كليـــــــة الـطـب
و الصيدلة - مراكش
FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

MARRAKECH
جامعة القاضي عياض
UNIVERSITÉ CADI AYYAD

Année : 2021 Thèse N° : 103

Evaluation de la qualification microbiologique Du don du sang à l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech

THÈSE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 05/07/2021

PAR

Mlle. Merieme Amandaou

Née le 03 Octobre 1995 à EL Kelaâ des Sraghna

POUR L' OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

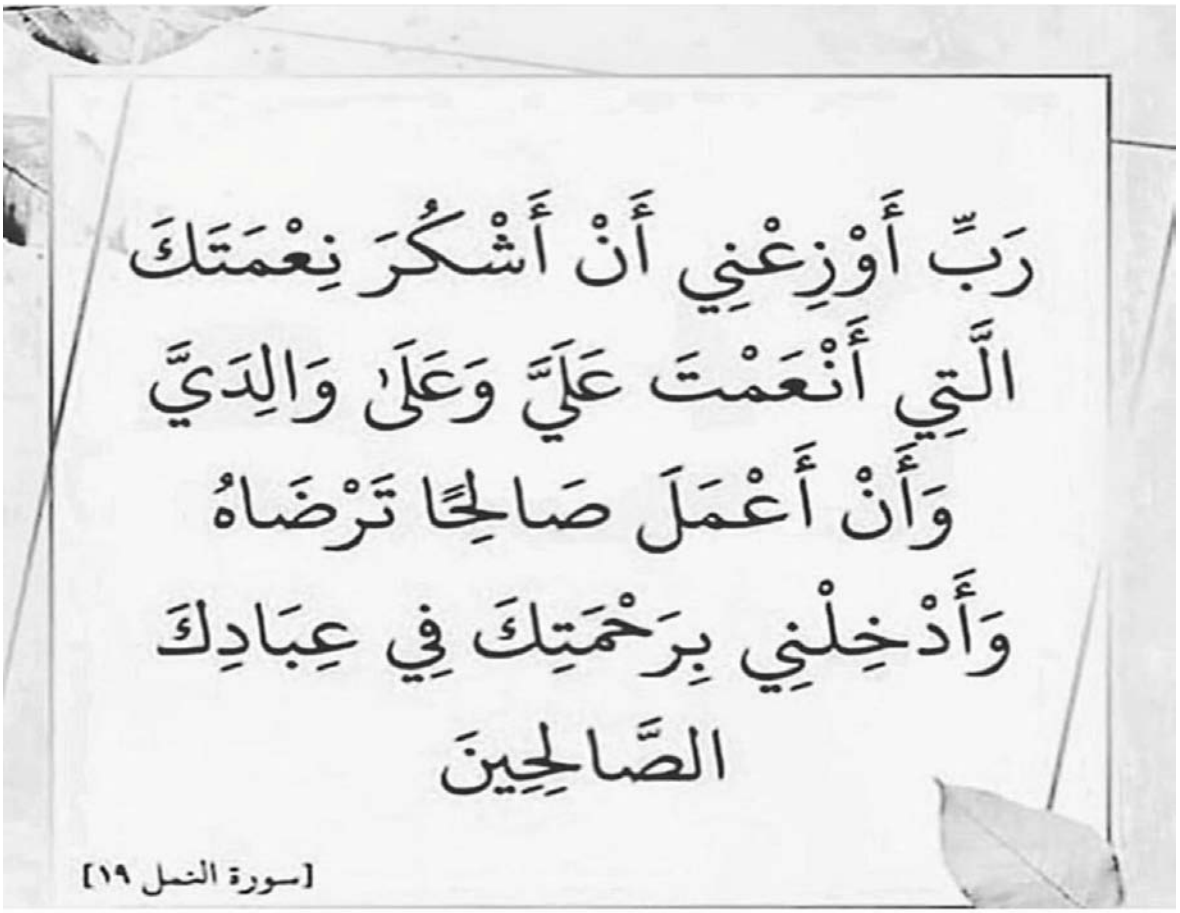
MOTS CLES

Don du sang -Qualification-microbiologique

JURY

Mr.	M.CHAKOUR Professeur d'Hématologie	PRESIDENT
Mr.	M.AIT AMEUR Professeur d'Hématologie biologique	RAPPORTEUR
Mr.	H.QACIF Professeur en Medecine interne	JUGE

بسم الله الرحمن الرحيم



دواؤك فيك وما تشعرُ
ودائك مِنك وما تُبصرُ
وتحسبُ أنك جرمٌ صغيرٌ
وفيك انطوى العالَمُ الأكبرُ

"الإمام علي بن أبـــي طالب"

At the end of the day, we can endure much more than we think we can.

— Frida Kahlo

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.

Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.

Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.

Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.

Les médecins seront mes frères.

Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.

Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dés sa conception.

Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.

Je m'y engage librement et sur mon honneur.

Déclaration Genève, 1948

LISTE DES PROFESSEURS

UNIVERSITE CADI AYYAD

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

MARRAKECH

DoyensHonoraires : Pr. Badie AzzamanMEHADJI

: Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

ADMINISTRATION

Doyen : Pr. Mohammed BOUSKRAOUI

Vice doyen à la Recherche et la Coopération : Pr. Mohamed AMINE

Vice doyen aux Affaires Pédagogiques : Pr. Redouane EL FEZZAZI Secrétaire Générale : Mr. Azzeddine ELHOUDAIGUI

Professeurs de l'enseignementsupérieur

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABKARI Imad	Traumato- orthopédie	FADILIWafaa	Néphrologie
ABOU EL HASSANTaoufik	Anésthésie- réanimation	FAKHIRBouchra	Gynécologie-obstétrique
ABOUCHADIAbdeljalil	Stomatologie et chir maxillo faciale	FOURAIJI Karima	Chirurgiepédiatrique
ABOULFALAHAbderrahim	Gynécologie- obstétrique	GHANNANEHoussine	Neurochirurgie
ABOUSSAIRNisrine	Génétique	GHOUNDALE Omar	Urologie
ADALIImane	Psychiatrie	HACHIMIAbdelhamid	Réanimationmédicale
ADMOUBrahim	Immunologie	HAJJIIbtissam	Ophtalmologie
AGHOUTANE El Mouhtadi	Chirurgiepédiatrique	HAROUKaram	Gynécologie-obstétrique
AISSAOUIYounes	Anesthésie - réanimation	HOCAROuafa	Dermatologie
AIT AMEURMustapha	Hématologie Biologique	JALALHicham	Radiologie
AIT BENALISaid	Neurochirurgie	KAMILI El Ouafi El Aouni	Chirurgiepédiatrique
AIT BENKADDOURYassir	Gynécologie- obstétrique	KHALLOUKIMohammed	Anesthésie-réanimation
AIT-SABImane	Pédiatrie	KHATOURI Ali	Cardiologie
AMALSaid	Dermatologie	KHOUCHANIMouna	Radiothérapie
AMINEMohamed	Epidémiologie- clinique	KISSANINajib	Neurologie
AMMAR Haddou	Oto-rhino-laryngologie	KRATIKhadija	Gastro- entérologie
AMROLamyae	Pneumo- phtisiologie	KRIETMohamed	Ophtalmologie
ANIBAKhalid	Neurochirurgie	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie
ARSALANELamiae	Microbiologie –Virologie	LAKMICHI Mohamed Amine	Urologie
ASMOUKIHamid	Gynécologie- obstétrique	LAOUADInass	Néphrologie

ATMANE El Mehdi	Radiologie	LOUHABNisrine	Neurologie
BAIZRIHicham	Endocrinologie et maladies métaboliques	LOUZIAbdelouahed	Chirurgie – générale
BASRAOUIDounia	Radiologie	MADHAR Si Mohamed	Traumato- orthopédie
BASSIRAhlam	Gynécologie- obstétrique	MANOUDIFatiha	Psychiatrie
BELKHOUAhlam	Rhumatologie	MANSOURINadia	Stomatologie et chirumaxillo faciale
BEN DRISSLaila	Cardiologie	MAOULAININEFadl mrabihrabou	Pédiatrie (Neonatologie)
BENCHAMKHAYassine	Chirurgie réparatrice et plastique	MATRANEAboubakr	Médecinenucléaire
BENELKHAIAT BENOMARRidouan	Chirurgie – générale	MOUAFFAKYoussef	Anesthésie –réanimation
BENHIMA Mohamed Amine	Traumatologie - orthopédie	MOUDOUNISaid Mohammed	Urologie
BENJILALILaila	Médecineinterne	MOUFIDKamal	Urologie
BENZAROUELDounia	Cardiologie	MOUTAJ Redouane	Parasitologie
BOUCHENTOUFRachid	Pneumo- phtisiologie	MOUTAOUAKILAbdeljalil	Ophtalmologie
BOUKHANNILahcen	Gynécologie- obstétrique	MSOUGGARYassine	Chirurgiethoracique
BOUKHIRAAbderrahman	Biochimie – chimie	NAJEBYoussef	Traumato- orthopédie
BOUMZEBRADrissi	Chirurgie Cardio-Vasculaire	NARJISSYoussef	Chirurgiegénérale
BOURRAHOUATAicha	Pédiatrie	NEJMI Hicham	Anesthésie- réanimation
BOURROUSMonir	Pédiatrie	NIAMANE Radouane	Rhumatologie
BOUSKRAOUIMohammed	Pédiatrie	OUALI IDRISSIMariem	Radiologie
CHAFIKRachid	Traumato- orthopédie	OULAD SAIADMohamed	Chirurgie pédiatrique
CHAKOUR Mohamed	Hématologie Biologique	QACIFHassan	Médecineinterne
CHELLAKSaliha	Biochimie- chimie	QAMOUSSYoussef	Anésthésie- réanimation
CHERIF IDRISSI EL GANOUNI Najat	Radiologie	RABBANIKhalid	Chirurgiegénérale
CHOULLI MohamedKhaled	Neuro pharmacologie	RADANoureddine	Pédiatrie
DAHAMI Zakaria	Urologie	RAISHanane	Anatomiepathologique

DRAISSGhizlane	Pédiatrie	RAJIAbdelaziz	Oto-rhino-laryngologie
EL ADIB Ahmed Rhassane	Anesthésie- réanimation	ROCHDIYoussef	Oto-rhino- laryngologie
EL ANSARINawal	Endocrinologie et maladies métaboliques	SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Anesthésie- réanimation
EL BARNIRachid	Chirurgie- générale	SAMLANI Zouhour	Gastro- entérologie
EL BOUCHTIImane	Rhumatologie	SARFIsmail	Urologie
EL BOUIHIMohamed	Stomatologie et chirmaxillo faciale	SORAANabila	Microbiologie – Virologie
ELFEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	SOUMMANIAbderraouf	Gynécologie- obstétrique
EL HAOURY Hanane	Traumato- orthopédie	TASSINoura	Maladiesinfectieuses
EL HATTAOUIMustapha	Cardiologie	TAZI Mohamed Illias	Hématologie- clinique
EL HOUDZIJamila	Pédiatrie	YOUNOUSSaid	Anesthésie-réanimation
EL IDRISSI SLITINENadia	Pédiatrie	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie –virologie
EL KARIMISaloua	Cardiologie	ZAHLANEMouna	Médecineinterne
EL KHAYARIMina	Réanimationmédicale	ZAOUISanaa	Pharmacologie
EL MGHARI TABIBGhizlane	Endocrinologie et maladies métaboliques	ZIADIAmra	Anesthésie – réanimation
ELFIKRIAbdelghani	Radiologie	ZOUHAIR Said	Microbiologie
ESSAADOUNILamiaa	Médecineinterne	ZYANI Mohammed	Médecineinterne

Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABIR Badreddine	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale	EL MEZOUARI El Moustafa	Parasitologie Mycologie
ADARMOUCH Latifa	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)	EL OMRANIAbdelhamid	Radiothérapie
AIT BATAHAR Salma	Pneumo- phtisiologie	FAKHRIAnass	Histologie-embyologie cytogénétique
ALJSoumaya	Radiologie	IHBIBANE fatima	Maladies Infectieuses
ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle	KADDOURI Said	Médecineinterne
ARSALANE Adil	Chirurgie Thoracique	LAHKIM Mohammed	Chirurgiegénérale
BELBACHIR Anass	Anatomie- pathologique	LAKOUICHMIMohammed	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale
BELBARAKARhizlane	Oncologiemédicale	MARGAD Omar	Traumatologie -orthopédie
BELHADJ Ayoub	Anesthésie –Réanimation	MLIHA TOUATI Mohammed	Oto-Rhino –Laryngologie
BENALIAbdeslam	Psychiatrie	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
BENJELLOUN HARZIMI Amine	Pneumo- phtisiologie	NADER Youssef	Traumatologie - orthopédie
BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	OUBAHA Sofia	Physiologie
BSISS Mohamed Aziz	Biophysique	SAJIAIHafsa	Pneumo- phtisiologie
CHRAA Mohamed	Physiologie	SALAMATarik	Chirurgiepédiatrique
DAROUASSIYoussef	Oto-Rhino –Laryngologie	SEDDIKI Rachid	Anesthésie - Réanimation
EL AMRANI MoulayDriss	Anatomie	SERGHINI Issam	Anesthésie - Réanimation
EL HAOUATIRachid	Chirurgie Cardio-vasculaire	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie Virologie	ZARROUKI Youssef	Anesthésie - Réanimation
EL KHADER Ahmed	Chirurgiegénérale	ZEMRAOUI Nadir	Néphrologie

Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABDELFETTAH Youness	Rééducation et Réhabilitation Fonctionnelle	ELOUARDIYoussef	Anesthésie réanimation
ABDOU Abdessamad	Chiru Cardio vasculaire	EL-QADIRY Rabiy	Pédiatrie
ABOULMAKARIM Siham	Biochimie	ESSADI Ismail	Oncologie Médicale
ACHKOUN Abdessalam	Anatomie	FDIL Naima	Chimie de Coordination Bio- organique
AIT ERRAMIAdil	Gastro-entérologie	FENNANE Hicham	Chirurgie Thoracique
AKKA Rachid	Gastro – entérologie	HAJHOUJI Farouk	Neurochirurgie
ALAOUI Hassan	Anesthésie – Réanimation	HAJJIFouad	Urologie
AMINE Abdellah	Cardiologie	HAMMI Salah Eddine	Médecine interne
ARROB Adil	Chirurgieréparatrice et plastique	Hammoune Nabil	Radiologie
ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	HAMRI Asma	Chirurgie Générale
AZIZZakaria	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	JALLAL Hamid	Cardiologie
BAALLAL Hassan	Neurochirurgie	JANAH Hicham	Pneumo- phtisiologie
BABA Hicham	Chirurgiegénérale	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
BELARBI Marouane	Néphrologie	LAHLIMI Fatima Ezzahra	Hématologie clinique
BELFQUIH Hatim	Neurochirurgie	LAHMINI Widad	Pédiatrie
BELGHMAIDI Sarah	Ophtalmologie	LALYA Issam	Radiothérapie

BELLASRI Salah	Radiologie	LAMRANI HANCH Asmae	Microbiologie-virologie
BENANTARLamia	Neurochirurgie	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicologie environnementale
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie	MAOUJOUD Omar	Néphrologie
BENZALIM Meriam	Radiologie	MEFTAH Azzelarab	Endocrinologie et maladies métaboliques
BOUTAKIOUTEBadr	Radiologie	MILOUDI Mohcine	Microbiologie – Virologie
CHAHBI Zakaria	Maladies infectieuses	NASSIHHouda	Pédiatrie
CHETOUI Abdelkhalek	Cardiologie	NASSIM SABAH Taoufik	Chirurgie Réparatrice et Plastique
CHETTATIMariam	Néphrologie	OUMERZOUKJawad	Neurologie
DAMIAbdallah	Médecine Légale	RAGGABI Amine	Neurologie
DARFAOUI Mouna	Radiothérapie	RAISSI Abderrahim	Hématologie clinique
DOUIREKFouzia	Anesthésie- réanimation	REBAHI Houssam	Anesthésie – Réanimation
EL- AKHIRIMohammed	Oto- rhino- laryngologie	RHARRASSI Isam	Anatomie-patologique
EL AMIRI My Ahmed	Chimie de Coordination bio-organnique	ROUKHSI Redouane	Radiologie
EL FADLI Mohammed	Oncologie médicale	SALLAHI Hicham	Traumatologie-orthopédie
EL FAKIRIKarima	Pédiatrie	SAYAGH Sanae	Hématologie
EL GAMRANI Younes	Gastro-entérologie	SBAAI Mohammed	Parasitologie-mycologie
EL HAKKOUNIAwatif	Parasitologiemycologie	SEBBANI Majda	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)
EL HAMZAOUIHamza	Anesthésie réanimation	SIRBOURachid	Médecine d'urgence et de Catastrophe
EL KHASSOUI Amine	Chirurgiepédiatrique	WARDAKarima	Microbiologie
ELATIQI Oumkeltoum	Chirurgieréparatrice et plastique	ZBITOU Mohamed Anas	Cardiologie
ELBAZ Meriem	Pédiatrie	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio- vasculaire
ELJAMILI Mohammed	Cardiologie		

LISTE ARRÉTÉÉ LE 01/02/2021

DÉDICACES

Je dédiée ce modeste travail

A

Tout d'abord à ALLAH

Le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Qui m'a inspirée et guidée dans le bon chemin, Je lui dois ce que je suis devenue.

Louanges et remerciements pour sa clémence et sa miséricorde.

الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي بِنِعْمَتِهِ تَتِمُّ الصَّالِحَاتُ

A MON TRES CHER PERE :AMANDAOU LHOUSSEINE

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes sont-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

A MA TRES CHERE MERE:FAKKAK AICHA

A la plus douce et la plus merveilleuse de toutes les mamans, aucune dédicace ne saura transmettre la profondeur de ma reconnaissance et le degré d'amour,
D'affection et de respect que je porte pour toi. Tu étais toujours présente à mes côtés pour me consoler et tu n'as jamais cessé de me soutenir et m'encourager. Tes prières ont été pour moi un grand soutien et une énorme source de force et de courage tout Au long de mon parcours. Il me faudra plus que les mots pour t'exprimer mon amour. C'est grâce à ta présence constante et ton soutien que j'ai dû surmonter des longues années d'étude.
J'espère que tu trouveras dans ce modeste travail un témoignage de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse Dieu tout puissant te protéger du mal, te procurer longue vie, santé et bonheur, afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois.

A MON CHER FRERE SAMIR, SON EPOUSE KAOUTAR ET LEUR FILLE SOUNDOUSS

Je suis et serai toujours reconnaissante pour ton soutien moral que tu m'as accordé tout au long de mon parcours. Tu n'as jamais cessé de chercher mon sourire dans les Moments les plus difficiles de ma vie. Je te dédie ce travail en témoignage de tous mes sentiments envers toi qu'aucun mot ne le saura exprimer. Que Dieu tout puissant te garde, protège tes enfants et vous apporte tout le bonheur.

A MA TRES CHERE SŒUR SANA, SON MARI AHMED ET SES ENFANTS :
OUSSAMA ET YASSINE

En signe d'affection et du grand amour que je vous porte, tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense estime et la profonde gratitude pour tous vos efforts et vos sacrifices. Je vous dédie ce travail en témoignage de mon attachement indéfectible et de mes sentiments les plus sincères. Que Dieu vous accorde santé succès et félicité pour faire de vous un couple uni et heureux à jamais.

A MA CHERE SŒUR : OUAFAA

La prunelle de mes yeux, tellement différente de moi mais qui me complète parfaitement. Tu es mon ange gardien, toujours présente à mes côtés pour me soutenir, m'aider et m'encourager. Je ne te remercierai Jamais assez pour tout ce que tu as fait pour moi durant toutes ces années d'études. Je te dédie ce travail en témoignage de ma profonde affection, en souvenirs de notre indéfectible union qui s'est tissée au fil des jours. Puisse dieu vous protéger, garder et renforcer notre fraternité.

A MA CHERE PETITE SŒUR : FATIMA ZAHRA

Ces quelques lignes ne sauraient traduire le profond amour que je te porte. Ta bonté, ton affection, ton précieux soutien, et ton encouragement tout au long de mes années d'étude ont été pour moi l'exemple de persévérance et d'un vrai amour inconditionnel.

Je te dédie ce travail en témoignage de tous mes sentiments et mes loyautés.

Puissions-nous rester unis dans la tendresse et fidèles à l'éducation que nous avons reçue.

Je te souhaite beaucoup de succès et prospérité. J'implore Dieu qu'il te bénisse et t'aide à réaliser tous tes vœux.

A DOCTEUR FAKIRI ELHOSSEINE

Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre Soutien et encouragements. Je vous dédie ce travail en reconnaissance de votre bonté exceptionnelle. Veuillez trouver en ce modeste travail, le témoignage de mes sentiments les plus sincères et les plus affectueux. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.

A toute ma grande famille

Avec toute mon affection et mon respect.

A MA TRES CHERE AMIE :OUMAIMA ELKAOUA

Tu es plus qu'une amie pour moi, tu es ma sœur. Nous avons partagé ensemble des moments de joie et de frustrations qu'on a pu surmonter ensemble. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension. Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi.

Je t'aime tout simplement.

A MA TRES CHERE AMIE: OUMAIMA ELGARRAOUI

Aucun mot ne saurait décrire à quel point, je suis fière de toi. Je te remercie infiniment de m'avoir tant soutenu, encouragé et d'avoir contribué dans ma réussite mentale, physique et intellectuelle.

Nos fous-rires et notre bonne humeur ont su faire face à toutes les épreuves imposées par notre chemin et pour cela, merci.

Avec toi, j'ai eu mes plus longues discussions, tu as su partager mes intérêts, mes soucis et toutes mes réflexions. Je te souhaite le meilleur dans la vie. Que Dieu te procure bonheur, santé et réussite et que cette amitié dure le temps d'une vie, pour le meilleur et pour le pire.

A MES CHE(E)S AMI(E)S POUR TOUJOURS ET COLLEGUES

A tous les moments qu'on a passés ensemble, à tous nos souvenirs ! Je vous souhaite à tous longue vie pleine de bonheur et de prospérité. Je vous dédie ce travail en témoignage de ma reconnaissance et de mon respect. Merci

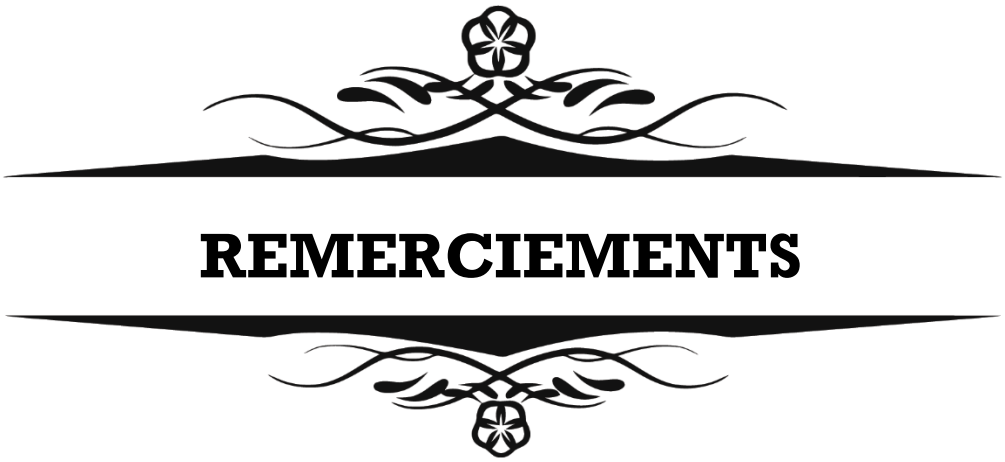
Pour tous les moments formidables qu'on a partagés.

.A MON MAITRE MONSIEUR LE PROFESSEUR A. BELMEKKI : CHEF DU SERVICE DU CENTRE DE TRANSFUSION SANGUINE A L'HOPITAL MILITAIRE DE RABAT

Nous avons été très sensibles à l'amabilité de votre accueil et l'intérêt que vous avez accordé à ce travail nous tenons à vous exprimer notre profonde reconnaissance. Veuillez accepter, cher maître, dans ce travail l'assurance de notre estime et notre profond respect.

A DR KHADIJA HAJJOUT

Veuillez trouver, docteur, à travers ce modeste travail la manifestation de notre plus haute estime et de nos sentiments les plus respectueux.
Puisse Dieu le tout puissant vous accorder santé, prospérité et bonheur.



REMERCIEMENTS

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR MOHAMED CHAKOUR

PROFESSEUR D'HEMATOLOGIE BIOLOGIQUE

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous avez fait en acceptant aimablement de présider notre jury. Nous vous sommes très reconnaissants de bien vouloir porter intérêt à ce travail.

Vos qualités professionnelles nous ont beaucoup marqué. Votre enseignement clair et précis restera pour nous un acquis de grande valeur. Votre gentillesse, votre modestie, votre sympathie et vos qualités humaines n'ont rien d'égal que votre compétence.

Veuillez accepter, Professeur, nos sincères remerciements et toute la reconnaissance que nous vous témoignons.

Nous avons bénéficié, au cours de nos études, de votre enseignement clair et précis. Votre gentillesse, vos qualités humaines, votre modestie n'ont rien d'égal que votre compétence. Veuillez trouver ici, Professeur, l'expression de nos sincères
Remerciements.

A NOTRE MAITRE ET RAPPORTEUR DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR MUSTAPHA AIT AMEUR

PROFESSEUR D'HEMATOLOGIE BIOLOGIQUE

Nous sommes très heureux du grand honneur que vous nous avez fait en témoignant un vif intérêt pour ce travail. Vous nous avez guidé en nous conseillant et en
Consacrant une partie de votre temps précieux, vous nous avez à chaque fois réservé un accueil aimable et bienveillant. Nous vous remercions de votre patience, votre disponibilité, de vos encouragements et de vos précieux conseils dans la réalisation de ce travail.

Votre compétence, votre dynamisme et vos qualités professionnelles et humaines nous servent d'exemple.

Veuillez trouver ici, cher Maître, l'assurance de ma profonde reconnaissance et de mon grand respect.

<u>À MON MAITRE ET JUGE DE THESE</u>

<u>MONSIEUR LE PROFESSEUR HASSAN QACIF</u>

<u>PROFESSEUR EN MEDECINE INTERNE</u>

Nous vous remercions de nous avoir honorés par votre présence. Vous avez accepté aimablement de juger cette thèse. Au cours de nos études, vous nous avez montré la signification morale de notre profession.

Qu'il nous soit permis de vous présenter, à travers ce travail, le témoignage de notre grand respect et l'expression de notre profonde reconnaissance

Abréviations

Liste des abréviations

AC : Anticorps

ADN : Acide Désoxyribonucléique

Ag : Antigène

ALAT : L'alanine aminotransférase

ARN : Acide Ribonucléique

CL :chimiluminescents

CLIA : chimiluminescence immuno- analyse

CMV : Cytomégalovirus

CTS : Centre de Transfusion Sanguine

GV : Dépistage Génomique Viral

DO : Densité Optique

EBV : Epstein-Barr Virus

EIA : Enzyme Immuno -Assay

ELISA : Enzyme-LinkedImmunosorbentAssay

FTA-ABS : Test d'immunofluorescence absorbée pour le dépistage des anticorps anti-*Treponema pallidum*

GR : Globules Rouges

HLA : HumanLeukocyteAntigen

HMA : Hôpital Militaire Avicenne

HPA :hybridization protection assay

HTLV : Humain T-Lymphotropic Virus

IGG :immunoglobulines G

IGM :immunoglobulines M

MHA-TP : Micro-hémagglutination pour *Treponema pallidum*

MTP : micro-titration

PCR :Polymerase Chain Reaction

PSL : Produits Sanguins Labiles

QBD : Qualification Biologique du Don

RPR :Test rapide de la réagine plasmatique

SIDA : Syndrome d'Immunodéficience Acquise

SIH : système informatique hôpital

SIL : système informatique laboratoire

TAN :amplification des acides nucléiques

TMA :Transcription Mediated Amplification

TPHA : Treponema Pallidum HaemaglutinationAssay

TP-PA : Test d'agglutination passive de *Treponema pallidum*

VDRL : Venereal Disease Research Laboratory

VHB : Virus de l'Hépatite B

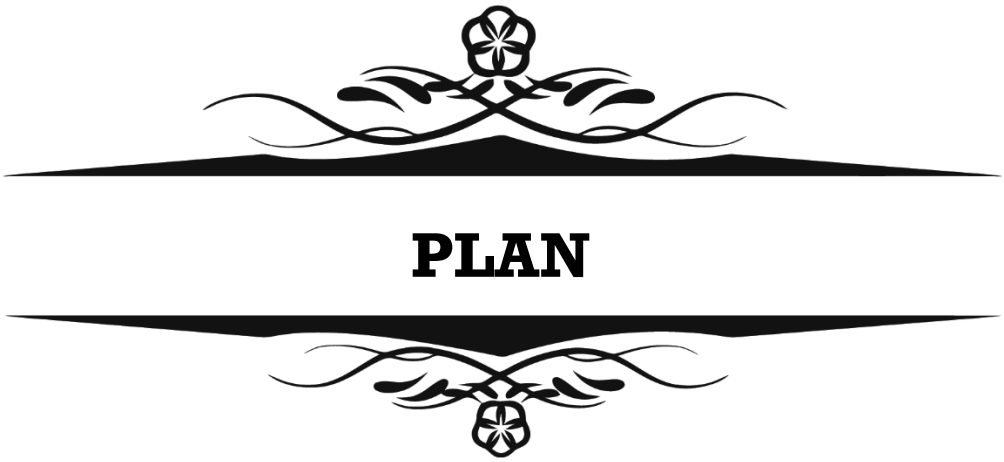
VHC : Virus d'Hépatite C

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

VNO :Virus du Nil occidental

WNV :Virus du Nil occidental

ZIKV :Virus Zika



PLAN

INTRODUCTION 1

MOYENS & METHODES 5

I. Moyens 6

1. Nouveau centre de transfusion 6

2. Ancien centre de transfusion 8

3. Matériels techniques 9

4. Techniques 12

5. Prélèvement 14

6. Résultats des contrôles de qualité 14

7. Les moyens d'études 14

II. Méthodes 14

RESULTATS 16

I. Nombre total des dons et tests réalisés 17

II. Prévalences des marqueurs sérologiques 17

1. Prévalence des marqueurs sérologiques de l'hépatite virale B 18

2. Prévalences des marqueurs sérologiques de l'hépatite virale C 19

3. Prévalence des marqueurs sérologiques du VIH 21

4. Prévalence des marqueurs sérologiques de la syphilis 22

ANALYSE ET DISCUSSION 25

I. Nombre total des dons et tests réalisés 26

II. Prévalences des marqueurs sérologiques 26

1. Prévalence de l'hépatite virale B 26

2. Prévalences de l'hépatite virale C 27

3. Prévalence du VIH 28

4. Prévalence de la syphilis 29

III. Rappels sur la chaine transfusionnelle 30

IV. Techniques de la qualification microbiologique du don du sang à l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech 36

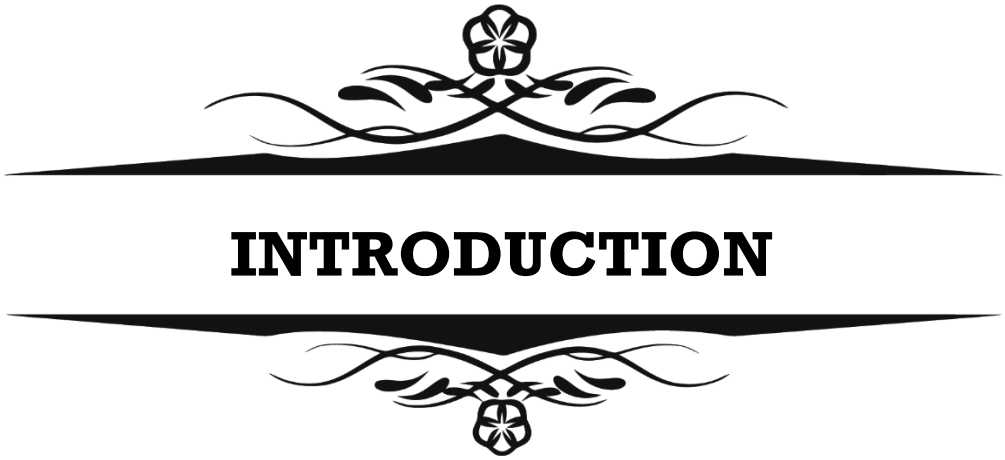
1. La technique ELISA 36

2. L'hémagglutination 44

3. La chimiluminescence 49

V. Techniques de la qualification microbiologique du don du sang à l'échelle nationale et internationale 51

1. A l'échelle nationale 51
2. A l'échelle internationale 64
VI. Tableaux comparatifs récapitulatifs 73
VII. Effets adverses du type infectieux de la transfusion sanguine 79
VIII. Recommandations (perspectives) 80
CONCLUSION 82
RESUME 84
ANNEXES 91
BIBLIOGRAPHIE 112



INTRODUCTION

La qualification microbiologique du don du sang désigne un ensemble d'analyses sérologique et moléculaire effectuées sur un échantillon de sang prélevé chez un donneur , afin de contribuer à la sécurité transfusionnelle des produits sanguins vis-à-vis les agents infectieux responsable des maladies transmissibles par le sang.[1]

La qualification microbiologique du don de sang à pour objectifs de :[1]

1. Assurer la sécurité des receveurs vis-à-vis les maladies transmissibles.
2. Dépister chez le donneur, les maladies transmissibles, en comparant le résultat obtenu avec ceux éventuellement connus sur un don antérieur.
3. Informer et orienter le donneur qui présente des sérologies positives vis-à-vis des agents transmissibles.
4. Participer à l'hémovigilance devant une séroconversion virale ou bactériologique chez les donneurs, en déclenchant des enquêtes « descendantes » depuis le donneur jusqu'aux receveurs concernés.
5. Faire des enquêtes « ascendantes » depuis le receveur jusqu'au donneur en cas de découverte d'infection transmise par le sang transfusé.
6. Intégrer les résultats de la qualification microbiologique dans le suivi épidémiologique régional et national des donneurs. Ceci dans le but d'enrichir les éléments participant à la sécurité transfusionnelle et à l'évaluation du risque résiduel transfusionnel.
7. Prendre des nouvelles mesures visant à améliorer celle déjà mise en place.
8. Tenter de réduire en maximum la fenêtre sérologique et ainsi diminuer les risques résiduels.

La qualification microbiologique obéit à des tests de loi, tout incident post transfusionnel est médico-légale.

La qualification microbiologique du don du sang a connu de très grands progrès vis-à-vis le risque infectieux.

L'utilisation de nouvelles technologies et méthodes en transfusion a constitué un élément de réflexion en tant que nouvelle approche pour rechercher les virus sur les dons de sang, ce qui a contribué à l'amélioration de la qualité du dépistage et la sécurité transfusionnelle.

La recherche d'agents pathogènes dans les dons de sang a considérablement évolué, comme en témoigne la liste suivante (France)[2] :

- 1956 : Dépistage de la Syphilis: Détermination de l'hématocrite
- 1971 : Virus de l'hépatite B : Dépistage de l'antigène HBS
- 1985 : Virus de l'Immunodéficience Humaine : Détection des anticorps anti-VIH
- 1986 : Paludisme : Détection des anticorps antipaludéens
- 1988 : virus des hépatites B et C : Dosage des ALAT et Détection anticorps anti-HBC
- 1989: virus HTLV : Anti-HTLV 1-2
- 1990 :virus de l'hépatite C : Détection des anticorps anti-VHC
- 1991 : virus HTLV Détection des anticorps anti-HTLV
- 2001 : Virus de l'Immunodéficience Humaine et de l'hépatite C : Dépistage des génomes viraux(DGV) VIH1 et VHC
- 2003 : virus de l'hépatite C : **Arrêt du dosage des ALAT**
- 2005: Virus de l'hépatite B : Dépistage du génome viral unitaire du VHB
- 2006 : Maladie de Chaggas : Dépistage Anti-T.cruzi
- 2007 : Maladie de Chagas : Dépistage Anti-T.cruzi si séjour zone endémique[2]

Au début des années 1970, le dépistage de l'antigène HBS, dans les laboratoires des centres de transfusion, était encore réalisé par des méthodes immunologiques de précipitation en milieu gélifié.

Depuis, l'immunologie infectieuse a fait des progrès considérables. L'avènement du test Elisa a révolutionné le diagnostic sérologique et a permis simultanément l'automatisation des tests sérologiques.

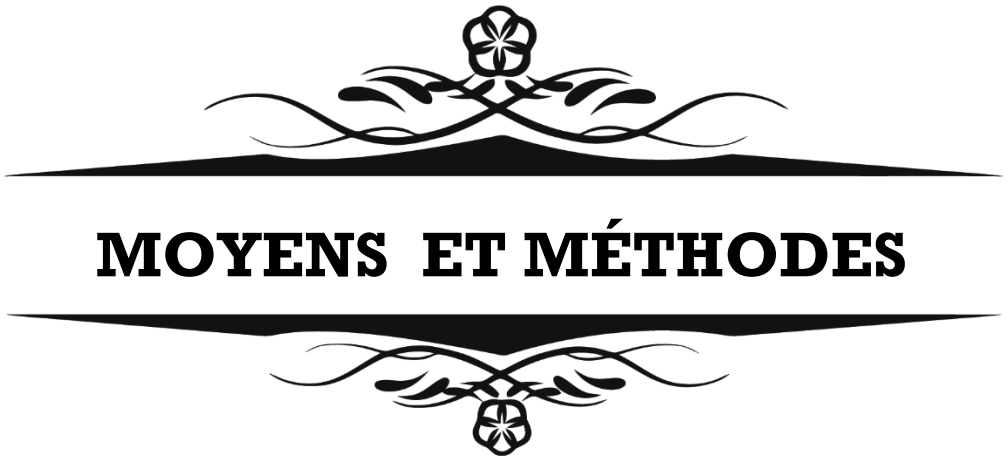
Parallèlement à l'évolution des automates d'analyse, les différentes générations de tests sérologiques se sont améliorées progressivement sur le plan des performances analytiques, notamment en termes de sensibilité et de spécificité.

Néanmoins, les performances des tests sérologiques semblent avoir atteint leurs limites, ouvrant la voie aux tests moléculaires, depuis l'introduction en juillet 2001, du DGV (dépistage génomique viral) en pools pour les virus VIH et VHC.

De nouveaux automates de DGV et des tests multiplex incluant le dépistage du virus de l'hépatite B sont aujourd'hui disponibles.[2]

L'intérêt de choix de notre travail est de :

- Évaluer les techniques de qualification microbiologiques du don du sang à l'hôpital militaire de Marrakech par rapport à ce qui se fait à l'échelle nationale et internationale.
- Mettre en valeur le niveau de la qualification microbiologique du don du sang à l'hôpital militaire de Marrakech.
- Proposer des recommandations pour améliorer le niveau de qualification au sein de l'hôpital militaire de Marrakech.



MOYENS ET MÉTHODES

I. Moyens :

Pour réaliser notre étude, nous avons opté pour une étude rétrospective, descriptive et évaluative, portante sur 8221 dons du sang colligés au CTS (ancien et nouveau) de l'HMA de Marrakech, réalisée sur une période de cinq ans allant du 1er janvier 2016 au 31 décembre 2020.

Les donneurs étaient des militaires issus de Marrakech et régions (Benguerir, Ouarzazate, khouribga, Tadla), dont les âges se situent entre 18 et 55ans prélevés selon les collectes programmées (deux à trois collectes par mois) remplissant les conditions du don de sang.

1. Nouveau centre de transfusion :

1.1 Les locaux :

- ✓ Bureau de médecin chef pour visite et entretien pré don
- ✓ Salle des prélèvements des PSL qui comprend neuf fauteuils
- ✓ Salle de préparation et séparation des PSL
- ✓ Laboratoire d'analyses biologiques (sérologique et immuno-hématologique)
- ✓ Salle de stockage
- ✓ Bureau de secrétaire
- ✓ Un vestiaire
- ✓ Salle de préparation des collations

1.2 Les Personnels :

- ✓ Médecin chef du service
- ✓ Un major
- ✓ Trois techniciens de laboratoire
- ✓ Un aide-soignant
- ✓ Un infirmier préleveur
- ✓ Pas de secrétaire

1.3 Les équipements :

Salle de préparation et séparation des PLS :

- ✓ Deux centrifugeuses pour poches du sang (voir figure 31 ; annexe 1)
- ✓ Une centrifugeuse pour carte gel (voir figure 30 ; annexe 1)
- ✓ Quatre presses à plasma pour la séparation des poches de sang (voir figure 32 ; annexe 1)
- ✓ Une balance
- ✓ Une Soudeuse

Paillasse sérologie :

- ✓ Automate EVOLIS « Twin plus » +PC (voir figure 29 ; annexe 1)
- ✓ Une centrifugeuse pour tubes

Paillasse immuno- hématologie :

- ✓ Automates « IH 500 » +PC (voir figure 33 ; annexe 1)
- ✓ Des plaques d'opaline pour groupage, des tiges et des pipettes
- ✓ Des cartes gels

Salle de stockage :

- ✓ Trois grands réfrigérateurs(600 L chacun)
- ✓ Un congélateur a – 30 °
- ✓ Un conservateur des sérums des malades
- ✓ Un stabilisateur
- ✓ Un onduleur

2. Ancien centre de transfusion

2.1 Moyens locaux :

- ✓ Bureau du médecin chef pour visite et entretien pré don.
- ✓ Salle des prélèvements qui comprend trois fauteuils.
- ✓ Salle de préparation et séparation qui constitue le laboratoire d'analyse biologique (immuno-hématologie et sérologique).

2.2 Personnels :

- ✓ Médecin chef du service
- ✓ Un major
- ✓ Un Infirmier préleveur
- ✓ Trois techniciens de laboratoire
- ✓ Une secrétaire

2.3 Equipements :

- ✓ L'automate EVOLIS (en panne depuis 2017) (voir figure 34 ; annexe 1)
- ✓ Une centrifugeuse pour tubes
- ✓ Une presse a plasma
- ✓ Deux bains-marie incubateurs pour carte gel et tubes
- ✓ Une centrifugeuse pour carte gel
- ✓ Un agitateur de plaquettes
- ✓ Un congélateur pour plasma
- ✓ Un réfrigérateur pour PSL
- ✓ Un réfrigérateur pour réactifs
- ✓ Appareil d'aphérèse plaquettaire
- ✓ Des plaques d'opaline pour groupage, des tiges et des pipettes
- ✓ Un pc

3. Matériels techniques :

3.1 L'automate EVOLIS« Twin Plus » :

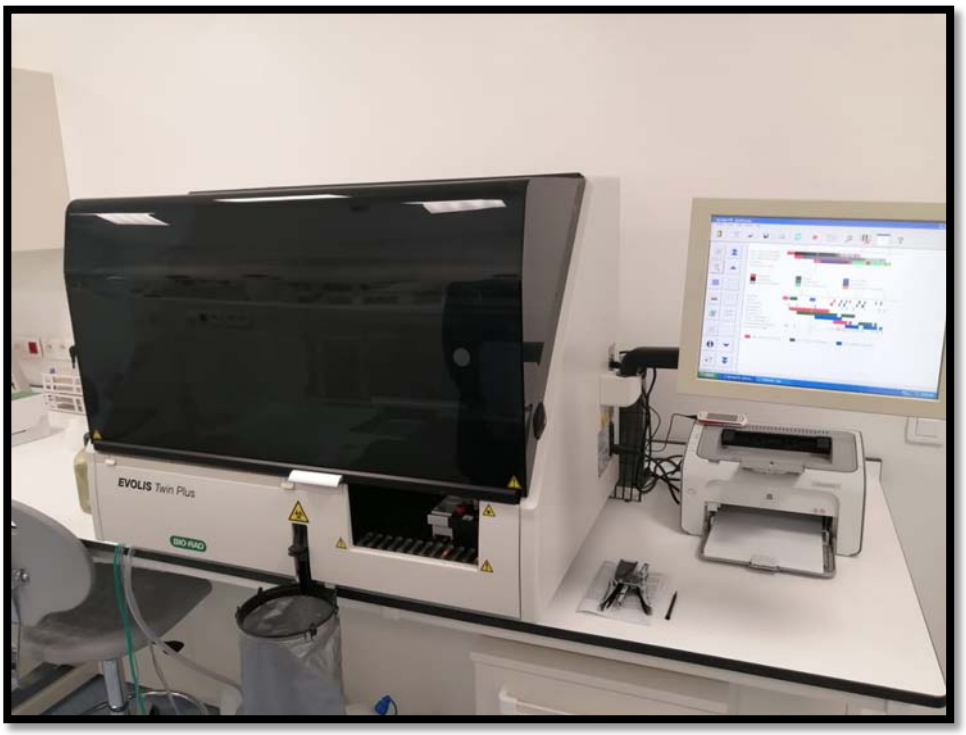


Figure 1:l'automate EVOLIS« twin plus »au CTS de l'HMA de Marrakech

EVOLIS « Twin Plus » est un analyseur de microplaques entièrement automatisé comprenant des fonctions telles que la préparation des échantillons, les tests, les mesures photométriques et l'évaluation des données.

EVOLIS « Twin Plus » est conçu et fabriqué conformément aux normes de sécurité. L'utilisation d'un contrôle interne ajouté dans chaque échantillon analysé, témoins et calibrateurs permet de vérifier le bon déroulement des différentes étapes analytiques.

Les caractéristiques de l'automate EVOLIS «Twin plus » :(voir annexe 2)

1. Automatisation complète, du tube primaire aux résultats, Traçabilité du processus réactionnel.
2. Système ouvert, Protocole entièrement paramétrable, Capacité à programmer tous types de tests sérologiques, grande flexibilité, chargement continu, modules indépendants.
3. Le logiciel :

- Connexion bidirectionnelle surtout interface (Traitement des données, sécurité et accès continu).
- Identification positive échantillons/réactifs/microplaques/gestions des réactifs et échantillons/ vérification du prélèvement /distribution/dilutions/ traçabilité du processus réactionnel /vérification de la distribution par mesure d'absorbance / incubation et lavage /lecture/ interprétation, impression des résultats /archivage/ transmission des résultats au SIH (système informatique hôpital) et SIL (système informatique laboratoire) /sonothèque.

3.2 L'automate ARCHITECT plus « i1000sr » :

L'ARCHITECT plus « i1000SR » est un analyseur d'immuno-analyse automatisé à grande vitesse, utilisant la technologie d'immuno-analyse de microparticules chimiluminescentes doté d'une véritable intégration de la chimie clinique et d'un système unique de gestion tridimensionnelle des échantillons.

Caractéristiques générales :

- ✓ Technologie de chimiluminescence d'immuno- analyse (CLIA)
- ✓ 100 tests par heure
- ✓ Stabilité des étalonnages : 30 jours

- ✓ Capacité d'échantillons simultanés : 65 de routine et 35 pour traitement d'urgence – Détection de caillots et de bulles
- ✓ Types d'échantillons analysés : sérum, plasma et l'urine
- ✓ Dilution automatique

Figure 2 : l'automate ARCHITECT plus « i1000sr » au service de virologie de l'HMA De Marrakech

3.3 La centrifugeuse :

La centrifugeuse permet d'impulser un mouvement de rotation à forte vitesse pour mélanger un contenant et ainsi séparer des molécules.

Elle est principalement utilisée en hématologie pour séparer le plasma ou le sérum à partir de prélèvements sanguins.

Les échantillons destinés aux analyses biologiques (sérologie) sont prélevés dans des tubes secs. Ces derniers sont centrifugés à 3000 tours/min pendant 5 min.

4. Techniques :

Les trois techniques utilisées lors de la qualification microbiologique du don du sang au CTS de l'HMA de Marrakech sont (les principes des techniques seront détaillés plus tard dans le chapitre : Techniques de la qualification microbiologique au CTS de L'HMA) :

4.1 L'ELISA :

Le dépistage biologique est réalisé par cette technique immun-enzymatique basée sur le principe de *la technique en sandwich* en milieu liquide utilisant les anticorps et/ou les antigènes à l'aide de l'automate EVOLIS « Twin plus ». L'ELISA combiné dit de **4ème génération** a été utilisée.[3]

- La recherche des marqueurs du VIH a été effectué par le test GenscreenTM ULTRA VIH **Ag-Ab** (Bio-rad, France).
- La recherche des marqueurs du virus de l´hépatite C a été effectué à l'aide du test MonolisaTM HCV **Ag-Ab** (Bio-rad, France).
- La recherche des marqueurs du virus de l´hépatite B de surface (**Ag HBS**) a été effectué à l'aide du test MonolisaTM **Ag HBS** ULTRA (Bio-rad, France).
    - Les AC HBC ont été retirés de la liste des analyses car il avait un bon pourcentage de séropositivités.
    - La discordance entre Ag HBS négatif et AC HBC positif, nous a posé un vrai problème qui aurait dû être résolu par le DGV.

Cette technique a pour but de réduire en maximum la fenêtre sérologique et ainsi diminuer les risques résiduels.

La fenêtre sérologique est une période de temps qui dure quelques jours, pendant laquelle un sujet contaminé est indétectable.Elle est due au délai d'apparition des anticorps dans le corps humain, suite au contact de l'agent pathogène.[4]

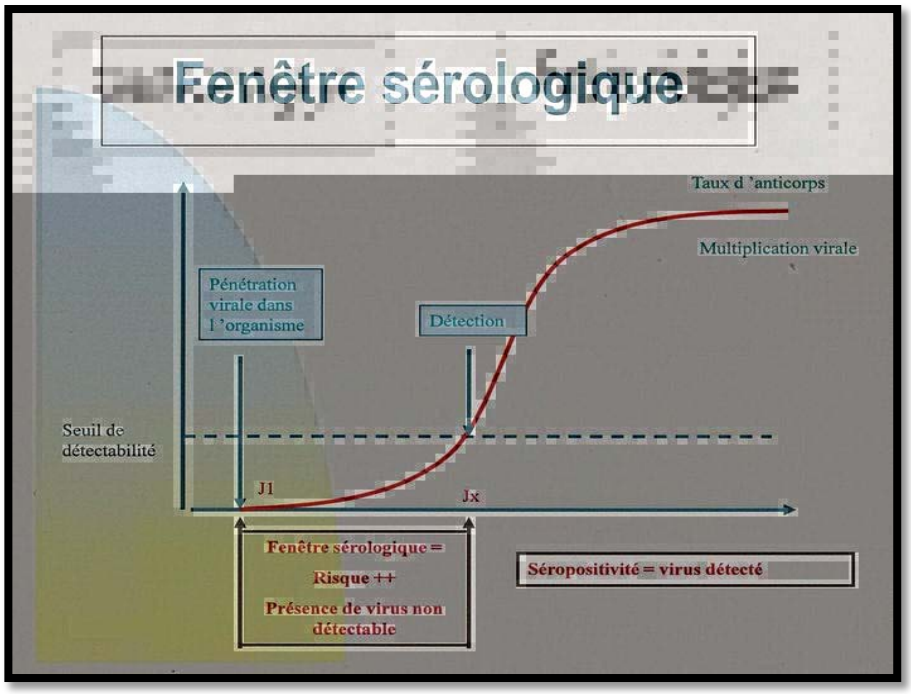


Figure 3 : Présentation schématique générale de la fenêtre sérologique [4]

4.2 L'hémagglutination :

Utilisée pour le dépistage de la syphilis latente chez les donneurs via **le test de TPHA,** par la détection qualitative et semi-quantitative des anticorps dirigés contre *Treponema pallidum* dans le sérum et le plasma humain.

4.3 La chimiluminescence :

L'analyseur d'immuno- analyse ARCHITECT plus « i1000SR » présent au service de virologie utilise la technique de chimiluminescence.

Il est utilisé lors de la qualification microbiologique du don du sang pour contrôler les cas positifs et douteux des résultats sérologiques des donneurs et en cas de panne de l'automate EVOLIS « Twin plus ».

5. Prélèvement :

Le prélèvement utilisé lors de la qualification microbiologique du don de sang au CTS de l'HMA de Marrakech est réalisé par un personnel qualifié sur **des tubes secs**.

La procédure d'asepsie lors du prélèvement exige une inspection de la peau du donneur, de désinfection rigoureuse avec un antiseptique (Bétadine ou alcool) en deux temps, 3 min chacun.

La contamination bactérienne du sang ne peut survenir qu'au moment du prélèvement, car la suite du processus se passe en circuit fermé avec connexions stériles.

6. Résultats des contrôles de qualité :

Aucun incident

7. Les moyens d'études :

- La base des données informatiques de CTS
- Archives de CTS

II. Méthodes

Pour l'exploitation des résultats obtenus, il nous a fallu 6 jours d'être de 8 h à 16 h au CTS (l'ancien et le nouveau) de l'HMA de Marrakech afin de déballer le stock des archives papiers pour les années 2016, 2017 et 2018 avec une saisie manuelle des données.

Les archiver papiers été sous forme des:

- Listes imprimées issues de l'automate EVOLIS « Twin plus » pour les résultats du dépistage des marqueurs sérologiques de l'hépatite B, C et du VIH.
- Listes feuilles, écrites au stylo à la main du technicien, pour les résultats du dépistage de la syphilis.

Et une journée pour la collecte des données informatiques enregistrées sur pc pour les années 2019 et 2020.

L'analyse statistique des résultats a été réalisé à l'aide des logiciels « Microsoft Office Excel » et « Microsoft Office Word » qui facilitent la gestion des données.

Notre étude a été réalisée aussi à l'aide d'un logiciel bibliographique (Zotero) et des moteurs de recherche (Pub Med, science directe, Google scholar…).

Les difficultés rencontrées :

- Les archives papiers mal rangés vue le manque de locaux et personnels.
- Les archives informatiques ont été parfois en arrêt, soit par panne informatique ou par le non saisi des données vu l'absence de la secrétaire en charge.
- Absence de système informatique de laboratoire (SIL) qui gère les données entre l'automate et le système informatique hospitalier (SIH).
- Absence de logiciels informatiques pour détecter les doublants.
- La plupart des informations ont été vérifiées et contrôlées par les personnels (major et techniciens).

RÉSULTATS

I. Nombre total des dons et tests réalisés :

Nombre total : notre échantillon étudié comporte 8221 dons, dont les âges se situent entre 18 et 55ans.

Les tests réalisés : (8221*4) : 32884 tests réalisés.

Le sexe :la répartition selon le sexe, n'a pas été faite vu qu'on travaille sur des listes numérotées, non nominatives.

II. Prévalences des marqueurs sérologiques :

Dans notre étude, Nous avons calculé la prévalence des cas positifs, négatifs et douteux des marqueurs sérologiques : Ag HBS, Ag HCV, AC anti-HCV et AC anti VIH 1 ,2.

Ainsi que les cas positifs et négatifs du marqueur sérologique : TPHA (les cas douteux sont refaits et rencontrés).

La sérologie HTLV ne se pratique pas au CTS de l'hôpital militaire de Marrakech.

La maladie de chagas et le paludisme sont exclus, puisqu'on n'est pas dans une zone d'endémie, et que les militaires au retour des zones impaludées sont exclus du don.

Absence de trousse de dépistage pour la sérologie covid-19, chez les donneurs de CTS de l'hôpital militaire de Marrakech pendant la pandémie de covid-19 puisque ça n'a pas été retenue par l'OMS.

1. Prévalence des marqueurs sérologiques de l'hépatite virale B :

Tableau I : résultats de dépistage sérologique de l'hépatite virale B chez les donneurs au CTS de l'HMA de Marrakech pendant 5 ans

Année	Le nombre de donneurs	Les cas positifs	Les cas négatifs	Les cas douteux
2016	1488	1	1419	68
2017	1406	7	1261	138
2018	1668	2	1572	94
2019	2005	8	1877	120
2020	1654	5	1556	93
Totale	8221	23	7685	513

Tableau II : prévalence de l'hépatite B chez les donneurs au CTS de l'HMA de Marrakech

	Les cas positifs	Les cas négatifs	Les cas douteux
La prévalence d'Ag HBS en %	0,28%	93,48%	6,24%

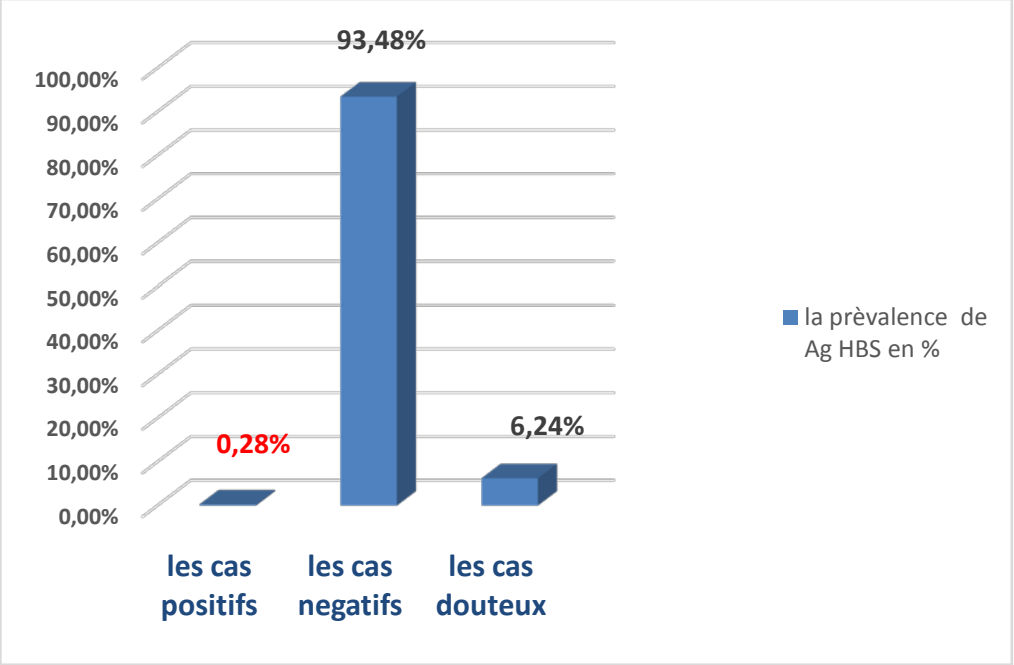


Figure 4: prévalence des marqueurs sérologiques de l'hépatite virale B chez les donneurs au CTS de L'HMA de Marrakech

2. Prévalences des marqueurs sérologiques de l'hépatite virale C :

Tableau III : Résultats de dépistage sérologique de l'hépatite virale C chez les donneurs au CTS de l'HMA de Marrakech pendant 5 ans

Année	Le nombre de donneurs	Les cas positifs	Les cas négatifs	Les cas douteux
2016	1488	1	1434	53
2017	1406	7	1164	235
2018	1668	1	1507	160
2019	2005	0	1868	137
2020	1654	5	1414	235
Totale	8221	14	7387	820

Tableau IV : prévalence de l'hépatite C chez les donneurs au CTS de l'HMA de Marrakech

	Les cas positifs	Les cas négatifs	Les cas douteux
La prévalence d'AC anti HVC en %	0,17%	89,86%	9,97%

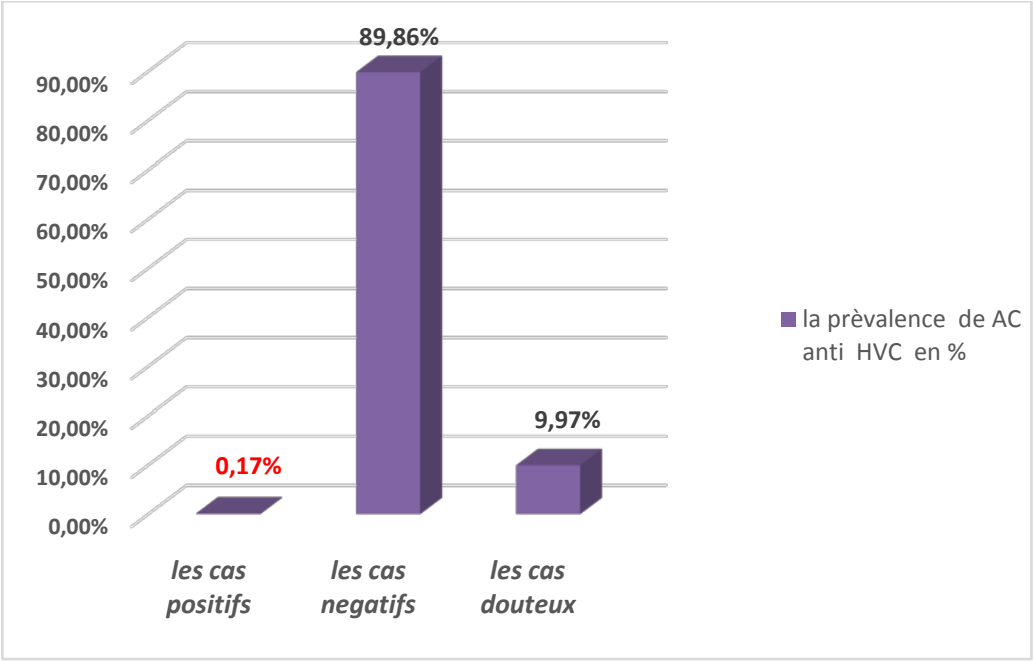


Figure 5 : prévalence des marqueurs sérologiques de l'hépatite virale C chez les donneurs au CTS de l'HMA de Marrakech

3. Prévalence des marqueurs sérologiques du VIH :

Tableau V : résultats de dépistage sérologique du VIH chez les donneurs au CTS de l'HMA de Marrakech pendant 5 ans.

Année	Le nombre de donneurs	Les cas positifs	Les cas négatifs	Les cas douteux
2016	1488	1	1437	50
2017	1406	2	1301	103
2018	1668	0	1616	52
2019	2005	1	1884	120
2020	1654	3	1568	83
Totale	8221	7	7806	408

Tableau VI : prévalence des marqueurs sérologiques du VIH chez les donneurs au CTS de l'HMA de Marrakech

	Les cas positifs	Les cas négatifs	Les cas douteux
La prévalence d'AC anti VIH 1,2 en %	0,09%	94,95%	4,96%

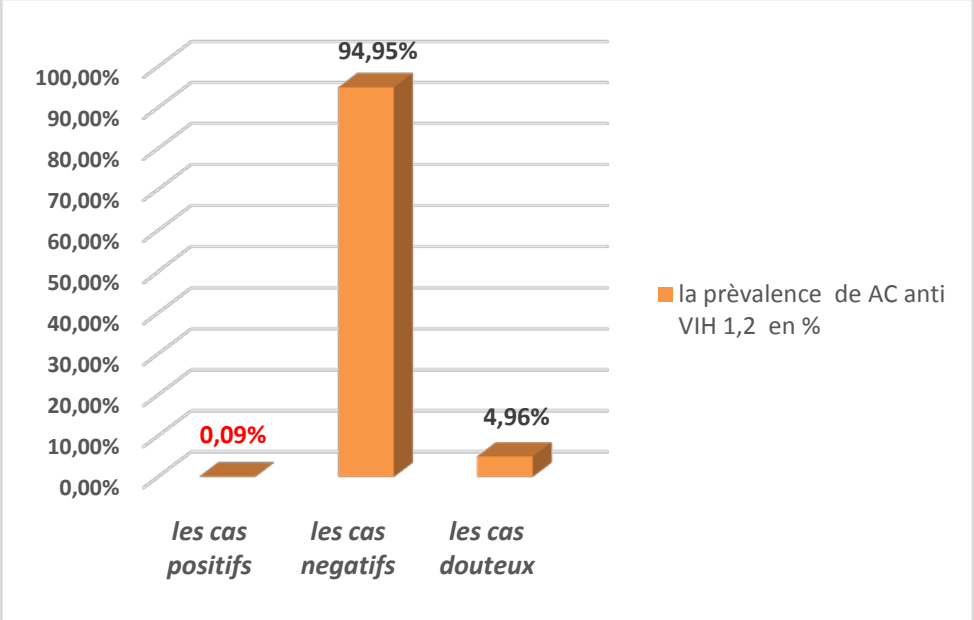


Figure 6 : prévalence des marqueurs sérologiques du VIH chez les donneurs au CTS de l'HMA de Marrakech

4. Prévalence des marqueurs sérologiques de la syphilis :

Tableau VII : résultats de dépistage sérologique de la syphilis chez les donneurs au CTS de l'HMA de Marrakech pendant 5 ans

Année	Le nombre de donneurs	Les cas positifs	Les cas négatifs
2016	1488	11	1477
2017	1406	5	1401
2018	1668	5	1663
2019	2005	9	1996
2020	1654	3	1651
Totale	8221	33	8188

Tableau VIII : prévalence de la syphilis chez les donneurs au CTS de l'HMA de Marrakech

	Les cas positifs	Les cas négatifs
La prévalence de TPHA en %	0,40%	99,60%

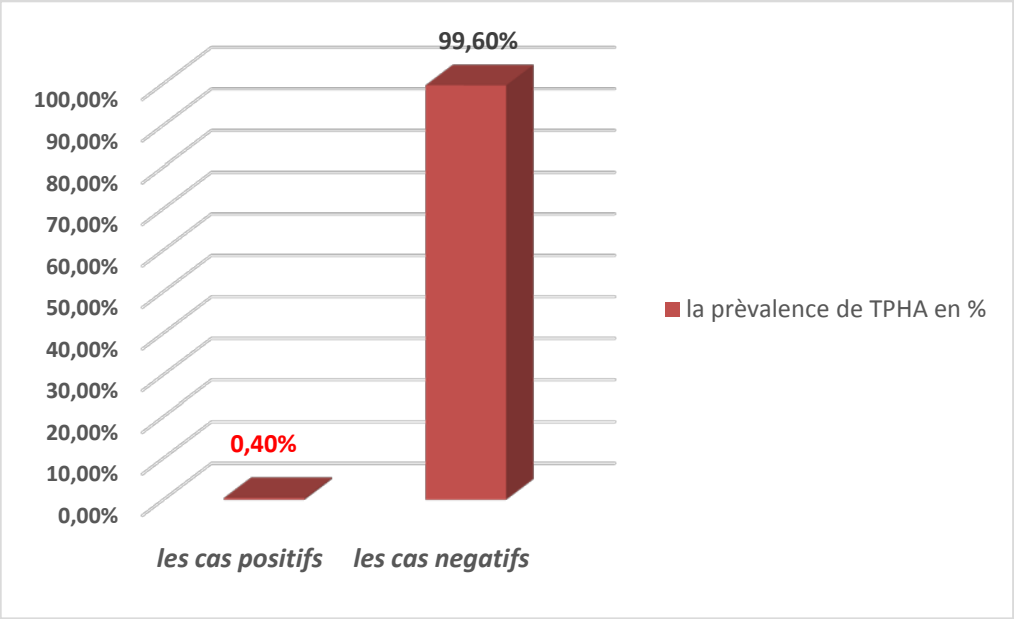


Figure 7: prévalence des marqueurs sérologiques de la syphilis chez les donneurs au CTS de l'HMA de Marrakech

Les tests sérologiques négatifs ont été considérés négatifs pour les infections dépistées.

En cas de résultats douteux ou positifs pour les tests de sérologie, la poche est systématiquement écartée et le donneur est convoqué pour un autre contrôle et un test de confirmation.

Si celui-ci s'avère positif, le donneur est adressé à un spécialiste en gastro-entérologie s'il s'agit d'une positivité des marqueurs de l'hépatite B ou C et la poche est détruite.

Dans le cas d'une sérologie positive due à la syphilis ou au virus HIV, le donneur est pris en charge par un médecin d'un service des maladies infectieuses ou de dermatologie et la poche est détruite.

ANALYSE ET DISCUSSION

I. Nombre total des dons et tests réalisés :

Dons notre série nous avons fait 8221 dons pendant 5 ans a raison de 60 personnes par collecte respectant les besoins de l'hôpital.

Par comparaison au CTS régional de rabat qui réalise environs 57 711 dons par année [5] , et au CTS de l'hôpital militaire de rabat qui effectue 25661 dons pendant environs trois ans.[6]

Au canada environ 100 000 dons sont réalisés par année.[7]

II. Prévalences des marqueurs sérologiques

Dans notre étude, le marqueur positif le plus fréquemment dépisté est celui de **la syphilis** (**0.40%),** suivie de l'hépatite **B** (**0.28%),** de l'hépatite **C (0.17%)** et du **VIH (0,09%).**

1. Prévalence de l'hépatite B :

Tableau IX : Tableau comparatif de certaines prévalences de l'hépatite B nationale et internationale par rapport à celle de notre série

Pays	Prévalence
France[8]	5.5 %
Centre de Transfusion Sanguine de l'hôpital militaire de Rabat[3]	3,97%
Tunisie [9]	1,84%
Etats-Unis d'Amérique[10]	0,078%
Brésil[11]	3%
Cameroun[12]	121,4%
Soudan [13]	6%
Chine[14]	0.87%
Notre série	**0.28%**

Sur les 8221 sérums testés : 23 ont été positifs, ce qui représente une prévalence de **0,28 %.**

La prévalence annuelle d'Ag HBS trouvée est inferieure par rapport à la France (**5.5 %**).

Pour le Cameroun, chine, Brésil et soudan, leurs prévalences restent supérieures à celles de notre série.

Par contre, la prévalence des états unis d'Amérique (**0,078 %**) reste inférieure à la nôtre.

Comme le dépistage génomique viral demeure financièrement et techniquement inaccessible dans la plupart des pays d'Afrique, le moyen actuellement le plus efficace « en termes de sécurité transfusionnelle » est un renforcement de l'efficacité de la sélection médicale des donneurs de sang, afin d'écarter du don les sujets à risque d'être porteurs d'un agent infectieux transmissible par le sang.[15]

2. Prévalence de l'hépatite c :

Tableau XI : Tableau comparatif de certaines prévalences de l'hépatite C nationale et internationale par rapport à celle de notre série

Pays	Prévalence
France[8]	2.6%
Centre de Transfusion Sanguine de l'hôpital militaire de Rabat[3]	2,45%
Etats-Unis d'Amérique[10]	0 ,334%
Brésil[11]	0,05%
Chine[14]	0.86%
Tunisie [17]	0,87%
Cameroun[12]	14,4%
Soudan [13]	0.6%
Notre série	**0.17%**

La prévalence globale dans notre série pour les marqueurs du VHC est faible (**de 0,17%**) par rapport à celle enregistrée en Cameroun (**14.4%**), soudan, France, chine, États-Unis d'Amérique et en Tunisie. Et supérieur à celle enregistré en Brésil (**0.05%**).

Les modes de transmission de l'infection par le VHC semblent différents entre les pays industrialisés d'une part, où la toxicomanie par voie intraveineuse est dominante, et l'Afrique d'autre part, où ces pratiques sont moins répondues et où les principales voies de transmission de l'infection restent mal documenter.[20]

La prévalence de l'hépatite C plus faible (par rapport à l'hépatite B) est liée à son mode de transmission principale ; la voie percutanée. [21]

3. Prévalence du VIH :

Tableau X : Tableau comparatif de certaines prévalences du VIH nationale et internationale par rapport à celle de notre série

Pays	Prévalence
France [16]	0,037%
Centre de Transfusion Sanguine de l'hôpital militaire de Rabat[3]	0,15%
Tunisie [17]	0,61%
Etats-Unis d'Amérique[10]	0,028%
Brésil[11]	0,06%
Chine [14]	0.31%
Cameroun[12]	44,4%
Soudan[13]	0,4%
Notre série	**0.09%**

La prévalence annuelle des anticorps anti-VIH trouvée (**0.09%**) est supérieure à celle de la France (0.037%), et des États-Unis d'Amérique (**0.028%),**

Par contre elle reste inferieure par rapport au Tunisie, Brésil, chine, soudan et Cameroun **(44.4%**).

Malgré la qualification biologique des dons de sang par des techniques sérologiques (détection des Ag et AC du VIH), le risque transfusionnel lié à ce virus persiste, en raison de dons de sang prélevés pendant la fenêtre sérologiquement silencieuse qui précède la séroconversion,

ou en raison du résultat faussement négatif d'un test de détection mal réalisé ou mal interprété. [18]

Vingt à trente jours séparent en théorie et en moyenne la contamination par le virus de l'immunodéficience humaine de l'apparition des premiers AC anti-VIH pouvant être mis en évidence par les meilleurs tests de dépistage : il s'agit de la fenêtre sérologique.

Pour atteindre ce délai, diverses générations de réactifs se sont succédé présentant des performances accrues en termes de sensibilité basée sur un principe original, la dernière génération de tests disponible permet la détection combinée des AC anti-VIH et de l'Ag p24. [19]

4. Prévalence de la Syphilis :

Tableau XII :Tableau comparatif de certaines prévalences de la syphilis nationale et internationale par rapport à celle de notre série

Pays	Prévalence
France [22]	1.04%
Brésil[23]	0,08%
Chine[14]	0,70%
Soudan [13]	4.5%
Notre série	**0,40%**

La prévalence globale retrouvée dans notre série est faible de (**0,40%**) par rapport à celle enregistrée en France, chine et soudan (**4.5%**).

Et supérieur par rapport à ce qui est enregistré en Brésil (**0.08%**).

III. Rappels sur la chaine transfusionnelle :

La transfusion, ou l'administration d'un PSL, est toujours un acte thérapeutique particulier, qui relève :

- D'une indication médicale précise, après évaluation du bénéfice et des risques encourus.

- D'une réglementation stricte, notamment en hémovigilance, à l'origine de l'organisation de la transfusion sanguine et des bonnes pratiques, destinées à garantir la sécurité transfusionnelle.[24]

Le processus transfusionnel est composé de plusieurs étapes :

1. L'accueil du donneur :

Le document d'information remis aux donneurs pour la lecture renferme le questionnaire sur les antécédents et les pratiques à risque de contamination sexuelle, sanguine etc. Dans le but d'une éventuelle auto exclusion.

Avant le don, le donneur subit un entretien médical dirigé par le médecin de la collecte ciblant les facteurs de risque. Et pour le donneur et receveur, un examen général.

Il s'agit d'une première étape de la sécurité transfusionnelle. Cette étape fait intervenir des facteurs humains tels que la conscience du donneur, le professionnalisme du médecin, le but dissimulé pour le donneur de connaitre son statut sérologique.

A cela il faut ajouter que le mode de transmission de certains agents comme celui de l'hépatite C reste encore méconnu par la population générale.

Nb : agents transmissibles non conventionnels (prions) exclus de notre étude

2. Le prélèvement :

Cette activité comporte l'opération de prélèvement proprement dite et la participation à la surveillance de son bon déroulement.

Le prélèvement est réalisé par un personnel qualifié, selon des procédures écrites. Une fiche de prélèvement est systématiquement établie.

Le prélèvement se fait sur poche de sang « quadruple », et sur tube sec pour les analyses des marqueurs sérologiques chez le donneur.

La contamination bactérienne du sang ne peut survenir qu'au moment du prélèvement d'ou la nécessité des mesures rigoureuses d'asepsie.

La poche destinée à recueillir le prélèvement comporte le numéro du don est collé juste avant la fin du prélèvement.

Les informations post-don destinées aux donneurs, dans le but de guetter tout incident post don (sécurité du donneur) ,tout en incitant sur l'importance du signalement de toute anomalie (sécurité du receveur).

3. La préparation des PSL :

La préparation primaire des produits sanguins labiles (PSL) comporte à partir du sang total recueilli, permet l'obtention des globules rouges, plaquettes et plasmas. Les procédures sont réalisées dans les conditions d'asepsie.

Les étapes de la préparation des PSL sont :

- **La Réception :**

Elle permet d'attribuer les informations suivantes : le volume du PSL, le numéro du don, la date de la collecte, date de présomption et le numéro du prélèvement.

- **La Centrifugation :**

Elle permet la séparation physique de constituants de la poche primaire :

- Les globules rouges dans la partie inférieure de la poche.
- Le plasma dans la partie supérieure.
- La couche leuco-plaquettaire intermédiaire.

Figure 8 : Centrifugeuse refrigerée pour poche à sang au CTS de l'HMA de Marrakech

- **La Séparation :**

  Elle consiste à recueillir les différents composants séparés lors de la centrifugation dans des poches de transfert sous l'action d'une presse.

  La séparation des différents composants du sang peut être effectuée à l'aide de dispositifs manuels, semi-automatiques ou automatiques.[25]

Figure 9: La séparation des composants sanguins au CTS de l'HMA de Marrakech

- **La Déleucocytation :**

Cette étape consiste à soustraire aseptiquement la majeure partie des leucocytes d'un produit sanguin homologue sans en dénaturer les autres composants.

Dans ce cas, la déleucocytation est réalisée par filtration dans les 24 heures suivant le prélèvement.

Différents types de filtres ont été développés permettant soit la déleucocytation du sang total (réalisé dans notre service depuis 2019).

Soit la déleucocytation séparée de chaque composant sanguin (concentré de globules rouges, plaquettes).

Nb : nous ne disposant pas de filtre plaquette.

Intérêts de la déleucocytation[26] :

- La déleucocytation réduit le risque de transmission d'agents pathogènes intra-leucocytaires : viraux (cytomégalovirus et autres).

- Elle diminue l'apparition d'une allo-immunisation dirigée contre les antigènes HLA de classe 1 des granulocytes. Le seul moyen réalisé dans notre service en absence de techniques de dépistage des AC anti HLA.
- Elle prévient la survenue des réactions fébriles non hémolytiques.

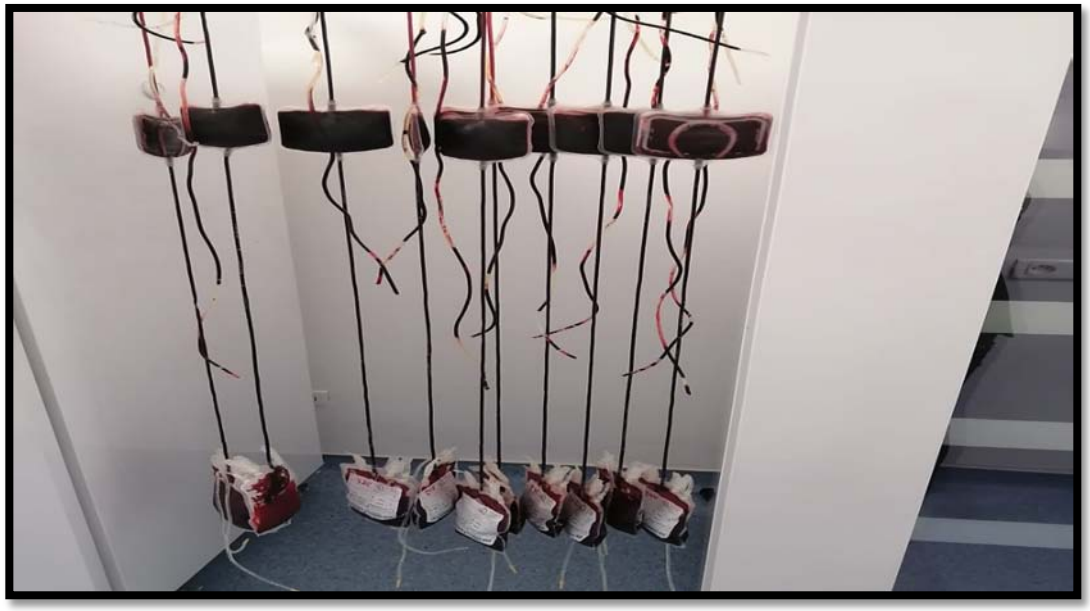


Figure 10 : La déleucocytation des composants sanguins au CTS de l'HMA de Marrakech

- **La Soudure**

  Permet d'éviter le risque de mauvaise étanchéité de la soudure pouvant entraîner une contamination du produit.

- **La Congélation**

  La congélation du plasma frais est effectuée par refroidissement rapide à -30 °C immédiatement.[27]

4. La qualification biologique du don :

Effectuée parallèlement à la préparation des PSL. Il s'agit d'analyses de dépistage des maladies transmissibles.

Les recherches d'antigènes et d'anticorps viraux reposent essentiellement sur des analyses immuno- enzymatiques, type ELISA.

Le dépistage de la syphilis repose sur l'hémagglutination.

5. La distribution, conservation et transport :

Les PSL doivent être conservés, circuler et être transportés de manière à préserver de façon optimale leur viabilité et leur activité.

Le risque de contamination bactérienne diminue sensiblement lorsque des systèmes clos de séparation et de conservation sont utilisés.

Les conditions de conservation et de transport varient selon le type de PSL.

6. La transfusion :

La prescription (« ordonnance » Pour traçabilité) doit être nominative identifiée, datée et signée.

Le personnel s'assure de l'existence de la fiche transfusionnelle ou de la carte de groupage. Il vérifie l'identité du patient et la concordance entre cette identité et la fiche transfusionnelle, la prescription, les produits délivrés et le bordereau de livraison.

Elle doit réaliser avant la transfusion un contrôle ultime au lit du malade de son groupe et du groupe de chaque unité, poche par poche.

Il est recommandé de proposer au receveur de réaliser des sérologies pré et post-transfusionnelles.

IV. Techniques de la qualification microbiologique du don du sang à l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech :

Chaque don de sang fait l'objet d'analyses, dont le but est de déceler la présence d'agents infectieux transmissibles par transfusion.

Ces analyses permettent de déceler des antigènes, des anticorps ou des acides nucléiques directement associés à des agents infectieux spécifiques.

Les agents infectieux transmissibles par transfusion détectable au sein de l'HMA de Marrakech sont :

- La détection de l'Ag HBS et l'anticorps anti HBC pour le dépistage de l'hépatite B.
- La détection des Ag HCV et AC anti-HCV pour le dépistage de l'hépatite C.
- La détection des Ag HIV et AC anti-HIV1/HIV2 pour le VIH.
- Le TPHA pour le dépistage de la syphilis.

Le dépistage des virus de l'hépatite B, C et du VIH, est réalisé à l'aide des kits ELISA basés sur le principe de la technique ELISA en sandwich de 3ème génération pour l'hépatite B et combiné de 4ème génération pour l'hépatite C et du VIH, *automatisé sur EVOLIS « Twin plus ».*

Le dépistage de la syphilis est basé sur la technique d'hémagglutination via le test de TPHA.

1. La technique ELISA :

La technique d'ELISA est une méthode *d'analyse quantitative* qui met en évidence les réactions antigène-anticorps par le changement de couleur obtenu en utilisant un conjugué lié à une enzyme et un substrat enzymatique et qui servent à identifier la présence et la concentration de molécules dans les fluides biologiques. [28]

❖ **Avantages de la technique ELISA :**

- Utilisation d'anticorps monoclonaux rend la détection spécifique.
- Possibilité de quantifier grâce à la réalisation *d'une gamme en parallèle*.
- Utilisation d'anticorps secondaires rend la technique sensible.
- Technique accessible à tous les biologistes.
- La détection du signal ne nécessite pas la présence d'appareillage spécialisé.
- La validité des trousses est d'environ 1 an.

❖ **Les limites de la technique ELISA :**

La nature du test ELISA, la limite à la détection d'une cible unique pour chaque test.

Puisque le test dépend de la liaison de l'analyte par un anticorps, ELISA ne peut pas distinguer les analytes antigéniquement identiques (différentes cibles identifiées par le même anticorps).[28]

❖ **Les types principaux de test ELISA :**

▪ **ELISA direct :**

La méthode ELISA directe est adaptée à la détermination de la quantité d'antigènes de poids moléculaire élevé.

La surface de la plaque est directement recouverte de l'anticorps ou de l'antigène.

Un anticorps ou un antigène marqué par une enzyme permet la mesure.

L'incubation est suivie d'un lavage qui élimine les antigènes ou les anticorps non liés du milieu.

Ensuite, le substrat approprié est ajouté au milieu afin de produire une coloration. Le signal est mesuré pour déterminer la quantité de l'antigène ou de l'anticorps[29]

▪ **ELISA indirect :**

Il se réalise en 4 étapes :

- La première étape appelée "coating" de l'antigène :

Elle consiste à incuber dans des puits, la solution d'antigène spécifique de l'anticorps recherché. La fixation de l'antigène sur le fond des puits se fait électro-statiquement.

- La deuxième étape consiste à fixer l'anticorps à doser :

On incube à 37°C dans les puits, la solution d'anticorps à doser pendant environ 30 minutes à 2 heures. Les anticorps se fixent spécifiquement sur l'antigène

- La troisième étape consiste à fixer l'anticorps de détection :

On incube à 37°C dans les puits, la solution d'anticorps de détection pendant environ 30 minutes à 2 heures. Les anticorps de détection se fixent spécifiquement sur les anticorps à doser. Notons que les anticorps de détection sont couplés à une enzyme qui en présence de son substrat ,le transforme en produit de réaction détectable et mesurable grâce à l'apparition d'une coloration.

- La quatrième étape consiste à révéler les anticorps fixés :

On incube à température ambiante et à l'obscurité pendant 10 minutes, une solution révélatrice contenant le substrat pour l'enzyme. L'apparition d'une coloration dans le substrat indique la présence de l'anticorps à doser. L'intensité de celle-ci est proportionnelle à la quantité d'enzyme présent et donc à la concentration d'anticorps recherché.[29],[30]

- ELISA en compétition :

La technique ELISA compétition utilise une protéine à rechercher immobilisée sur un support plastique et un anticorps spécifique conjugué à une enzyme qui est révélé par l'addition d'un substrat qui se colore.

Ce système de révélation est mis en compétition par une mise en présence préalable d'un échantillon à doser avec l'anticorps conjugué. L'anticorps conjugué est alors bloqué par la protéine recherchée et n'est donc pas révélé sur le support plastique.

Ce système fonctionne à l'envers dans le sens où plus il y a de protéine présente ,moins il y a de coloration. En d'autres termes, lorsque la quantité d'antigène ou d'anticorps analysé dans le sérum est faible, on obtient une forte absorbance, tandis que des quantités plus importantes produisent une faible absorbance

- **ELISA « en sandwich » :**

La technique ELISA sandwich utilise un premier anticorps spécifique de la protéine recherchée qui est immobilisé sur un support plastique et qui va capter la protéine recherchée. Dans un deuxième temps, un deuxième anticorps spécifique, couplé à une enzyme (un conjugué), est fixé sur la protéine d'intérêt. Le système est ensuite révélé par l'addition d'un substrat qui se colore, La coloration indique un résultat positif, tandis que l'absence de coloration indique une absence d'enzyme, ou un résultat négatif.[29]

Cette technique est celle utilisée au CTS de l'HMA de Marrakech,

- **La 4ème génération de test Elisa :**

Les tests dits de 4éme génération sont des tests combinés capables de détecter à la fois les anticorps et les antigènes d'un virus. Ils sont notamment très utiles dans la recherche d'une infection au VIH pour identifier à la fois les anti-VIH-1 et anti-VIH-2 ainsi que l'antigène du virus nommé P24.

Cette technique est celle utilisée au CTS de l'hôpital militaire de Marrakech.

❖ **Application lors la qualification microbiologique au CTS de l'HMA de Marrakech :**

Le dépistage des marqueurs sérologiques de l'hépatite B, C et VIH a été réaliser a aide de la technique ELISA en sandwich, de 3ème génération pour l'hépatite B et combiné de 4ème génération pour l'hépatite C et VIH, en utilisant l'automate EVOLIS « Twin plus ».

- **Les Caractéristiques techniques de l'automate EVOLIS « Twin plus» :**

- Analyseur automatique multiparamétrique
- Technique immuno-enzymatique ELISA 4éme génération
- Racks pouvant porter jusqu'à 100 positions
- Charge maximale 100 échantillons avec cuvettes des réactifs
- Embouts jetables
- Accès aléatoire, mode séquentiel
- Lecture code à barres des échantillons et des réactifs
- Tests sur sérum, plasma
- Dilutions graduées des échantillons jusqu'à 1/1000
- *Calibration* automatique, de stabilité longue
- Courbes de calibration et historique des résultats
- Température contrôlée affichée des différents compartiments de la station d'analyse
- Détection du caillot de fibrine, de l'hémolyse et de lipémie (lactescence)
- Détection du niveau des réactifs et des échantillons
- Agitateur orbital
- Accessoires réactifs (solutions de lavage, eau distillée, liquide de drainage) dissimulés
- Ecran LED tactile avec ordinateur et ports clés USB
- Clavier et souris touchpad sans fil Interface bidirectionnelle compatible avec sil
- Alimentation électrique sous courants public
- Maintenance après-vente (trimestrielle)
- Contrôles de qualité obligatoires inclus.
- Menu des tests avec examens programmables ce qui nous permettra de programmer d'autres tests: CMV, HTLV …….

- **Présentation du système de l'automate EVOLIS « Twin plus » :**

- Écran tactile
- Couvercle
- Solution de lavage, fiole de vide et fiole de garde 4 Unité de chargement des échantillons et réactifs
- Pipeteur
- Position de chargement et de distribution des microplaques
- Compartiment arrière (laveur, incubateurs et photomètre)
- Embouts de pipetage
- Plaques de dilution / bouteilles de diluant
- Rampe d'évacuation des embouts et poubelle

- **Les tests utilisés par l'automate EVOLIS « Twin plus » sont :**

  - ***Test Monolisa™ HBS Ag ULTRA : (***voir annexe 3)

Monolisa™ HBS Ag ULTRA est une technique immuno-enzymatique de 3éme génération type "sandwich" en 1 temps utilisant des anticorps monoclonaux et des anticorps polyclonaux sélectionnés pour leur capacité à se lier aux différents sous-types de l'Ag HBS pour la détection de l'antigène de surface du virus de l'Hépatite B (Ag HBS) dans le sérum ou le plasma humain.

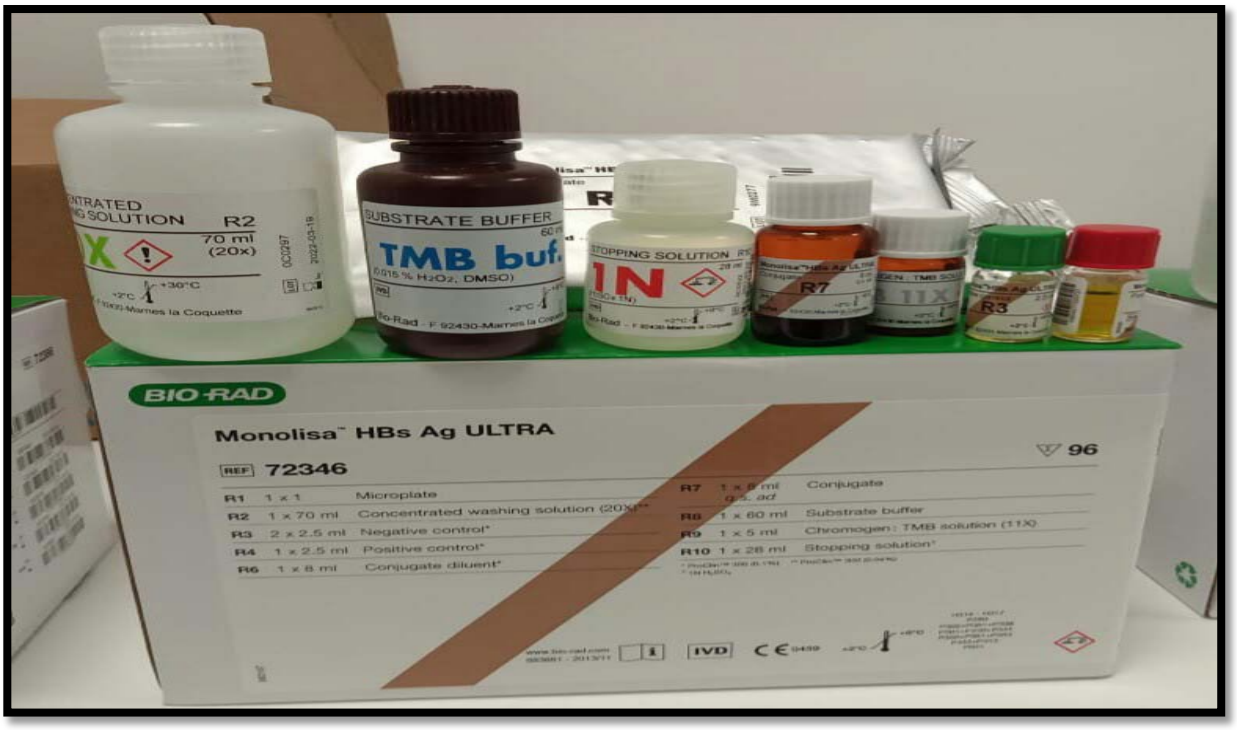


Figure 11 : trousse de réactif Monolisa™ HBS Ag ULTRA utilisée au CTS de l'HMA de Marrakech

- *Test combiné Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA V2 :(voir annexe 4)*

Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA V2 est un test qualitatif immuno-enzymatique de 4ème génération permettant la détection combinée des anticorps anti-VHC et de l'antigène de capside du VHC dans le sérum ou le plasma humain. Ce test, destiné au dépistage de l'hépatite C.

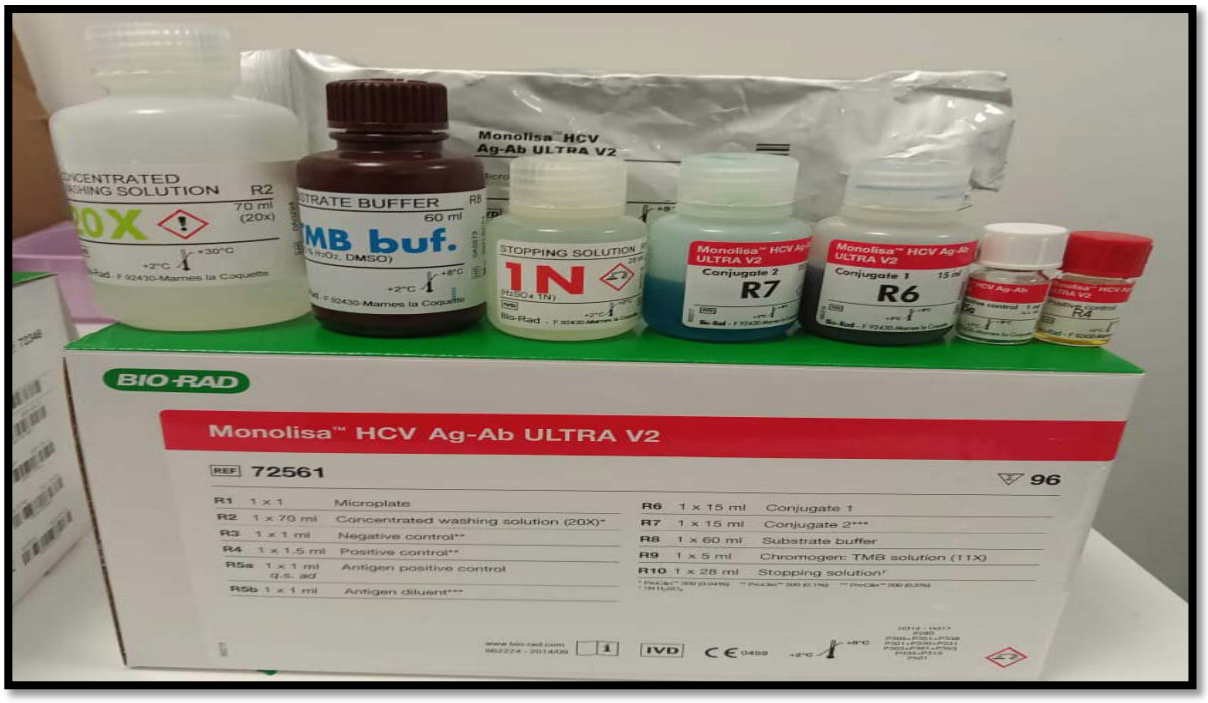


Figure 12 : trousse de réactif Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA V2 utilisée au CTS de l'HMA de Marrakech

- ***Test combiné Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab : (voir annexe 5)***

Genscreen ™ ULTRA HIV Ag-Ab est une technique immun-enzymatique qualitative de 4ème génération basée sur le principe sandwich pour la détection de l'antigène VIH et des différents anticorps associés aux virus VIH-1 et/ou VIH-2, dans le sérum ou plasma humain.

Cette trousse peut être utilisée à la fois pour un dépistage Ag VIH et anticorps anti-VIH.

Figure 13:trousse de réactif Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab utilisée au CTS de l'HMA de Marrakech

2. L'hémagglutination :

C'est l'agglutination des hématies test aboutissant à la formation de petits amas visibles à l'œil nu, l'hémagglutination est une méthode très employée pour détecter les anticorps et les antigènes, Il existe trois sortes de réactions d'hémagglutination :

- **Hémagglutination directe active :**

L'hémagglutination directe active repose sur la mise en présence d'hématies et d'un sérum contenant des anticorps agglutinants, en règle générale des IgM.

Dans la première, utilisée pour la détermination des groupes sanguins (les hématies sont porteuses des antigènes des différents systèmes de groupe sanguins)

- **Hémagglutination directe passive :**

L'hémagglutination directe passive est représentée par les réactions d'hémagglutination passive. Ici, les hématies jouent un rôle de support inerte sur lequel on fixe artificiellement des

antigènes solubles ; elles seront agglutinées par les anticorps spécifiques. Un tel artifice permet de visualiser une réaction antigène-anticorps.

Utilisée pour le diagnostic de la syphilis test de TPHA dans notre étude.

❖ **Hémagglutination indirecte :**

Hémagglutination indirecte fait intervenir un mécanisme non immunologique : certaines substances chimiques (telle une protéine virale, l'hémagglutinine) sont capables de se fixer sur des récepteurs de surface des globules rouges.

Ainsi, la fixation d'un virion sur deux hématies voisines entraîne leur agglutination.

Chez un malade, pour rechercher des anticorps, on emploie la réaction d'inhibition de l'hémagglutination.

Dans un premier temps, on met en présence une suspension du virus suspecté et le sérum du malade, dans un second temps, on ajoute les globules rouges.

L'hémagglutination n'est visible que dans le cas où le sérum analysé ne contient pas les anticorps spécifiques qui masquent les sites hémagglutinants.

✓ **Avantages de l'hémagglutination**:

- Sensible
- Facile à mettre en œuvre

✓ **Limites de l'hémagglutination** :

- Peu précises
- Faux positifs
- Absence de visualisation des complexes immuns sous forme d'agglutinants en présence d'un excès d'antigènes ou d'anticorps.

- ✓ **Application lors la qualification microbiologique du don du sang au CTS de l'HMA de Marrakech :**

Dépistage de la syphilis latente chez les donneurs via le test de TPHA, par la détection qualitative et semi quantitative des anticorps dirigés contre T.pallidum dans le sérum et le plasma humains par hémagglutination passive.

- **Le Test de TPHA :(voir annexe 6)**

Nous utilisons une trousse Syphilis qui comporte des plaques de 96 puits.

Ces kits sont destinés à être utilisés pour la détection qualitative et semi-quantitative des anticorps dirigés contre *Treponema pallidum* dans le sérum et le plasma humain.

Les kits TPHA font appel à des hématies aviaires spécialement conservées sensibilisées par des antigènes de *T. pallidum*, qui se lieront aux anticorps spécifiques présents dans le sérum ou plasma du patient.

Ces cellules sont en suspension dans un milieu contenant des substances destinées à éliminer les réactions non spécifiques.

Les réactions positives sont indiquées par l'agglutination de ces hématies et les réactions négatives par la formation d'un précipité de ces hématies en forme de bouton ou de petit anneau.

Bien que ce kit soit destiné essentiellement à un usage qualitatif, il est également possible de titrer le taux d'anticorps par dilution.

L'interprétation de l'agglutination se fait par une lecture visuelle ou à l'aide d'un lecteur de plaque capable de discerner les différents types d'agglutination. [31][32]

Figure 14 : trousse de test de TPHA utilisée au CTS de l'HMA de Marrakech

- Le mode opératoire du test de TPHA : [33][34]

Trois puits de la plaque sont nécessaires pour chaque échantillon.

1. Ajouter 190 µl de Diluant dans un puits.
2. Ajouter 10 µl d'échantillon ou de Contrôle Positif ou Contrôle Négatif dans le même puits.
3. Bien homogénéiser.
4. Transférer 25 µl de Contrôle dilué ou d'échantillon dilué de la première étape de dilution dans le puits de test.

5. Transférer 25 µl de Contrôle dilué ou d'échantillon dilué de la première étape de dilution dans le puits de contrôle.
6. Remettre en suspension les Cellules Test et les Cellules Contrôle en agitant le flacon.
7. Bien vérifier qu'elles ont été complètement remises en suspension.
8. Ajouter 75 µl de Cellules Test dans le puits de test et 75 µl de Cellules Contrôle dans le puits de contrôle.
9. Bien homogénéiser le contenu des puits.
10. Incuber à température ambiante (15-30°C) sur une surface sans vibration pendant une durée minimum de 45 minutes.
11. Déterminer s'il y a eu agglutination. Celle-ci est stable pendant au moins trois heures si on ne touche pas à la plaque.

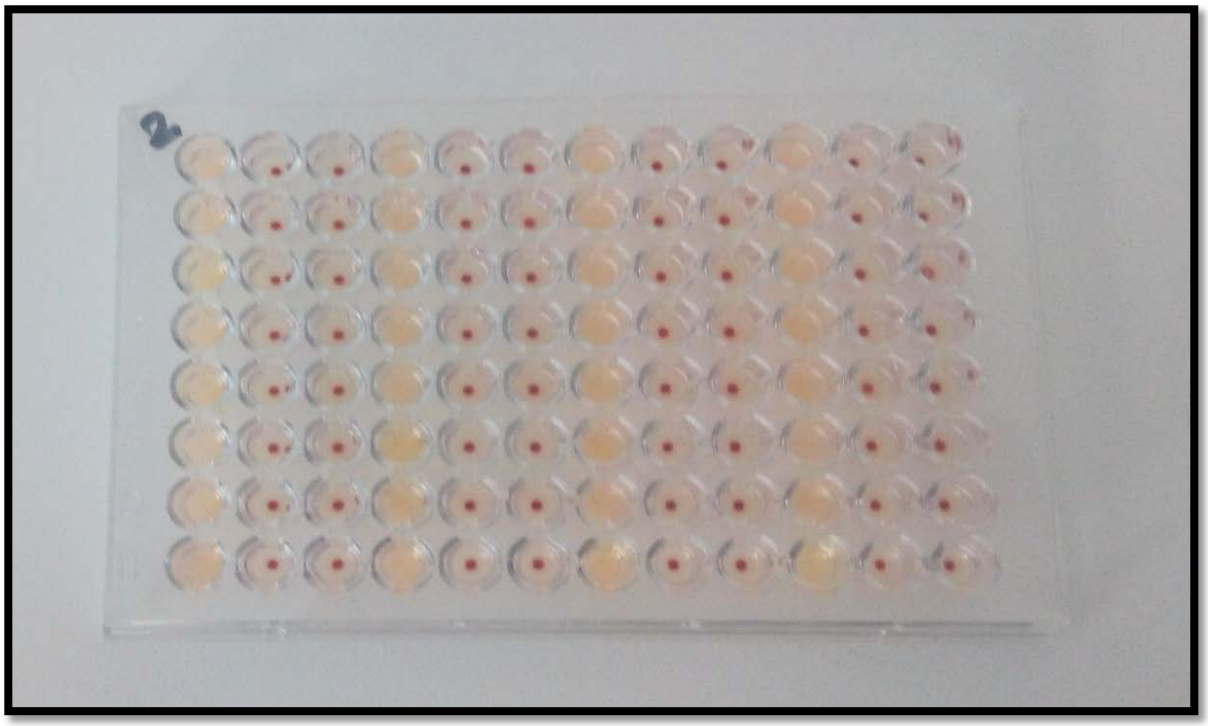
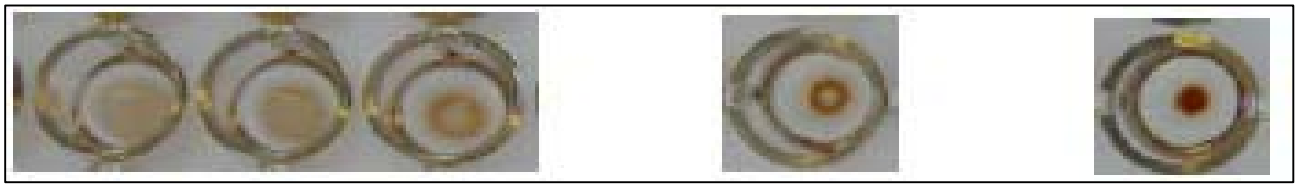


Figure 15 : exemple d'une plaque de test de TPHA au CTS de l'HMA de Marrakech (tous les tests étaient négatifs)

- **Interprétation des résultats :**



Positif à différents titres **équivoque** **négative**

3. La chimiluminescence :

La chimiluminescence est une réaction chimique qui émet de l'énergie sous forme de lumière.

Quand elle est utilisée dans la technologie des immuno- dosages, la lumière émise traduit la quantité d'analyte (Substance qui subit une analyse) présente dans l'échantillon. Les réactions de chimiluminescence directe mesurent l'énergie lumineuse sans utiliser d'étapes supplémentaires, ni de molécules d'amplification. [35]

Il existe deux types de chimiluminescence :

- La chimiluminescence directe, dans laquelle le photon émis provient directement de la désexcitation de la molécule excitée.
- La chimiluminescence indirecte, dans laquelle l'excitation est transmise à une molécule intermédiaire qui, en se désexcitant, émet un photon. La chimiluminescence indirecte fait donc intervenir une autre molécule contrairement à la chimiluminescence directe.

✓ **Les Avantages de la technique CLIA :**

Les principaux avantages des méthodes d'analyse par chimiluminescence résident dans la large gamme dynamique, l'intensité élevée du signal, l'absence d'émissions interférentes (c'est-à-dire une grande spécificité), l'acquisition rapide du signal analytique, la grande stabilité des réactifs et de leurs conjugués, la faible consommation de réactifs, l'accès aléatoire, le temps

d'incubation réduit et la compatibilité totale avec les protocoles de tests immunologiques (homogènes ou non).

- ✓ **Les limites de la technique CLIA :**

Certaines limites sont également à prendre en compte. Les inconvénients de CLIA sont représentés par :

- Une détection limitée de l'Ag
- Coûts élevés
- Panel de tests limité
- Systèmes d'analyse fermés

En outre, pour de nombreux systèmes chimiluminescents (CL), il existe un faible niveau d'émission de fond en l'absence d'analyte.

Par conséquent, les signaux CL dans les systèmes d'écoulement, qui augmentent proportionnellement à la concentration de l'analyte, apparaissent comme des pics nets superposés à un signal à blanc faible et constant, mesuré en fonction de la fenêtre de temps pendant laquelle le mélange d'analyte et de réactif(s) traverse la cellule du détecteur.

En raison de la petite partie de l'émission de CL qui n'est mesurée qu'à partir de ce profil temporel, les réactions à cinétique complexe peuvent donner des tracés non linéaires de la réponse en fonction de la concentration de l'analyte.[36]

- ✓ **Application lors la qualification microbiologique au CTS de l'HMA de Marrakech :**

ARCHITECT plus « i1000SR » est un analyseur d'immun- analyse, utilisant la technique de chimiluminescence, disponible au laboratoire de virologie et utilisé lors de la qualification infectieuse du don du sang pour contrôler les cas positifs et douteux des résultats sérologiques et en cas de panne de l'automate EVOLIS « Twin plus ».

V. Techniques de la qualification microbiologique du don du sang à l'échelle nationale et internationale

1. A l'échelle nationale :

1.1 Centre de transfusion régional de rabat :

En matière de sécurité microbiologique, les infections qui sont systématiquement dépistées en qualification biologique du don au centre de transfusion régional de rabat sont :

- La détection de l'Ag HBS pour le dépistage de l'hépatite B.
- La détection des anticorps et antigènes HCV pour le dépistage de l'hépatite C (test combiné AG -AC).
- La détection des anticorps et antigènes VIH1/VIH2 pour le dépistage du SIDA (test combiné AG -AC).
- Le TPHA pour le dépistage de la syphilis.
- Le dosage des Alanines Amino-Transférases (ALAT) pour le dépistage d'éventuelles formes disséminées d'hépatites autre que B et C.

a) Les techniques :

- ELISA
- L'hémagglutination (test de TPHA manuel)

Les tests de confirmation pour HIV sont :

- Le western blot
- Immunoblot

Le test de confirmation pour HCV :

- Immunoblot

b) Les automates et réactifs :

❖ **Le système BEP III (analyseur) et Freedom EVO 200(distributeur) :**

Pour le dépistage de l'hépatite B, C et le VIH.

Le système BEP III :

Le système BEP III (ELISA) est connu comme un système extrêmement fiable pour le traitement automatisé des plaques de micro-titration (MTP). Il assure la chaine transfusionnelle depuis l'incubation, le lavage, le pipetage des réactifs jusqu'à l'évaluation des résultats, permettant la détection des marqueurs sérologiques, telles que le VIH, l'hépatite B, l'hépatite C.

Le système BEP III assure un haut niveau de sécurité grâce à l'identification des réactifs, à la surveillance continue des composants individuels à l'intérieur du système et à la documentation améliorée des étapes de traitement individuelles.

Figure 16: L'automate BEP III au CTS régional de rabat

L'automate Freedom EVO clinical:

Il se compose d'un ensemble de modules et d'options permettant de gérer les tâches de routine dans les laboratoires cliniques :la distribution d'échantillons, le fractionnement et l'archivage d'échantillons.

Le Freedom EVO Clinical est généralement utilisé comme un instrument frontal pour les tests ELISA, réalisant les premières étapes de la préparation des échantillons pour les tests ELISA : prédilutions, distribution des échantillons et des contrôles et l'ajout du conjugué avant la première incubation.

Figure 17: L'automate Freedom EVO clinical au CTS régional de rabat

❖ **L'automate Quadriga BeFree® System :**

Pour le dépistage de l'hépatite B, C et le VIH

Le Quadriga BeFree® System (ELISA) permet un traitement entièrement automatisé des plaques de micro titration (MTP) et aide à détecter les marqueurs sérologiques, telles que le VIH, l'hépatite B, l'hépatite C.

Le Système Quadriga BeFree :

- Fournit des tests MTP entièrement automatisés
- Permets la consolidation des postes de travail
- S'intègre de manière flexible dans le flux de travail du laboratoire
- Inclut une gestion complète de la qualité
- Offre un large éventail de tests pour le diagnostic des maladies infectieuses.

Les réactifs :

- Le test GenscreenTM ULTRA VIH Ag-Ab
- Le test MonolisaTM Ag HBS ULTRA
- Le test MonolisaTM HCV Ag-Ab

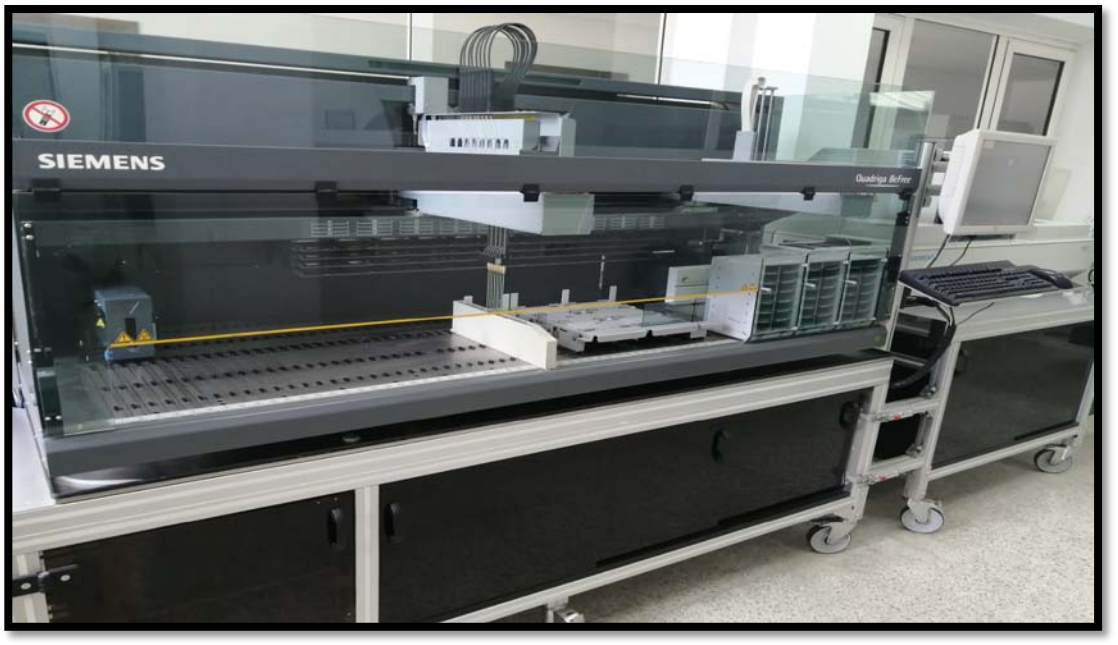


Figure 18: L'automate Quadriga BeFree® System au CTS régional de rabat

❖ **L'automate Selectra ProM :**

Pour le dosage des ALAT.

Le Selectra ProM à une cadence allant jusqu'à 180 tests/heure, il offre un système performant et résolument économique, alliant faible coût au test et maintenance réduite.

- Analyseur de biochimie clinique entièrement automatisé
- Une cadence de 180 tests / heure
- Menu complet pour réactifs liquides stables
- Interface utilisateur intuitive
- Performances améliorées
- Gestion des réactifs automatisée
- Kit de maintenance pro-active

❖ **Le test de TPHA :**

Pour le dépistage de la syphilis, fait manuellement sans automate.

Figure 19: trousse de réactif de TPHA au centre régional de rabat

c) Les locaux :

- Bureau de la directrice
- Bureau de la secrétaire
- Salle de réunion
- Salle de prélèvement
- Salle de collation
- Salle d'archives
- Laboratoire d'immuno- hématologie
- Laboratoire de sérologie
- Laboratoire d'immuno-hématologie et sérologie (patients hospitalisés et externe)

1.2 Centre de transfusion de l'hôpital militaire de rabat :

Tests de dépistage au centre de transfusion de l'hôpital militaire de rabat sont :

- La détection de l'Ag HBS pour le dépistage de l'hépatite B.
- La détection des anticorps et antigènes pour le dépistage de l'hépatite C
- La détection des anticorps et antigènes VIH1/VIH2.
- Le TPHA pour le dépistage de la syphilis.

- Le dosage des ALAT pour le dépistage d'éventuelles formes disséminées d'hépatites autre que B et C.

d) Les techniques :

- ELISA
- La chimiluminescence
- L'hémagglutination

e) Les automates et réactifs :

❖ **L'ETI-Max 3000 :**

Pour le dépistage de l'hépatite B, C et le VIH

L'ETI-MAX 3000 est un analyseur de plaques de micro-titration entièrement automatisé qui effectue le traitement complet des échantillons (pré-dilutions des échantillons, distribution des échantillons et des réactifs, incubations, processus de lavage, transport des plaques) ainsi que la mesure et l'évaluation photométriques.

L'instrument est contrôlé par un logiciel PC sous Windows. Ce logiciel permet à l'utilisateur de traiter les analyses prédéfinies de « DiaSorin » ainsi que les analyses programmées par l'utilisateur.

Caractéristiques principales :

- Sécurité et fiabilité : Un contrôle complet des processus pour garantir des résultats sûrs.
- Les échantillons et les réactifs munis de codes-barres réduisent les erreurs des opérateurs.
- Haute précision de distribution grâce à la détection des caillots et à l'absence de report avec les embouts jetables.
- Accès aléatoire et mode batch : Plusieurs analytes sur la même plaque (1 à 12) ou un seul analyte par plaque.
- Une maintenance facile automatique quotidienne et hebdomadaire.
- Débit élevé : 4 plaques jusqu'à 7 Chargement continu des échantillons et des réactifs.

Figure 20: L'automate ETI-Max 3000 au CTS de l'hôpital militaire de rabat

- Les réactifs utilisés par automate ETI-max 3000 au CTS de l'hôpital militaire de rabat :

- Murex HIV Ag/Ab Combination (ELISA)
- Murex HCV Ag/Ab combination (ELISA)
- Murex HBS Ag Version 3(ELISA)

Figure 21 : Trousse de réactifs Murex HCV Ag/Ab combination

Figure 22 : Trousse de réactifs Murex HIV Ag/Ab Combination

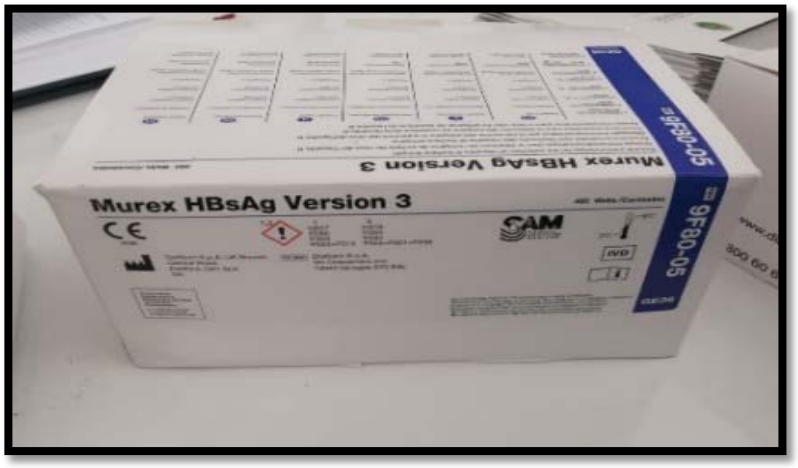


Figure 23: Trousse de réactifs Murex HBS Ag Version 3

- ARCHITECT plus "i2000sr" et ARCHITECT plus "i1000sr" :

Pour le dépistage de l'hépatite B, C et le VIH .

L'analyseur d'immuno-essais ARCHITECT plus « i2000sr » offre un débit maximal de 200 tests par heure.

L'analyseur d'immuno-essais ARCHITECT plus « i1000sr » offre un débit maximal de 100 tests par heure.

Les réactifs :

- ARCHITECT Anti-HCV combiné
- ARCHITECT HIV Ag/Ab combiné
- ARCHITECT Anti-HBS

Figure 24: l'automate ARCHITECT plus « i2000» au CTS de l'hôpital de militaire de rabat

Figure 25 : l'automate ARCHITECT plus « i1000sr » au CTS l'hôpital militaire de rabat

❖ L'automate EVOLIS :

Pour le dépistage de l'hépatite B, C et le VIH.

Le système **EVOLIS** est un processeur de microplaques autonome qui permet d'effectuer automatiquement des dosages immuno- enzymatiques sur microplaques, c'est un système ouvert et sécurisé du tube primaire jusqu'aux résultats et l'impression pour les techniques ELISA en microplaque .

Figure 26: l'automate EVOLIS au CTS de l'hôpital militaire de rabat

- **L'automate SELECTRA ProM :**

Utilisé pour le dosage des ALAT en utilisant le réactif : ALT/GPT .

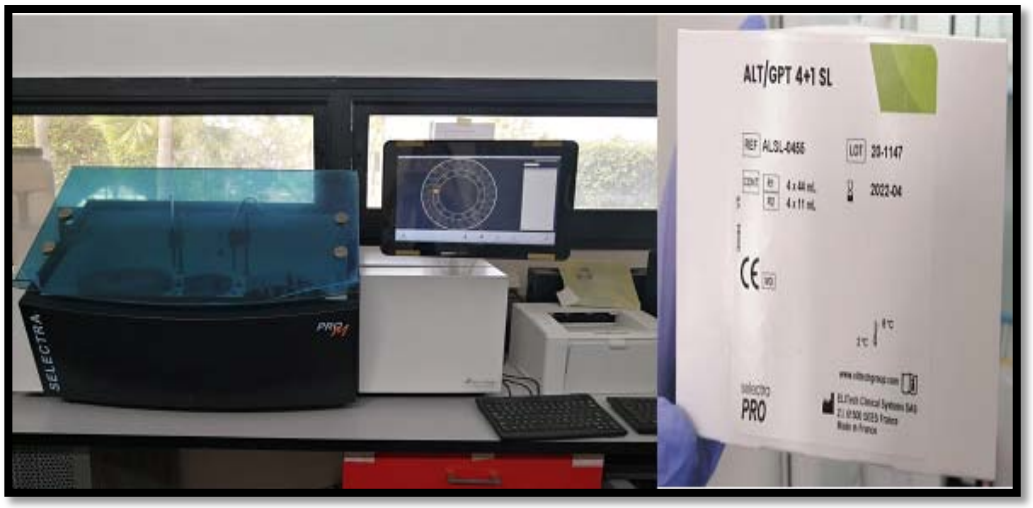


Figure 27: l'automate SELECTRA ProM avec son réactif

❖ Le Test de TPHA :

Le test de TPHA est réalisé manuellement pour le dépistage de la syphilis .

Figure 28 : trousse du TPHA utilisée au CTS de l'hôpital militaire de rabat

a) Les Personnels :

- Médecin chef de CTS : professeur d'hématologie
- Un Major
- Six médecins biologistes
- Un médecin généraliste responsable de l'unité d'aphérèse plaquettaire
- Trois secrétaires (dans un est responsable de l'archivage informatique des données)

- Quatre techniciens spécialisés
- Trois infirmiers polyvalents
- Quatre infirmiers de l'unité d'aphérèse plaquettaire
- Deux pharmaciens

b) Les locaux :

Locaux administratifs :

- Bureau du médecin chef de CTS
- Bureau du major
- Bureaux pour les médecins biologistes
- Bureau du médecin généraliste responsable de l'unité d'aphérèse plaquettaire
- Deux bureaux des secrétaires

Locaux techniques :

- Salle de prélèvement
- Laboratoire de la qualification sérologique et immuno- hématologique
- Salle de préparation
- Salle de séparation
- Salle de l'unité d'aphérèse

Annexes :

- Salle de collation
- Salle de garde
- deux locaux de produits pharmaceutiques
- Salle de stock

2. A l'échelle internationale :

2.1 Techniques de la qualification microbiologique du don du sang en France :

Les analyses obligatoires réalisées pour la sécurité infectieuse du don de sang en France sont[37] :

- Dépistage du VIH (test Ag -AC et détection du génome viral).
- Dépistage du virus de l'hépatite B (test antigène HBS et test anticorps anti-HBC).
- Dépistage du virus de l'hépatite C (test Ag-AC et détection du génome viral).
- Dépistage des virus HTLV-I /II (virus T-lymphotrope humaine de type I et II) (test anticorps).
- Dépistage de la syphilis (l'hémagglutination).
- Dépistage de l'agent du paludisme (sérologie).
- Dépistage de l'agent de la maladie de Chagas.

Pour le paludisme et la maladie de Chagas, les tests de qualification ne sont pas systématiques.

Ils ne sont demandés que si le donneur signale un séjour, même ancien, dans un pays où l'un de ces parasites peut sévir.

CMV se fait selon la demande.[37]

Cette étape de sérologie est découpée en trois sous services :

- Le secteur Prism
- Le secteur Architect (Deuxième intention)
- Le secteur DGV

a. Le secteur Prism :

L'étape analytique de sérologie débute avec le secteur Prism (du nom des automates qui la compose).

Quatre automates de ce type permettent grâce à une technique en tube de réaliser des sérologies de première intention.

Les automates Prism ont pour fonction de rechercher quatre marqueurs obligatoires dans les dons pour le HIV, le HCV, l'antigène HBS et certains marqueurs HTLV.

Ces automates réalisent une technique dite ELISA. [38]

b. Le dépistage génomique viral (DVG) :

Un autre service du secteur de sérologie s'adonne au dépistage génomique viral(DGV).

Les techniques de DGV comportent toutes schématiquement 3 étapes :

- Une étape de préparation de l'échantillon incluant l'extraction des acides nucléiques.
- Une étape d'amplification d'une séquence spécifique du génome du virus recherché.
- Une étape de détection des produits amplifiés.

L'objectif du test de biologie moléculaire est d'apporter au dépistage sérologique un plus, permettant de détecter plus précocement les infections.[39]

Six automates Tigris permettent de faire des analyses de biologie moléculaire pour rechercher des virus présents dans les dons.

Ces automates réalisent leurs analyses à partir du plasma mais ne travaillent pas sur cet élément. Lorsqu'au Prism on recherche des anticorps (marqueur d'une maladie), le DGV cherche directement l'ARN ou l'ADN.

Des techniques d'amplification et de multiplication sont utilisées pour rechercher trois marqueurs. Le HIV et le HCV sont étudiés à partir de l'ARN et le HBV à partir de l'ADN. Ces analyses fonctionnent par PCR.[38]

❖ **Présentation du réactif Procleix® Ultrio® et du système Procleix® Tigris ®associé (Novartis) :**

La technique Procleix® Ultrio (Novartis) est une technique d'amplification génomique multiplex, permettant l'amplification simultanée des ARN VIH-1, VHC et de l'ADN VHB, basée sur la technologie TMA (Transcription Mediated Amplification).[40][41]

La technique Procleix® Ultrio (Novartis) se déroule en trois étapes principales dans un seul et même tube réactionnel : la préparation de l'échantillon ; l'amplification TMA selon le procédé décrit précédemment et enfin la détection réalisée par HPA (hybridization protection assay) à l'aide de sondes marquées avec des traceurs chimioluminescents.

L'utilisation d'un contrôle interne ajouté dans chaque échantillon analysé, témoins et calibrateurs permet de vérifier le bon déroulement des différentes étapes analytiques (préparation, amplification, détection).

Les échantillons présentant un résultat positif avec le réactif Procleix® Ultrio sont analysés avec les tests discriminatoires VIH-1, VHC et VHB afin de déterminer si le signal positif du test combiné est lié à la présence du VIH-1, du VHC ou du VHB ou à toute autre combinaison des trois virus.

L'automation Procleix® Ultrio associée au réactif Procleix® Ultrio® est un système complet intégré de cadence élevée, présentant un haut niveau de sécurité. [42] [64]

Figure 29 : L'automate Procleix®Tigris® System (Novartis Diagnostics) basé sur le principe de la technologie TMA (Transcription Mediated Amplification)

c. L'analyse de la syphilis :

Les automates PK 7300 *servent à* faire *ces analyses qui sont réalisées sur une épreuve globulaire à partir des globules rouges pour la recherche d'antigène et une plasmatique pour la recherche d'anticorps. Les deux doivent concorder pour valider un groupe.*

Le dépistage de la syphilis par la TPHA fonctionne de la même façon que l'identification des groupes sanguins sauf qu'ici les antisérums sont remplacés par des hématies de poulet que l'on a sensibilisées par agent de la syphilis.

Les réactions sont *également visibles sur microplaques avec les mêmes conditions que les groupes sanguins sauf que les résultats sont plus rosés car on réalise ces analyses sur du plasma.*

Les réactifs pour *l'identification des groupes sanguins sont fabriqués avec des hématies issues d'un don de sang, ceux pour la syphilis avec des hématies de poulet.*[38]

Tableau XIII : Méthodes utilisées en France pour le dépistage des agents transmissibles par le sang.[43]

Dépistage sérologique	Techniques utilisées en dépistage et confirmation
Syphilis	PHA (l'hémagglutination) et test Elisa – Confirmation par immunoblot
Sérologie VIH1-2 et O	Un seul test ELISA combiné (antigène et anticorps) associé au DGV du VIH-1 confirmation par Immunoblot si nécessaire
Sérologie VHC	Test ELISA associé au DGV du VHC confirmation par Immunoblot
Sérologie HTLV I/II	Test ELISA – Confirmation par immunoblot
Sérologie VHB	Antigène HBS et anticorps anti-HB tests ELISA Confirmation par test de neutralisation de l'antigène HBS.
Sérologie CMV	Test ELISA : anti-IgG et IgM
Sérologie paludisme	Test ELISA, deuxième test éventuel immunofluorescence indirecte (IFI)
Sérologie de la maladie de chagas	Deux tests ELISA, puis immunofluorescence indirecte (IFI)
Dépistage génomique viral	**Techniques utilisées en dépistage et confirmation**
HIV-1, VHC et VHB	procleix® Tigris® System (Novartis Diagnostics) : Procleix® Ultrio®, tests discriminatoires VIH-1, VHC et VHB en cas de positivité

2.2 Techniques de la qualification microbiologique du don du sang au canada :

Les tests de détection des anticorps et des antigènes sont réalisés sur les échantillons individuels, tandis que les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN) sont principalement réalisés sur des mélanges de six échantillons.

L'analyse multiplex du TAN permet de déceler simultanément les ARN des virus de l'immunodéficience humaine (VIH), de l'hépatite C (VHC) et de l'hépatite B (VHB).[44]

Le tableau présente les tests de dépistage et de confirmation effectués par la Société canadienne du sang [44]

Tableau XIV : Dépistage des maladies transmissibles par transfusion, Société canadienne du sang

Agents pathogènes	Tests de dépistage	Tests additionnels ou de confirmation
VIH 1/2 (virus de l'immunodéficience humaine de type 1 et 2**)**	• Anti-VIH-1/2 (ELISA) • TAN VIH	• Test de confirmation VIH-1/2 Geenius (test immuno-chromatographique)
VHB (virus de l'hépatite B**)**	• Antigène de surface de l'hépatite B (AgHBS) (ELISA) • Anticorps dirigés contre la nucléocapside du VHB (anticorps anti-HBC) • TAN VHB	• Test de confirmation AgHBS
VHC (virus de l'hépatite C**)**	• Anti-VHC(ELISA) • TAN VHC	• Test CLIA (chimiluminescence immuno-essais) pour le VHC
HTLV-I/II (virus humain T-lymphotrope de type I et II**)**	• Anticorps anti-HTLV I/II	• Test de transfert de western pour le HTLV
***Treponema pallidum* (agent pathogène de la syphilis)**	• **M**icro-**H**émagglutination pour *Treponema pallidum* (MHA-TP)	– **T**est d'agglutination **p**assive de *Treponema pallidum* (TP-PA) – Test rapide de la réagine plasmatique : RPR (**R**éactif **P**lasma **R**apide) – Test d'immunofluorescence absorbée pour le dépistage des anticorps anti-*Treponema pallidum* (FTA-ABS)(**F**luorescent **T**reponemal **A**ntibody **ABS**orption)

VNO (virus du Nil occidental**) ***	• TAN VNO	Un séquençage ou autre TAN peuvent être effectués dans un laboratoire de référence sur des échantillons positifs au TAN VNO
***Trypanosomacruzi* (la maladie de Chagas) ***	• Anticorps anti-*Trypanosoma-cruzi* par chimiluminescence immuno-essais (CLIA)	– Essai d'immuno-absorption enzymatique (ELISA) – Immuno-transfert – Réaction en chaîne par polymérase
CMV (cytomégalovirus) +	• Anticorps anti-CMV par agglutination des particules	• Aucun test disponible
* Réalisé sur le sang des donneurs à risque +Réalisé sur le sang de certains donneurs pour les composants requis pour les transfusions intra-utérines.		

2.3 Techniques de la qualification microbiologique du don du sang aux états unis :

Tout le sang destiné à la transfusion est soumis à des tests de détection de certains agents pathogènes de maladies infectieuses, tels que les virus de l'hépatite B et C et le virus de l'immunodéficience humaine (VIH).

Les tests utilisés pour le dépistage des dons de sang aux états unis sont énumérés ci-dessous :

Tableau 1 : Tests utilisés pour le dépistage des dons de sang aux états unis.[45]

Agent pathogène des maladies infectieuses	Tests de laboratoire utilisés	Fréquence des tests
Virus de l'hépatite B (**VHB)**	• Détection de l'antigène de surface de l'hépatite B (HBS Ag) (ELISA) • Détection de l'anticorps capside de l'hépatite B (anti-HBC) (ELISA) • Test d'amplification de l'acide nucléique (TAN) pour le VHB	Chaque don
Virus de l'hépatite C (**VHC)**	• Détection des anticorps du virus de l'hépatite C (anti-VHC) (ELISA) • Test d'amplification de l'acide nucléique (TAN) pour le VHC	Chaque don
e l'immunodéficience humaine de type 1 et 2**(VIH**)	• Détection des anticorps du VIH(ELISA) • Test d'amplification de l'acide nucléique (TAN) pour le VIH-1 et le VIH-2 Test de confirmation : • Un western blot pour le VIH1, • Un test immuno-enzymatique pour le VIH-2 • Un test rapide de différenciation virale pour le VIH-1 et le VIH-2	Chaque don
Virus T-Lymphotrope humain de type I et II (**HTLV)**	• Détection des anticorps HTLV-I et HTLV-II : ELISA (Microelisa) Test de confirmation : western blot	Chaque don
Treponema pallidum (**syphilis)**	• Détection d'anticorps anti-tréponème par un test d'agglutination automatisé Test de confirmation : - Un test sérologique pour les anticorps totaux - Un test immuno-enzymatique - Un test pour la réagine	Chaque don
Virus du Nil occidental (**WNV)**	• Test d'amplification de l'acide nucléique (NAT) pour le WNV	Chaque don
Virus Zika (**ZIKV)**	• Test d'amplification de l'acide nucléique (TAN) pour le ZikV.	Chaque don
Contamination bactérienne	• Culture bactérienne	Chaque don de plaquettes

Babesia	• Test d'amplification de l'acide nucléique (NAT) et anticorps pour B.	Effectué sur des dons dans des régions où Babesia est endémique.
Trypanosomacruzi (**maladie de Chagas)**	• Détection des anticorps de T. cruzi(ELISA) Test de confirmation : Un test immunoenzymatique à bandelettes	Tous les nouveaux donneurs sont testés
Cytomégalovirus (**CMV)**	Détection d'anticorps CMV	Effectué sur certains dons pour des bénéficiaires ayant des besoins spéciaux

2.4 Techniques de la qualification microbiologique du don du sang en inde :

Le dépistage à l'aide de kits de test ELISA de troisième génération pour le VIH, de test ELISA de quatrième génération pour l'Ag HBS et le VHC, et de test immuno- chromatographique rapide pour la syphilis.

Tous les dons font l'objet d'un dépistage individuel pour:

- Test Procleix Ultrio (Novartis, Emeryville, CA),
- Test NAT multiplex pour la détection de l'ADN du virus de l'hépatite B (VHB), de l'ARN du virus de l'hépatite C (VHC) et de l'ARN du virus de l'immunodéficience humaine (VIH).

Un TAN discriminatoire a été effectué si l'un des tests effectués à partir de la poche plasmatique était positif.[46]

2.5 Techniques de la qualification microbiologique du don du sang en chine :

En chine, Le sang donné doit être soumis à deux reprises à des tests complets sur le donneur, à l'aide d'un équipement différent et/ou d'un personnel différent, notamment pour le VIH, le VHB, le virus de l'hépatite C et la syphilis.

Le dépistage de l'hépatite B, l'hépatite C et de la syphilis est généralement identifié à l'aide d'un test immuno- enzymatique (ELISA) ou CLIA (la chimiluminescence).

Ainsi que Le dépistage de l'AC anti-VIH1et 2 qui se fait par ELISA ou CLIA, puis confirmé par Western blot.

La confirmation des tests sérologiques réactifs peut être faite par un test d'acide nucléique (NAT).[47][48]

VI. Tableaux comparatifs récapitulatifs

Tableau 2: infections systématiquement dépistées et techniques utilisées en qualification microbiologique du don du sang à l'échelle nationale :

	Le CTS de l'HMA de Marrakech	Le CTS régional de Rabat	Le CTS de l'hôpital militaire de Rabat
Les infections qui sont systématiquement dépistées	L'hépatite virale B L'hépatite virale C Le VIH La syphilis	L'hépatite virale B L'hépatite virale C Le VIH La syphilis Le dosage des ALAT	L'hépatite virale B L'hépatite virale C Le VIH La syphilis Le dosage des ALAT
Les techniques	• ELISA • L'hémagglutination (le test de TPHA manuel) • La chimiluminescence (au service de virologie)	• ELISA • L'hémagglutination (le test de TPHA manuel)	• ELISA • La chimiluminescence • L'hémagglutination (test de TPHA manuel)

Tableau XVII : Tableau comparatif des infections qui sont systématiquement dépistées au sein du CTS de l'HMA de Marrakech par rapport à l'échelle internationale et aux recommandations de OMS

Les Pays	Les infections qui sont systématiquement dépistées	Recommandation de l'OMS[49]
Le CTS de l'HMA de Marrakech, Maroc	• L'hépatite virale B • L'hépatite virale C • Le VIH • La syphilis	➢ Le dépistage des infections suivantes à l'aide des marqueurs indiqués ci-après doit être obligatoire : ▪ VIH-1 et VIH-2 ▪ Hépatite B ▪ Hépatite C ▪ Syphilis ➢ Le dépistage des dons de sang à la recherche d'autres agents infectieux tels que ceux responsables du paludisme ou de la maladie de Chagas doit être effectué en fonction des données épidémiologiques locales
La France	• L'hépatite virale B • L'hépatite virale C • Le VIH • La syphilis • Dépistage des virus HTLV-I /II • Le Paludisme* • La maladie de Chagas * • Dépistage du Cytomégalovirus (CMV)*	
Le Canada	• L'hépatite virale B • L'hépatite virale C • Le VIH • La syphilis • Dépistage des virus HTLV-I /II • VNO (virus du Nil occidental) * • La maladie de Chagas * • Dépistage du Cytomégalovirus (CMV)*	
Les Etats unis	• L'hépatite virale B • L'hépatite virale C • Le VIH • La syphilis • Dépistage des virus HTLV-I /II • Dépistage du Virus du Nil occidental (WNV) • Virus Zika (ZIKV) • La maladie de Chagas* • Dépistage du Cytomégalovirus (CMV)*	
L'inde	• L'hépatite virale B • L'hépatite virale C • Le VIH • La syphilis	
La chine	• L'hépatite virale B • L'hépatite virale C • Le VIH • La syphilis	
*infections non systématiquement détectable		

Tableau XVIII : Tableau comparatif des techniques de dépistage de L'hépatite B au sein du CTS de l'HMA de Marrakech par rapport à l'échelle internationale et aux recommandations de OMS :

Les pays	Les techniques	Recommandation de l'OMS[49]
Le CTS de l'HMA de Marrakech, Maroc	- ELISA - CLIA	Pour réduire au minimum le risque d'infection par le VHB par voie transfusionnelle : **1.** Le dépistage de ce virus doit être effectué avec un test immuno-enzymatique de dépistage du HBS Ag hautement sensible et spécifique (**EIA/CLIA).** **2.** Le dépistage à l'aide d'un test rapide de dépistage du HBS Ag ou par un test d'agglutination de particules peut être pratiqué dans les laboratoires fonctionnant avec un faible débit, dans les zones reculées ou dans les situations d'urgence. **3.** Le dépistage de l'anti-HBC n'est pas recommandé en routine. Les pays doivent déterminer leurs besoins en matière de dépistage de l'anti-HBC en fonction de la prévalence et de l'incidence de l'infection à VHB. **4.***Le dosage de l'ALAT n'est pas recommandé*
La France	- Tests ELISA - Confirmation par test de neutralisation de l'antigène HBs.	
Le Canada	- ELISA - Les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN)	
Les Etats unis	- ELISA - Les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN)	
L'inde	- ELISA - Les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN)	
La chine	- ELISA - CLIA - Les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN)	

Tableau XIX : Tableau comparatif des techniques de dépistage de L'hépatite C au sein du CTS de l'HMA de Marrakech par rapport à l'échelle internationale et aux recommandations de l'OMS :

Les pays	Les techniques	Recommandation de l'OMS[49]
Le CTS de l'HMA de Marrakech, Maroc	- ELISA - CLIA	Pour réduire au minimum le risque d'infection par le VHC par voie transfusionnelle : 1. Le dépistage de ce virus doit être effectué par un dosage immunologique des anticorps anti-VHC ou par un test immuno-enzymatique combiné antigène-anticorps (**EIA/CLIA**) hautement sensible et spécifique. Le test utilisé doit être capable de détecter les génotypes spécifiques au pays ou à la région. 2. Le dépistage à l'aide d'un test rapide de dépistage des anticorps anti-VHC hautement sensible et spécifique peut être pratiqué dans les laboratoires fonctionnant avec un faible débit, dans les zones reculées ou dans les situations d'urgence.
La France	- ELISA associé au DGV du VHC - La Confirmation par Immunoblot	
Le Canada	- ELISA - Les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN) - Confirmation par CLIA	
Les Etats unis	- ELISA - Les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN)	
L'inde	- ELISA - Les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN)	
La chine	- ELISA - CLIA - Les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN)	

Tableau XX : Tableau comparatif des techniques de dépistage du VIH au sein du CTS de l'HMA de Marrakech par rapport à l'échelle internationale et aux recommandations de l'OMS :

Les pays	Les techniques	Recommandation de l'OMS[49]
Le CTS de l'HMA de Marrakech, Maroc	- ELISA - CLIA	Pour réduire au minimum le risque d'infection par le VIH par voie transfusionnelle : 1. Le dépistage doit être effectué à l'aide d'un immuno-dosage anti VIH-1 et anti VIH-2 ou d'un test immun-enzymatique combiné antigène-anticorps **(EIA/CLIA)** hautement sensible et spécifique. Le test utilisé doit être capable de détecter les sous-types spécifiques au pays ou à la région. 2. Le dépistage à l'aide d'un test anti-VIH-1 et anti-VIH-2 rapide, hautement sensible et spécifique, doit être pratiqué dans les laboratoires ayant un faible débit de fonctionnement, dans les zones reculées ou dans les situations d'urgence.
La France	- Un seul test ELISA combiné (antigène et anticorps) associé au DGV du VIH-1 - La Confirmation par Immunoblot	
Le Canada	- ELISA - Les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN) - Confirmation par le test VIH-1/2 Geenius	
Les Etats unis	- ELISA - Les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN) Confirmation par : - Un western blot pour le VIH, - Un test immuno-enzymatique pour le VIH-2 - Un test rapide de différenciation virale pour le VIH-1 et le VIH-2	
L'inde	- ELISA - Les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN)	
La chine	- ELISA - CLIA - Les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN)	

Tableau XXI : Tableau comparatif des techniques de dépistage de la syphilis au sein du CTS de l'HMA de Marrakech par rapport à l'échelle internationale et aux recommandations de l'OMS

Les pays	Les techniques	Recommandation de l'OMS[49]
Le CTS de l'HMA de Marrakech, Maroc	L'hémagglutination (Test de TPHA manuel)	Pour réduire au minimum le risque de transmission de l'infection syphilitique par transfusion : 1. Le dépistage doit être effectué en utilisant un test hautement sensible et spécifique de dépistage des anticorps anti-tréponèmes : **soit un test TPHA, soit un test immuno-enzymatique.** 2. Dans les populations où l'incidence de la syphilis est élevée, le dépistage doit être pratiqué à l'aide d'un test non tréponémique : **le test VDRL ou RPR**
La France	- Elisa - L'hémagglutinationsur automate (**PK 7300)** - Confirmation par immunoblot	
Le Canada	- Micro-hémagglutination - Test d'agglutination passive de *Treponema pallidum* (TP-PA) - Test rapide de la réagine plasmatique (RPR) - Test d'immunofluorescence absorbée pour le dépistage des anticorps anti-*Treponema pallidum* (FTA-ABS)	
Les Etats unis	- Détection d'anticorps anti-tréponème par un test d'agglutination automatisé Test de confirmation : - Un test sérologique pour les anticorps totaux - Un test immuno-enzymatique - Un test pour la réagine	
L'inde	- ELISA - Les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN)	
La chine	- Tests ELISA - CLIA - Les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN)	

VII. Effets adverses du type infectieux de la transfusion sanguine

Malgré les nombreuses mesures préventives prises à son encontre, le risque de transmettre une infection virale ou bactérienne par transfusion sanguine reste possible, notamment lorsqu'un donneur contaminé mais asymptomatique est prélevé lors de la phase virémique qui précède l'apparition de marqueurs détectables pour les virus obligatoirement dépistés, ou lorsqu'il s'agit d'un agent infectieux ne faisant pas l'objet d'une détection spécifique.[50]

❖ Les accidents infectieux immédiats post transfusionnels (dans les 24H) :

- Choc toxi-infectieux due à une septicémie bactériémie

❖ Les accidents infectieux retardés à court terme (dans les 48H à 2 semaines) :

- Paludisme
- Infections à :
  - CMV
  - EBV

❖ Les accidents infectieux à long terme (>2semaines) :

- VIH
- Hépatites virales C, B
- Syphilis

Le Nombre d'infections post transfusionnelles dans notre étude :

Aucun incident n'a été noté dans notre étude.

Mais on note l'absence de dossiers transfusionnels d'hémovigilance et l'absence de système de sécurité et traçabilité de l'acte transfusionnel .

VIII. Recommandations (perspectives) :

Personnels :

- Proposer une formation continue des personnels pour être en mesure de pratiquer le dépistage des dons de sang conformément aux normes requises.
- La formation des personnels sur place par les experts.
- Recruter des personnels qualifiés et spécialisés au laboratoire.
- Une bonne répartition des personnels :
  - Une équipe de la qualification sérologique
  - Une équipe de la qualification immuno- hématologique
  - Une équipe de séparation et de préparation des PSL
  - Une équipe de garde
  - Une équipe de collecte mobile

Matériels et techniques :

- Doter le CTS de l'HMA de Marrakech d'automates et réactifs : l'utilisation des automates multiparamétriques les plus crédibles et les plus efficaces avec des réactifs plus appropriés.
- Améliorer les techniques de la qualification microbiologique du don du sang en suivant les recommandations de l'OMS : la sensibilité comme la spécificité doivent être les plus élevées possibles.
- Élargir le panel de sérologie : CMV, HTLV, hépatite G etc.
- Mise en place du DGV qui est devenue indispensable pour réduire la fenêtre sérologique.
- Recours à l'automatisation pour le dépistage de la syphilis.
- Ajouter d'autres procédures de traitement des PSL pour éventuelle transformation.

Les locaux :

- Aménager les locaux.
- Créer une salle pour le DGV.
- Assurer un service d'urgence de la transfusion Sanguine.

Archives et système informatique :

- Utilisation des systèmes informatiques développés pour archiver les résultats recueillis.
- Doter le service d'une secrétaire qualifiée capable de gérer les différentes tâches informatiques.

CONCLUSION

La sécurité transfusionnelle est assurée par une maîtrise de toutes les étapes de la chaîne transfusionnelle depuis la collecte de sang, sa préparation et sa qualification biologique jusqu'à la réalisation de l'acte transfusionnel et même le suivi des receveurs.

La transfusion sanguine est devenue l'un des actes thérapeutiques les mieux contrôlés. Après la période qui a suivi la découverte des virus de l'immuno- déficience humaine et du virus de l'hépatite C, une prise de conscience mondiale des risques viraux associés au sang a permis d'identifier précisément les principales situations à risque et de prendre un ensemble de mesures concrètes pour les réduire de façon drastique.

Les techniques de qualification microbiologiques du don du sang ont été considérablement simplifiées, automatisées et évoluées.

L'utilisation de la biologie moléculaire en tant que nouvel outil de qualification virologique des dons s'inscrit parfaitement dans le souci permanent du renforcement de la sécurité transfusionnelle.

RESUME

RÉSUMÉ:

La qualification microbiologique du don du sang a connu de très grands progrès vis-à-vis le risque infectieux.

L'utilisation de nouvelles technologies et méthodes en transfusion a constitué un élément de réflexion en tant que nouvelle approche pour rechercher les virus sur les dons de sang, ce qui a contribué à l'amélioration de la qualité du dépistage et la sécurité transfusionnelle.

Les objectifs de notre travail étaient d'évaluer les techniques de qualification microbiologiques du don du sang au CTS de l'HMA de Marrakech par rapport à ce qui se fait à l'échelle nationale et internationale, et de mettre en valeur celles-ci.

Afin d'atteindre ces objectifs, nous avons mené une étude rétrospective, descriptive et évaluative, portante sur 8221 dons du sang colligés au CTS (ancien et nouveau) de l'HMA de Marrakech, réalisée sur une période de cinq ans allant du 1er janvier 2016 au 31 décembre 2020.

Pour l'exploitation des résultats obtenus, il nous a fallu 6 jours pour la collecte des données, entre l'archives papiers et le système informatique, avec une saisie manuelle.

Certaines difficultés ont été rencontrées comme :

- Les archives papiers mal rangés.
- Les archives informatiques ont été parfois en arrêt .
- Absence de système informatique de laboratoire (SIL) qui gère les données entre l'automate et le système informatique hospitalier (SIH).

L'étude des prévalences des marqueurs sérologiques au CTS de l'HMA de Marrakech à abouti aux résultats suivants :

Sur 8221 dons réalisés , la prévalence des marqueurs sérologiques de l'hépatite B est de (0,28%), celle de l'hépatite C est de (0,17%), celle du VIH est de (0,09%), et celle de la syphilis est de l'ordre de (0,40%).

Le dépistage des virus de l'hépatite B, C et du VIH au CTS de l'HMA de Marrakech, est réalisé à l'aide de kits ELISA basés sur le principe de la technique ELISA en sandwich de 3éme génération pour l'hépatite B et combiné de 4ème génération pour l'hépatite C et VIH, automatisé sur EVOLIS « Twin plus ».

Le dépistage de la syphilis est basé sur la technique d'hémagglutination via le test de TPHA.

Le contrôle des cas positifs et douteux est réalisé à l'aide de la technique CLIA au service de virologie.

Malgré que les nouvelles technologies et méthodes de dépistage n'a pas Cessé de se développer au cours de ces dernières années, on est très moins avancés en matière des techniques et automates utilisés au sein de notre service de transfusion par rapport à ce qui se fait à l'échelle internationale.

La nécessité de doter le laboratoire de sérologie du CTS de L'HMA de Marrakech de matériels et automates les plus crédibles et les plus efficaces avec des techniques plus appropries, sensibles et spécifiques respectant les recommandations de l'OMS comme l'introduction du dépistage génomique virale (DGV) dans la routine des tests de dépistage viral.

ABSTRACT:

The microbiological qualification of blood donation has undergone great progress in relation to the infectious risk.

The use of new technologies and methods in transfusion has been an element of reflection as a new approach to search for viruses in blood donations, which has contributed to the improvement of the quality of screening and transfusion safety.

The objectives of our work were to evaluate the techniques of microbiological qualification of blood donation at the transfusion center at the military hospital of Marrakech in comparison with what is done at the national and international level, and to highlight these.

In order to achieve these objectives, we conducted a retrospective descriptive and evaluative study on 8221 blood donations collected at the transfusion center (old and new) transfusion center at the military hospital of Marrakech, carried out over a period of five years from 1 January 2016 to 31 December 2020.

For the exploitation of the results obtained, it took us 6 days to collect the data, between the paper archives and the computer system, with manual input.

Some difficulties were encountered such as :

- The paper archives were misplaced
- The computer archives were sometimes stopped
- Absence of a computerized laboratory system which manages the data between the automaton and the hospital computer system.

The study of the prevalences of serological markers at the transfusion center at the military hospital of Marrakech led to the following results :

The prevalence of serological markers of hepatitis B is 0.28%, hepatitis C (0.17%), HIV (0.09%), and syphilis (0.40%).

The screening of hepatitis B, C and HIV viruses at the transfusion center at the military hospital of Marrakech, is carried out using ELISA kits based on the principle of the sandwich 3th generation for hepatitis B and combined ELISA technique of 4th generation for hepatitis C and VIH , automated on EVOLIS "Twin plus".

The screening of syphilis is based on the technique of hemagglutination by the TPHA test.

The control of positive and doubtful cases is carried out using the CLIA technique in the virology department.

Despite the fact that new technologies and screening methods have not ceased to develop in recent years, we are very less advanced in terms of techniques and machines used in our transfusion service compared to what is done internationally.

The need to provide the serology laboratory of the transfusion center at the military hospital of Marrakech with the most credible and effective materials and machines with more appropriate, sensitive and specific techniques respecting the recommendations of WHO as the introduction of viral genomic screening in the routine of viral screening tests.

ملخص

قد شهد التأهيل الميكروبيولوجي للتبرع بالدم تقدما كبيرا فيما يتعلق بالمخاطر المعدية . وكان استخدام التكنولوجيات والأساليب الجديدة في نقل الدم عنصرا من عناصر التفكير بوصفه نهجا جديدا للبحث عن الفيروسات في الهبات بالدم، مما أسهم في تحسين نوعية الفحص وسلامة نقل الدم.

وكانت أهداف عملنا تقييم تقنيات التأهيل الميكروبيولوجي للتبرع بالدم في مركز نقل الدم بالمستشفى العسكري بمراكش مقارنة بما يجري على الصعيدين الوطني والدولي ، وتسليط الضوء على ذلك.

ولتحقيق هذه الأهداف ، أجرينا دراسة وصفية وتقييمية عن 8221 تبرعاً بالدم تم جمعها في مركز نقل الدم (القديم والجديد) في المستشفى العسكري بمراكش ، أجريت على مدى خمس سنوات من 1 يناير 2016 إلى 31 ديسمبر 2020.

لاستغلال النتائج التي تم التوصل إليها ، استغرق جمع البيانات ، بين المحفوظات الورقية ونظام الحاسوب ، 6 أيام ، بإدخال يدوي.

ووجهت بعض الصعوبات مثل:

- وضع المحفوظات الورقية في غير محلها
- تم أحيانا إيقاف محفوظات الحاسوب
- عدم وجود نظام مختبري محوسب يدير البيانات بين النظام الآلي ونظام حاسوب المستشفيات.

أدت دراسة الوقاية من العلامات المصلية في مركز نقل الدم في المستشفى العسكري بمراكش إلى النتائج التالية:

إن انتشار العلامات المصلية للالتهاب الكبدي الوبائي B يبلغ 0.28% ، والتهاب الكبد الوبائي (0.17%) C ، وفيروس نقص المناعة البشرية (0.09%) ، والزهري (0.40.% ويجري فحص فيروسات التهاب الكبد الوبائي باء وجيم وفيروس نقص المناعة البشرية في مركز نقل الدم في المستشفى العسكري بمراكش ، باستخدام مجموعات مواد ELISA استنادا إلى مبدأ السندويتشللجيل الثالث للالتهاب الكبدي الوبائي B وتقنية ELISA المشتركة للجيل

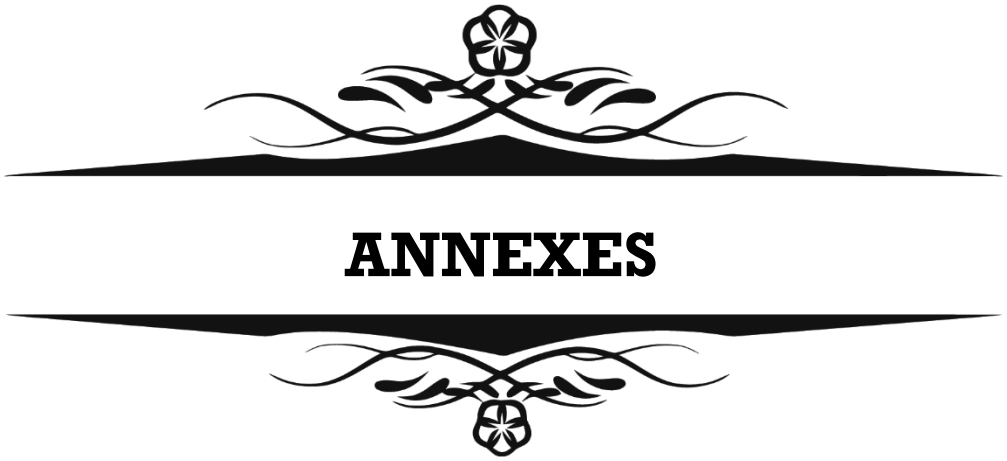
الرابع لالتهاب الكبد الوبائي Cوفيروس نقص المناعة البشرية ، آليا على " EVOLIS توين زائد."

ويستند فحص الزهري إلى تقنية تشريح الدم عن طريق اختبار TPHA.

وتجري مراقبة الحالات الإيجابية والمشكوك فيها باستخدام أسلوب CLIA في قسم الفيروسات.

وعلى الرغم من أن التكنولوجيات وأساليب الفحص الجديدة لم تتوقف عن التطور في السنوات الأخيرة ، فإننا أقل تقدما من حيث التقنيات والآلات المستخدمة في خدمة نقل الدم مقارنة بما يتم على الصعيد الدولي.

• الحاجة إلى تزويد مختبر الأمراض المصلية التابع لمركز نقل الدم في المستشفى العسكري بمراكش بأكثر المواد والآلات مصداقية وفعالية بتقنيات أكثر ملاءمة وحساسية وتحديدا تراعي توصيات منظمة الصحة العالمية المتعلقة بإدخال الفحص الجيني الفيروسي في النظام الروتيني لاختبارات الفحص الفيروسي.



ANNEXES

Annexe 1 : équipement au sein du CTS (ancien et nouveau) de l'HMA de Marrakech

Figure 30 : Automate EVOLIS "Twin plus"

Figure 31 : centrifugeuse pour carte gel

Figure 32 : deux centrifugeuses pour poche à sang

Figure 33 : presses à plasma

Figure 34 : Automate IH 500

Figure 35: Automate EVOLIS

Annexe 2 : Présentation du système EVOLIS "Twin plus" :

L'analyseur est composé de différents modules indépendants :

- **Les portoirs échantillons :**

- Jusqu'à 144 tubes à bord
- 16 tubes échantillons par portoir
- Tubes primaires, décantés ou micro-tubes
- Différentes tailles :
  - ✓ Tubes de 3.5 à 7 ml volume mort de 100 ml (Diamètre de 12 à 13 mm)
  - ✓ Micro-tubes de 3 ml volume mort de 50 ml (Diamètre de 8 mm)
  - ✓ Tubes de 10 ml volume mort de 100 ml (Diamètre de 16 mm)
- Identification positive du portoir, des positions et des échantillons
- Chargement/déchargement en continu des portoirs

- **Les portoirs réactifs :**

- 2 Types de portoirs utilisant les flacons d'origine des coffrets.
  - 1 portoir 2 rails avec 8 positions
  - 1 portoir (1 rail) avec 16 positions
- Flacons de contrôles/standards...
- Identification positive des réactifs
- Chargement/déchargement en continu

- **Le pipeteur :**

- Embouts jetables en graphite (288 emboute)
- Détection de niveau (Optimisation de l'intégrité du prélèvement)
- Distribution dans le liquide (en immersion)
- Ejection mécanique des embouts
- Vérification colorimétrique dépôt échantillons et réactifs

- Le contrôle barométrique :
  - Le système enregistre l'évolution de la pression à l'intérieur de la ligne d'aspiration
  - Une courbe de référence de l'évolution de la pression au cours du temps est prédéfinie selon la nature et le volume du liquide prélevé, ainsi que le profil de pipetage
  - Le Système compare les niveaux de pression obtenus aux seuils de pression prédéfinis

La mesure de la pression d'aspiration permet de signaler toute anomalie lors de la phase de prélèvement et Le Système vérifie chaque prélèvement selon un scénario prédéfini.

Afin de garantir un contrôle optimal du pipetage en cas : de volume insuffisant, de bulle d'air de mousse et de caillot.

L'EVOLIS "Twin Plus" utilise une technologie de pipetage exclusive, basée sur une triple détection : Capacitive, colorimétrique et barométrique

- **La pipette :**

- Cadence moyenne de distribution
- Prévention des éclaboussures et contaminations : Ajustement de la hauteur de distribution et Distribution des puits les plus éloignés au plus proche
- Homogénéisation
- Prise en compte des échantillons rares :
  - ⇨ Seulement 100 ul de volume mort en tube échantillon
  - ⇨ Possibilité de distribuer manuellement des échantillons en cas de volume très faible

- **Les dilutions :**

- Pré – dilution des échantillons
- Dilution en microplaque
  - ⇨ 2 emplacements (microplaques)

⇨ 2 emplacements (flacons de diluants :125ml)

- Dilution en cascade

➢ **La Sérothèque :**

La sérothèque peut être effectuée en plaque et en tube

➢ **Les microplaques :**

- Transport des microplaques de l'aire de distribution vers le laveur, les incubateurs ou le lecteur
- Vérification du nombre de barrettes
- Indépendance complète de la distribution et du traitement des microplaques

➢ **Le laveur :**

- Utilisation de tous types de microplaques
- Peigne 8 canaux avec double aiguilles

⇨ Aspiration

⇨ Distribution

- Rinçage automatique
- Lavage par barrette
- 2 solutions de lavage, 1 de rinçage (eau distillée)

➢ **Les Incubateurs :**

5 incubateurs indépendants :

⇨ 3 à température ambiante

⇨ 2 à température contrôlée (T ambiante +5 °C _ 50°C) avec ou sans agitation

- **Le lecteur :**

- 8 filtres possibles
  - ⇨ Pré-équipé de 3 filtres : 450, 492 620 nm
- Lecture rapide
  - ⇨ Point final/cinétique
  - ⇨ Simple double longueur a onde
- Vérification du dépôt échantillon et réactif

Annexe 3 : Prospectif du test Monolisa™ HBS Ag ULTRA

- **Composition de la trousse Monolisa™ HBS Ag ULTRA :**

Etiquetage	Nature des réactifs
R1	MICROPLAQUE
R2	SOLUTION DE LAVAGE
R3	CONTROLE NÉGATIF ;
R4	CONTRÔLE POSITIF (Humain) :
R6	DILUANT CONJUGUE
R7	CONJUGUE
R8	TAMPON SUBSTRAT DE LA PEROXYDASE :
R9	CHROMOGENE coloré en rose
R10	SOLUTION D'ARRET

- **MODE OPÉRATOIRE :**

Le test Utilise les contrôles positif (R4) et négatif (R3) pour chaque série de déterminations pour valider les résultats du test, Suivant les bonnes pratiques de laboratoire

1) Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons.
2) Préparer la solution de lavage R2
3) Préparer la solution de conjugué (R6 + R7)
4) Sortir de l'emballage protecteur le cadre support et le nombre de barrettes nécessaires (R1). Remettre les barrettes non utilisées dans l'emballage et refermer ce dernier.
5) Distribuer dans les cupules dans l'ordre suivant (plan de plaque conseillé) :

- Cupules A1, B1, C1 et D1 : 100 µl de contrôle négatif (R3)
- Cupule E1: 100 µl de contrôle positif (R4)
- Cupule F1:100 µl du premier échantillon
- Cupules G1, H1,...etc.: 100 µl d'échantillons à tester..

6) Secouer la solution du conjugué avant utilisation. Homogénéiser. Distribuer rapidement 50 µl de la solution reconstituée de conjuguer (R6 + R7) dans toutes les cupules. Homogénéiser le mélange réactionnel.
7) Lorsque cela est possible recouvrir d'un film adhésif et incuber pendant 1 heure et 30 ± 5 minutes à 37 ± 1°C.
8) Retirer le film adhésif, aspirer le contenu de chaque cupule et laver au moins 5 fois.
9) Distribuer rapidement dans toutes les cupules 100 µl de la solution de révélation de l'activité enzymatique (R8 + R9) préalablement préparée. Laisser la réaction se développer à l'obscurité pendant 30 ± 5 minutes à température ambiante (18 à 30°C). Lors de cette incubation, ne pas utiliser de film adhésif.
10) Ajouter 100 µl de la solution d'arrêt (R10) en adoptant la même séquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation. Homogénéiser le mélange réactionnel.
11) Essuyer soigneusement le dessous des plaques. Attendre au moins 4 minutes après la distribution de la solution d'arrêt avant la lecture et dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction,
12) S'assurer avant la transcription des résultats de la concordance entre la lecture et le plan de distribution et d'identification des plaques et des échantillons.

➢ **Les Performances du test :**

Les performances de Monolisa™ HBs Ag ULTRA ont été déterminées à partir de tests réalisés sur des échantillons de donneurs de sang non sélectionnés, des échantillons de patients hospitaliers atteints d'Hépatite B aigue, d'Hépatite B chronique, des échantillons de patients présentant diverses pathologies sans relation avec le virus de l'Hépatite B, des échantillons commerciaux ainsi que des panels de séroconversion.

- **Spécificité :**

La spécificité chez 9894 donneurs de sang non sélectionnés provenant de 3 sites différents a été estimée à **99.94%** (9887/9893).

- **Sensibilité Analytique :**

Le seuil de sensibilité du test a été estimé inférieur à 0.06 ng/ml d'Ag HBS et inférieur à 0.050 IU/ml pour l'étalon OMS.

➢ **Les limites du test :**

Un résultat négatif signifie que l'échantillon contrôlé ne contient pas d'Ag HBS détectable par le test Monolisa™ HBS Ag ULTRA. Toutefois dans la mesure où des taux très faibles en Ag HBS peuvent ne pas être détectés, un tel résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'une infection par le virus de l'hépatite B.

De plus, plusieurs auteurs ont signalé dans la littérature des cas d'hépatite B (aiguë ou chronique) dans lesquels de l'ADN viral peut être détecté en l'absence d'antigène de surface (patients Ag HBS négatifs). Ces profils anormaux, quoique rares, sont la conséquence de mutations génétiques possibles, soit au niveau des gènes S et prés, soit, généralement, au niveau des gènes X et Pol, induisant une faible réplication virale. Dans ces cas très particuliers,

il est recommandé de tester d'autres marqueurs pour un diagnostic final de l'infection. [51][52][53]

Annexe4 : prospectif du test combiné Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA V2

- **Composition de la trousse Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA V2 :**

Identification de l'étiquetage	Description
R1	Microplaque
R2	Solution de lavage concentrée 20 fois
R3	Contrôle négatif
R4	Contrôle positif
R5a	Contrôle positif
R5b	Diluant du R5a
R6	Conjugué 1
R7	Conjugué 2
R8	Substrat
R9	Chromogène : solution TMB
R10	Solution d'arrêt

- **Mode opératoire** :

Utiliser les sérums des contrôles positifs et négatifs pour chaque test afin de valider la qualité du test.

Suivre les Bonnes Pratiques de Laboratoire suivantes :

1) Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons.
2) Préparer la solution de lavage diluée R2 et la solution de travail de l'antigène positif de contrôle (R5a + R5b)
3) Sortir le cadre support et les barrettes (R1) de l'emballage protecteur.
4) Replacer dans le sachet les barrettes inutilisées. Refermer le sachet soigneusement et le replacer à +2-8°C.
5) Déposer directement, sans prélavage de la plaque, successivement :

- 100 µl de conjugué 1 (R6) dans chaque cupule puis
- 50 µl de contrôle négatif (R3) en A1,
- 50 µl de contrôle positif (R4) en B1, C1, D1,
- 50 µl de la solution de travail de l'antigène positif de contrôle (R5a + R5b) en E1,
- 50 µl du premier échantillon en F1,
- 50 µl du deuxième échantillon en G1, etc...

Homogénéiser le mélange par 3 aspirations minimum ou avec un agitateur de microplaque durant 5 secondes.

6) Couvrir si possible d'un film autocollant en appuyant bien sur toute la surface pour assurer l'étanchéité.
7) Incuber la microplaque pendant 90 minutes (± 5 min.) à 37°C ± 1°C.
8) Si nécessaire, retirer le film adhésif. Aspirer le contenu de toutes les cupules dans un conteneur pour déchets contaminés (contenant de l'hypochlorite de sodium) et ajouter dans chacune d'elles un minimum de 370 µl de solution de lavage. Aspirer de nouveau. Répéter le lavage au moins 4 fois (au total, au moins 5 lavages sont effectués).
9) Distribuer rapidement 100 µl de la solution de conjugué 2 (R7) dans toutes les cupules.
10) Le conjugué doit être agité avant emploi. Recouvrir, si possible, d'un film neuf et incuber pendant 30 minutes (± 5 min.) à 37°C ± 1°C.
11) Retirer le film adhésif, vider toutes les cupules par aspiration et laver au moins 5 fois comme précédemment.
12) Préparer la solution de révélation (réactif R8 + R9).
13) Distribuer rapidement dans toutes les cupules 80 µl de la solution de révélation de l'activité enzymatique (R8 + R9) préalablement préparée. Laisser la réaction se

développer à l'obscurité pendant 30 minutes (± 5 min.) à température ambiante (18 à 30°C). Lors de cette incubation, ne pas utiliser de film adhésif.

14) Ajouter 100 µl de la solution d'arrêt (R10) en adoptant la même séquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation.
15) Essuyer soigneusement le dessous des plaques. Attendre au moins 4 minutes après la distribution de la solution d'arrêt, et, dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction, lire la densité optique à 450/620-700 nm à l'aide d'un lecteur de plaques.

➢ **Performances cliniques :**

Les performances du test Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA V2 ont été déterminées en analysant des échantillons provenant de donneurs de sang, de patients hospitalisés, de patients souffrant d'infection aigue et chronique pour le virus de l'hépatite C, et de patients présentant des signes cliniques sans rapport avec l'infection par le virus de l'hépatite C. Les études ont été réalisées sur 2 sites de dons de sang, sur un site hospitalier ainsi que sur le site de Bio-Rad.

- **Spécificité**

365 échantillons potentiellement interférents, contenant des anticorps dirigés contre des pathogènes pouvant entrainer des maladies infectieuses, des échantillons issus de groupes à risque ou d'échantillons provenant de patients présentant des désordres en relation avec le système immunitaire ont été testés avec le test Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA V2.

Deux échantillons ont été trouvés positifs répétables avec le test Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA V2. La spécificité observée sur cette population ciblée de **99,45%** (363/365) est comparable à la spécificité observée sur une population hospitalière.

- **Limites de test :**

En raison de la diversité des réponses immunologiques des patients infectés par le virus de l'hépatite C (notamment lors de séroconversions), des différences de détection entre tests peuvent être observées en fonction de la nature des protéines antigéniques utilisées.

Un résultat analytique négatif lors d'un test de dépistage n'exclut donc pas la possibilité d'une exposition ou d'une infection par le virus de l'hépatite C.

Selon la littérature, des patients porteurs du VHC sous traitement immunosuppresseurs ou coinfectés VIHVHC, pourraient présenter des niveaux d'anticorps particulièrement bas, inférieurs à la limite de détection des tests anti-VHC.

Toute technique ELISA peut produire des réactions faussement positives. Il est conseillé de vérifier la spécificité de la réaction pour tout échantillon trouvé positif répétable, selon les critères d'interprétation de la trousse Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA V2 par une méthode appropriée : utilisation d'un test ELISA de dépistage des anticorps anti-VHC seul ou par un test immuno-blot pour prouver la présence d'anticorps antiVHC.

Si nécessaire, utiliser un test de biologie moléculaire de dépistage du génome viral du VHC. [54][55][56][57]

Annexe 5 : Prospectif du test combiné Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab

➢ Composition de la trousse Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab :

Identification de l'étiquetage	Description
R1	Microplaque
R2	Solution de lavage concentrée
R3	Contrôle négatif
R4	Contrôle positif anticorps VIH
R5	Contrôle positif antigène VIH
R6	Conjugué 1
R7a	Conjugué 2
R7b	Diluant du conjugué 2
R8	Tampon substrat
R9	Chromogène : solution TMB
R10	Solution d'arrêt

➢ Le Protocole opératoire :

Suivre strictement la procédure. Utiliser les contrôles positifs anticorps VIH-1 (R4), antigène VIH (R5) et le contrôle négatif (R3) pour chaque série de test afin de valider la qualité du test. Suivre les Bonnes Pratiques de Laboratoire suivantes :

1) Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons.

2) Préparer la solution de lavage diluée R2 et la solution de travail conjugué 2 (R7a + R7b)

3) Sortir le cadre support et le nombre de barrettes nécessaires (R1) de l'emballage protecteur. Replacer dans le sachet les barrettes inutilisées. Refermer le sachet soigneusement et le replacer à +2-8°C.

4) Déposer directement, sans prélavage de la plaque, successivement :

- 25 µl de conjugué 1 (R6) dans chaque cupule
- 75 µl de contrôle positif Ag VIH (R5) en A1
- 75 µl de contrôle positif anticorps VIH (R4) en B1
- 75 µl de contrôle négatif (R3) en C1, D1 et E1
- 75 µl du premier échantillon en F1,
- 75 µl du deuxième échantillon en G1, etc.

5) Homogénéiser le mélange par 3 aspirations minimum avec une pipette de 75 µl ou avec un agitateur de microplaque durant 5 secondes.

6) Incuber la microplaque pendant 1 heure (± 4 min) à 37°C ± 1°C.

7) Si nécessaire, retirer le film adhésif. Aspirer le contenu de toutes les cupules dans un conteneur pour déchets contaminés (contenant de l'hypochlorite de sodium). Ajouter dans chacune d'elles un minimum de 370 µl de solution de lavage. Respecter un temps de trempage minimum de 30 secondes. Aspirer de nouveau.

8) Distribuer rapidement 100 µl de la solution de conjugué 2 (R7a + R7b) dans toutes les cupules. Le conjugué doit être agité avant emploi. Recouvrir, si possible, d'un film neuf et incuber pendant 30 minutes (± 4 min.) à température ambiante (18-30°C)

9) Préparer la solution de révélation (réactif R8 + R9).

10) Distribuer rapidement dans toutes les cupules 80 µl de la solution de révélation de l'activité enzymatique (R8 + R9) préalablement préparée. Laisser la réaction se

développer à l'obscurité pendant 30 minutes (± 4 min.) à température ambiante (18 à 30°C). Lors de cette incubation, ne pas utiliser de film adhésif.

11) Ajouter 100 µl de la solution d'arrêt (R10) en adoptant la même séquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation.

12) Essuyer soigneusement le dessous des plaques. Attendre au moins 4 minutes après la distribution de la solution d'arrêt, et, dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction, lire la densité optique à 450/620-700 nm à l'aide d'un lecteur de plaques.

13) S'assurer avant la transcription des résultats de la concordance entre la lecture et le plan de distribution et d'identification des plaques et des échantillons

Utiliser les contrôles positifs et négatifs dans chaque série de test pour valider l'essai

- **Caractéristiques de performances**

- **Performances cliniques :**

Les performances du Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab ont été déterminées en testant des échantillons de donneur de sang non sélectionnés ainsi que des échantillons de patients infectés par le virus VIH ou des panels commerciaux de séroconversions. La limite de sensibilité pour la détection des Ag VIH a été établie par analyse de l'étalon Ag VIH de l'ANSM.

Des échantillons de patients atteints d'affections sans relation avec le VIH ont également été testés.

- **Spécificité diagnostique :**

La spécificité a été déterminée sur un total de 6 038 échantillons de donneurs de sang non sélectionnés dans 3 sites différents. La spécificité sur donneurs de sang non sélectionnées était de 99,95% (6 035 échantillons négatifs / 6 038 échantillons testés) avec 3 échantillons trouvés réactifs répétés et non confirmés en Western blot VIH tout comme en Ag VIH.

409 échantillons non sélectionnés dans 2 laboratoires hospitaliers d'analyses, 14 échantillons ont été trouvés initialement réactifs dont 12 étaient répétés réactifs : 11 d'entre eux ont été confirmés par Western-Blot, 1 ne l'a pas été et a été considéré comme faussement positif. La spécificité sur cette population était de 99,75% (397 échantillons négatifs / 398 échantillons testés), IC 95% [98,61 – 99,99%].

- **Sensibilité diagnostique**

La sensibilité a été évaluée en testant des échantillons dont la présence d'anticorps anti-VIH a été confirmée, des échantillons provenant de patients atteints d'infections aiguës ou provenant de panels commerciaux de séroconversions. Des échantillons contenant des antigènes VIH ont également été testés (purs ou dilués).

763 échantillons positifs provenant du suivi de patients infectés par les VIH-1 ou VIH-2 ont été analysés. La sensibilité obtenue dans cette étude était de **100%**.

- **Sensibilité analytique :**

La sensibilité analytique a été estimée par le standard Ag VIH p24 de l'OMS (90/636) et trouvée à 0,85 IU/ml avec un IC 95% [0,73 – 1,01 IU/ml].

- **Limites du test :**

De faibles taux d'antigène ou d'anticorps peuvent ne pas être détectés lors d'infection récente, en conséquence un résultat négatif signifie que l'échantillon contrôlé ne contient pas d'antigène VIH ou d'anticorps anti-VIH détectable par le test Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab. Un tel résultat n'exclut pas la possibilité d'une infection VIH-1/VIH-2. La variabilité des virus VIH-1 (groupe M, groupe O) et VIH-2 ne permet pas d'exclure la possibilité de réactions faussement négatives. Aucune méthode connue ne peut offrir l'assurance que le virus VIH est absent. Toute technique ELISA hautement sensible peut produire des réactions faussement positives.

Afin de vérifier la spécificité de la réaction, tout échantillon trouvé positif reproductible doit être confirmé par une méthode appropriée comme le test Genscreen HIV Ag EIA puis neutralisation pour prouver la présence d'antigène VIH ou par WesternBlot pour prouver la présence d'anticorps anti-VIH). [58][59][60]

Annexe 6 : prospectif du test de TPHA

- **Composition de la trousse TPHA :**

Identification de l'étiquetage	Description
R1	**Cellules Test** Suspension d'hématies aviaires sensibilisées par des antigènes de *T. pallidum,* contenant de la S.A.B. (Albumine de sérum bovin)
R2	**Cellules Contrôle** Suspension d'hématies aviaires, contenant de la S.A.B.
R3	**Diluant** Solution saline contenant du sérum de lapin
R4	**Contrôle Positif** Sérum humain contenant des anticorps anti-*T. pallidum,* négatif en Ac VIH 1/2, Ac VHC et AgHBS et dilué en tampon Phosphate
R5	**Contrôle Négatif** Sérum de lapin en tampon Phosphate

- **Performances cliniques**

Les performances du test TPHA ont été évaluées en testant des échantillons de donneurs de sang non sélectionnés, de patients ayant consultés dans un centre pour maladies

sexuellement transmissibles, de patients positifs pour l'agent de la syphilis et à l'aide d'échantillons positifs pour des agents infectieux sans relation avec la syphilis.

- **Spécificité :**

5032 échantillons collectés de façon prospective sur les 2 différents sites ont été étudiés.

Les échantillons étaient soit des sérums (3626) soit des plasmas prélevés sur EDTA K2 (539) soit des plasmas prélevés sur Héparine de Lithium (867). Ils ont été testés sur une période de moins de 7 jours après le prélèvement et comparés aux résultats des tests de dépistage utilisés dans les laboratoires.

La spécificité globale sur la population de donneurs de sang est de **99.72% (5017/5031**) avec un intervalle de confiance à 95% de **[99.53%- 99.85%].** Parmi les 14 échantillons faux positifs, 11 ont été trouvés indéterminés répétables.

Une étude rétrospective a été également réalisée sur 201 échantillons congelés issus de patients ayant consultés dans un centre pour maladies sexuellement transmissibles ou bien de panels commerciaux et trouvés négatifs pour la syphilis. La spécificité sur ces échantillons a été évaluée à **99.5% (200/201)** avec un intervalle de confiance à 95% de **[97.3%- 100%].**

- **Sensibilité :**

L'étude de sensibilité a été étudiée sur **435** échantillons rétrospectifs (sérum congelés) provenant du laboratoire du centre pour maladies sexuellement transmissibles ou bien de panels commerciaux. Ces échantillons ont été caractérisés comme étant positifs à l'aide de tests d'immuno-essais, d'immunofluorescence, de tests RPR/VDRL ou bien de tests TPHA en fonction de leur provenance.

Tous ces échantillons ont été re-testés à l 'aide d'un test TPHA marqué CE et avec le test Bio-Rad TPHA 500 (72504).

La sensibilité sur cette population est de **100% (435/435)** avec un intervalle de confiance à 95% de **[99.2%-100.0%].**

- **Limites du test :**

Aucun test ou standard de référence n'est disponible pour chaque stade de la maladie. Ainsi, le diagnostic de la Syphilis repose essentiellement sur des tests sérologiques, exigeant des résultats à la fois non tréponémiques et tréponémiques. Aucun test de diagnostic ne peut garantir que des échantillons ne contiennent pas des anticorps anti-T.pallidum même à des taux très faibles, comme c'est le cas au premier stade de l'infection. Par conséquent, un résultat non réactif n'empêche pas la possibilité d'exposition à la Syphilis ou d'une infection par la Syphilis. Tous les tests tréponémiques ont tendance à rester réactifs après une infection tréponémique. En raison de la persistance de la réactivité (probablement durant toute la vie du patient), les tests tréponémiques ne permettent pas au clinicien de diagnostiquer une rechute ou une réinfection chez un patient qui aurait eu des résultats réactifs. Dans ce cas, il est recommandé d'utiliser d'autres tests [61][62][63]

BIBLIOGRAPHIE

1. A. Kerléguer, M.-H. El Ghouzzi, et P. Morel.
« La qualification biologique du don et la sécurité transfusionnelle », *Revue Francophone des Laboratoires*, vol. 2012, nº 439, Part 1, p. 33-41, févr. 2012,

2. Casassus P.
« Historique de la transfusion sanguine ». https://www.ints.fr/TransfusionHistorique.aspx (consulté le mai 30, 2021).

3. J. Uwingabiye, H. Zahid, L. Unyendje, et R. Hadef.
« Séroprévalence des marqueurs viraux sur les dons du sang au Centre de Transfusion Sanguine, Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat », *Pan Afr Med J*, vol. 25, nov. 2016,

4. V. Ferrera, D. Legrand, J.Chiaroni.
S. Web, « Les tests réalisés par la QBD comprennent des tests sérologiques. », *Tout sur la transfusion*. https://www.toutsurlatransfusion.com/preparation-qualification-biologique-du-don/qualification/serologie.php (consulté le juin 23, 2021).

5. E. Masson.
« Prévalence des marqueurs infectieux transmissibles par transfusion chez les donneurs de sang au CRTS de Rabat (Maroc) », *EM-Consulte*. https://www.em-consulte.com/article/1092738 (consulté le juin 22, 2021).

6. J. Uwingabiye, H. Zahid, L. Unyendje, et R. Hadef.
« Séroprévalence des marqueurs viraux sur les dons du sang au Centre de Transfusion Sanguine, Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat », *The Pan AfricanMedical Journal*, vol. 25, nº 185, Art. nº 185, nov. 2016,.

7. Sheila O'Brien.
« Rapport de surveillance »
Professional Education, juin 17, 2016.

8. Pillonel Josiane, Boizeau Laure, Gallian Pierre, Garrabe Eliane, Chabli Lila, Pascal Morel, Syria Laperche.
« Épidémiologie des donneurs de sang infectés par le VHB et le VHC et risque résiduel de transmission de ces infections par transfusion en France, 1992-2018 ».

9. E. Masson
« Prévalence du portage de l'Ag-HBs chez des donneurs du sang militaires étude rétrospective sur dix ans », *EM-Consulte*. https://www.em-consulte.com/article/1137394/prevalence-du-portage-de-l-ag-hbs-chez-des-donneur (consulté le mai 27, 2021).

10. S. Zou, S. L. Stramer, et R. Y. Dodd
« DonorTesting and Risk:CurrentPrevalence, Incidence, and Residual Risk of Transfusion-Transmissible Agents in US Allogeneic Donations », *Transfusion MedicineReviews*, vol. 26, nº 2, p. 119-128, avr. 2012,[11] « Seroprevalence, Demographic and Blood Donation Characteristics of Blood Donors in the Santa Catarina State, Brazil », *IBIMA Publishing*..

11. F. FouelifackYmele, B. Keugoung, J. H. Fouedjio, N. Kouam, S. Mendibi, et J. DongtsaMabou
« High Rates of HepatitisB and C and HIV Infections among Blood Donors in Cameroon: A Proposed Blood Screening Algorithm for Blood Donors in Resource-Limited Settings », *J Blood Transfus*, vol. 2012, p. 458372, 2012,

12. M. Abdelaziz
« Prevalence of Transfusion Transmissible Infection amongHealthy Blood Donors at Dongola Specialized Hospital, Sudan, 2010-2015 »:, *1*, juin 2020,

13. Y. Song, Y. Bian, M. Petzold, et C. O. L. Ung
« Prevalence and Trend of Major Transfusion-Transmissible Infections among Blood Donors in Western China, 2005 through 2010 », *PLOS ONE*, vol. 9, nº 4, p. e94528, avr. 2014,

14. C. T. Tagny.
« Transfusion safety in francophone Africancountries: an analysis of strategies for the medicalselection of blooddonors », *Transfusion*, vol. 52, nº 1, p. 134-143, janv. 2012,

15. Pillonel J, Legrand D, Sommen C, Laperche S
« Surveillance épidémiologique des donneurs de sang et risque résiduel de transmission du VIH, de l'HTLV, du VHC et du VHB par transfusion en France entre 2008 et 2010. Numéro thématique. Don de sang : surveillance du risque infectieux et sécurité transf... » /maladies-et-traumatismes/infections-sexuellement-transmissibles/vih-sida/surveillance-epidemiologique-des-donneurs-de-sang-et-risque-residuel-de-transmission-du-vih-de-l-htlv-du-vhc-et-du-vhb-par-transfusion-en-france (consulté le mai 26, 2021).

16. L. Safer, N. Chaabane, W. Melki, et H. Saffar
« Épidémiologie des hépatites virales en Tunisie », *Revue D Epidemiologie Et De Sante Publique - REV EPIDEMIOL SANTE PUBL*, vol. 54, p. 377-380, sept. 2006,

17. D. A. Marshall
« Cost-effectiveness of nucleicacid test screening of volunteerblood donations for hepatitis B, hepatitis C and humanimmunodeficiency virus in the United States », *Vox Sang*, vol. 86, nº 1, p. 28-40, janv. 2004,

18. A. Kara-Mostefa
« VIH1 du groupe O : difficultés diagnostiques », *Virologie*, vol. 9, nº 6, p. 487-489, nov. 2005.

19. Y. Foupouapouognigni
« HepatitisB and C Virus Infections in the ThreePygmy Groups in Cameroon », *J Clin Microbiol*, vol. 49, nº 2, p. 737-740, févr. 2011, doi: 10.1128/JCM.01475-10.

20. P.-H. Bernard
« Sérologie des hépatites B et C : interprétation et conséquences pratiques chez la femme », *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, vol. 33, nº 6, p. 423-428, juin 2005, doi: 10.1016/j.gyobfe.2005.04.023.

21. E. Masson
« La place du pian dans le dépistage sérologique des tréponématoses chez les donneurs de sang de la Martinique », *EM-Consulte*. https://www.em-consulte.com/article/5018/la-place-du-pian-dans-le-depistage-serologique-des (consulté le mai 27, 2021).

22. [A. M. Baião, E. Kupek, et A. Petry
« Syphilis seroprevalenceestimates of Santa Catarina blooddonorsin 2010 », *Rev Soc Bras Med Trop*, vol. 47, nº 2, p. 179-185, avr. 2014.

23. Pr Mathieu RAUX (Paris) et le Pr Bertrand DUREUIL (Rouen)
anesthrea:introduction.
http://wiki.side-sante.fr/doku.php?id=sides:ref:anesthrea:item_325:introduction (consulté le juin 11, 2021).

24. François Toujas, Baptiste Beaulieu, Agnès Ledig, Martin Winckler
« Préparation des dons du sang afin de sécuriser les transfusions ». https://www.toutsurlatransfusion.com/transfusion-sanguine/securite-de-la-transfusion/preparation-produits-sanguins.php (consulté le juin 11, 2021).

25. Ministère de l'emploi et de la solidarité
Rapport du Comité de suivi de la sécurité transfusionnelle. Paris: Ministère de l'emploi et de solidarité ; 1996-1997. (consulté le juin 11, 2021).

26. Etablissement français du sang, Ecole supérieure des affaires
les principes de bonnes pratiques transfusionnelles.
Beyrouth : EFS, ESA ; 2002. (consulté le juin 11, 2021).

27. Ryan Robinson
« ELISA Introduction ». https://www.anticorps-enligne.fr/resources/17/1461/elisa-introduction/ (consulté le juin 10, 2021).

28. S. Aydin
« A short history, principles, and types of ELISA, and ourlaboratoryexperiencewith peptide/protein analyses using ELISA », *Peptides*, vol. 72, p. 4-15, oct. 2015.

29. A. V. Lin
« Indirect ELISA », *Methods Mol Biol*, vol. 1318, p. 51-59, 2015.

30. (g L.) Daguet et DAGUET (G.L.)
« Diagnostic biologique de la syphilis. », *TECHNIQUE ET BIOLOGIE*, 1995, Consulté le: mai 28, 2021. [En ligne]. Disponible sur: http://bdsp-ehesp.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=116322

31. H. Young
« Syphilis: new diagnostic directions », *Int J STD AIDS*, vol. 3, nº 6, p. 391-413, déc. 1992,

32. S. A. Larsen, E. A. Hambie, D. E. Pettit, M. W. Perryman, et S. J. Kraus
« Specificity, sensitivity, and reproducibilityamong the fluorescent treponemalantibody-absorption test, the microhemagglutinationassay for Treponema pallidum antibodies, and the hemagglutinationtreponemal test for syphilis », *J Clin Microbiol*, vol. 14, nº 4, p. 441-445, oct. 1981.

33. T. Rathlev
« Haemagglutination test utilizingpathogenic Treponema pallidum for the sero-diagnosis of syphilis. », *Br J Vener Dis*, vol. 43, nº 3, p. 181-185, sept. 1967.

34. L. J. Kricka
« Chemiluminescence », *Cold Spring Harb Protoc*, vol. 2018, nº 4, avr. 2018.

35. L. Cinquanta, D. E. Fontana, et N. Bizzaro
« Chemiluminescentimmunoassaytechnology:whatdoesit change in autoantibodydetection? », *Auto Immun Highlights*, vol. 8, nº 1, juin 2017.

36. Institut National de la Transfusion Sanguine
« Sécurité transfusionnelle ».
https://www.ints.fr/SangTransfSecurite.aspx (consulté le mai 29, 2021).

37. J. Blanck
« Parcours et transformation du sang : étude de l'étape de Qualification Biologique des Dons au sein de l'EFS de Metz-Tessy. », other, Université de Lorraine, 2020. Consulté le: juin 22, 2021. [En ligne]. Disponible sur: https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03045701

38. Assal A, Coste J, Barlet V, Laperche S, Cornillot C, Smilovici W, Pillonel J, Andreu G
« Application de la biologie moléculaire à la sécurite virale transfusionnelle : le dépistage génomique viral ».
/don-du-sang/application-de-la-biologie-moleculaire-a-la-securite-virale-transfusionnelle-le-depistage-genomique-vira2003 (consulté le juin 15, 2021).

39. Daniel L,Kacian,Timothy J,Fultz
« Nucleicacidsequence amplification methods».https://patents.google.com/patent/US5399491A/en (consulté le mai 29, 2021).

40. L. J. Arnold, P. W. Hammond, W. A. Wiese, et N. C. Nelson
« Assay formats involvingacridinium-ester-labeled DNA probes », *Clin Chem*, vol. 35, nº 8, p. 1588-1594, août 1989.

41. Claude Tayou Tagny, Edward L. Murphy, Jean-Jacques Lefrère
« Évolutions technologiques en qualification biologique du don et leur impact sur le risque résiduel transfusionnel ».
https://docplayer.fr/36282206-Evolutions-technologiques-en-qualification-biologique-du-don-et-leur-impact-sur-le-risque-residuel-transfusionnel.html (consulté le mai 29, 2021).

42. E. Masson
« La qualification biologique du don et la sécurité transfusionnelle », *EM-Consulte*.
https://www.em-consulte.com/article/692620/la-qualification-biologique-du-don-et-la-securite- (consulté le mai 29, 2021).

43. Steven Drews ;AditiKhandelwal, MDCM, FRCPC ;Mindy Goldman, MD, FRCPC; and Dana Devine
« DonorSelection, DonorTesting and Pathogen Reduction | Professional Education ».
https://profedu.blood.ca/en/transfusion/clinical-guide/donor-selection-donor-testing-and-pathogen-reduction (consulté le mai 30, 2021).

44. Red Cross Blood Services
« InfectiousDiseaseTesting ».
https://www.redcrossblood.org/biomedical-services/blood-diagnostic-testing/blood-testing.html (consulté le juin 10, 2021).

45. R. Chaurasia, S. Zaman, B. Das, et K. Chatterjee
« Screening Donated Blood for Transfusion Transmitted Infections by Serologyalongwith NAT and Response Rate to Notification of ReactiveResults: An IndianExperience », *Journal of blood transfusion*, vol. 2014, p. 412105, nov. 2014 .

46. Y. Liu
« Hepatitis B virus infection in a cohort of HIV infectedblooddonors and AIDS patients in Sichuan, China », *J Transl Med*, vol. 12, p. 164, juin 2014.

47. Dajun Gao, Heng Li & Kang Wang
« The development of a legalframework for blood donation and bloodsafety in China over 24years | BMC Health Services
Research ».https://bmchealthservres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12913-020-05944-6 (consulté le juin 10, 2021).

48. Organisation mondiale de la sante "OMS"
« Dépistage des maladies transmissibles par transfusion ». https://www.google.com/search?q=D%C3%A9pistage+des+maladies+transmissibles+par+transfusion&sxsrf (consulté le mai 22, 2021).

49. « Banqnumérique Québec »
http://numerique.banq.qc.ca/ (consulté le juin 22, 2021).

50. A. M. Couroucé, H. Lee, J. Drouet, M. Canavaggio, et J. P. Soulier
« Monoclonal antibodies to HBsAg:astudy of theirspecificities for eightdifferentHBsAgsubtypes », *Dev Biol Stand*, vol. 54, p. 527-534, 1983.

51. « AntibodyCloning and Sequencing - OakBioSciences, Inc. »
https://www.oakbiosciences.com/services/antibodyengineering/antibody-cloning/ (consulté le mai 28, 2021).

52. « Monoclonal Radioimmunoassays for Hepatitis B Surface Antigen»
Demonstration of Hepatitis B Virus DNA or RelatedSequences in Serum and Viral Epitopes in Immune Complexes on JSTOR ». https://www.jstor.org/stable/12791?seq=1 (consulté le mai 28, 2021).

53. P. J. Rider et F. Liu
« Crosstalkbetween HIV and hepatitis C virus during co-infection », *BMC Med*, vol. 10, p. 32, avr. 2012.

54. A. Schnuriger
« Earlydetection of hepatitis C virus infection by use of a new combinedantigen-antibodydetectionassay:potential use for high-riskindividuals », *J Clin Microbiol*, vol. 44, nº 4, p. 1561-1563, avr. 2006.

55. D. B. Strader, T. Wright, D. L. Thomas, L. B
Seeff, et American Association for the Study of LiverDiseases, « Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C », *Hepatology*, vol. 39, nº 4, p. 1147-1171, avr. 2004.

56. A. Widell et M. Busch
« Exposed or not exposed--thatis the question :evidence for resolving and abortive hepatitis C virus infections in blooddonors », *Transfusion*, vol. 49, nº 7, p. 1277-1281, juill. 2009.

57. S. Laperche, M. Maniez-Montreuil, et A. M. Couroucé
« Place des tests combinés (Ag p24 et anticorps anti-VIH) au cours de l'infection précoce à VIH-1 », *Médecine et Maladies Infectieuses*, vol. 31, nº 2, p. 79-81, mars 2001,

58. L. Gürtler
« Reduction of the diagnostic windowwith a new combined p24 antigen and humanimmunodeficiency virus antibody screening assay », *J Virol Methods*, vol. 75, nº 1, p. 27-38, nov. 1998.

59. F. Simon
« Identification of a new humanimmunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O », *Nat Med*, vol. 4, nº 9, p. 1032-1037, sept. 1998.

60. T. Tomizawa, S. Kasamatsu, et S. I. Yamaya
« Usefulness of the hemagglutination test using Treponema pallidum antigen (TPHA) for the serodiagnosis of syphilis », *Jpn J Med Sci Biol*, vol. 22, nº 6, p. 341-350, déc. 1969.

61. R. E. Gislefoss, T. K. Grimsrud, et L. Mørkrid
« Stability of selectedserumproteinsafter long-termstorage in the Janus Serum Bank », *Clin ChemLab Med*, vol. 47, nº 5, p. 596-603, 2009.

62. M F Garner, J L Backhouse, G Daskalopoulos, and J L Walsh
« Treponema pallidum haemagglutination test for syphilis. Comparison with TPI and FTA-ABS tests. »
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1048369/ (consulté le mai 28, 2021).

أقْسِم بِـالله العَظِيم

أن أراقبَ الله في مِهْنَتِي.

وأن أصُونَ حياةالإنسان في كآفّةِأطوَارهَافي كلا الظروف والأحَوال باذلة وسْعِ يفي استنقاذها مِن الهَلاكِ والمرَضِ والألَم والقَلَق.

وأن أحفَظَ لِلنَاس كرَامَتهُم،وأسْترعَوْرَتهُم،وأكتم سِرَّهُمْ.

وأنأكونَ عَلى الدوَام من وسائِل رحمةالله، باذلة رِعَايَتي الطبيةللقريب والبعيد،للصالح والطالح،والصديق والعدو.

وأن أثابرعلى طلب العلم،أسَخِّرَه لِنَفْعِ الإنْسَان لا لأذَاه.

وأن أُوَقّرَمَن عَلَّمَني،وأُعَلّمَ مَن يَصْغرَني،وأكون أخَتالِكُلِّ زَميلٍ في المِهنَةِ الطِّبِّيَة

مُتعَاونِينَ عَلى البرِّوالتقوى.

وأ ن تكون حياتي مِصْدَاق إيمَاني في سِرّ يوَعَلانيَتي،نَقِيَّةمِمّايُشينهَ اتجَاهَ الله وَرَسُولِهِ وَالمؤمِنين.

والله على ماأقول شهيدا

كليـــــــــة الـطـب
و الصيدلة - مراكش
FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

MARRAKECH
جامعة القاضي عياض
UNIVERSITÉ CADI AYYAD

سنة 2021 أطروحة رقم103

تقييم التأهيل الميكروبيولوجي للتبرع بالدم بالمستشفى العسكري ابن سينا بمراكش

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 2021/07/05

من طرف

الآنسة مريم أمنضو

المزدادة في 3 أكتوبر 1995 بقلعة السراغنة

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية:

تبرع بالدم–التأهيل-الميكروبيولوجي

اللجنة

السيد	م. شكور أستاذ في طب أمراض الدم	الرئيس
السيد	م. أيت عمرو أستاذ في طب أمراض الدم	المشرف
السيد	ح. قصيف أستاذ في الطب الباطني	الحكام