hématies au moyen de sérum test anti-D ; cette recherche peut être effectuée sur différents supports :

- Sur plaque.
- En tube.
- Sur gel.
- Sur microplaque.
- Par techniques automatiques.

**9.1.2. Phénotypage restreint :**

Le principe de la technique de phénotypage restreint consiste à rechercher la présence ou l'absence des antigènes érythrocytaires RH2(C), RH3(E), RH4(c), RH5(e) et KEL1(K) sur les hématies du sujet, par agglutination à 22°C, à l'aide d'anticorps monoclonaux .

**9.1.3. Recherche de phénotype D faible :****9.1.3.1. Par le test indirect à l'antiglobuline :**

Le principe de recherche de phénotype D faible par le test indirect à l'antiglobuline (TIA) repose sur la mise en évidence par agglutination, d'une sensibilisation « in vitro » d'hématies à tester par des immunoglobulines grâce à l'utilisation d'antiglobuline humaine d'origine animale.



**9.1.3.2. Par le test aux enzymes :**

Le principe de recherche de phénotype D faible par le test aux enzymes consiste au traitement des hématies à tester par des enzymes protéolytiques qui détruisent les antigènes des autres systèmes (sauf JK), les antigènes RH sont donc exacerbés puis la recherche de l'agglutination grâce au sérum test anti-D.

**9.1.4. Recherche des anticorps érythrocytaires (RAE) :**

Le principe de la technique de RAE repose sur la mise en évidence anticorps :

- Dans le sérum de : mère, sujet polytransfusé ou de sujet atteint d'AHAI.
- Élués d'hématies de nouveau né ou sujet atteint d'AHAI.

**9.2. Techniques de biologie moléculaire (PCR) :**

Le principe de PCR repose sur l'amplification d'un fragment d'ADN (séquence cible grâce à une enzyme Taq polymérase (ADN polymérase bactérien réactif à une température élevée), après extraction, dénaturation, amorçage, puis révélation par électrophorèse, séquençage ou par les puces à ADN.

**10. Applications du système RH :**

- Le système RH est le deuxième système le plus important d'un point de vue clinique après le système ABO. C'est le système le plus immunogène, il est impliqué dans :
  - **L'allo-immunisation fœto-maternelle :**

Cette situation est rencontrée dans le cas où la mère est RH : -1, l'enfant RH : 1, la mère va s'immuniser contre les hématies de son bébé, le premier bébé est indemne. La prévention est réalisée par l'administration du sérum anti-D dans les 72 heures qui suivent l'accouchement.
  - **L'allo-immunisation transfusionnelle :**

L'immunisation de receveur RH : -1 entraîne des accidents hémolytiques retardés, cette situation a été prévenue (en France par la loi de 26 avril 2002) par l'obligation du phénotypage RH-KEL pour tous les donneurs ou receveurs du sang.

- Le système RH est impliqué dans certaines pathologies associées à des anomalies d'expression des antigènes RH :
  - **Lors du phénotype RH null on note :**

Une anémie hémolytique chronique congénitale avec une stomatocytose et une sphérocytose.
  - **Lors des hémopathies malignes :**
    - ✖ Dans la plupart des cas une perte d'expression antigénique sur une fraction seulement de la population érythrocytaire.
    - ✖ Lors de LMC l'expression de l'antigène RH1 disparaît, et l'analyse moléculaire du locus RH montre une mutation non sens du gène *RHD* dans les cellules de la lignée érythroïde.
  
- Le système RH est impliqué en médecine légale dans :
  - La recherche d'exclusion de paternité, il est plus discriminant que le système ABO.
  - L'étude des taches du sang.

# **PARTIE PRATIQUE**



# **OBJECTIFS**

**1. Objectifs :****1.1.Objectif principale :**

L'objectif de cette étude est d'estimer la prévalence du phénotype RH1 faible (D<sup>h</sup>) chez des donneur bénévoles du sang au niveau du centre de wilaya de transfusion sanguine du CHU Tlemcen en utilisant des techniques sérologiques à l'aide du test indirect à l'antiglobuline.

**1.2.Objectif secondaire :**

L'objectif secondaire de cette étude est l'amélioration de la sécurité transfusionnelle par la réduction des allo-immunisations transfusionnel et fœto-maternelles anti-RH1.

# **CADRE D'ETUDE**



**2. Cadre de l'étude :****2.1. Lieu d'étude :**

L'étude a été menée au centre de wilaya de transfusion sanguine (CWTS) de Tlemcen.

**2.2. Type et période d'étude :**

Il s'agit d'une étude transversale à visé descriptif qui s'étalant du 23 octobre 2013 au 31 décembre 2013 (70 jours) et dont la source de données est basée sur l'analyse documentaire.

**2.3. Population d'étude :**

- La population d'étude est constituée par des donateurs bénévoles du sang venant au CWTS de Tlemcen; des donateurs réguliers ou des donateurs occasionnels, contre partie.
- Cette étude a concernée 2612 donateurs de sang issus des différents endroits de notre région et dont l'âge varie de 18 à 65 ans.
- Notre série d'étude a comporté 2271 (86,94 %) homme (H) et 341 (13,06 %) femme (F), sex ratio H/F : 6,66 avec une nette prédominance masculine.
- Tous ces donateurs ont été prélevés et groupés au sein de notre C.W.T.S et testé pour l'anti-RH1. Ceux qui n'ont pas donnés d'agglutination (apparemment RH : -1) ont été soumis à un test indirect à l'antiglobuline à la recherche d'antigène RH1 faible.

**2.3.1. Critères d'inclusion :**

- Être un donneur de sang.
- Remplir les critères du don de sang (**annexe V**).
- Tous les donateurs du sang RH : -1.

**2.3.2. Critères de non inclusion :**

- Répondre à un des critères de contre-indication au don de sang (**annexe V**).
- Tous les donateurs du sang RH : 1.

**MATERIELS  
ET  
METHODES**

**3. Matériels et méthodes :****3.1. Prélèvement, matériels, consommables et réactifs:****3.1.1. Prélèvement :**

- Prélèvements du sang veineux effectués chez les donneurs sur tube EDTA.

**3.1.2. Matériels :**

- Centrifugeuse de paillasse avec nacelles pour tube à hémolyse.
- Étuve réglable à 37°C.
- Pipettes automatiques simple réglables 50 µL à 100 µL.
- Plaque d'opaline en plastique dur blanc.
- Portoirs pour tubes à hémolyse de 5 mL.
- Tubes à hémolyse de 5 mL.

**3.1.3. Consommables :**

- Embouts jaunes pour pipettes automatiques de 50 µL à 100 µL.
- Étiquettes autocollants vierges.
- Gants jetables.
- Gaze.
- Alcool à 90°.
- Solution d'hypochlorite de sodium.

**3.1.4. Réactifs :**

- Sérum test anti-RH1 monoclonal (IgM-IgG) (**Annexe VI**).
- Antiglobuline humaine (AHG) polyspécifique (**Annexe VII**).
- Solution L.I.S.S. (**Annexe VIII**).
- Sérum physiologique à 0,9 % de NaCl.
- Hématies témoins de groupe O Rhésus positif et O Rhésus négatif.



### 3.2.Méthodes :

#### 3.2.1. Étude sérologiques :

##### 3.2.1.1. Groupage RH1 :

□ **Principe :**

Le principe de groupage RH1 repose sur la recherche de la présence ou l'absence de l'antigène RH1 sur les hématies par technique d'agglutination directe au moyen de sérum test anti-RH1.

□ **Mode opératoire :**

Le groupage RH1 peut être effectué sur différents supports (sur plaque, en tube, sur microplaque, sur gel, sur automate), ici on a utilisé la technique sur plaque d'opaline.

- On dépose sur la plaque une goutte de sang.
- On ajoute sur cette goutte deux gouttes de réactif (anti-RH1).
- On mélange soigneusement les hématies avec le réactif en formant un disque d'environ 3 cm de diamètre à l'aide d'un tube qui sera essuyé entre chaque mélange avec de la gaze.
- Chalouper la plaque à la recherche d'agglutination.

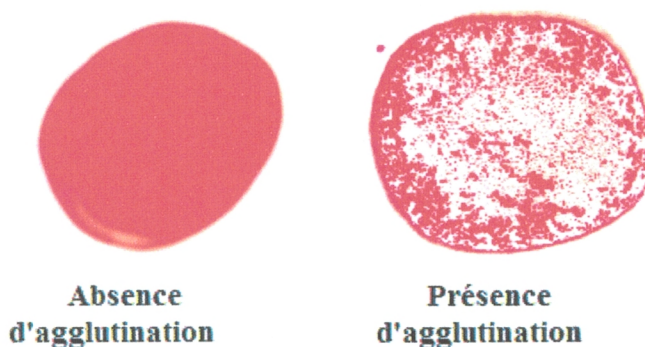
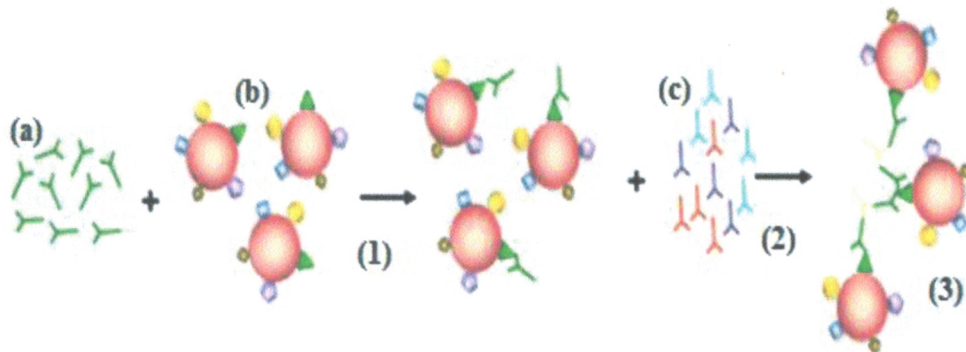


Figure 11 : Lecture de groupage RH

### 3.2.1.2. Recherche d'antigène D<sup>u</sup> par le TIA :

#### □ Principe :

Le principe de recherche de phénotype RH1 faible par le test indirect à l'antiglobuline repose sur la mise en évidence par agglutination, d'une sensibilisation « in-vitro » d'hématies à tester par des immunoglobulines grâce à l'antiglobuline humaine.



**Figure 12 : Principe du test indirect à l'antiglobuline**

**Réactifs :** (a) anti-D, (b) hématies de l'échantillon, (c) antiglobuline humaine polyvalente.

**Étapes :** (1) sensibilisation, (2) révélation, (3) agglutination.

#### □ Mode opératoire :

##### ▪ Préparation d'échantillons à tester :

✖ On effectue pour chaque échantillon d'hématies:

- ✓ 3 à 6 lavages en solution saline à 0,9 %.(Annexe IX)
- ✓ Une dilution à 05 % en solution saline à 0,9 %. (Annexe X)

##### ▪ Préparation des témoins :

Ces hématies sont préparées et traitées au même temps que les hématies des échantillons à tester.

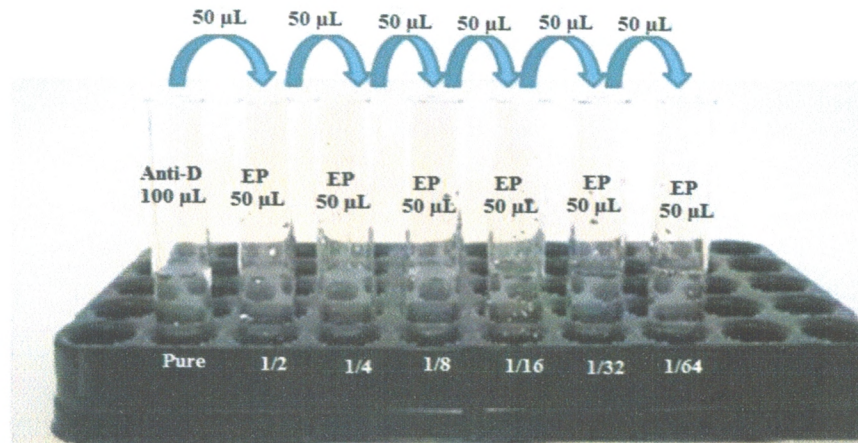
##### ✖ Témoins négatif :

Préparer une suspension d'hématies de groupe O négatifs à 5%.

##### ✖ Témoins positif :

Préparer une suspension d'hématies de groupe O positifs sensibilisée par l'anti-D, pour cela on procède comme suite :

- ✓ On prépare une série de dilution du sérum test anti-RH1 à raison de 2 (c'est à dire 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64).



**Figure 13 : Préparation des dilutions d'anti-D pour la sensibilisation des hématies témoins positifs**  
EP : Eau physiologique (0,9 % de NaCl)

- ✓ La concentration d'anti-D à utiliser pour préparer le témoin positif est calculer par :
  - Sensibilisation de la suspension à 05 % des hématies de groupe O positif avec la série de la dilution d'anti-D.
  - Observation de la présence ou l'absence d'agglutination.
  - La concentration d'anti-D à utiliser correspond à la première concentration d'anti-D qui ne donne pas une agglutination sur plaque d'opaline.
- ✓ Dans notre étude on à utilisé la concentration d'anti-D qui correspond à la dilution de 1/32.

**Tableau XVII : Dilutions d'anti-RH1 pour la sensibilisation des hématies témoins positifs**

Dilution d'anti-RH1	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Agglutination	+++	++	++	+	+	-	-

- **Étape de sensibilisation :**
  - ✖ On identifie des tubes à hémolyse correspondants aux tubes d'échantillons à tester par le numéro d'identification du donneur et des témoins positif et négatif par des numéros (01) et (02) respectivement (**Annexe XI**).
  - ✖ On met dans les tubes à hémolyse pour les échantillons à tester et pour le témoin négatif deux gouttes de sérum test anti-RH1 chacun.



- \* On met dans le tube du témoin positif 100  $\mu$ L de sérum anti-RH1 à la dilution 1/32.
- \* Pour chacun des tubes on ajoute :
  - Dans le tube numéro (01) 100  $\mu$ L de la suspension d'hématies du contrôle positif.
  - Dans le tube numéro (02) 100  $\mu$ L de la suspension d'hématies du contrôle négatif.
  - Dans les autres tubes 100  $\mu$ L de la suspension d'hématies d'échantillons à tester.

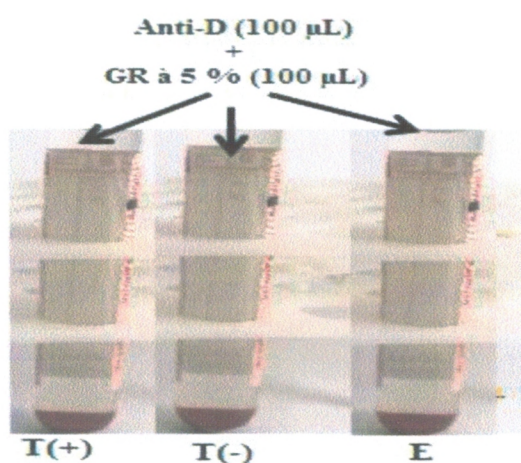


Figure 14 : Étape de sensibilisation (1)

- \* Pour chacun des tubes on ajoute deux gouttes de la solution L.I.S.S.



Figure 15 : Étape de sensibilisation (2)

- \* On mélange.
- \* On incube les tubes à 37°C pendant 15 mn à l'étuve. (**Annexe XII**).
- \* On centrifuge les tubes à 1000 tour/mn pendant 1 mn (**Annexe XII**).
- \* On vérifie s'il y a agglutination ou hémolyse.
- \* On élimine le surnageant.

NB : Si on n'utilise pas la solution L.I.S.S. la durée d'incubation sera de 45 minutes.

- **Étape de lavage :**
  - ✗ On effectue 3 lavages en solution saline à 0,9 %.
  - ✗ On décante complètement l'eau de lavage.
  - ✗ On observe s'il y a une agglutination ou hémolyse.
- **Étape de révélation :**
  - ✗ On ajoute dans chaque tube deux gouttes d'antiglobuline humaine polyspécifique.

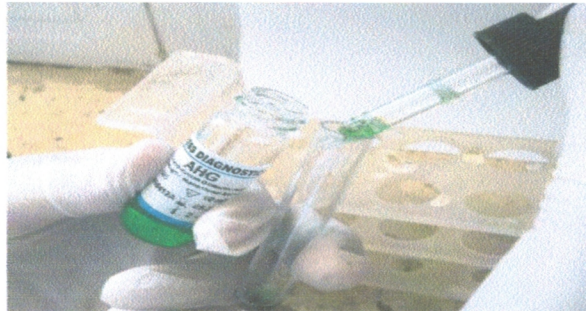


Figure 16 : Étape de révélation

- ✗ On mélange, puis on centrifuge à 1000 tours / mn pendant 1 mn.
- ✗ On observe la présence ou l'absence d'agglutination en décollant doucement la pastille d'hématies au fond de tube.
- **Étape de validation :**

On ajoute une goutte de suspension d'hématies sensibilisées aux tubes donnant une réaction négative.
- **Lecture :**
  - ✗ Une agglutination et/ou une hémolyse représente un test indirect à l'antiglobuline positif.
  - ✗ Une absence d'agglutination et/ou d'une hémolyse représente un test indirect à l'antiglobuline négatif.



Figure 17 : Étape de lecture  
A gauche : résultat positif, à droite : résultat négatif

**3.2.2. Etude statistique :****3.2.2.1. Recueil des données :**

- Le recueil des données concernant :
  - Le nombre total de donneurs.
  - Le nombre de donneurs selon le groupe ABO-RH et leurs sexes.
  - Le nombre de donneurs RH : -1 qui ont donnés un résultat positif par le TIA à la recherche d'antigène D<sup>u</sup>.
- Ce recueil à été effectué manuellement, quotidiennement et au même temps que la réalisation des tests sérologiques et ceci à partir du registre du médecin du don, des deux registres de groupage ABO-RH et du registre de détermination de l'antigène D<sup>u</sup>.

**3.2.2.2. Analyse des données :**

- Les analyses statistiques ont été faites par le logiciel Standard Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 17 pour Windows.
- La prévalence du phénotype D<sup>u</sup> a été calculée en divisant le nombre total des donneurs qui ont donnés un résultat positif au TIA sur le nombre totale donneurs groupés au départ RH :-1.
- La répartition des donneurs selon le sexe, le groupe ABO-RH a été déterminée par le logiciel cité ci-avant.



**RESULTATS**  
**ET**  
**INTERPRETATIONS**

#### 4. Résultats et interprétations :

##### 4.1. Répartition des donneurs selon le sexe :

- Résultats :

Tableau XVIII : Répartition des donneurs selon le sexe

	Effectif	Fréquence (%)
Hommes	2271	86,94
Femmes	341	13,06
Total	2612	100

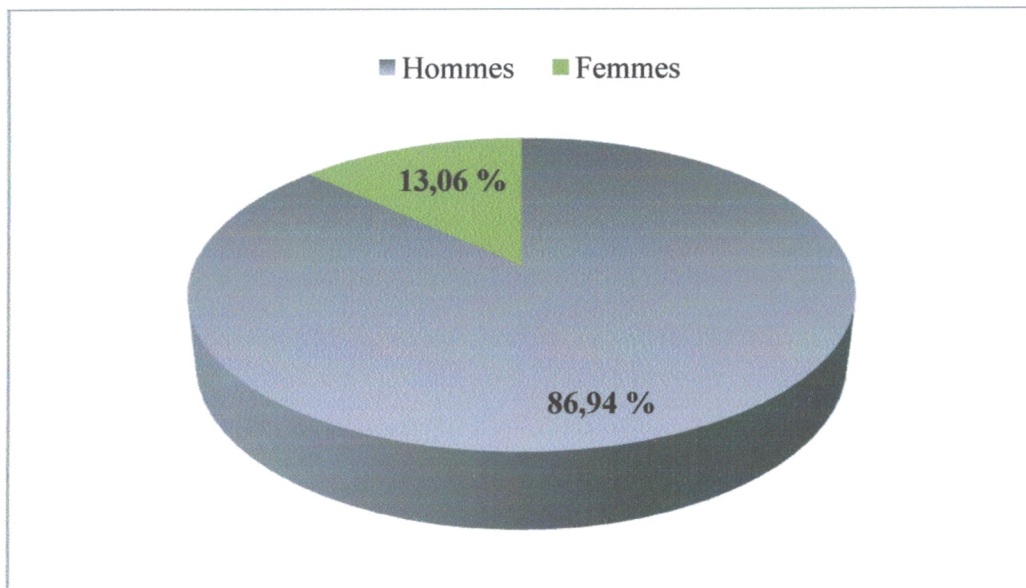


Figure 18 : Répartition des donneurs selon le sexe

- Interprétation :

Sur les 2612 donneurs on a trouvé : 2271 hommes qui correspond à une fréquence de 86,94 % et 341 femmes qui correspond à une fréquence de 13,06 %.

## 4.2. Répartition des donneurs selon le groupage ABO-RH:

## ▪ Résultats :

Tableau XIX : Répartition des donneurs selon le groupage sanguin ABO-RH

Groupe	A		B		AB		O		Total	
	Eff	%	Eff	%	Eff	%	Eff	%	Eff	%
<b>RH : 1</b>	798	30,55	428	16,39	108	4,14	1035	39,62	2369	90,70
<b>RH : -1</b>	92	3,52	48	1,84	10	0,38	93	3,56	243	9,30
<b>Total</b>	890	34,07	476	18,23	118	4,52	1128	43,18	2612	100

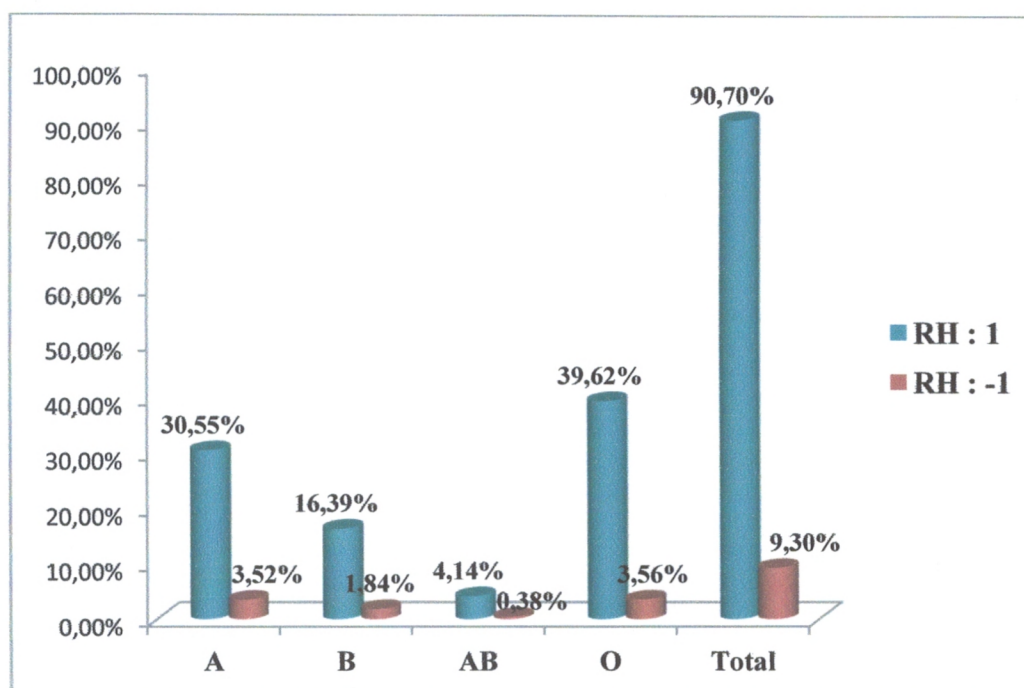


Figure 19 : Répartition des donneurs selon le groupage sanguin ABO-RH

## ▪ Interprétation :

Sur les 2612 donneurs testés on a trouvé que :

- × 2369 sujets RH : 1 (90,70 %) et 243 RH : -1 (9,30 %).
- × 890 sujet de groupe A dont 798 RH : 1 (30,55 %) et 92 RH : -1 (3,52 %).
- × 476 sujet de groupe B dont 428 RH : 1 (16,39 %) et 48 RH : -1 (1,84 %).
- × 118 sujet de groupe AB dont 108 RH : 1 (4,14 %) et 10 RH : -1 (0,38 %).
- × 1128 sujet de groupe O dont 1035 RH : 1 (39,62 %) et 93 RH : -1 (3,56 %).



## 4.3. Répartition des donneurs selon le sexe et le groupage RH :

## ▪ Résultats :

Tableau XX : Répartition des donneurs selon le sexe et le groupage RH

RH \ Sexe	Hommes		Femmes		Total	
	Eff	%	Eff	%	Eff	%
RH : 1	2076	91,41	293	85,92	2369	90,70
RH : -1	195	8,59	48	14,08	243	9,30
<b>Total</b>	<b>2271</b>	<b>100</b>	<b>341</b>	<b>100</b>	<b>2612</b>	<b>100</b>

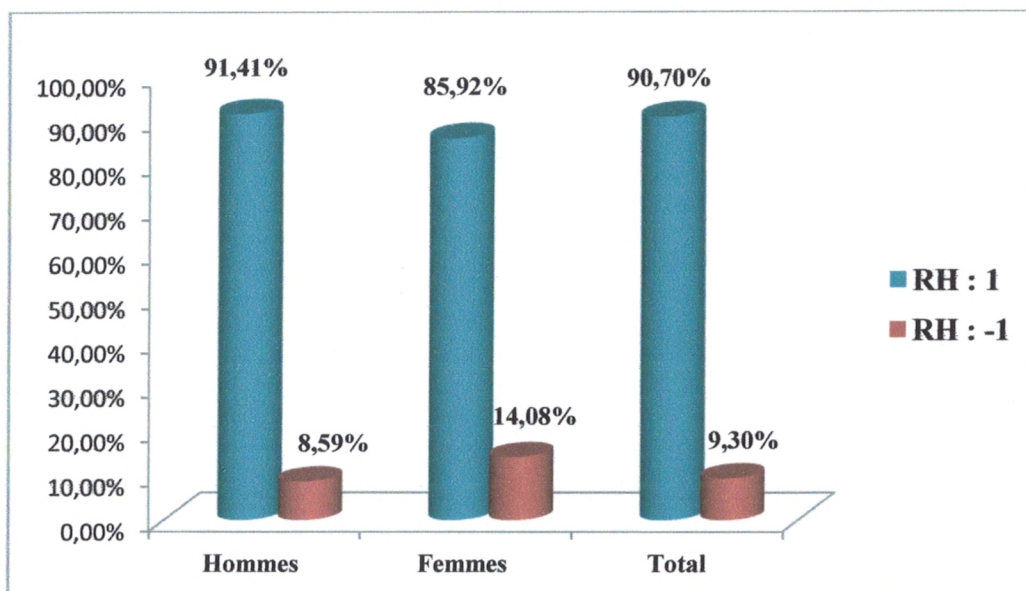


Figure 20 : Répartition des donneurs selon le sexe et le groupage RH

## ▪ Interprétation :

Sur l'ensemble des donneurs on a trouvé que :

- \* 2271 hommes dont 2076 RH : 1 (91,41 %) et 195 RH : -1 (8,59 %).
- \* 341 femmes dont 293 RH : 1 (85,92 %) et 48 RH : -1 (14,08 %).

#### 4.4. Fréquence d'antigène D<sup>U</sup> après le TIA :

- Résultats :

Tableau XXI : Fréquence d'antigène D<sup>U</sup> après le TIA

	RH : -1	D <sup>U</sup>	Total
Effectif	238	5	243
Fréquence (%)	97,94	2,06	100

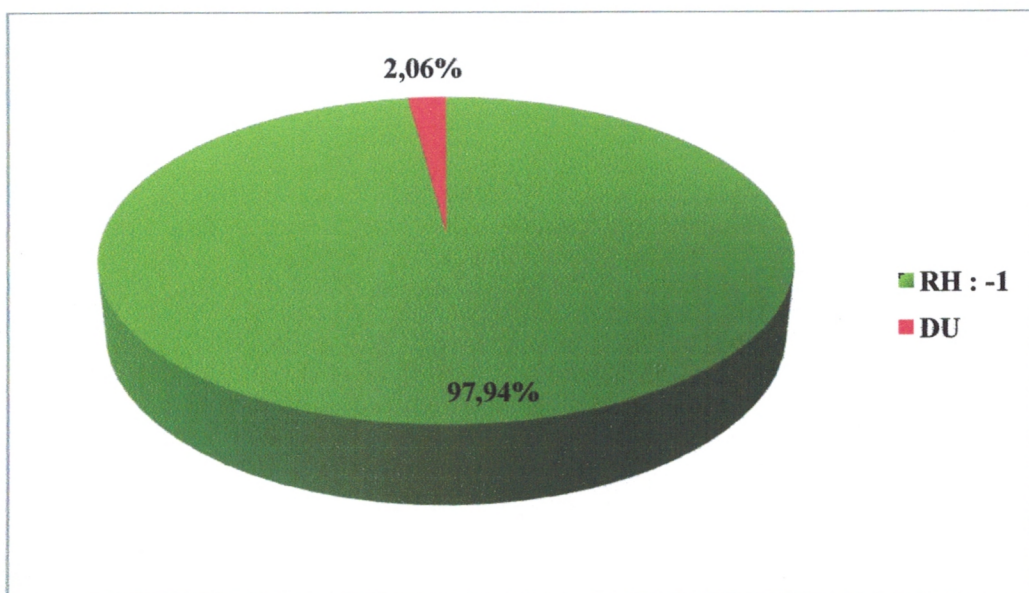


Figure 21 : Fréquence d'antigène D<sup>U</sup> après le TIA

- Interprétation :

Sur les 248 donneurs RH : -1 testés pour la recherche d'antigène D<sup>U</sup> par le TIA :

- ✘ 5 donneurs ont donné un résultat positif avec le TIA (soit 2,06 %) et sont dits D<sup>U</sup> positif.
- ✘ 238 donneurs ont donné un résultat négatif avec le TIA (soit 97,94 %) et sont dits RH : -1.

#### 4.5. Répartition des donneurs RH après le TIA :

- Résultats :

Tableau XXII : Répartition des donneurs RH après le TIA

	RH : 1	RH : -1	Total
Effectif	2374	238	2612
Fréquence (%)	90,89	9,11	100

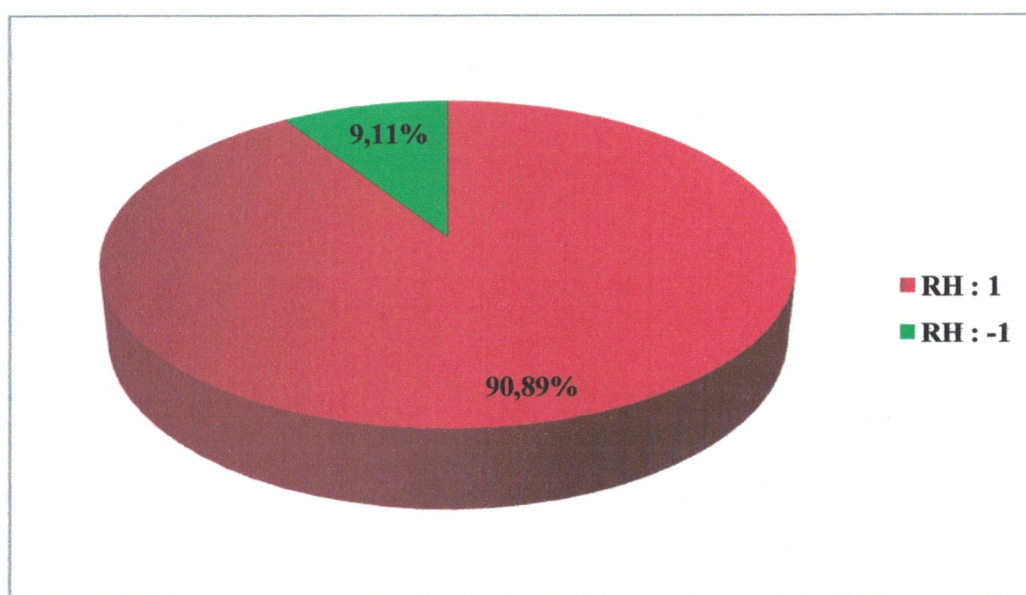


Figure 22 : Répartition des donneurs RH après le TIA

- Interprétation :

Sur l'ensemble de donneurs (soit 2612) et après le TIA:

- ✖ Le nombre de donneurs RH : 1 est devenu 2374 soit 90,89 %.
- ✖ Le nombre de donneurs RH : -1 est devenu 238 soit 9,11 %.



# **DISCUSSION**

## Discussion

---

Le RH D faible, précédemment appelé D<sup>u</sup>, a été l'objet de nombreuses études depuis qu'il a été identifié. Dans notre étude, la valeur obtenue de la prévalence des donneurs RH : -1 est de 9,11 %, celle des donneurs RH : 1 est de 90,89 %, sont en concordance avec ceux rapportées dans la littérature (07 % à 9,5 % des donneurs RH : -1 et 90,5 % à 93 % des donneurs RH : 1) <sup>[2]</sup> <sup>[22]</sup> <sup>[23]</sup>, <sup>[24]</sup>.

Par rapport à la totalité des donneurs étudiés et typés RH : -1 (243 donneurs), la prévalence du phénotype D faible est de 2,06 % (05 donneurs), et 0,19 % par rapport au nombre total (2612 donneurs). Ces valeurs s'accordent avec l'incidence rapportée dans une étude réalisée au États-Unis 03 % <sup>[25]</sup>. Par ailleurs, des valeurs inférieures ont été rapportées dans d'autres études (0,29 % au CTS de Tizi Ouzou<sup>[22]</sup> ; 0,4 % au Maroc <sup>[2]</sup> et 0,8 % au Pakistan<sup>[24]</sup>) et d'autres valeurs plus élevées 6,45 % ont été obtenues chez les Africains au Ghana<sup>[23]</sup>.

Cette variabilité de la prévalence d'une région à l'autre dépend de plusieurs facteurs : des performances du réactif, de la méthode utilisée, du mélange racial de la population testée et le nombre de donneurs inclus.

La principale préoccupation de ce phénotype RH1 faible se pose en raison de deux facteurs qui sont <sup>[23]</sup> :

- D'une part, les difficultés immuno-hématologiques de typage de l'antigène D faible, rencontrées avant l'utilisation des réactifs monoclonaux, où les résultats des groupes sanguins ont été affectés par le titre des anticorps anti-D dans le réactif utilisé. Dans ce cas, la personne ayant l'antigène D faible peut être étiqueté RH D positif par un laboratoire et RH D négatif par un autre. Ces résultats contradictoires peuvent conduire à un accident transfusionnel.
- D'autre part, il y a le risque d'allo-immunisation chez les destinataires RH D négatif lié à l'antigène D qui est hautement immunogène et donc il est impératif que les sujets ayant le phénotype D faible soient considérés D positifs en tant que donneurs, et D négatif comme receveurs RH : 1. Par conséquent, ils doivent impérativement être transfusés avec du sang RH D négatif. De même, pour le cas des mères RH D négatives porteuses d'un fœtus D faible, elles doivent obligatoirement recevoir l'immunoprophylaxie anti-D, car le passage des globules rouges du fœtus à la mère peut causer une sensibilisation anti-D.

# **CONCLUSION**



## **Conclusion**

---

Le système RH demeure l'un des systèmes majeurs en termes d'implication clinique notamment en contexte transfusionnel et obstétrical. Cette importance est liée à la forte immunogénicité de ses antigènes notamment l'antigène standard D.

Les modalités de son exploration en contexte obstétrical et transfusionnel, le développement de l'immunoprophylaxie anti-RH1 et les recommandations en terme de sélection de produits sanguins labiles notamment la recherche du variant D faible ont largement contribué à maîtriser le risque sanitaire lié à ce système.

Cette étude avait comme objectif la détermination de la prévalence de l'antigène D faible chez une population de 2612 donneurs de sang, en utilisant des techniques sérologiques. Ainsi, la prévalence de ce variant été de 2,06 %.

Ce travail montre que le variant D faible reste rare. Cependant sa recherche chez les donneurs de sang doit être une préoccupation constante vue sa forte immunogénicité. Toutefois, ces résultats ne peuvent être comparés avec ceux des autres études, en raison des conditions expérimentales différentes, de l'importance de l'échantillon et de la durée de l'étude.

Ce qui fait de cette étude une initiation pour la détermination de la prévalence réelle de ce variant rare, Son dépistage doit constituer une pierre angulaire de la prévention de l'allo-immunisation anti-érythrocytaire pour assurer une sécurité transfusionnelle optimale.

La présente étude peut servir comme une ébauche de travail afin d'élargir les prochaines recherches notamment l'augmentation de l'échantillon testé, voir la systématisation de sa détermination pour garantir des résultats fiables, et pourquoi pas l'étude génotypique de ce variant rare.

**REFERENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES**

## Références bibliographiques

---

- [1] Nomenclature ISBT 2012 site : [www.isbtweb.org](http://www.isbtweb.org).
- [2] **KABIRI A et al** ; prévalence du phénotype Rh D faible chez les donneurs de sang Rh D négatif au Maroc; sciencedirect; 2012.
- [3] **JANOT. C et al** ; immuno-hématologie et groupes sanguins aspects théoriques applications cliniques et transfusionnelles; cahier de formation biologie médicale bioforma 2002; 31-33; 59-68.
- [4] **TISSOT J.D. et al** ; immunohématologie bases de médecine transfusionnelle; cinquième édition service Vaudois de transfusion 2011; 75-87.
- [5] **DANIELS GL et al** ; the VS and V blood group polymorphisms in africans : a serological and moléculaire analysis; transfusion 1998 ; 38 ;951-8.
- [6] **AIRECHE H** ; polymorphisme érythrocytaire dans la population algérienne ; thèse de doctorat en sciences médicales, INESM ; Alger 1987.
- [7] **DANIELS G** ; Human blood groups. Oxford : Blackwell science,1995 : 261.
- [8] **SUSAN T. JOHNSON** ; partial D & weak D picking up the Rhesus Pieces ; Clinical Education Blood Center of Wisconsin Heart of America Association of Blood Banks April 24, 2012.
- [9] **LEJON CROTTET S** ; phénotype RhD faible ; Service de transfusion sanguine Berne 2012.
- [10] **FLEGEL WA et al** ; Section 1B : Rh flow cytometry.Coordinator's report. Rhesus index and antigen density : an analysis of the reproducibility of flow cytometric determination. Transfus Clin Biol 2002 ;9:33-42.
- [11] **CHRISTOPHER D. HILLYER, MD et al** ; transfusion medicine and hemostasis clinical and laboratory aspects; edition Elsevier 2009; 123-128.
- [12] **MARION E. REID CHRISTINE et al** ; the blood group antigen; academic press an imprint for Elsevier 2004 ; 109-192.
- [13] **ANNE LONG M.D** ; [Apcstq.com/uploads/pdf-et-ses-varaits.pdf](http://Apcstq.com/uploads/pdf-et-ses-varaits.pdf).2012.
- [14] **WAGNER, F.F. AND FLEGEL, W.A.** (2000) Blood 95, 3662–3668.
- [15] **GEORF DANIELS et al** ; Essential Guide to Blood Groups ; Wiley-Blackwell 2007.
- [16] **MÜLLER, T.H. et al.** (2001) Transfusion 41, 45–52.
- [17] **WAGNER, F.F. et al.** (2000) Blood 95, 2699–2708.
- [18] **WAGNER, F.F. et al.** (1999) Blood 93, 385–393.
- [19] [www.uni-ulm.de/fwagner/RH/RB](http://www.uni-ulm.de/fwagner/RH/RB).
- [20] **CARTRON J.P,** Mutation des genes RHAG et RH chez les Rh null, Baillière's Clin Haematol 1999;12:655-89.
- [21] **CHIARONI J, ROUBINET F et al** ; les analyses immuno-hématologiques et leurs applications cliniques ; John Libbey Eurotext, Paris, 39.



## Références bibliographiques

---

[22] **A SELLAM , F KESSAL et al** ; recherche de l'antigène D faible (D<sup>u</sup>) chez les donneurs de sang à propos de 27707 cas, sciencedirect 2013.

[23] **C.OPOKU-OKRAH, N.AMIDU et al** ; Detection of weak D Du phenotype among Rh-D negative Males and females in KUMASI,GHANA ; Journal of science and Technology, Vol.28,No. 3, Dec 2008.

[24] **MUHAMMAD USMAN, MUHAMMAD RIZWAN et al.** prevalence of weak 'd' antigen in pakistani ; Journal of Public Health and Biological Sciences Vol. 2, No. 1 Jan – Mar 2013, p.169-172.

[25] **JENKINS CM, JOHNSON ST, BELLISSIMO DB, GOTTSCHALL JL.** incidence of weak D in blood donors typed as D positive by the Olympus PK 7200.immunohematology 2005;21:152-4.

# **ANNEXES**

### Annexe (I)

#### *Arrêté du 24 Mai 1998 fixant les règles de Bonnes Pratiques des Qualifications Biologiques du Don de Sang*

##### ***Le Ministre de la Santé et de la Population ;***

- Vu la loi n° 85-05 du 16 Février 1985, relative à la protection et à la promotion de la santé, modifiée et complétée notamment son article 158 ;
- Vu le décret présidentiel n° 97-231 du 20 Safar 1418 correspondant au 25 juin 1997 portant nomination des membres du gouvernement ;
- Vu le décret exécutif n°95-108 du 09 Avril 1995 portant création, organisation et fonctionnement de l'Agence Nationale du Sang ;
- Vu le décret exécutif n° 96-66 du 27 Janvier 1996 fixant les attributions du Ministre de la Santé et de la Population ;
- Vu l'arrêté du 24 Mai 1998 fixant les règles régissant le don du sang et de ses composants.
- Vu l'arrêté du 24 Mai 1998 fixant la liste des matériels et consommables nécessaires pour le fonctionnement des structures chargées de la transfusion sanguine ;
- Vu l'arrêté du 24 Mai 1998 rendant obligatoire le dépistage de l'infection par le virus du Sida, des hépatites B et C et de la syphilis dans le don du sang et d'organes ;

#### **Arrêté**

**Article 1 :** Le présent arrêté a pour objet de fixer les règles de bonnes pratiques des qualifications biologiques du don de sang.

**Article 2 :** Les bonnes pratiques des qualifications biologiques du don de sang comprennent les normes en matière de locaux fixées en annexe 1 et les précautions à respecter jointes en annexe 2.

**Article 3 :** Monsieur le Secrétaire Général du Ministère de la Santé et de la Population est chargé de l'application du présent arrêté.

##### ***Annexe 1 : les locaux***

1. Les locaux réservés aux activités de laboratoire doivent être situés dans une zone délimitée physiquement, indépendante de toute zone d'activité transfusionnelle différente.
2. La zone d'analyse doit être organisée en postes de travail matérialisés et placés selon l'ordre logique des opérations à réaliser afin de limiter les risques d'erreur et de contamination. L'organisation des postes de travail doit permettre une séparation des examens sérologiques des autres analyses complémentaires obligatoires.
3. Les zones de stockage doivent être conçues et adaptées en vue d'assurer des conditions de stockage appropriées.
4. Les zones annexes : zone de repos et de restauration, les vestiaires et les sanitaires doivent être séparés des zones d'analyse et de stockage.
5. Le plafond, les murs, le sol et les paillasses doivent permettre un entretien facile et une désinfection efficace.
6. L'accès au laboratoire est strictement réservé aux personnes autorisées . Les zones d'analyse et de stockage ne doivent en aucun cas servir de lieu de passage.

##### ***Annexe 2: Précautions à respecter lors des qualifications biologiques du don de sang***

1. Les qualifications biologiques du don de sang, concerne l'ensemble des analyses et tests de dépistage obligatoires préalables à la distribution et à l'utilisation des produits sanguins labiles
2. L'identification des tubes de prélèvement destinés aux analyses Immuno-hématologiques et sérologiques doit être faite par apposition d'étiquette mentionnant le numéro du don. Cette identification permet d'établir le lien, d'une part, avec le donneur et, d'autre part, avec les produits sanguins correspondants .
3. Les tubes doivent arriver bouchés et accompagnés d'un document mentionnant le nombre de tubes à analyser. Ces tubes échantillons doivent être préservés des écarts de températures préjudiciables aux analyses.



### Annexe (I) suite

4. La centrifugation doit être effectuée avec les tubes bouchés. Les conditions de centrifugation doivent être définies (vitesse, temps freinage, température).

5. Lorsque l'examen est différé, la conservation des échantillons doit être faite à une température comprise entre + 2 °C et + 8 °C.

Dans ces conditions, les analyses doivent être effectuées dans un délai maximal de quatre jours après le prélèvement.

Si les tubes sont conservés entre + 2 °C et + 8 °C, ils doivent être remis à une température ambiante avant analyse.

Après réalisation des analyses Immuno-hématologiques, les tubes échantillons doivent être conservés à une température comprise entre + 2 °C et + 8 °C durant un temps minimal de sept jours.

6. En plus des examens obligatoires fixés en article 1 de l'arrêté rendant obligatoire le dépistage de l'infection par le virus du Sida, des Hépatites Virales B et C et de la Syphilis dans le don du sang et d'organes, le médecin des donneurs peut exiger la détection des anticorps paludéens et anti brucellose, lorsqu'un facteur de risque vis à vis de l'infection a été mis en évidence.

7. Le groupage ABO et Rh D est une analyse réalisée à l'occasion de chaque don sur un échantillon de sang anticoagulé.

8. Le groupage ABO comporte obligatoirement, en plus des témoins, deux études complémentaires :

a)- L'étude des hématies qui consiste à rechercher les antigènes érythrocytaires A et B avec les réactifs anti A, anti B et anti A+B.

b)- L'étude de plasma qui consiste à rechercher des anticorps anti A et anti B avec des hématies tests A1, A2 et B ; en cas de nécessité, cette étude peut se faire à partir du sérum.

9. Le groupage Rh D comporte obligatoirement l'étude des hématies avec un réactif anti-D et un réactif témoin.

10. Le groupe sanguin ne sera réputé définitif qu'à la suite de deux déterminations réalisées à partir de deux prélèvements sanguins différents et par deux techniciens différents.

11. Un résultat Rh D négatif est complété par l'étude des antigènes C, E, c, e et par la recherche du D faible (D<sup>u</sup>) par un test indirect à l'antiglobuline polyvalente. Les unités Rh D négatif possédant l'antigène C et/ou l'antigène E sont étiquetées Rh D positif.

12. La recherche des anticorps anti -A et anti- B immuns est une analyse Immuno-Hématologique réalisée à l'occasion de chaque don du groupe sanguin O. La présence d'anticorps anti A et/ou anti B immuns doit être mentionnée sur l'étiquette des produits sanguins labiles.

13. La recherche des anticorps anti-érythrocytaires doit être pratiquée par un test indirect à l'antiglobuline un test en milieu salin et/ou un test enzymatique.

La technique utilisée doit permettre de détecter les anticorps correspondant aux antigènes suivants: D, C, E, c, e, K, k, Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup>, Jk<sup>a</sup>, Jk<sup>b</sup>, M, N, S, s, P1, Le<sup>a</sup>, Le<sup>b</sup>.

**Annexe (II)**

*Tableau des antigènes de système RH*

001	002	003	004	005	006	007	008	009	010	011	012
D	C	E	C	F	F	CE	C <sup>w</sup>	C <sup>x</sup>	V	EW	G
013	014	015	016	017	018	019	020	021	022	023	024
...	...	...	...	Hr <sub>2</sub>	Hr	hr <sup>+</sup>	VS	C <sup>G</sup>	CE	D <sup>w</sup>	...
025	026	027	028	029	030	031	032	033	034	035	036
...	c-like	cE	hr <sup>+</sup>	Rh29	Go <sup>o</sup>	hr <sup>+</sup>	Rh32	Rh33	Hr <sup>+</sup>	Rh35	Be <sup>+</sup>
037	038	039	040	041	042	043	044	045	046	047	048
Evans	...	Rh39	Tar	Rh41	Rh42	Crawford	Nou	Riv	Sec	Dav	JAL
049	050	051	052	053	054	055	056	057	058	059	
STEM	FPTT	MAR	BARC	JAHK	DAK	LOCR	CENR	CEST	CELO	CEAG	

**Annexe (III)**

*Tableau de nomenclature de système de groupes sanguins*

Número	Système	001	002	003	004	005	006	007	008	009	010	011	012	013	014
001	ABO	A	B	AB	A <sub>i</sub>	...									
002	MNS	M	N	S	s	U	He	M <sup>+</sup>	M <sup>-</sup>	Vw	Mur	M <sup>+</sup>	Vr	M <sup>+</sup>	M <sup>-</sup>
003	P	P <sub>1</sub>	...	...											
004	RH	D	C	E	c	e	f	Ce	C <sup>+</sup>	C <sup>-</sup>	V	E <sup>+</sup>	G	...	...
005	LU	Lu <sup>a</sup>	Lu <sup>b</sup>	Lu <sup>3</sup>	Lu <sup>4</sup>	Lu <sup>5</sup>	Lu <sup>6</sup>	Lu <sup>7</sup>	Lu <sup>8</sup>	Lu <sup>9</sup>	...	Lu <sup>11</sup>	Lu <sup>12</sup>	Lu <sup>13</sup>	Lu <sup>14</sup>
006	KEL	K	K	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Ku	J <sup>a</sup>	J <sup>b</sup>	...	...	UP	K11	K12	K13	K14
007	LE	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	Le <sup>ab</sup>	Le <sup>HL</sup>	ALe <sup>b</sup>	BLE <sup>b</sup>								
008	FY	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Fy <sup>3</sup>	Fy <sup>4</sup>	Fy <sup>5</sup>	Fy <sup>6</sup>								
009	JK	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Jk <sup>3</sup>											
010	DI	Di <sup>a</sup>	Di <sup>b</sup>	Wi <sup>a</sup>	Wi <sup>b</sup>	Wd <sup>a</sup>	Rb <sup>a</sup>	WARR	ELO	Wu	Bp <sup>a</sup>	Mo <sup>a</sup>	Hg <sup>a</sup>	Vg <sup>a</sup>	Sw <sup>a</sup>
011	YT	Yt <sup>a</sup>	Yt <sup>b</sup>												
012	XG	Xg <sup>a</sup>	CD99												
013	SC	Sc1	Sc2	Sc3	Rd	STAR									
014	DO	Do <sup>a</sup>	Do <sup>b</sup>	Gy <sup>a</sup>	Hy	Jo <sup>a</sup>	DOYA								
015	CO	Co <sup>a</sup>	Co <sup>b</sup>	Co3											
016	LW	...	...			Lw <sup>a</sup>	LW <sup>ab</sup>	LW <sup>b</sup>							
017	CHRG	Ch1	Ch2	Ch3	Ch4	Ch5	Ch6	WH				Rg1	Rg2	Rg2	
018	H	H													
019	XK	Kx													
020	GE	...	Ge2	Ge3	Ge4	Wb	L <sup>a</sup>	An <sup>a</sup>	Dh <sup>a</sup>	GEIS					
021	CROM	Cr <sup>a</sup>	Te <sup>a</sup>	Te <sup>b</sup>	Te <sup>c</sup>	Dr <sup>a</sup>	Es <sup>a</sup>	IFC	WES <sup>a</sup>	WES <sup>b</sup>	UMC	GUTI	SERF	ZENA	
022	KN	Ka <sup>a</sup>	Ka <sup>b</sup>	McC <sup>a</sup>	Si <sup>a</sup>	Yk <sup>a</sup>	McC <sup>b</sup>	SI2	SI3						
023	IN	In <sup>a</sup>	In <sup>b</sup>												
024	OK	Ok <sup>a</sup>													
025	RAPH	MER2													
026	JMH	JMH1													
027	I	I													
028	GLOB	P													
029	GIL	GIL													
030	RHAG	Duclos	OI	DSLK	RHAG4	RHAG5	RHAG6	RHAG7							
031	FORS	FORS1													
032	JRA	JRA1													
033	LAN	LAN1													



## Annexe (IV)

Tableau de bases moléculaires des types de D faible

Designation	Mechanism	First mention	Definitive publication	Structure	Phenotype
weak D type 1	N		1999	RHD(V270G)	weak D
weak D type 1.1	M	2004	2005	RHD(L18V,V270G)	weak D
weak D type 2	N		1999	RHD(G385A)	weak D
weak D type 3	N	2009		RHD(S3C)	weak D
weak D type 4.0	M		1999	RHD(T201R,F223V)	weak D
weak D type 4.0.1					weak D
weak D type 4.1	M		2000	RHD(W16C,T201R,F223V)	weak D
weak D type 4.2.3	M	2008		RHD(T201R, F223V, I342T)	weak D
weak D type 4.3	M	2004		RHD(T201R,F223V,P291R)	weak D
weak D type 5	N		1999	RHD(A149D)	weak D
weak D type 6	N		1999	RHD(R10Q)	weak D
weak D type 7	N		1999	RHD(G339E)	weak D
weak D type 8	N		1999	RHD(G307R)	weak D
weak D type 9	N		1999	RHD(A294P)	weak D
weak D type 10	N		1999	RHD(W393R)	weak D
weak D type 11	N		1999	RHD(M295I)	weak D
weak D type 12	N		1999	RHD(G277E)	weak D
weak D type 13	N		1999	RHD(A276P)	weak D
weak D type 14	M		1999	RHD(S182T,K198N,T201R)	weak D
weak D type 15	N		1999	RHD(G282D)	weak D
weak D type 16	N		1999	RHD(W220R)	weak D
weak D type 17	N		2000	RHD(R114W)	weak D
weak D type 18	N	2000		RHD(R7W)	weak D
weak D type 19	N	2003		RHD(I204T)	weak D
weak D type 2.1	M		1999	RHD(F101I,G385A)	weak D
weak D type 20	N	2000		RHD(F417S)	weak D
weak D type 21	N	2001		RHD(P313L)	weak D
weak D type 22	N	2000		RHD(W408C)	weak D
weak D type 23	N		2001	RHD(G212C)	weak D
weak D type 24	N		2003	RHD(L338P)	weak D
weak D type 25	N	2003		RHD(R114Q)	weak D
weak D type 26	N	2002	2005	RHD(V9D)	weak D
weak D type 27	N	2002		RHD(P221S)	weak D
weak D type 28	S?	2002		RHD(I152A>C)	weak D
weak D type 29	M	2002	2003	RHD(I60L,S68N,K198N,F223V,I342T)	weak D
weak D type 30	N	2003		RHD(E340M)	weak D
weak D type 31	N	2003	2005	RHD(L6P)	weak D
weak D type 32	N	2003	2005	RHD(I374N)	weak D
weak D type 33	N		2003	RHD(V174M)	weak D
weak D type 34	N		2003	RHD(V270E)	weak D
weak D type 35	N	2003		RHD(G87D)	weak D
weak D type 36	N	2003		RHD(V281G)	weak D
weak D type 37	N	2003		RHD(K133N)	weak D
weak D type 38	N	2003		RHD(G278D)	weak D
weak D type 39	N	2003		RHD(G339R)	weak D
weak D type 40	N	2003		RHD(T201R)	weak D
weak D type 41	N	2004		RHD(E398V)	weak D
weak D type 42	N	2004	2005	RHD(K409M)	weak D
weak D type 43	N	2006		RHD(A202V)	weak D
weak D type 44	N	2004		RHD(Y243C)	weak D
weak D type 45	N	2004		RHD(A399T)	weak D
weak D type 45.1	M	2010		RHD(A273V, A399T)	weak D
weak D type 46	N	2004		RHD(F407L)	weak D
weak D type 47	N	2005		RHD(R114G)	weak D
weak D type 48	N	2005		RHD(G61V)	weak D
weak D type 49	N	2006		RHD(S257F)	weak D
weak D type 50	N	2006		RHD(Y243N)	weak D
weak D type 51	G	2005		RHD-CE(4:K198N-T201R)-D	weak D



## Annexe

weak D type 52	N	2005		RHD(F31S)	weak D
weak D type 53	E	2005		RHD(V247G)	weak D
weak D type 54	N	2006		RHD(S122L)	weak D
weak D type 55	N	2007		RHD(L299V)	weak D
weak D type 56	N	2007		RHD(A22E)	weak D
weak D type 57	N	2007		RHD(L214F)	weak D
weak D type 58	N	2007		RHD(G336R)	weak D
weak D type 59	N	2007		RHD(L383P)	weak D
weak D type 60	D	2007		Deletion of 6 bp from 1219 to 1224	weak D
weak D type 61	N	2006	2006	RHD(R10W)	weak D
weak D type 62	N	2006		RHD(P221T)	weak D
weak D type 63	N	2007		RHD(I253N)	weak D
weak D type 64	N	2007		RHD(A294V)	weak D
weak D type 65	N	2008		RHD(A23D)	weak D
weak D type 66	G	2007		RHD(V306I)	weak D
weak D type 67	N	2008		RHD(T241I)	weak D
weak D type 68	N	2008		RHD(Q405E)	weak D
weak D type 69	N	2008		RHD(R318Q)	weak D
weak D type 70	N	2008		RHD(L338V)	weak D
weak D type 71	N	2007		RHD(R10P)	weak D
weak D type 72	N	2006		RHD(D404E)	weak D
weak D type 73	N	2007		RHD(A414V)	weak D
weak D type 74	N	2009		RHD(S68T)	weak D
weak D type 75	N	2010		RHD(E398D)	weak D
weak D type 76	N	2010		RHD(Q405H)	weak D

Mechanisms: C Complex changes D Deletions or insertions E Single exofacial missense mutation G Gene conversion M Multiple missense mutations N Single non-exofacial missense mutation O Not fitting any of the other categories S Splice-site mutation X Stop codon.

## Annexe (V)

### *Arrêté du 12 janvier 2009 fixant les critères de sélection des donneurs de sang(France)*

**La ministre de la santé et des sports,**

- Vu la directive 2004/33/CE de la Commission du 22 mars 2004 portant application de la directive 2002/98/CE du Parlement européen et du Conseil concernant certaines exigences techniques relatives au sang et aux composants sanguins ;
- Vu le code de la santé publique, et notamment son article R.1221-5 ;
- Vu l'avis du directeur général de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé en date du 3 novembre 2008,

#### **Arrête :**

**Art 1<sup>er</sup>**– Les critères de sélection des donneurs de sang sont les suivants :

#### **I – Limite d'âge des donneurs :**

Avant 18 ans, aucun don n'est autorisé, sauf dans le cas prévu à l'article L. 1221-5.

De 18 à 65 ans révolus, tout type de don est possible, sauf le don de granulocyte, qui n'est autorisé que jusqu'à 50 ans révolus. Le premier don après 60 ans est soumis à l'appréciation d'un médecin de l'établissement de transfusion sanguine.

Après 65 ans, seul le don de sang total est autorisé et sous réserve que chaque don soit autorisé par un médecin de l'établissement de transfusion sanguine.

Après 70 ans, aucun don n'est autorisé, sauf dérogation prévue au VII du présent article. Aucun don n'est autorisé pour les majeurs protégés.

#### **II – Intervalle entre les dons :**

L'intervalle minimum entre deux dons est de :

- deux semaines entre un don de plasma et tout autre type de don ;
- quatre semaines entre un don de plaquettes ou un don de granulocytes et tout autre type de don cellulaire, ce délai pouvant être réduit pour les donneurs HLA compatibles, selon l'appréciation du médecin ;
- huit semaines entre un don de sang total ou de globules rouges en aphérèse combinée et tout autre don de globules rouges ;
- seize semaines entre un don en aphérèse simple de globules rouges et tout autre don de globules rouges. Les intervalles à respecter selon les différentes combinaisons entre deux types de don font l'objet d'un tableau figurant à l'annexe I du présent arrêté.

#### **III – Fréquence des prélèvements :**

Sur une période de douze mois, avec une tolérance de quinze jours, le nombre de dons, tout type confondu, est inférieur ou égal à vingt-quatre.

Le nombre d'unités de concentrés de globules rouges prélevés en sang total et/ou par aphérèse est inférieur ou égal à six par an pour les hommes et quatre par an pour les femmes.

Le nombre de dons de concentrés plaquettaires par aphérèse est inférieur ou égal à douze par an pour les hommes et les femmes.

Le nombre de dons de plasma est inférieur ou égal à vingt-quatre par an pour les hommes et les femmes. Le nombre de dons de granulocytes par aphérèse est inférieur ou égal à deux pour les hommes et les femmes et peut être porté à quatre en cas de nécessité thérapeutique, appréciée par un médecin de l'établissement de transfusion sanguine.

#### **IV – Volume de prélèvement :**

Lors d'un prélèvement de sang total, le volume prélevé, hors échantillons et anticoagulants, est inférieur ou égal à 13 % du volume sanguin total estimé du donneur, sans toutefois dépasser 500 ml.

Lors d'un prélèvement d'aphérèse cellulaire, le volume total des constituants sanguins prélevés, hors échantillons et anticoagulants, est inférieur ou égal à 13 % du volume sanguin total estimé du donneur, sans toutefois dépasser 650 ml.

Lors d'un prélèvement d'aphérèse plasmatique, le volume prélevé, hors échantillons et anticoagulants est inférieur ou égal à 16 % du volume sanguin total estimé du donneur, sans toutefois dépasser 750 ml.



### Annexe (V) suite

Pour tout prélèvement, au-delà de 40 ml, le volume supplémentaire d'échantillons est soustrait du volume total prélevé.

#### **V – Caractéristiques cliniques et biologiques du donneur :**

##### **1. Caractéristiques cliniques :**

Lors de l'entretien préalable au don, il appartient à la personne habilitée à procéder à la sélection des donneurs d'apprécier la possibilité d'un don au regard des contre-indications et de leur durée, de leur antériorité et de leur évolution, grâce à des questions complémentaires au questionnaire préalable au don.

Le prélèvement n'est pas autorisé si le défaut de compréhension du candidat au don présente un risque de réponse insuffisante ou inadaptée.

Le candidat est ajourné du don s'il présente une contre-indication mentionnée dans l'un des tableaux figurant en annexe II du présent arrêté. Les autorités sanitaires peuvent modifier, ajouter ou supprimer des contre-indications au don de sang en fonction de situations épidémiologiques particulières ou de données de l'hémovigilance.

Un poids minimum de 50 kg est requis pour tout type de don.

Pour les prélèvements en aphérèse simple de globules rouges, le volume de sang total du donneur est égal ou supérieur à 5 litres.

##### **2. Caractéristiques biologiques :**

Le taux d'hémoglobine est au minimum de :

- 120 g/l pour les femmes et 130 g/l pour les hommes pour tout don cellulaire ;
- 140 g/l pour les hommes et les femmes pour les dons en aphérèse simple de globules rouges ;
- 120 g/l pour les femmes et 130 g/l pour les hommes pour les dons de plasma et, en dessous de ces valeurs, le prélèvement est laissé à l'appréciation d'un médecin de l'établissement de transfusion sanguine. Pour le don de plaquettes, la numération plaquettaire est supérieure ou égale à  $150 \times 10^9/l$ , avec une dérogation possible pour les donneurs HLA et HPA compatibles, selon l'appréciation du médecin.

Le taux de protides est supérieur ou égal à 60 g/l pour les dons de plasma et les dons de plaquettes. La poursuite des dons en aphérèse simple de globules rouges ne peut être effectuée que si la ferritinémie réalisée à l'occasion du premier don en aphérèse simple de globules rouges est supérieure à 20 ng/ml.

Annexe (VI)

Notice du sérum-test anti-D



Réactif pour le groupage sanguin  
Flacon compte-gouttes de 10 ml  
Anticorps IgM monoclonal  
Réf. 404 Anti-D  
Pour méthode sur lame et en tube

Anti-D

Le système de groupes sanguins Rh

Les observations de Levine et Stetson en 1939 et de Landsteiner et Wiener en 1940 ont été à la base des connaissances actuelles sur la signification clinique et la détection en laboratoire de l'anti-D. Environ 15 % des sujets de race blanche sont dépourvus de l'antigène RhD et une grossesse ou une transfusion sanguine RhD-ve peut aisément stimuler chez ceux-ci la production d'anti-D, laquelle peut provoquer une maladie hémolytique du nouveau-né ou de graves réactions hémolytiques à une transfusion.

Principe des réactifs et de la méthode de test

Les méthodes d'essai recommandées pour l'utilisation des réactifs sont basées sur l'agglutination des érythrocytes porteurs de l'antigène D, en présence d'un anticorps anti-D. Ce sérum de test réagit négativement avec les érythrocytes de la catégorie D<sup>ve</sup>.

Réactif

Réactif pour le groupage sanguin à base d'IgM monoclonales humaines.

A conserver entre 2 et 8°C. Une conservation dans des conditions inadéquates altère l'efficacité du réactif.

Conservateur < 0,1 % NaH<sub>2</sub>

Le réactif a été optimisé pour être utilisé par les techniques recommandées, tel qu'il est fourni, sans autre dilution ou addition.

Réactif diagnostique destiné uniquement à l'usage diagnostique in vitro professionnel.

Précautions

- On ne doit pas partir de l'hypothèse que le réactif est exempt d'agents infectieux. Il convient d'être prudent lors de l'utilisation et de l'élimination de chaque récipient et de son contenu.
- Il faut effectuer des contrôles positifs et négatifs pour chaque test.
- Une centrifugation avec une force centrifuge relative différant fortement de la valeur mentionnée peut donner de faux résultats.
- Les méthodes décrites ci-dessous sont uniquement destinées au test manuel. En cas d'utilisation de dispositifs automatisés ou semi-automatisés, il y a lieu de suivre les instructions qui figurent dans le manuel d'utilisation fourni par le fabricant du dispositif. Les laboratoires doivent respecter les procédures de validation homologuées pour confirmer la compatibilité de ce produit avec les systèmes automatisés.
- La force des réactions positives est également fonction de l'âge du sang utilisé.

Recueil des échantillons

Les échantillons doivent être utilisés le plus vite possible. Si le test des échantillons de sang est différé, ceux-ci doivent être conservés entre 2 et 8°C. Les échantillons recueillis dans de l'héparine ou de l'oxalate doit être testé dans les deux jours. Le sang recueilli dans du citrate de sodium ou de l'EDTA doit être testé dans les 14 jours. Le sang recueilli par piqûre d'un doigt peut être testé directement par la méthode sur lame mais, pour éviter une coagulation, le sang recueilli de cette manière doit être mélangé rapidement avec le réactif.

Matériel non fourni, mais nécessaire en plus:

avec la méthode sur lame : Lame de verre, Pipette Pasteur, Baguette de mélange

avec la méthode de centrifugation en tube : Tubes d'essai (10x75mm ou 12x75 mm), Pipettes conçues pour distribuer environ 100 µl, Centrifugeuse, Saline isotonique (avec 0,85 à 0,9 % de chlorure de sodium).

Procédure d'essai

A. Méthode sur lame

1. Utilisez uniquement le sédiment érythrocytaire ou le sang total.
2. Sur une lame de verre propre pré-étiquetée ajoutez 1 goutte (± 50 µl) de réactif IgM anti-D et, à l'aide d'une pipette Pasteur, une goutte (± 50 µl) de sédiment érythrocytaire ou de sang total.
3. Mélangez le réactif et les hématies, à l'aide d'une baguette, sur une zone d'environ 2 cm de diamètre.
4. En faisant pivoter légèrement la lame, contrôlez l'apparition d'une agglutination dans un délai de 1 minute (la réaction démarre en quelques secondes). Des réactions non spécifiques peuvent se produire en raison du séchage durant la réaction ou si la lame est chauffée.

B. Méthode en tube – avec centrifugation

1. Utilisez uniquement une suspension 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. A 100 µl (alternative : 1 goutte = ± 50 µl) de réactif dans un tube à essai étiqueté, ajoutez un volume équivalent d'une suspension des érythrocytes à tester.
2. Mélangez bien en secouant légèrement et faites-la incuber à température ambiante (15 – 30°C) pendant 1 – 15 minutes.
3. Centrifugez à 2000 tours par minute (± 800 - 1000 g) pendant 1 minute.
4. Agitez doucement le tube pour détacher les globules rouges et examinez la préparation à l'œil nu pour détecter une agglutination.

Interprétation des résultats

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

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

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

Remarques générales

1. Aucune conclusion valable quant au résultat du test ne peut être tirée si les contrôles donnent des résultats incertains ou faux.
2. Les érythrocytes traités par des enzymes peuvent réagir de façon non spécifique.
4. En raison de la variabilité de l'expression antigénique, la réactivité de ces réactifs à l'égard de certains phénotypes peut être plus faible par rapport aux cellules témoins.
5. Les érythrocytes recouverts d'alloanticorps ou d'autoanticorps dont la spécificité est identique ou similaire à celle du réactif (donc, des hématies qui sont positives au test direct à l'antiglobuline (DAT)) peuvent donner de faibles réactions. Dans des cas extrêmes, des résultats faux-négatifs peuvent également être observés.
6. Avec la méthode sur lame, la plupart des antigènes D faibles (D<sup>weak</sup>) et des catégories n'est pas reconnue.
7. Ce sérum de test réagit négativement avec les érythrocytes de la catégorie D<sup>ve</sup>.

Langdorp, 03.2006



**Annexe (VII)**

*Notice d'antiglobuline humaine (AGH)*

Réactifs de GROUPE SANGUIN  
Réf 405 10 ml  
Sérum polyspécifique de Coombs



**A H G**

Réactif à l'antiglobuline humaine polyspécifique.  
Anti-IgG de lapin + anti-C3 monoclonal

**Introduction**

Le test indirect à l'antiglobuline contribue à la mise en évidence d'un anticorps sérique; il s'effectue par incubation in vitro d'hématies normales avec le sérum inconnu. Les hématies testées sont ensuite lavées dans une solution saline et on ajoute de l'antiglobuline humaine: une agglutination indique la présence d'un anticorps (adsorbés à partir du sérum inconnu) recouvrant les cellules. Ce test peut être positif en présence d'un anticorps d'un groupe sanguin inattendu ou en présence d'anticorps circulants en cas d'anémie hémolytique auto-immune

Le test indirect à l'antiglobuline (test de Coombs) détecte les anticorps recouvrant les hématies du patient. Les hématies lavées sont traitées par l'antiglobuline humaine et observées en vue de déceler une agglutination. Ce test est effectué sur le sang de cordon des nouveau-nés de mères Rh-négatives ou chez des nourrissons avec une suspicion de maladie hémolytique du nouveau-né causée par des anticorps maternels. Ce test est également utilisé dans la mise au point des anémies. Sa positivité suggère une anémie hémolytique auto-immune.

**Présentation**

Le sérum polyspécifique de Coombs pour la sérologie de groupage sanguin contient des anticorps contre des immunoglobulines et des facteurs de complément.

Ce réactif a été préparé en mélangeant des anti-IgG polyclonaux (produits par immunisation de lapins avec des IgG humaines entières purifiées) avec des anti-C3 (lignée cellulaire Bric-8) monoclonaux obtenus par culture in vitro d'une immunoglobuline IgM sécrétant un hybridome de souris. Une telle préparation fait attention qu'il n'y a pas une réaction avec des érythrocytes humains non-recouverts. Le réactif a été coloré en vert et contient < 0.1% (p/v) d'azoture de sodium comme conservateur. Il se compose en outre d'anticorps actif, de chlorure de sodium, de macromolécules et d'albumine bovine. Le réactif est conçu pour être utilisé uniquement par du personnel technique qualifié. Il est uniquement destiné à l'usage in vitro.

**Avertissement**

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

**Conservation**

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

**Remarque**

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



Annexe (VII) suite



7. Ce sérum de test doit être utilisé conformément à toutes les lois, réglementations et directives nationales en vigueur.

**Préparation des réactifs**

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

**Méthode**

Matériel non fourni, mais nécessaire en plus:

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

**Test à l'antiglobuline direct (test de Coombs)**

Méthode de centrifugation en tube

1. Utilisez uniquement une solution à 2 à 5 % d'érythrocytes dans une solution saline isotonique (hématies lavées trois fois avec la solution saline isotonique).
2. Ajoutez 100 µl (solution alternative: une goutte = environ 50 µl) de réactif à l'antiglobuline humaine (sérum de Coombs) à chaque tube.
3. Ajoutez 100 µl (solution alternative: une goutte = environ 50 µl) de la suspension d'érythrocytes appropriée à chaque tube.
4. Mélangez bien en secouant légèrement.
5. Mettez le tube à Incuber à température ambiante pendant 5 à 15 minutes.
6. Centrifugez le tube pendant 1 minute à 1000 tours/min (environ 180 à 270 g).
7. Remettez les érythrocytes doucement en suspension et contrôlez à l'œil nu l'apparition d'une agglutination dans un délai de 3 minutes. Notez le résultat.

**Test à l'antiglobuline indirect (test de Coombs)**

Méthode de centrifugation en tube

1. Utilisez uniquement une solution à 2 à 5 % d'érythrocytes dans une solution saline isotonique (hématies lavées trois fois avec la solution saline isotonique).

2. Ajoutez 100 µl (solution alternative: une goutte = environ 50 µl) de sérum à chaque tube.

3. Ajoutez 100 µl (solution alternative: une goutte = environ 50 µl) de la suspension d'érythrocytes appropriée à chaque tube.

4. Mélangez bien en secouant légèrement.

5. Mettez le tube à Incuber à 37°C pendant 30 minutes.

6. Lavez les érythrocytes trois fois avec une solution saline isotonique (froide)

7. Ajoutez 100 µl de réactif à l'antiglobuline humaine (sérum de Coombs) à chaque tube.

8. Centrifugez le tube pendant 1 minute à 1000 tours/min (environ 180 à 270 g).

9. Remettez les érythrocytes doucement en suspension et contrôlez à l'œil nu l'apparition d'une agglutination dans un délai de 3 minutes. Notez le résultat.

**Interprétation des résultats**

En secouant légèrement dans la méthode en tube. Résultats positifs (+): une agglutination visible des érythrocytes est un résultat positif, qui indique la présence de l'antigène correspondant.

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

**Limites de la méthode**

1. L'observation incorrecte des instructions figurant dans les paragraphes "Méthodes" et "Interprétation des résultats" peut entraîner des résultats inexacts.

3. Les érythrocytes traités par des enzymes peuvent réagir de façon non spécifique.

4. En raison de la variabilité de l'expression antigénique, la réactivité de ces réactifs à l'égard de certains phénotypes peut être plus faible par rapport aux cellules témoins.

5. Un lavage insuffisant des érythrocytes peut causer des résultats positifs faux.

6. La contamination du réactif avec de la protéine humaine peut inactiver les anticorps et causer des résultats négatifs faux.

Langdorp, 01.2005

## Annexe (VIII)

### Notice solution L.I.S.S

**RÉACTIFS POUR LE  
GROUPE SANGUIN**  
Flacon compte-gouttes de 10 ml  
Réf. 408 L.I.S.S.



# L.I.S.S.

#### USAGE PREVU

Mollison et Polley ont découvert en 1964 que la diminution de la force ionique par une solution appropriée (solution à faible force ionique = Liss) augmente la réaction des anticorps à l'antigène. Cette solution Liss est une forme modifiée de la solution pauvre en sel décrite par Löw, B. et Mæesler, L. en 1974. Une force ionique faible et une petite partie de la solution d'albumine bovine permettent un test efficace, y compris pour des anticorps faibles après 10 minutes d'incubation. Le réactif peut être uniquement utilisé par un personnel technique qualifié.

Pour diagnostic *In vitro* uniquement.

#### PRINCIPE DE LA METHODE

La solution Liss modifiée est donc une solution pauvre en sel et présentant une force ionique réduite. A cet effet, des érythrocytes présentent une augmentation de volume, les anticorps étant donc mieux positionnés pour entrer en contact avec leur antigène.

#### Réactif

Le réactif contient de Thimerosal comme conservateur. La solution est préparée de chlorure de sodium, de macromolécules et d'albumine bovine.

#### Avertissement

Ce réactif a été préparé à partir de matériel biologique. S'agissant d'un produit biologique, il doit être considéré comme potentiellement infectieux car un risque d'infection par des agents pathogènes ne peut jamais être complètement exclu. Le réactif contient de Thimerosal. C'est pourquoi ce réactif doit être manipulé avec tout le soin voulu.

#### Conservation

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

#### Remarque

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

#### Préparation des réactifs

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

#### Méthode

Matériel non fourni, mais nécessaire en plus:

#### avec la méthode de centrifugation en tube

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

#### Méthode de test

##### Méthode de centrifugation en tube

1. Utilisez uniquement une solution à 2 à 5 % d'érythrocytes dans une solution saline isotonique (hématies lavées une fois ou jusqu'à trois fois avec la solution saline isotonique).
2. Ajoutez 1 goutte (environ 50 µl) de la suspension d'érythrocytes appropriée à chaque tube.
3. Ajoutez 2 gouttes (environ 100 µl) du sérum de patient ou du réactif pour le groupage sanguin approprié à chaque tube.
4. Ajouter 2 gouttes (environ 100 µl) du LISS à chaque tube.
5. Mélangez bien en secouant légèrement.
6. Mettez le tube à incuber à 37°C pendant 10 minutes.
7. Centrifugez le tube pendant 1 minute à 1000 tours/min (environ 180 à 270 g).
8. Remettez les érythrocytes doucement en suspension et contrôlez à l'œil nu l'apparition d'une agglutination dans un délai de 3 minutes. Notez le résultat.
9. Lavez les érythrocytes 3 fois avec une solution saline isotonique (trois fois).
10. Ajoutez 100 µl de sérum antiglobulines humaines (sérum de Coombs) à chaque tube.
11. Centrifugez le tube pendant 1 minute à 1 000 tours/min (environ 180 à 270 g).
12. Remettez les érythrocytes doucement en suspension et contrôlez à l'œil nu l'apparition d'une agglutination dans un délai de 3 minutes. Notez le résultat.

#### Interprétation des résultats

En faisant pivoter/en secouant légèrement dans la méthode en tube.  
Résultats positifs (+): une agglutination visible des érythrocytes est un résultat positif, qui indique la présence de l'antigène correspondant.  
Résultats négatifs (-): l'absence d'agglutination visible des érythrocytes est un résultat négatif, qui indique l'absence de l'antigène correspondant.

#### Limites de la méthode

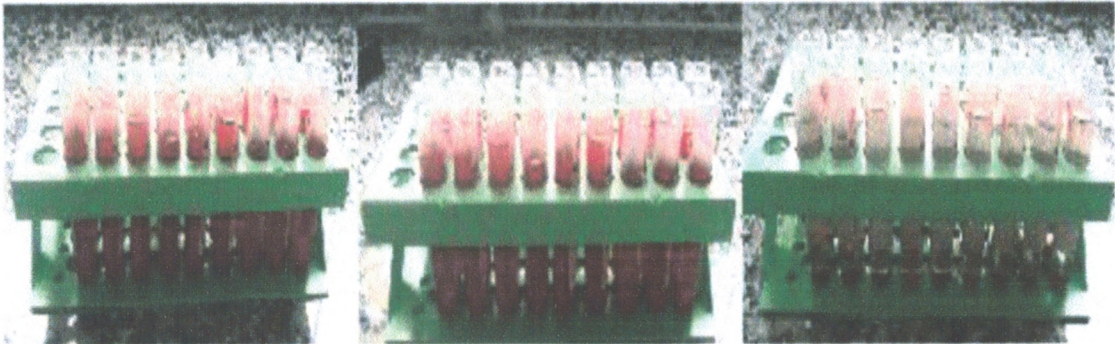
1. L'observation incorrecte des instructions peut entraîner des résultats inexacts.
2. Les érythrocytes traités par des enzymes peuvent réagir de façon non spécifique.
2. En addition, il faut utiliser des contrôles positifs et négatifs.
4. En raison de la variabilité de l'expression antigénique, la réactivité de ces réactifs à l'égard de certains phénotypes peut être plus faible par rapport aux cellules témoins.
5. Les érythrocytes recouverts d'alloanticorps ou d'autoanticorps dont la spécificité est identique ou similaire à celle du réactif (donc, des hématies qui sont positives au test direct à l'antiglobuline [DAT]) ne sont pas appropriées pour ce test.
6. Les méthodes de test décrites sont destinées à être appliquées avec du sérum de Coombs produit par Cypress Diagnostics. Des sérums de Coombs d'autres fabricants peuvent être utilisés en principe, mais les laboratoires doivent alors suivre les méthodes de test de ces fabricants. Les laboratoires doivent également respecter les procédures de validation homologuées pour confirmer la compatibilité de ce produit.

Langdorp, 05.2009



**Annexe (IX)**

*Etape de lavage*



**Premier lavage**

**Deuxième lavage**

**Troisième lavage**

**Annexe (X)**

*Etape de dilution*



**Annexe (XI)**

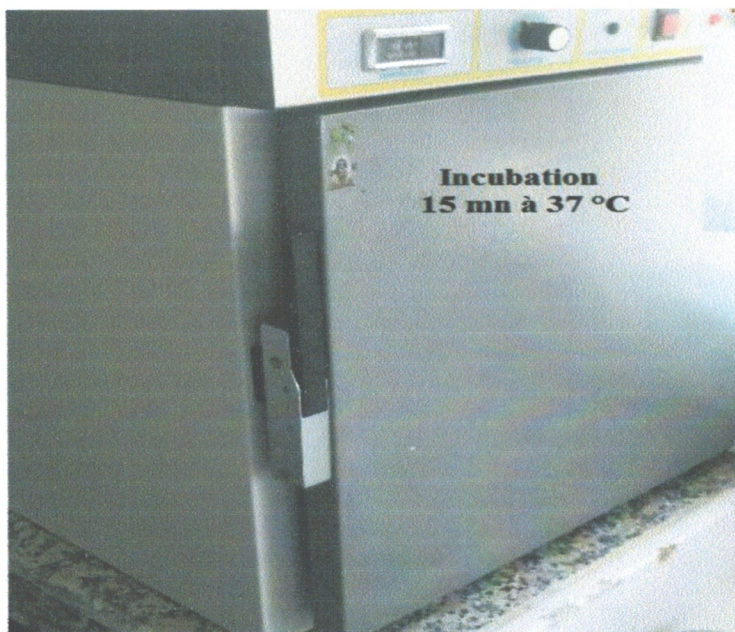
*Etape d'identification des échantillons*





**Annexe (XII)**

*Etape d'incubation*



**Annexe (XIII)**

*Etape de centrifugation*



## Résumé:

*Objectif de l'étude* : L'objectif de cette étude est la détermination de la prévalence du phénotype Rhésus RH : 1 faible chez les donneurs de sang RH : -1 au CWTS de Tlemcen, en se basant sur des techniques sérologiques.

*Matériels et méthodes* : Cette étude a été réalisée sur des donneurs de sang colligés au Centre de wilaya de transfusion sanguine de Tlemcen du 23 Octobre 2013 au 31 Décembre 2013. Durant cette période, 2612 donneurs ont été testés pour l'antigène D en utilisant la technique d'agglutination sur plaque d'opaline. Ceux qui sont testés Rh D négatif ont été également soumis à des tests D faible on utilisant le test indirect à l'antiglobuline humaine polyspécifique.

*Résultat* : Dans cette étude, 9,3 % des donneurs ont été typés Rhésus D négatif et 2,06 % ont été détectés Rhésus D faible.

*Conclusion* : Le phénotype Rh D faible reste rare, la prévalence estimée dans cette étude (2,06 %).

## Mots clés :

Système RH ; Rh D ; Rhésus D faible ; Prévalence ; Donneur de sang ; Anti-D monoclonal, antiglobuline humaine.

## Summary:

*Aim of the study* : In this study, we tried to estimate the prevalence of the weak D for the blood donors RH : -1 in CWTS of Tlemcen , based on the serological techniques.

*Materials and methods* : This study was conducted in the wilaya Center of Transfusion sanguine of Tlemcen, from 23 October 2013 to 31 December 2013. During this period, a total of 2612 donors were typed for rhesus D antigen bay agglutination in opaline plate. Those who tested negative for rhesus D antigen were further subjected to weak D testing by indirect antiglobulin polyspecific test.

*Results* : In this study, 9,3 % of the donors were rhesus negative and the weak D phenotype was detected in about 2,06 %.

*Conclusion* : The weak D remain rare, the prevalence of weak D among donors in this study (2,06%).

## Keywords :

RH system; Rh D; Weak D; Prevalence; Blood donor; Monoclonal anti-D, human antiglobulin.

## الملخص :

*هدف الدراسة* : الهدف من هذه الدراسة هو تحديد نسبة النمط الظاهري ريزوس د ضعيف للمتبرعين بالدم ذات ريزوس السالب في المركز الولائي لحقن الدم بتلمسان بالاعتماد على الطرق المصلية.

*الادوات و الطرق* : هذه الدراسة تمت على عينة من المتبرعين بالدم على المركز الولائي لحقن الدم بتلمسان، وهذا من تاريخ 23 اكتوبر 2013 الى غاية 31 ديسمبر 2013. في هذه المدة تم اختبار 2612 متبرع باستعمال مضاد ريزوس د عن طريق عملية الارتصاص على الصفيحة. الذين اعطوا نتيجة سلبية تم اجراء اختبار ثاني بطريقة الارتصاص غير المباشرة باستعمال ضد الاجسام المضادة متعددة الاختصاص.

*النتيجة* : في هذه الدراسة 9.3 بالمائة من مجموع المتبرعين له ريزوس سلبى و 2.06 بالمائة له ريزوس ضعيف

*الخاتمة* : الريزوس الضعيف يبقى نادر. النسبة المستخلصة من هذه الدراسة تقدر ب 2.06 بالمائة.

## الكلمات المفتاحية :

نظام ريزوس - ريزوس د - ريزوس د ضعيف - احصاء - المتبرع بالدم - ضد د احادي الاستنساخ - مضاد الاجسام المضادة البشرية.