

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple- Un But- Une Foi



**Faculté des Sciences de la Santé
(Pharmacie et Médecine)**

THESE N°... /...

**Caractérisation moléculaire du gène RHD chez les
donneurs de sang présentant le phénotype Rh Del au
Centre National de Transfusion Sanguine de Bamako**

**Présentée et soutenue publiquement le/01/2023 devant la Faculté de Médecine
et de Pharmacie de l'Université Kankou Moussa (U.K.M)**

PAR :

ZEINABOU OUSMANE SAMAKE épouse DOUMBIA

Pour obtention du grade de docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

Jury

Président : Pr. Mahamadou TRAORE
Directeur : Pr. Amadou KONE
Membres : Dr Charles ARAMA
Dr Mohamed Ag BARAIKA

UNIVERSITE KANKOU MOUSSA

(Faculté des Sciences de la Santé)

ANNEE UNIVERSITAIRE 2021-2022

Administration

RECTEUR: Pr Siné BAYO

Doyen : Pr Dapa A DIALLO

Président du conseil scientifique et pédagogique : **Pr Hamar Alassane TRAORE**

SECRETAIRE PRINCIPAL : Mr Amougnon DOLO

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R ET PAR GRADE

D.E.R CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. Professeurs

Mr Alhousseini Ag Mohamed	ORL
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie générale
Mr Amadou I DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Aly Douro Tembely	Urologie
Mr Nouhoun ONGOIBA	Anatomie et chirurgie générale
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie et Réanimation
Mr Djibo Diango Mahamane	Anesthésie et Réanimation
Mr Sadio YENA	Chirurgie cardio-thoracique
Mr Zimogo Zié SANOGO	Chirurgie générale
Mr Drissa KANIKOMO	Neurochirurgie
Mr Adégné Pierre TOGO	Chirurgie générale
Mr Alassane TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Bakary Tientigui DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Youssouf TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Niani MOUNKORO	Gynéco-Obstétrique
Mme Doumbia Kadiatou SINGARE	ORL

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Ibrahim TEGUETE Gynéco-Obstétrique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sanoussi BAMANI Ophtalmologie

Mr Souleymane TOGORA Stomatologie

Mr Birama TOGOLA Chirurgie Générale

Mr Seydou TOGO Chirurgie Thoracique et Cardio
Vasculaire

Mr Bréhima COULIBALY Chirurgie Générale

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Abdoulaye DIARRA Chirurgie Générale

Mr Amadou TRAORE Chirurgie Générale

Mr Madiassa KONATE Chirurgie Générale

Mr Abdoul Kadri MOUSSA Traumatologie

Mr Hamady COULIBALY Stomatologie

Mr Mamadou Ndiaye Radiologie

Mr Sékou Koumaré Chirurgie Générale

5. Assistant

Mr Zakary SAYE Oncologie Chirurgicale

D.E.R SCIENCES FONDAMENTALES

1) PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHES

Mr Siné BAYO Anatomie pathologie – Histo-embryologie

Mr Bakary CISSE Biochimie

Mr Cheick Bougadari TRAORE Anatomie pathologie

Mr Lassine SIDIBE Chimie Organique

Mr Mahamadou TRAORE Génétique

Mr Mahamadou Ali THERA Parasitologie Mycologie

Mr Bakarou KAMATE Anatomie Pathologie

Mr Abdoulaye Djimdé Parasitologie Mycologie

2) MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Boureïma KOURIBA Immunologie

Mme DOUMBO Safiatou NIARE Parasitologie

Aboulaye KONE

Parasitologie

3) **MAITRES DE CONFERENCES/MAITRES DE RECHERCHES**

Mr Amadou KONE

Biologie Moléculaire

Mr Mahamadou Z SISSOKO

Méthodologie de la Recherche

Mr Karim TRAORE

Méthodologie de la Recherche

Mr Issiaka SAGARA

Math-Bio-Statistique

4) **MAITRES ASSISTANTS**

Mr Bourama COULIBALY

Histo-embryo et anapath

Mr Souleymane SANOGO

Physique

Mr Charles ARAMA

Immunologie

Mr Souleymane DAMA

Parasitologie-Mycologie

Mr Mohamed M'BAYE

Physiologie

Mr Laurent DEMBELE

Parasitologie-Mycologie

Mr Amadou NIANGALY

Parasitologie-Mycologie

5) **ASSISTANTS**

Mr Abdoulaye FAROTA

Chimie Physique-Chimie Générale

Mr Aboudou DOUMBIA

Chimie Générale

D.E.R MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1- PROFESSEURS

Mr Toumani SIDIBE

Pédiatrie

Mr Mamadou Marouf KEITA

Pédiatrie

Mr Saharé Fongoro

Néphrologie

Mr Baba KOUMARE

Psychiatrie

Mr Dapa Aly DIALLO

Hématologie

Mr Hamar Allassane TRAORE

Médecine Interne

Mme SIDIBE Assa TRAORE

Endocrinologie

Mr Siaka SIDIBE

Imagerie Médicale

Mr Moussa Y. MAIGA

Gastro-Entérologie

Mr Boubacar DIALLO

Cardiologie

Mr Boubacar TOGO

Pédiatrie

Mr Daouda K MINTA

Maladies Infectieuses

Mr Youssoufa M MAIGA	Neurologie
Mr Yacouba TOLOBA	Pneumologie
Mme Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mme TRAORE Fatoumata DICKO	Pédiatrie et génétique Médicale
Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie
Mme Kaya Assétou SOUCKO	Médecine Interne
Abdoul Aziz DIAKITE	Pédiatrie

1- MAITRES DE CONFERENCES

Mr Adama DICKO	Dermatologie
----------------	--------------

2- MAITRES ASSISTANTS

Mr Mody CAMARA	Imagerie Médicale
Mr Mamadou N'DIAYE	Imagerie Médicale
Mr Koniba Diabaté	Biophysique
Mme Menta Djénébou TRAORE	Médecine Interne
Mr Djibril SY	Médecine Interne
Mme SOW Djénébou SYLLA	Endocrinologie

3- ASSISTANTS

Mme DEMBELE Maimouna SIDIBE	Rhumatologie
Mr Bah TRAORE	Endocrinologie
Mr Modibo Mariko	Endocrinologie

- CHARGES DE COURS

Mr Madani LY	Oncologie Médicale
--------------	--------------------

D.E.R SANTE PUBLIQUE

✓ PROFESSEURS

Mr Hammadoun SANGHO	Santé Publique
---------------------	----------------

✓ MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Cheick Oumar BAGAYOKO	Informatique Médicale
--------------------------	-----------------------

✓ MAITRES ASSISTANTS

Mr Abdramane COULIBALY	Anthropologie Médicale
------------------------	------------------------

Mr Oumar SANGHO	Santé Communautaire
-----------------	---------------------

Mr Seydou DIARRA	Anthropologie Médicale
Mr Cheick Abou COULIBALY	Santé Publique
Mr Aldiouma Kodio	Anglais
	✓ <u>CHARGES DE COURS :</u>
Mr Birama DIAKITE	Economie de la Santé
Mr Mahamane KONE	Santé au travail
Mr Ali Wélé	Management
Mr Issiaka DIARRA	Anglais
Mr Cheick Tidiane TANDIA	Santé Publique

D.E.R SCIENCES PHARMACEUTIQUES

✓ **PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHES**

Mr Saibou MAIGA	Législation
Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie Analytique
Mr Ousmane DOUMBIA	Chimie Thérapeutique
Mr Aboulaye DABO	Zoologie
Mr Moussa Samaké	Botanique
Mr Benoit Yaranga KOUMARE	Chimie Inorganique
Mr Ababacar MAÏGA	Toxicologie
Mr Lassine SIDIBE	Chimie Organique
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Cheick Bougadari TRAORE	Biologie Cellulaire
Mr Cheick Oumar BAGAYOGO	Informatique
Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie
Mr Alhassane TRAORE	Anatomie
Mr Bakary Tientigui DEMBELE	Anatomie
Mr Siaka SIDIBE	Biophysique
Mr Sékou BAH	Pharmacologie
Mr Abdoulaye DJIMDE	Parasitologie-Mycologie
Mr Daouda Kassoum MINTA	Maladies Infectieuses
Mr Satigui SIDIBE	Pharmacie Vétérinaire

Mr Mahamadou Ali THERA Méthodologie de la Recherche

Mr Souleymane COULIBALY Psychologie de la Recherche

Mr Daba SOGODOGO Physiologie Humaine

✓ **MAITRES DE CONFERENCES AGREGES/MAITRES DE
CONFERENCES/MAÎTRES DE RECHERCHES**

Mr Aldiouma Guindo Hématologie

Mr Sékou Bah Pharmacologie

Mr Ousmane SACKO Cryptogamie

Mr Bourèma KOURIBA Immunologie

Mr Issaka SAGARA Maths-Bio-Statistiques

Mme DOUMBO Safiatou NIARE Méthodologie de la Recherche

Mr Abdoulaye KONE Méthodologie de la recherche

Mr Drissa TRAORE Soins Infirmiers

✓ **MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHES**

Mr Dominique ARAMA Chimie Thérapeutique

Mr Yaya GOÏTA Biochimie

Mr Boubacar Sidiki Ibrahim DRAME Biochimie

Mr Ibrahima GUINDO Bactériologie-Virologie

Mr Aboubacar DOUMBIA Bactériologie-Virologie

Mr Mohamed Ag BARAÏKA Bactériologie-virologie

Mr Sidi Boula SISSOKO Histologie-Embryologie

Mr Mahamane HAIDARA Pharmacognosie

Mr Yaya COULIBALY Droit et éthique

Mr Hamma MAIGA Législation-Galénique

Mr Bakary Moussa CISSE Galénique Législation

Mr Boubacar ZIBEROU Physique

Mr Abdoul K MOUSSA Anatomie

Mr Madiassa KONATE Anatomie

Mr Abdoulaye DIARRA Chirurgie Générale

Mr Amadou TRAORE Chirurgie Générale

Mr Hamadoun DIALLO Anatomie

Mr Aboudou DOUMBIA Chimie Générale

Mr Bourama COULIBALY	Biologie Cellulaire	
Mr Mohamed MBAYE	Physiologie	
Mr Koniba DIABATE	Biophysique	
Mr Souleymane SANOGO	Biophysique	
Mr Souleymane DAMA	Parasitologie-Mycologie	
Mr Laurent DEMBELE	Parasitologie-Mycologie	
Mr Amadou NIANGALY	Parasitologie-Mycologie	
Mr Charles ARAMA	Immunologie	
Mme MINTA Djénébou	Sémiologie Médicale	
Mme Aïssata MARIKO	Cosmétologie	
Mr Boubacar Tiètiè BISSAN	Analyse Biomédicale	
Mr Issa COULIBALY	Gestion Pharmaceutique	
Mr Hamadoun Abba TOURE	Bromatologie	
Mme Salimata MAÏGA	Bactériologie-Virologie	
✓ <u>ASSISTANTS</u> :		
Mr Dougoutigui Tangara	Chimie Minérale	
Mr Abdourhamane Diara	Hydrologie	
Mme SAYE Bernadette COULIBALY	Chimie Minérale	
Mr Mohamed Elbechir NACO	Chimie Minérale	
Mr Abdoulaye KATILE	Math-Bio-statistique	
Mr Aboubacar SANGHO	Droit-Ethique	–Législation
	Pharmaceutique	
Mme Traoré Assitan KALOGA	Droit-Ethique	–Législation
	Pharmaceutique	
Mr Lossény BENGALY	Pharmacie Hospitalière	
Mr Mamadou BALLO	Pharmacologie	
Mr Abdoulaye GUINDO	Pharmacologie	
Mr Bah TRAORE	Endocrinologie-Métabolisme-Nutrition	
Mr Modibo MARIKO	Endocrinologie-Métabolisme-Nutrition	

✓ **CHARGES DE COURS**

Mr Birama DIAKITE	Economie de la Santé
Mr Mahamane KONE	Santé au Travail
Mr Issiaka DIARRA	Anglais
Mr Maman Yossi	Technique d'expression et de communication
Mr Amassagou DOUGNON	Biophysique
Mr Abdoulaye Farota	Chimie Physique

Dédicaces et remerciements

Dédicaces

Je dédie affectueusement ce modeste travail à :

Allah, le Tout Puissant, Maître de l'Univers, l'omniscient, l'omnipotent, le Clément, le Miséricordieux, le très miséricordieux, Dieu de la bonté, de la magnanimité, et le Créateur de toutes les créatures.

Merci infiniment Allah, de m'avoir donné la vie, la foi, la santé, le courage et la force nécessaire pour mener à bien ce modeste travail à son terme.

Que la paix d'Allah soit accordée au meilleur de ses créatures, dernier de ses messagers, notre bien aimé Mohammad (S.A.W), ainsi qu'aux membres de sa famille et tous ses compagnons.

J'implore Allah qu'il me guide sur le droit chemin tout en m'accordant sa bienveillance amen !

Mon Père : IMAM OUSMANE SEYDOU SAMAKE

Mon papa, Un grand homme, un père formidable, un précieux repère !!!

Aucun mot ne saurait exprimer tout le respect, toute l'admiration et tout l'amour que je porte pour toi.

Toi qui m'as enseignée de bonnes valeurs, toi qui m'as tout appris, et tout donné.

Tu es le soutien dont tout enfant rêve. Je me sens si chanceuse et fière d'avoir franchi cette étape de ma vie à tes côtés.

A toi mon idole père, ce travail te revient de droit, toi qui en es l'inspirateur. Je te dois mon courage, mes sourires ainsi que mes réussites.

Tu peux t'en réjouir père, ce doctorat est aussi le tien et surtout le couronnement de ton engagement sans faille pour donner une éducation de qualité à chaque enfant, tes efforts, tes larmes versées, ces nuits d'insomnie, de tes prières et de tes sacrifices.

Comment te remercier assez père ? Je ne le pourrais jamais.

Qu'Allah te donne une rétribution au-delà de tes attentes.

CHER Père, J'ai foi qu'on aura encore plein de succès à célébrer ensemble, et que ceci n'a n'est que le début. Qu'Allah t'accorde le bonheur de nous voir (mes sœurs et moi) devenir tes plus belles réussites. Reçois tout mon amour et toute ma reconnaissance

Je m'arrête là, sinon les mots ne finiront pas pour décrire le père exemplaire et exceptionnel que tu es.

C'est le rêve de tout enfant d'avoir un père comme toi

Mon cher Papa à partir d'aujourd'hui, tu ne me dois plus rien, je te dois tout.

Je t'aime infiniment.

Mes mamans : Oumou Dily Kanté, Lalla aïcha Kounta

Des mères pas comme les autres, je vous découle tout mon être, mon optimisme, ma bonne humeur, ma joie et ma raison de vivre.

Mon cœur est rempli de joie et mes yeux de larmes quand je réalise que j'ai la chance de faire partie de votre descendance ; des Femmes aussi extraordinaire, pleines de sagesse, de valeurs, d'humilité.

Vous êtes pour moi source de bonheur, de paix, de quiétude, de motivation pour ne citer que cela.

Merci de m'avoir donné la vie, de m'avoir tout appris et de m'avoir transmis vos bonnes valeurs, merci d'être toujours là à chaque moment de ma vie, mon amour pour vous est sans limites.

Que Dieu vous donne santé et longévité à mes côtés.

Mon Cher et tendre époux : Dr Aly DOUMBIA

Merci d'être cet homme si spécial que tu es pour moi, Merci pour le confort, le soutien tant moral, affectif que financier, pour ton amour à mon égard, pour ta générosité et ton courage sans pareil.

En toi j'ai trouvé un frère, un ami, un exemple à suivre, le meilleur des époux.

Tu es pour moi source de bonheur, de paix, de quiétude, de courage, de motivation et de sagesse.

Merci de compléter l'éducation que mes parents avaient commencée, et de faire de moi une femme forte.

Trouve en ses lignes l'assurance de tout mon amour pour toi. Que Dieu te bénisse et te garde longtemps auprès de nous.

Je souhaiterai contribuer à votre bonheur en étant une femme vertueuse que vous soyez récompensé par le paradis amen !

A ma sœur : Mme SANOGO Kadia OUATTARA

Ma sœur jumelle, ma moitié, et confidente. Il est grand temps que je te dise à quel point tu es importante pour moi. Les mots sont insuffisants pour vous exprimer tout le bien que je garde de vous ma coco d'amour. Nous avons commencé ce parcours ensemble et nous voici à la fin de notre peine quotidienne, des nuits blanches, des jours d'insomnie, de nos pleurs. Merci d'être toujours là pour moi, merci pour ton encouragement et ton amour inconditionnel, merci de rendre ma vie plus riche, plus heureuse ! Je t'aime très fort.

A Mes frères et sœurs :

Dr Fatoumata Ousmane Samake, Dr Balkissa Ousmane Samaké, Dr Fatoumata Traore Mariam, Aicha, Amina, Khadija, Noura, Latifa, Adja, Hanane, Mohamed (SAMAKE), Fatimata Adja Samaké, Oumou Diallo, Maimouna Baguayoko.

Où que vous soyez, sachez que je ne cesse de penser à vous. Puisse ce travail consolider davantage nos liens fraternels, constituer l'espoir d'un avenir radieux pour nous tous. Que Dieu ouvre nos cœurs vers l'islam.

Pour exprimer toute mon affection fraternelle et mon fidèle attachement à tous et à toutes. Je souhaite du courage et de la Persévérance pour demeurer unis afin de porter haut le flambeau de la famille et faire honneur à nos parents. Qu'Allah le tout puissant préserve et raffermisse d'avantage nos liens fraternels. Je vous aime infiniment et merci pour vos encouragements.

Mes neveux et nièces : Amadi Dramé, Wassa Dramé, Mouhamed Nimaga, Mouhamed Fofana, Lassine Sanago , Fatoumata Sanogo , Ibrahim Fofana, Ousmane Dramé, Lalaicha Fofana, Aminata Camara, Oumar Traoré, Oumou Dramé , Ibrahim Sanogo , Djeneba Diaby , Bintou Samake .

Mes Tantes : Fatoumata (Bama) ; Mah ; Bintou (Samaké) ; Assan Keita ; Oulematou Keita ; Batoma Traoré ; Zeinab Koita ; Zeinab Kounta et Dr Raki Bah

Vous avez toujours été la lanterne qui a éclairé mon chemin. Puisse ce travail vous honorer et vous témoigner de mon admiration profonde et de mon affection filiale.

Merci pour votre amour inconditionnel à mon égard, votre soutien moral, affectif et vos encouragements. Trouvez en ses lignes l'expression de ma profonde gratitude.

Mes Pères : Mohamed Seydou, Oumar Seydou, Abdoulaye Seydou, Yahya Seydou (Samaké) Djibril Kanté ; Dr Alou Badra Macalou, Ousmane Diakité.

Merci à vous mes très chers pères d'être toujours là pour moi, merci pour votre amour, votre bonne éducation, et vos encouragements. Trouvez en ces lignes l'expression de ma sincère reconnaissance.

Je suis fière de faire partie de votre descendance.

A mon père Amadou OUATTARA

Merci pour tout le soutien que vous avez fait preuve pour l'ensemble de tes filles et fils, tu constitues sans doute un exemple et une fierté pour nous tes enfants. Merci pour ton amour qui ne m'a jamais fait défaut. Nous prions Allah le tout puissant qu'il te récompense par son paradis et te garde longtemps auprès de nous.

Mes grands-pères : Feu Seydou Samaké, Noumoukaiba Kanté, El-Bekaye et Sidy Kounta.

Grands-mères : Feu Fanta Traoré (Adja koroba), Adja Dabo, Adja Marie Bah

J'aurai souhaité que vous puissiez jouir aujourd'hui du fruit de votre récolte, mais le bon Dieu en a décidé autrement. Puisse ce travail vous faire plaisir dans votre dernière demeure, en témoignage de mon respect et mon profond attachement. Je prie Le Très Miséricordieux d'apaiser vos âmes.

Mes grands-mères : Sadio KANTE et Aminata (Gogo) CISSE.

Merci pour vos encouragements, les moments de complicité et d'entente, que Dieu vous bénisse et qu'il vous accorde une longue vie à nos côtés.

Remerciements

Prière Du Soignant

Allah

Donne à mes yeux la lumière pour voir ceux qui ont besoin de soins,

Donne à mon cœur la compassion et la compréhension,

Donne à mes mains l'habileté et la tendresse,

Donne à mes oreilles la patience d'écouter,

Donne à mes lèvres les mots qui réconfortent,

Donne à mon esprit le désir de partager,

Allah (Azzawajal)

*Donne-moi, le courage d'accomplir ce travail afin que j'apporte un peu de joie dans la vie de
ceux qui souffrent.*

Mes sincères remerciements :

A ma belle-famille, plus précisément ma belle-mère **Mme DOUMBIA Kadidia Kanté** et mon beau père **Tamba DOUMBIA** merci de m'avoir accepté comme votre fille, vous m'avez aimé d'un amour inestimable. Qu'Allah vous accorde une longue vie pieuse dans une parfaite santé.

A tous mes beaux frères et mes belles sœurs : vous êtes si nombreux mais aussi précieux l'un que l'autre, que je n'ose pas vous citer de peur d'en omettre recevez par ce travail toute ma reconnaissance et ma profonde gratitude.

A Adama SANOGO et sa famille

C'est l'occasion de vous dire un grand merci du fond du cœur ; l'estime que vous avez portée à ma personne me comble. Merci pour vos encouragements ; soutiens qui ne m'ont jamais fait défaut. Trouvez dans cet ouvrage toutes mes reconnaissances.

Mes Camarades de Classes :

Mes chers (e) et tendres amis (e), futur collègue, merci pour ses 7 ans de complicités, de partages, d'ententes et de long labeur. Nous sommes désormais une famille, ce travail est le vôtre, le fruit de tant d'années d'efforts. Je suis fier d'avoir traversé tout ce chemin avec des personnes aussi formidables que vous.

Trouvez en ses lignes l'expression de mon affection et de mon attachement à votre égard, longue vie à nous dans une carrière pleinement réussie.

Mme DAOU Ramatoulaye DIALLO : merci pour ses multiples séances de travail. En vous j'ai trouvé un maître, une grande sœur, vous m'avez été d'une aide inestimable pour l'accomplissement de ce travail. Merci pour ces moments de travail et merci d'avoir été là au moment où j'avais le plus besoin d'aide. Qu'Allah vous récompense par le paradis.

A Monsieur Dramane DIALLO et Mlle Tenin Aminatou COULIBALY

Vous êtes des maîtres exemplaires. Votre rigueur dans le travail, votre sympathie, votre sens d'orateur et votre synergie dans le travail font de vous deux affluents qui se jettent dans le même fleuve. Chers maîtres veuillez recevoir toute ma reconnaissance.

Aux Internes et Externes de l'UCRC :

Nous sommes maintenant une famille après tous ces moments passés à vos côtés. Merci pour votre accompagnement, votre soutien, et votre complicité. Recevez ce travail car c'est aussi le vôtre.

A tous les personnels de l'UCRC

Merci de m'avoir soutenue et d'avoir bien accompli votre travail pour la réussite de cette étude.

A mon Directeur de thèse, Pr Amadou KONE, qui, est en plus de m'avoir apporté son soutien ainsi que ses commentaires, ses suggestions et ses critiques judicieux sur les différents textes de cet ouvrage, a été la cheville ouvrière de cette thèse.

Très chers professeurs veuillez recevoir à travers ces quelques lignes l'expression de ma profonde et totale reconnaissance. Mes sincères remerciements vont à l'endroit de tout le corps professoral de l'Université Kankou Moussa pour la qualité de l'enseignement qu'ils nous ont prodigué durant notre cursus.

**Je ne saurai terminer sans adresser mes sincères remerciements à tous ceux qui ont
contribué de près ou de loin à la réalisation de cette thèse.**

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

Hommages aux membres du jury

A notre Maître et Président du jury :

Professeur Mahamadou TRAORE

- **Professeur honoraire de génétique à la Faculté de Pharmacie de l'USTTB**
- **Professeur de génétique à l'Université Kankou Moussa ;**
- **Co-investigateur de l'étude sur les pathologies neurologiques héréditaires au Mali ;**
- **Co-investigateur de l'étude sur la génétique de l'épilepsie ;**
- **Membre fondateur de Président de la Société Malienne de Génétique Humaine (SMGH) ;**
- **Membre du consortium Human Hereditary and Health in Africa (H3Africa);**
- **Membre de la Société Africaine de Génétique Humaine (AFSHG)**
- **Membre de la Société Malienne de Neurosciences.**

Cher maître vous nous faites un grand honneur en acceptant malgré vos multiples occupations de présider ce jury. Nous savons le sérieux que vous attachez à notre formation et les efforts que vous déployez dans ce sens. Nous avons eu l'occasion d'apprécier votre courage, vos qualités humaines et votre générosité qui nous servent d'exemples. Soyez rassuré cher maître de notre profonde gratitude.

À notre Maître et juge :

Dr Charles ARAMA

- **Pharmacien Immunologiste,**
- **Maître-Assistant en Immunologie à la FAPH,**
- **Chercheur au MRTC/DEAP,**
- **Directeur-adjoint du laboratoire de l'unité d'Immunologie Cellulaire et Moléculaire du MRTC/DEAP,**
- **Secrétaire général de la Société Malienne d'Immunologie.**

Merci infiniment pour le travail que vous avez abattu en si peu de temps pour nous guider dans l'élaboration de ce document. Votre intérêt pour notre travail et vos conseils pour le peaufiner et ont été d'une grande aide pour nous. Recevez, cher maître nos chaleureux remerciements.

À notre Maître et juge :

Dr Mohamed AG BARAIKA

- **Pharmacien Microbiologiste,**
- **Maître-Assistant en Bactériologie-Virologie à la Faculté de Pharmacie,**
- **Enseignant -chercheur à la Faculté de Pharmacie,**
- **En activité à l'Institut Nationale de Santé Publique.**

Cher Maître, Nous sommes très reconnaissants d'avoir pu bénéficier de votre diligence, de votre disponibilité et de votre expertise. Ce fut un réel honneur pour nous d'avoir pu tirer parti votre gout pour le travail bien fait. Permettez-nous de vous exprimer notre gratitude et recevez nos hommages.

À notre Maître et Directeur de thèse :

Professeur Amadou KONÉ

- **Maitre de conférences en Biologie moléculaire et cellulaire de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies (USTTB) de Bamako au Mali ;**
- **Enseignant-chercheur de Biologie moléculaire et cellulaire à la Faculté des Sciences et Techniques (FST) de Bamako au Mali ;**
- **Chef d'unité de Biologie moléculaire et cellulaire au Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC) à l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) ;** • **Membre certifié en biosécurité et bio sûreté de la Fédération Internationale des Associations de Biosécurité (IFBA) ainsi que de plusieurs associations et organisations dans le domaine de la Biologie et du Génie Génétique ;**
- **Président de la Commission Nationale d'Organisation de la Fête des Sciences au Mali.**

Cher maître, Nous vous remercions infiniment pour cette opportunité que vous nous avez donné de travailler à vos côtés au sein de votre brillante unité du laboratoire de Biologie moléculaire de l'UCRC. Merci pour les nombreuses autres voies que vous avez ouvertes devant nous, tant dans le domaine de la biologie que dans celui du génie génétique, de la vaccinologie, de la Bio-informatique et de la génomique ; uniquement motivé par votre envie de nous voir gravir les échelons à votre image. Il ne nous reste plus qu'à vous faire honneur en tachant d'exceller et témoigner ainsi du bon maitre que vous avez été pour nous. Qu'Allah étende sa baraka sur votre famille et vous donne les mérites (ici-bas et dans l'au-delà) de toutes ces bonnes actions que vous avez eu à notre égard durant la période qu'a duré notre formation.

Liste des sigles et abréviations

°C	Degré Celsius
aa	Acide amine
ABI	Applied Biosystems Instrument
Ac	Anticorps
AE	Absorption, élution
Ag	Antigène
ARN	Acide RiboNucléique
ARNm	Acide RiboNucléique messenger
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
BKO	Bamako
BSL	BioSecurity Laboratory
CD47	Cluster de Différenciation 47
CNTS	Centre National de Transfusion Sanguine
Del	D élute
EDTA	Ethylène Diamine Tetra-Acide
DVR	Donneur Volontaire Régulier
Enduro TM GDS	Gel Documentation System
GPB	Glycophorine B
GR	Globule Rouge
IAT	Test Indirect d'Anti-globuline
IgG	Immunoglobuline de classe G
IgM	Immunoglobuline de classe M
ISBT	Société Internationale de Transfusion Sanguine
MHNN	Maladies Hémolytiques du Nouveau-né
LW	Landsteiner et Wiener
ML	Millilitre
µl	Microlitre
UV	Ultraviolet
MNV	Multiple Nucleotide Variation

nt	Nucléotide
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
Pb	Paire de bases
PCR	Polymerase Chain Réaction
PCR- SSP	Polymerase chain reaction Single Specific Primer
UCRC	University Clinical Research Center (Centre Universitaire de Recherche Clinique)
USTTB	Université des Sciences, des techniques et des technologies de Bamako
RH	Rhésus
RhAG	Rh-Associated Glycoprotein
RHD	Rhésus D
RHCE	Rhésus CE
RHPT	Réactions Hémolytiques Post-Transfusionnelles
SMP1	Small Myristoylated Protein-1
SNV	Single Nucleotide Variation (variation d'un seul nucléotide)

Liste des Tableaux

Tableau I: Equipements et réactifs	23
Tableau II : Amorces utilisées pour les analyses PCR	27
Tableau III: Le mélange réactionnel pour la PCR	28
Tableau IV: Programme d'amplification	28
Tableau V : Caractéristiques sociodémographiques des donneurs de sang RhD négatif selon le sexe, l'âge et l'ethnie	31
Tableau VI : Répartition du phénotype Rh Del en fonction des groupes sanguins ABO	33
Tableau VII : Répartition du phénotype Rh D- en fonction des groupes sanguins ABO	33
Tableau VII: Données sociodémographiques des donneurs de sang Rh Del	35

Liste des figures

Figure 1: Règles transfusionnelles en cas de transfusion de globules rouges (transfusion compatible) (38).....	8
Figure 2: Organisation du locus RH sur le chromosome 1	10
Figure 3: Représentation du gène RHD et des allèles RHCE.	12
Figure 4: Image de plaque groupage.....	24
Figure 5: Image de carte LISS/Coombs.....	25
Figure 6 : Image d'une plaque de phénotypage RhCE.	26
Figure 7 : Fréquence du phénotype RhD.....	32
Figure 8: Fréquence du phénotype Rh Del en fonction du phénotype Rh CE.....	34
Figure 9: Résultats de l'analyse par Polymerase Chain Reaction-Sepicific Sequence Primer (PCR-SSP)	36

Table des matières

1. INTRODUCTION	1
2. OBJECTIFS	4
2.1 Objectif général	4
2.2 Objectifs spécifiques	4
3. GENERALITES	5
3.1 Groupes sanguins	5
3.2 Système ABO	5
3.3 Système Rhésus	9
4. MATERIEL ET METHODES	17
4.1 Site d'étude	17
4.1.1 Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) :	17
4.1.2 Centre Universitaire de Recherche Clinique	20
4.2 Période d'étude	21
4.3 Type d'étude	21
4.4 Population	22
4.5 Taille de l'échantillon	22
4.6 Critères d'inclusion	22
4.7 Critères de non inclusion :	23
4.8 Echantillonnage	23
4.9 Collecte des données	23
4.10 Matériel	23
4.11 Méthodes	24
4.12 Analyse des données	29

4.13	Considération éthique.....	30
5.	RESULTATS.....	31
5.1	Données sociodémographiques des donneurs de sang.....	31
5.2	Données analytiques.....	32
6.	DISCUSSION.....	37
7.	CONCLUSION.....	39
8.	RECOMMANDATIONS :	40
	Résumé.....	41
	Abstract	42
9.	REFERENCES	43
10.	ANNEXES.....	xi
10.1	Annexe I : fiche de consentement libre et éclairé	xi
10.2	Annexe II : fiche d'enquête.....	xiii
10.3	Annexe III : Serment de Galien.....	xiv

1. INTRODUCTION

Le fait pour une population de disposer d'unités de sang compatible et sécurisé au niveau immunologique devrait être un des objectifs premiers de tout gouvernement.

La sécurité transfusionnelle vise à répondre d'une part à la demande quantitative par la disponibilité des produits sanguins ; et d'autre part à la demande qualitative en évitant la transmission d'infections par le sang et les réactions immunologiques. Cette sécurité représente le principal défi auquel est confrontée toute organisation de la transfusion sanguine. L'allo-immunisation anti-érythrocytaire et les accidents immuno-hémolytiques de la transfusion sont dus aux polymorphismes des antigènes de groupes sanguins érythrocytaires qui diffèrent d'un individu à un autre[1].

Les groupes sanguins érythrocytaires peuvent être définis comme des systèmes antigéniques situés à la surface des hématies et contrôlés par plusieurs gènes (l'antigène traduit l'activité des gènes qui le commandent) [2] .

Actuellement 35 systèmes de groupes sanguins ont été identifiés chez l'homme selon la société internationale de transfusion sanguine (International Society of Blood Transfusion, ISBT[3].

Les systèmes les plus importants dans la transfusion sanguine sont le système ABO car il est le système majeur de l'immunologie transfusionnelle, il s'agit de véritables antigènes d'histocompatibilité, suivi du système Rhésus [4].

Le système des groupes sanguins Rhésus joue un rôle important en raison de son polymorphisme élevé et de sa forte immunogénicité[2]. Il comprend plus de 50 antigènes codés par deux gènes hautement homologues, les gènes RHD (RHESUS D) et RHCE (RHESUS CE) qui contiennent 10 exons chacun[5]. Le haut degré d'homologie et l'orientation opposée de ces 2 gènes favorisent des altérations génétiques du gène RHD qui influencent différemment les attributs et l'expression de l'épitope RhD, entraînant divers variants avec des réponses immunitaires potentiellement distinctes [6]. Ces variants sont classés en RhD faible, RhD partiel et Rh Del (phénotype rhésus D positif obtenu après adsorption élution[1].

Les mécanismes moléculaires qui sont à la base de ces variants sont complexes et peuvent être causés par des variations sur l'ADN (Acide Désoxyribo Nucléique) notamment une variation d'un

seul nucléotide (Single nucléotide variant, SNV, une variation de plusieurs nucléotides (Multi-nucléotide variant, MNV), des insertions ou des délétions de bases et les allèles hybrides[7].

Des études antérieures ont montré que le phénotype Del (Rh Del) était associé soit à une longue délétion de l'exon 9 du gène RHD, soit à une mutation faux-sens (RHD1227G > A) dans l'exon 9, soit à une mutation du site d'épissage, soit une mutation de décalage du cadre de lecture, une mutation dans la région codante, ou des codons stop prématurés[8].

Le phénotype Del est caractérisé par une très faible expression de RhD à la surface des globules rouges impossible à détecter par la sérologie conventionnelle et nécessite l'utilisation de la technique d'adsorption/élution, d'où le nom Del (D-elute)[9].

La technique d'adsorption élution consiste à réaliser la fixation d'anticorps monoclonaux, IgG, anti D, sur des globules rouges avant de réaliser l'élution qui consiste à décrocher les anticorps fixés sur les globules rouges par incubation à 56°C [10]. Cette méthode est une référence dans un laboratoire ayant les moyens limités, mais les techniques de biologie moléculaire restent les plus sensibles et les plus efficaces pour révéler un vrai Rh Del.

Chez les Européens, environ 15 % des personnes sont des rhésus D négatif parmi lesquels l'incidence du phénotype Rh Del varie de 0,18 % à 0,88 %[11]. L'allèle RH Del le plus courant est le RHD (M295I) avec une fréquence de 1 : 272 chez les donneurs RhD négatifs [12]. Cependant aucun rapport d'immunisation sur cet allèle n'est disponible en notre connaissance [13]. Contrairement aux asiatiques où le groupe sanguin rhésus D négatif est de 0,1 % à 0,5 % du fait qu'environ 10 % à 30 % de la population de l'Est asiatique comme la Chine, le Japon et la Corée sont de phénotype Rh Del [14]. L'allèle RHD 1227G>A est la plus fréquente dans cette population, il est appelé Rh Del de type Asie[8]. Ce phénotype Rh Del a une fréquence de 1/110 dans la population chinoise[15] et de 1/9091 dans la population allemande[16]. Des rapports sur l'immunisation primaire et secondaire anti-D due au Rh Del incriminant l'allèle (1227G>A) a été signalé dans plusieurs études[17].

Dans les pays d'Afrique, 5 à 9 % des donneurs de sang sont des Rh D négatif [18], la prévalence des variants de RhD faible était de 0,7%, 4,5% et 6,45% respectivement décrite en Uganda[19], en Egypte[20] et au Ghana [21] mais il n'y a pas de données rapportées sur la fréquence du variant phénotype Rh Del. Cependant, au Maroc une étude donne une prévalence Rh Del de 0,94% [10].

A ce jour, au Mali se trouve une formidable population hétérogène, cependant les données en ce qui concerne la fréquence du phénotype Rh Del sont très peu disponibles. A partir de ces éléments, il nous a paru opportun de contribuer à combler ses lacunes en détectant par la méthode moléculaire spécifique et précise le phénotype Rh Del parmi les donneurs de sang déclarés RhD négatifs afin de prévenir l'allo-immunisation et les réactions transfusionnelles hémolytiques ultérieures.

2. OBJECTIFS

2.1 Objectif général

Caractériser le gène RH Del par la méthode de sérologie moléculaire dans la population des donneurs de sang RhD négatifs au Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) de Bamako.

2.2 Objectifs spécifiques

1. Déterminer les caractéristiques sociodémographiques des donneurs Rh D négatifs et Rh Del,
2. Déterminer la fréquence du phénotype Rh Del chez les donneurs de sang de rhésus négatifs au CNTS de Bamako par la technique d'adsorption-élution,
3. Déterminer la fréquence du phénotype RhCE chez les donneurs Rh Del par la technique sur plaque,
4. Rechercher la présence de l'allèle RHD 1227A par PCR chez les donneurs Rh Del.

3. GENERALITES

3.1 Groupes sanguins

Le groupe sanguin peut être défini comme un ensemble de variations allotypiques, génétiquement transmis et détectés par des anticorps à la surface de la membrane des globules rouges. Il permet de classer les individus, permettant une sécurité transfusionnelle. Différentes cellules sanguines portent des antigènes et il y a donc plusieurs sortes de groupes sanguins [22].

Découverts en 1900 par Karl Landsteiner [23], ces antigènes sont des substances mucopolysaccharidiques et peuvent être identifiés grâce à leurs anticorps spécifiques [24].

Les globules rouges portent plus de 600 antigènes de groupes sanguins, repartis en 36 systèmes différents parmi lesquels dans l'ordre chronologique de leur découverte : MNSs (1927) ; P (1927) ; Rh (1940) ; Lutheran (1945) ; Kell (1946) ; Lewis (1946) ; Duffy (1950) ; Kidd (1951)[25].

Certains systèmes par leurs antigènes sont extrêmement importants en transfusion et doivent être absolument respectés car ils sont capables de faire apparaître des alloanticorps qui sont à l'origine des incompatibilités transfusionnelles inter-humaines [26].

L'alloimmunisation est l'apparition d'anticorps contre les antigènes de groupe sanguin portés par les globules rouges transfusés que le receveur ne possède pas [17].

Le risque d'alloimmunisation dépend du nombre de transfusions, de l'état immunitaire du receveur, des différences antigéniques entre le donneur et le receveur [27].

Les plus importants en pratique sont les systèmes ABO et Rhésus (Rh) ensuite viennent le système Kell, le système Duffy et le système Kidd [28].

3.2 Système ABO

Le système ABO est le système majeur de l'immunologie transfusionnelle [29]. Il est le mieux connu des groupes sanguins, Les antigènes A et B sont très largement distribués dans la nature. A chacun de ces deux antigènes correspond un anticorps sérique [30].

Un sujet possède obligatoirement dans son sérum l'anticorps naturel dirigé contre l'antigène absent à la surface de ses hématies [31].

3.2.1 Antigènes du système ABO-Hh

Les antigènes A, B et H sont des oligosaccharides portés par des glycolipides membranaires des hématies mais aussi des cellules épithéliales et endothéliales[32]. L'expression de ces antigènes sur les hématies est contrôlée par deux locus distincts au niveau du bras long du chromosome 9 (9q34.2) [29]. Ces gènes codent pour des enzymes appelées glycosyl-transférases [33]. Ces deux systèmes génétiques fonctionnent sur un mode co-dominant, ce qui veut dire que la présence de deux allèles fonctionnels différents conduit à l'expression phénotypique de deux antigènes différents[34].

Le locus Hh sur le chromosome 19 présente deux variants alléliques : H et h. L'allèle H code pour une fucosyltransférase qui ajoute un fucose à l'extrémité terminale de la chaîne oligosaccharidique de base, formant l'antigène H. La synthèse ultérieure éventuelle des antigènes A et B nécessite la présence de cet antigène H. Il convient de noter l'extrême rareté de l'allèle h, gène amorphe, non fonctionnel [35].

L'allèle A code pour une N-acétyl-galactosamine-transférase qui lie un N-acétyl- galactosamine sur la substance H pour former l'antigène A [36] .

L'allèle B produit une D-galactose-transférase qui lie un D-galactose sur la substance H [23], [36]. Une délétion importante de la séquence codante rend l'allèle O non fonctionnelle avec absence de production d'enzyme active. A l'état homozygote, il conduit à l'absence d'antigène A ou B sur les hématies, correspondant au phénotype O. Les individus de groupe O possèdent une large quantité d'antigène H sur leurs hématies. Le système ABO se distingue par des sous-groupes. Les sous-groupes A sont plus fréquents que les sous- groupes B. Les deux principaux phénotypes du groupe A sont A1 et A2. Les globules rouges de A1 et de A2 réagissent fortement avec les réactifs anti-A dans les épreuves d'agglutination directes, A1 étant plus active que A2[30], [37]. Les sous-groupes B sont encore moins répandus que les sous-groupes A. De même que les sous- groupes A, les sous-groupes B ont peu d'intérêt transfusionnel [29].

3.2.2 Anticorps réguliers naturels

Les anticorps anti-A et anti-B, dirigés contre les antigènes du système ABO, sont des anticorps naturels réguliers, c'est à dire qu'ils existent de façon constante chez tout individu adulte qui ne possède pas le(s)antigène(s) A et/ou B, en dehors de toute stimulation antigénique [23]. Il s'agit

d'immunoglobulines de type M (IgM), retrouvés dès les premiers mois de vie (3-6 mois) en dehors de toute allo-immunisation apparente. Ils seraient en fait suscités par la flore bactérienne notamment la flore digestive (Enterobacteriaceae) dont les constituants comportent des motifs antigéniques voisins des antigènes A et B [32].

3.2.3 Anticorps immuns irréguliers

Il s'agit le plus souvent d'IgG. Ils apparaissent à la suite de stimulations antigéniques variées (des globules rouges étrangers) :

- Soit lors d'une allo-immunisation (grossesse ABO incompatible principalement : mère O, enfant A ou B par exemple) à noter que ces anticorps peuvent traverser la membrane placentaire.
- Soit lors d'une hétéro-immunisation, les substances A et B étant très répandues dans la nature notamment par produits médicamenteux, en particulier les vaccins et les sérums tels l'anatoxine diphtérique ou tétanique. Les anticorps immuns anti-A et/ou anti-B, le plus souvent présents chez des personnes de groupe O, doivent être connus en transfusion sanguine car ils définissent le donneur universel dangereux [38].

L'activité des anticorps immuns est telle qu'ils peuvent, lors d'une transfusion de sang total de groupe O à un receveur de groupe A par exemple, attaquer les hématies de ce dernier et les détruire, entraînant un accident hémolytique qui peut s'avérer fatal[39]. Ces composants ne doivent donc pas être transfusés à un malade autre que du groupe O[33]. De plus, la mention de la présence d'anticorps immuns doit figurer très nettement sur l'étiquette du produit sanguin. Il est possible d'identifier des anticorps immuns anti-B chez des sujets A et des anticorps immuns anti-A chez des sujets B. Ceci n'a d'intérêt que si les sangs A ou B sont destinés à la transfusion de personnes AB [38].

3.2.4 Application: les règles transfusionnelles [40]

Les anticorps naturels anti-A et anti-B ont un intérêt clinique particulier. En effet, un individu du groupe A transfusé par une poche de groupe B va produire des anticorps anti-B qui vont se fixer à la surface d'hématies du receveur A non compatibles. Ces anticorps sont capables d'induire une réaction d'hémolyse massive souvent mortelle. On comprend alors les lois de compatibilité ABO qui doivent absolument être respectées dans la transfusion de culots globulaires et des plaquettes.

Principe de base de la transfusion des globules rouges

- Un sujet de groupe O possède des anti-A et anti-B et ne peut être transfusé qu'avec des globules O.
- Un sujet de groupe A possède des anti-B et ne peut être transfusé qu'avec des globules A ou O.
- Un sujet de groupe B possède des anti-A et ne peut être transfusé qu'avec des globules B ou O.
- Un sujet de groupe AB ne possède pas d'anticorps naturels et peut être transfusé avec des globules A, B, AB ou O

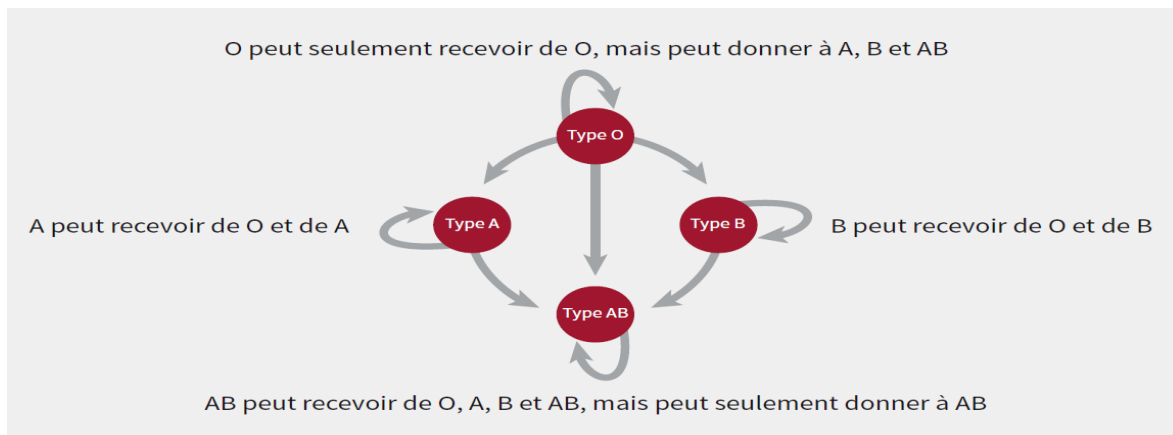


Figure 1: Règles transfusionnelles en cas de transfusion de globules rouges (transfusion compatible) [38].

Cependant ces règles transfusionnelles ne garantissent pas toujours une sécurité transfusionnelle, il faudrait qu'elles soient accompagnées des tests de compatibilité pré-transfusionnels. La détermination des antigènes membranaires et les anticorps respectifs fait appel aux deux épreuves contraires qui sont :

- **L'épreuve de Beth Vincent** : qui met en évidence les antigènes globulaires en utilisant des sérums tests connus anti – A, B, AB
- **L'épreuve de Simonin Michon** : mettant en évidence les anticorps plasmatiques en utilisant des globules tests connus.

Le principe de ces méthodes repose sur la technique d'agglutination.

3.3 Système Rhésus

Le système rhésus a été découvert en 1940 par Landsteiner et Wiener [19]. Le système rhésus est le système le plus immunogène et le plus polymorphe de tous les systèmes de groupes sanguins érythrocytaires connus chez l'homme après le groupe sanguin ABO [41]

C'est surtout l'extrême polymorphisme qui caractérise ce système. Certains accidents transfusionnels comme la maladie hémolytique du nouveau-né, par incompatibilité fœto-maternelle, les anémies hémolytiques par autoanticorps peuvent être dus aux conflits immunologiques provoqués par les antigènes rhésus.

Le système Rh regroupe plus de 50 antigènes parmi lesquelles figurent les antigènes D, C, c, E et e [41].

Les anomalies fonctionnelles et morphologiques des globules rouges (GR) présentant les protéines Rh (Rh_{null}) indiquent que les protéines Rh sont nécessaires à l'intégrité de la membrane du globule rouge pour lui conférer sa forme bi-concave et sa grande déformabilité.[42]

3.3.1 Les protéines Rh et le locus RH

- **Protéines Rh**

Les protéines RhD et RhCE sont composées chacune de 417 acides aminés[43]. Ce sont des protéines palmitoylées organisées en 12 domaines transmembranaires et exprimées au sein d'un complexe, « le complexe RH » [43]. L'étude des rares individus n'exprimant ni protéine RhD, ni protéine RhCE (phénotype Rh_{null}) a permis d'élucider en partie les fonctions des protéines Rh. En effet, tous les patients de phénotype Rh_{null} présentent, en plus d'anomalies d'expression de protéines membranaires (Rh, RhAG, LW, CD47, GPB), un syndrome clinique plus ou moins sévère caractérisé par une anémie hémolytique chronique, une fragilité osmotique, des anomalies morphologiques des globules rouges (stomato sphérocytose), des anomalies de transport des cations ainsi que de l'organisation des phospholipides membranaires [43]. Les individus n'exprimant que la protéine RhCE (phénotypes RhD-négatif) ou que la protéine RhD (phénotypes D-/-) ne présentent pas ce syndrome.

Le complexe Rh est un trimère de protéines RhAG (Rh-associated Glycoprotein) et Rh (RhD et RhCE) auquel sont associées, par des liaisons non-covalentes, les protéines accessoires CD47, LW et GPB[43]. Le complexe est stabilisé par des interactions impliquant les domaines amino- et

carboxy-terminaux des protéines Rh et RhAG et par leur association directe ou indirecte au cytosquelette [44]. En absence de RhAG, le complexe RH n'est pas exprimé à la membrane, ce qui, en perturbant l'organisation du cytosquelette, explique les anomalies morphologiques observées chez les individus Rh_{null}. Les protéines Rh, la bande 3 (AE1, ammonium exchanger 1) et l'ankyrine forment un macro-complexe membranaire constitutif qui régule le transport de HCO₃ - voire de NH₄ + [44].

- **Locus RH**

En 1986 Tippett propose le modèle d'un locus unique contenant un gène RHD codant l'antigène RhD et un gène RHCE codant les antigènes RhC, RhE, Rhc et Rhe (Tippett, 1986). Ce modèle sera conforté par des études de Southern blot[45] et définitivement validé après transfection des transcrits RHD et RhCE dans des cellules K562 (Smythe et al., 1996). Le locus RH est situé sur le chromosome 1 (1p34.1-1p36), les deux gènes qui présentent 98.6% de similarité sont orientés en tandem inversé et séparés par le gène SMP1. Les gènes RHD et RHCE sont composés chacun de 10 exons et leur structure exon-intron est très proche (Okuda et al., 2000). Le gène RHD est flanqué de deux boîtes Rhésus, fortement homologues (figure II).

Le haut degré d'homologie et l'orientation opposée des deux gènes favorisent la production de nombreux variants Rh. En gros, les variantes Rh sont classées comme D faible, D partiel et Del [46]

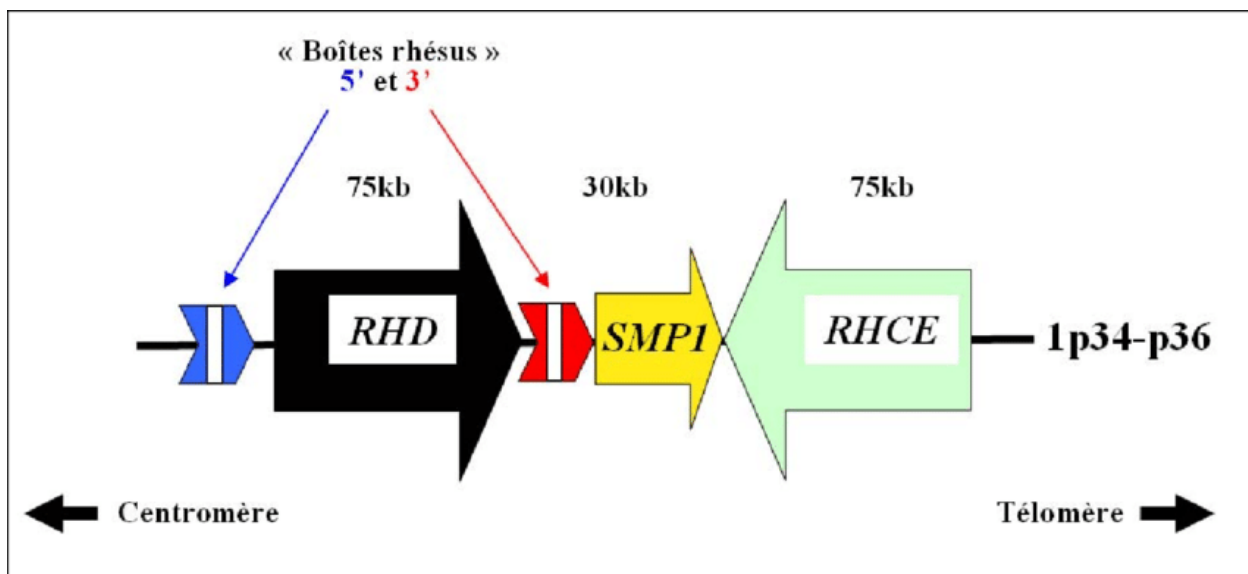


Figure 2 : Organisation du locus RH sur le chromosome 1

Le locus RH est composé de deux gènes RHD et RHCE orientés en tandem inversé qui comprennent chacun 10 exons [47].

3.3.2 Polymorphisme associé aux phénotypes RhD positif et RhD négatif

Le phénotype RhD positif est caractérisé par l'expression de l'antigène RhD alors que le phénotype RhD négatif est caractérisé par son absence. Dans les populations d'origine européenne, le phénotype RhD négatif est presque exclusivement lié à une délétion du gène RHD à l'état homozygote [45]. Cette délétion est le résultat d'une recombinaison entre les deux boîtes Rhésus produisant une séquence hybride, la boîte Rhésus hybride (Wagner and Flegel, 2000). Ainsi, les sujets RhD positifs peuvent être homozygotes ou hémizygotés pour le gène RHD. Des allèles RHD silencieux présentant des polymorphismes non-sens ou des altérations ou des insertions/délétions d'une base ont également été décrits chez quelques sujets d'origine européenne, mais ces cas sont très rares [48].

3.3.3 Polymorphismes des antigènes RhC/c, RhE/e

Les quatre allèles RHCE (RHCE*Ce, RHCE*cE, RHCE*ce, RHCE*CE) se distinguent par un ou plusieurs SNPs localisés dans les exons 1, 2 et 5 (Figure III). D'un point de vue moléculaire, l'expression de l'antigène RhC est liée à une conversion génique de l'exon 2 du gène RHD dans le gène RHCE, et présente une insertion de 109 pb dans l'intron 2 de l'allèle RHCE*C. Cette insertion spécifique est considérée comme la signature moléculaire de l'allèle RHCE*C[48]. L'antigénicité RhE/e est codée par un seul polymorphisme dans l'exon 5 du gène RHCE : 676G>C (Ala226Pro).

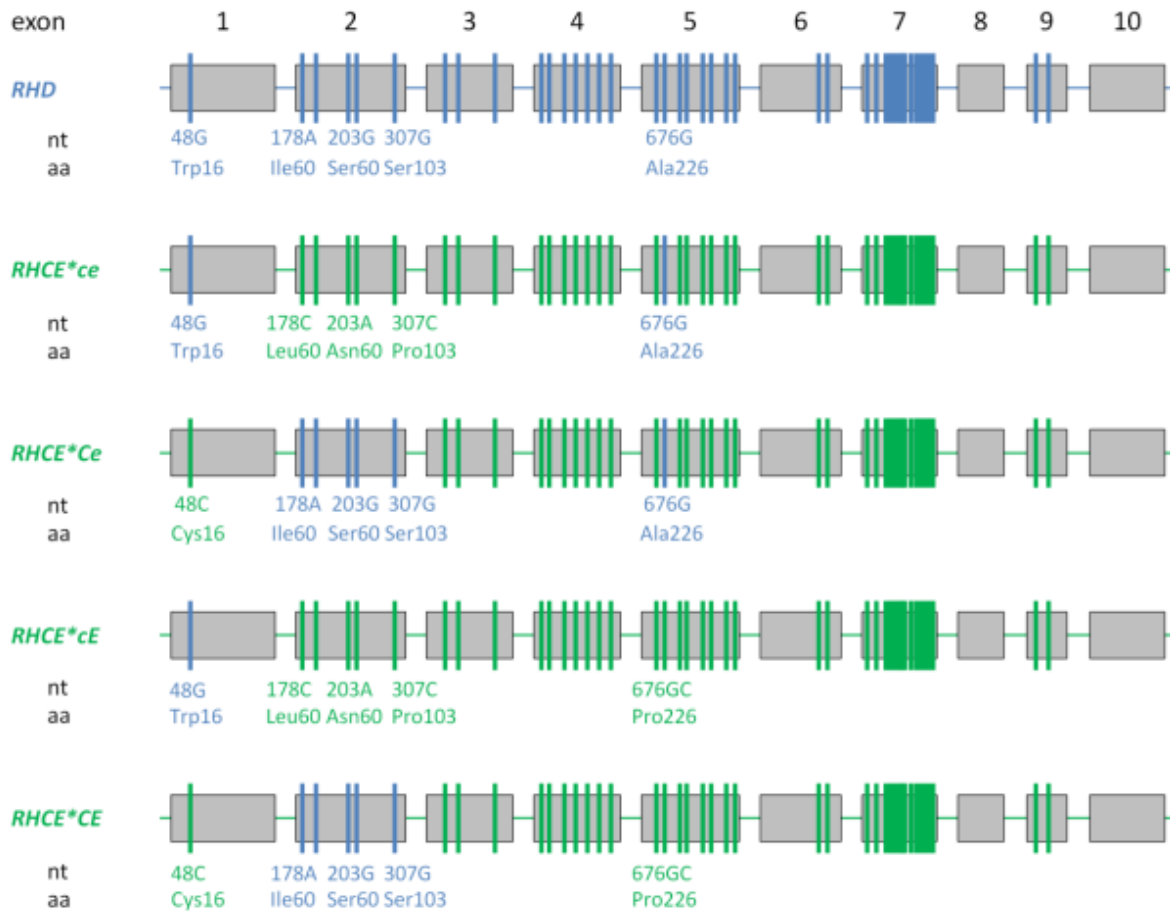


Figure 3 : Représentation du gène RHD et des allèles RHCE.

Les 10 exons sont représentés par les rectangles, les traits représentent les polymorphismes qui distinguent le RHD (en bleu) du RHCE (en vert). Les polymorphismes faux-sens impliqués dans les différents allèles sont notés en dessous. nt, nucléotide; aa, acide aminé.

3.3.4 Classification moléculaire des phénotypes Rh

Les allèles RHD ont été classés sur la base de leur relation phénotypique à la variation moléculaire on distingue donc le RhD partiel, le RhD faibles et le Rh Del[34].

- **Rh D partiel**

La classification des variants D partiels est basée sur la prémisse que certaines substitutions d'acides aminés sur une boucle extracellulaire affectent les épitopes D linéaires ou, plus souvent,

la conformation tridimensionnelle de cette boucle [9]. De nombreux RhD partiels sont identifiés à l'aide d'anticorps monoclonaux qui ciblent les domaines ou boucles spécifiques à la surface de l'érythrocyte[49].

Les catégories de RhD (de Rh DII à Rh DVII) représentent un sous-ensemble de D partiel dont le Rh DII et le Rh DVII sont causés par une seule substitution d'acides aminés, tandis que Rh DIII, Rh DIV, Rh DV et Rh DVI sont causées par des allèles hybrides RHD-CE-D et comprennent plusieurs sous-types chacun [9].

La classification en RhD partiel est d'ordre clinique pertinente parce que les porteurs produisent souvent de l'anti-D après exposition à l'antigène D normal [50] .

Cependant, pour de nombreux donneurs de sang RhD partiel, les événements d'immunisation sont apparemment rares, et pour plusieurs RhD il n'y a eu aucune observation de patient avec anti-D jusqu'à présent [9]. Ces faits sont compatibles avec la conclusion selon laquelle les donneurs de sang porteurs de plusieurs D partiels distincts peuvent être à un niveau très bas de risque d'immunisation anti-D.

- **RhD faible**

Un type RhD faible est un variant de la protéine RhD qui comprend une substitution d'acides aminés située dans les segments transmembranaires ou intracellulaires et exprime une quantité réduite d'antigène D (généralement moins de 5000 D antigènes par GR) [51].

Un groupe de 16 types D faibles distincts ont été décrites à l'origine, mais le nombre total de D faibles types, y compris leurs sous-types, dépasse maintenant 80 [9].

On pense que les substitutions causent des problèmes de repliement lors de l'intégration de la protéine dans la membrane érythrocytaire, ce qui peut entraver l'intégration des protéines, affectant l'ancrage du polypeptide au cytosquelette du globule rouge [44].

Par conséquent, la quantité d'antigène D exprimée sur la surface des globules rouges est quantitativement réduite, mais l'antigène D lui-même reste, dans l'ensemble, qualitativement inchangé [52], [53].

L'immunisation anti-D chez les transfusés porteurs faibles de D est rare, mais il y a des exceptions : les exemples incluent le type D faible 15, type D faible 4.2 également connu sous le nom de DAR,

et type D faible 7[54], [55]. Les types D faibles 1, 2, 3 et 4.0/4.1, qui sont les plus répandus dans toutes les populations européennes et caucasiennes, représentent plus de 95 % de tous les types D faibles [9]. À ce jour, plusieurs années après leur description moléculaire, la littérature n'a documenté en notre connaissance aucun porteur de types D faibles 1 à 4.1 étant allo-immunisés et produisant des allo anti-D[9].

- **Rh Del**

Un antigène D très faiblement exprimé est appelé Del car il n'a été détecté à l'origine que si l'antigène D était adsorbé puis élué des globules rouges [10]. En règle générale, les globules rouges avec Rh Del expriment 200 copies ou moins de l'antigène D par globule rouge [9].

Le Rh DEL le plus courant est causé par l'allèle RHD (RHD G1227A ou RHD*DEL1) hébergeant la substitution de nucléotide G à la position 1225 en A dans l'exon 9 avec un gène RHD globalement intact [47]. Parce qu'il est très répandu chez les Asiatiques RhD négatifs, il a été surnommé le Del de « type asiatique » [56]. Cette substitution est un polymorphisme mononucléotidique (SNP) silencieux, c'est-à-dire l'acide aminé lysine (K) en position 409 reste inchangé [9]. Cependant, la substitution provoque un mauvais épissage de l'ARNm tel que l'ARNm complet n'est pas traduit et représente tout au plus une forme mineure d'ARN transcrit pour traduction [48].

D'autres allèles Del ont des changements moléculaires sous-jacents qui provoquent des effets plus prononcés que dans le D faible et entravent fortement mais n'abrogent pas complètement l'intégration membranaire [47]

Une étude a suggéré que les phénotypes Del pourraient être subdivisé en deux groupes, le Rh Del partiel avec perte caractéristique de l'épitope D causée par RHD-CE-D qui sont des gènes hybrides ou une mutation ponctuelle RHD comme porteur de RHD (IVS3 + 1G > A) affectant les boucles RhD extracellulaires et le Rh Del complet où la majorité des épitopes D sont conservés tels que RHD1227A [57].

De plus, les allèles Del peuvent provoquer des divergences génotype-phénotype et doivent être pris en compte par les méthodes de génotypage des groupes sanguins [58].

Le phénotype Rh Del est d'intérêt mondial en raison de son potentiel à provoquer une allo-immunisation anti-D lorsque le sang Rh Del-positif des donneurs sont étiquetés par inadvertance comme D négatifs [59].

Les techniques sérologiques de routines classent le phénotype Rh Del comme étant des Rh D négatifs, seule la technique d'adsorption élution permet de détecter Rh Del [10].

La technique d'adsorption élution consiste à mettre en contact les globules rouges soupçonnés avec des anticorps monoclonaux Ig G dirigés contre l'antigène D (Anti-D) dans des tubes (c'est la phase d'adsorption) [60]. Plusieurs techniques peuvent être utilisées pour l'élution. : Soit thermodynamiques (chaleur à 56°C, congélation-décongélation) ou physico-chimiques (diminution du pH, solvants organiques : éther ou xylène) [61]. Cette technique permet de remettre en solution un ou des anticorps fixés sur des hématies. L'éluât ensuite récupérer pour un test de coombs indirecte ou test indirect à l'antiglobuline [61]. Cette méthode repose sur la mise en évidence de la sensibilisation *in vitro* des hématies grâce à l'utilisation d'une antiglobuline humaine anti-IgG ou polyspécifique (anti-IgG + anti -C3d) (Wang et al., 2009). L'éluât est déposé dans la chambre d'incubation au sommet de la colonne dans laquelle se trouve des hématies tests (des hématies exprimant l'antigène RhD à sa surface et utilisé comme test de révélation de la présence de l'anticorps dans l'éluât). Pendant la phase d'incubation à 37°C, les éventuels anticorps présents dans l'éluât peuvent se fixer sur leur cible antigénique présent sur les hématies test [4]. Les réactions sont réalisées en milieu de basse force ionique (LISS ou BFI) qui facilite l'accessibilité des antigènes et accroît la rapidité de fixation des anticorps[60].

Les unités de sang offertes par ces donneurs Rh Del présente un risque certain pour les receveurs car l'antigène D est hautement immunogène et le développement des anti-D est associé à un risque accru de maladie hémolytique du fœtus ou du nouveau-né et de réactions hémolytiques post-transfusionnelles retardées (Wang et al., 2009).

Dans un rapport de cas, une allo-immunisation anti-D secondaire chez une femme ayant reçu une transfusion de sang *RHD 1227A Del* est rapporté au Japon [17], et plus récemment, on a observé une primo immunisation allo-anti-D chez un homme coréen de 68 ans qui a été transfusé avec des globules rouges Del « de type asiatique », [62].

Même combinés, tous les phénotypes Del sont rares chez les Européens [53] . Jusqu'à 30 % des personnes d'Asie de l'Est apparemment D négatives portent le Del [51].

Actuellement parmi les donneurs de sang Rh D négatifs ; La fréquence de Rh Del est méconnue au Mali. Cependant ; lorsque des individus Rh négatifs reçoivent du sang RhD positif, jusqu'à 80% d'entre eux engendrent un allo anticorps (Wang et al., 2009).

4. MATERIEL ET METHODES

4.1 Site d'étude

4.1.1 Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) :

Le CNTS à servit de lieu pour la collecte des échantillons et l'analyses sérologiques.

Les tests sérologiques ont concerné le test de groupage ABO, le test d'adsorption/élution et le test de phénotypage RhCE. Ces tests sont décrits dans la méthodologie.

4.1.1.1 Description du CNTS

Le CNTS est situé en commune II du district de BKO dans le quartier de Quinzambougou sur la rue ACHKABAD et contiguë au CFTQ (Centre de Formation Technique de Quinzambougou). Une permanence de 24 heures sur 24 est assurée.

CREATION ET MISSIONS DU CNTS

Le CNTS a été créé par l'ordonnance N°00-041/P-RM du 20 Septembre 2000.

C'est un Etablissement Public à caractère Scientifique et Technologique (EPST) à ce titre il jouit d'une autonomie administrative et financière.

Il a pour mission de collecter, conditionner, et conserver le sang humain total et ses dérivés : les concentrés de globules rouges (CGR), les concentrés de plaquettes (CP), le plasma frais congelé (PFC), en vue de les distribuer aux établissements sanitaires publics et privés qui en expriment le besoin.

Il est chargé aussi de : Sensibiliser, recruter, et fidéliser les donneurs de sang ;

Effectuer des analyses biomédicales et des expertises médico-légales ;

Réaliser des études et des recherches dans le domaine de sa compétence ;

Participer à la formation universitaire des étudiants et stagiaires ainsi qu'à la formation continue de son personnel.

ORGANISATION DU CNTS :

LES ORGANES DIRIGEANTS :

Le CNTS comprend trois (3) organes dirigeants que sont :

- Le Conseil d'Administration ;
- La Direction Générale ;
- Le Comité Scientifique et Technique.

INFRASTRUCTURES :

Le bloc administratif se compose :

- De la Direction ;
- De la Comptabilité ;
- Du Secrétariat.

Le circuit du don qui se compose de :

- Unité d'accueil ;
- La Sélection médicale ;
- Unité de prélèvement des donneurs de sang ;
- La Salle de Collation.

Le Bloc pour la qualification du don qui se compose de :

- Unité d'Immuno-hématologie ;
- Unité de dépistage des maladies transmissibles
- Unité de préparation des produits sanguins labiles ;
- Unité de distribution des produits sanguins labiles ;
- Unité d'Hématologie ;
- Unité de Biochimie.
- Unité de distribution des produits sanguins labiles ;
- Unité d'Hématologie ;
- Unité de Biochimie.

ORGANISATION DE L'EQUIPE DE DIRECTION/ COMITE DE GESTION

Le Comité de Gestion du Centre National de Transfusion Sanguine est chargé de :

Assister le Directeur Général dans ses prérogatives techniques, administratives et financières ; les banques de sang hospitalières de Bamako ;

Appuyer les Antennes régionales de transfusion sanguine dans l'accomplissement de leurs missions.

Le Comité de Gestion du Centre National de Transfusion Sanguine fût créé par la décision N° 004/MS-SG-CNTS du 19 Août 2011 avec pour mission d'assister le Directeur Général dans la gestion de ses tâches. Il comprend entres autre :

- Le Directeur Général,
- Le Directeur Général Adjoint ;
- Le Chef de Département Administration Générale ;
- L'Agent Comptable ;
- Le Chef de Département Laboratoire ;
- Le Chef de Département Promotion, Collecte ;
- Le Chef de département Préparation, Conservation et Distribution des PSL
- Le Chef de Département Recherche et Formation ;
- Le Responsable Assurance Qualité ;
- Le Surveillant ;
- Les Chefs de Service.

4.1.2 Centre Universitaire de Recherche Clinique

L'UCRC a servi de cadre pour la réalisation des tests moléculaires.

Les tests moléculaires ont concerné l'extraction d'ADN, la PCR classique et la visualisation sur gel d'agarose. Ces tests sont décrits dans la méthodologie.

4.1.2.1 Description de l'UCRC

Le laboratoire SEREFO (Centre de Recherche et de Formation sur le VIH et la Tuberculose, actuel UCRC) a été inauguré le 6 mars 2006, fruit d'un partenariat conjoint entre le Ministère de la santé et des affaires sociales et celui de l'éducation, de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique du Mali à travers l'Université des Sciences, des techniques et des technologies de Bamako (USTTB) du côté malien et de l'Institut national des maladies allergiques et infectieuses (NIAID) des États-Unis d'Amérique. Les laboratoires SEREFO font désormais partis du programme de recherche clinique de l'université appelé Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC) depuis 2015.

Ce centre de recherche possède plusieurs unités :

- Unité de Core-Immunologie (Immunologie et hématologie de base),
- Unité de biologie clinique,
- Unité du laboratoire de biosécurité de niveau 3 certifié (BSL-3).
- Unité de Biologie Moléculaire et génomique

Le laboratoire Immunologie et hématologie de base

Il a en son sein des cymomètres de flux et des chaînes ELISA complètes. Ce laboratoire conduit des études complexes visant à mieux comprendre la pathogénie de la maladie, explore le système immunitaire et conduit des évaluations de nouveaux vaccins contre le paludisme et la maladie à virus Ebola.

Le laboratoire certifié Biosafety level-3 (BSL-3)

C'est un laboratoire de Biosécurité de Niveau 3 (BSL-3) permettant la manipulation de pathogènes hautement dangereux (infectieux). IL est certifié annuellement par des structures habilitées pour les normes Internationales de sécurité microbiologiques depuis 2006. C'est un des premiers

laboratoires de niveaux de sécurité 3 dans la sous-région francophone. Elle a conduit le diagnostic des cas suspects de la maladie à virus Ebola du Mali et certains pays tels que la Guinée. Il a joué un rôle clé dans la riposte contre l'épidémie ouest africaine (2014-2015) de la maladie à virus Ebola et a été le premier laboratoire pour le diagnostic des patients suspects de COVID-19 au Mali jusqu'à diagnostiquer les premiers cas positifs du Mali en mars 2020.

Le laboratoire de Biologie Moléculaire et génomique

Le laboratoire de biologie moléculaire est un laboratoire de Biosécurité de Niveau 2 (BSL-2), composé de plusieurs appareils de dernière génération à savoir un extracteur automatique QIAcube Connect MDx ; des spectrophotomètres comme le nanoDrop One C; des systèmes d'électrophorèses et l'appareil Enduro™ GDS Touch II qui est un Transilluminateur UV pour la visualisation des gels d'électrophorèse ; un ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument, QIAquant 96 5plex et LightCycler 480 II pour la PCR en temps réel ; des Thermo-cycler pour la PCR classique ; en plus, il possède de nombreux séquenceurs comme ABI 3500 et ONT MinIon MK1C. En plus du diagnostic moléculaire des maladies émergentes, on peut y faire le typage des souches de mycobactéries isolées dans le BSL-3 en vue d'établir l'épidémiologie moléculaire de la tuberculose au Mali et conduit le diagnostic les fièvres hémorragiques, le nouveau coronavirus et beaucoup de maladies émergentes après inactivation dans le BSL-3. On peut y faire également tous les tests de caractérisation génotypique des êtres vivants.

4.2 Période d'étude

Cette étude s'est déroulée sur une période de 11 mois, de janvier à novembre 2022.

4.3 Type d'étude

Il s'agissait d'une étude prospective descriptive transversale qui portait sur le génotype Rh D des donneurs Rh Del dans la population des donneurs de sang de rhésus RhD négatifs au centre national de transfusion sanguine de Bamako (Mali).

4.4 Population

L'étude a concerné tous les donneurs de sang rhésus D négatifs se présentant au centre national de transfusion sanguine de Bamako (CNTS) durant la période d'étude.

4.5 Taille de l'échantillon

En fixant la précision à 1% et l'intervalle de confiance à 95% ($\alpha=5\%$), sachant que dans une étude réalisée au Maroc la fréquence était de 0,94% en 2014[10].

$P=0,0094$; $Q=1-P$ donc $Q=0,9906$; $i=0,01$ et $Z=1,96$.

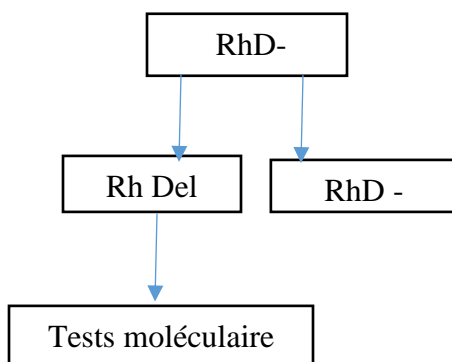
La formule (basée sur la précision): si population infinie ou grande

$$n = \frac{Z^2 P Q}{i^2}$$

- P : proportion attendue dans la population (à partir d'une étude pilote)
- Z : valeur dépendante du risque d'erreur α choisi ($Z=1,96$ pour $\alpha=5\%$) ;
- i : la précision voulue ;
- n : taille de l'échantillon ;

La taille de l'échantillon était de 360 donneurs de sang RhD négatifs.

Après la technique d'adsorption/élution, les donneurs de sang qui se sont révélés Rh Del positifs ont été soumis aux différents tests moléculaires.



4.6 Critères d'inclusion

- Donneurs de sang rhésus D négatif après réalisation du test de groupage ABO-Rh
- Donneurs de sang ayant entre 18-60 ans, un poids supérieur ou égal à 55 kg et qualifié par la sélection médicale.
- Candidats ayant donné leur accord sur le consentement éclairé.

4.7 Critères de non inclusion :

- Donneurs de sang RhD positifs après méthode de confirmation du Rhésus négatif.
- Donneurs n'acceptants pas de prendre part à l'étude.

4.8 Echantillonnage

Nous avons réalisé un prélèvement sanguin sur un tube EDTA pour chaque participant inclus dans l'étude. Ce dernier ; après différentes centrifugations nous a permis d'obtenir le sérum pour les tests sérologiques et moléculaires.

4.9 Collecte des données

Les données sociodémographiques ont été collectées à l'aide d'une fiche d'enquête préétablie et saisies sur Microsoft Excel.

4.10 Matériel

Tableau I: Equipements et réactifs

Equipements	Réactifs
Tubes Eppendorf 1,5ml	One Taq
Tubes PCR	
Embouts 20ul, 200ul et 1000ul	Water Molecular grade
Pipettes 20, 200 et 1000	Tris Acetate EDTA (TAE) 1X
Thermocycleur Veriti Pro	Gel red
Balance	Loading dye
Bac a électrophorèse	Marqueur de taille
ENDURO™ GDS TOUCH II	Poudre d'agarose
Nanodrop One C	Anti D
Tubes EDTA	
Aiguilles de 18G chez les adultes	
ID- Incubateur de 37 SII	
ID- Centrifuge 24 S	

4.11 Méthodes

➤ Les tests sérologiques

Les analyses sérologiques ont concerné :

- **Le test de groupage ABO Rh sur plaque opaline**

Ce test consiste à déposer 4 (quatre) gouttes de sang sur une plaque opaline et ajouter des anticorps spécifiques à l'antigène recherché puis observer les agglutinations.

- Présence agglutination : présence de l'antigène recherché
- Absence d'agglutination : absence de l'antigène recherché

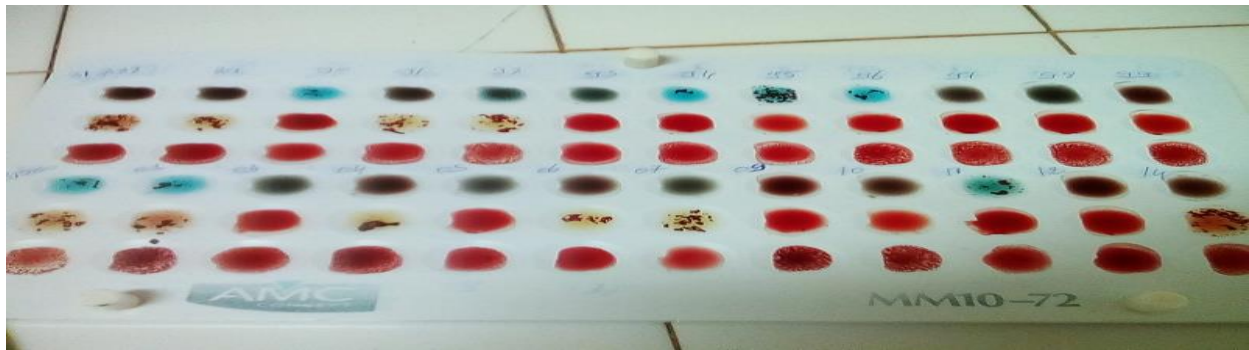


Figure 4 : Image de plaque groupage

Les échantillons présentant une réaction négative pour la présence de l'antigène D par le test indirect à l'anti-globuline sont ensuite soumis à un test de phénotypage Rh Del par adsorption et élution.

- **Le test d'Adsorption/élution [10]**

Après confirmation du statut RhD négatif par la méthode sérologique, la méthode d'adsorption/élution consistait à incuber 200 mL de globules rouges pendant 1 heure à 37°C avec 200 mL d'anticorps monoclonaux IgG anti-D. Les cellules étaient ensuite lavées au moins six fois et l'éluât préparé par incubation à 56°C. Les éluâts (ou surnageants du dernier lavage) ont été utilisés pour le test de Coombs indirect contre les hématies du panel d'identification RhD positifs et RhD négatif. La technique d'agglutination sur colonne qui était utilisée consistait à mettre 25

mL d'éluât et 50 mL de 1 % des hématies du panel dans le LISS (milieu de basse force ionique) modifié dans la carte LISS/Coombs, puis l'incuber à 37°C pendant 15 minutes, centrifugé à 1030 tours/minute pendant 10 minutes, et lire l'agglutination. L'interprétation des résultats :

- Présence agglutination : Rh positif
- Absence d'agglutination : Rh négatif

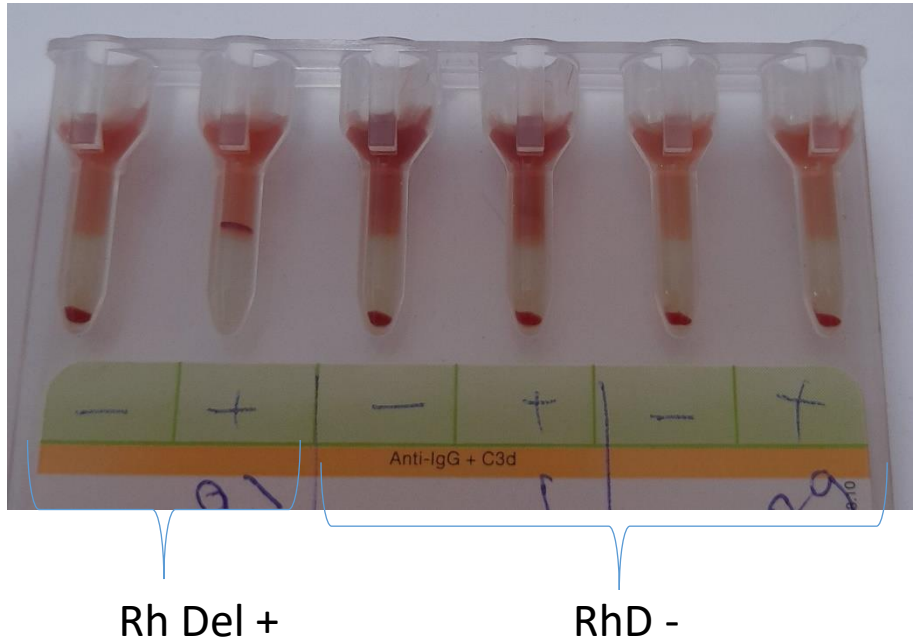


Figure 5 : Image de carte LISS/Coombs.

Les deux premiers puits représentent un échantillon Rh Del positif (le premier puit est un contrôle avec des hématies RhD négatif et le deuxième puit contient l'hématie test (ou RhD positif) qui montre une agglutination. Les quatre autres puits représentent 2 échantillons RhD négatifs.

- **Méthode de typage Rh CE sur plaque opaline : [27]**

Le typage RhCE correspondait à la recherche des produits d'expression des gènes de groupes sanguins (antigènes) à la surface des hématies.

Déposer 4 gouttes de sang sur une plaque opaline et ajouter une goutte d'anti-C sur la première goutte, une goutte d'anti-c sur la deuxième goutte, une goutte d'anti-E sur la troisième goutte, une goutte d'Anti-e sur la dernière goutte.

Mélanger les gouttes avec le bout d'un tube en prenant soin de nettoyer le bout du tube après chaque mélange puis effectuer un mouvement de rotation sur la plaque pendant 2 à 3 minutes et faire la lecture.

- Présence agglutination : Rh positif
- Absence d'agglutination : Rh négatif

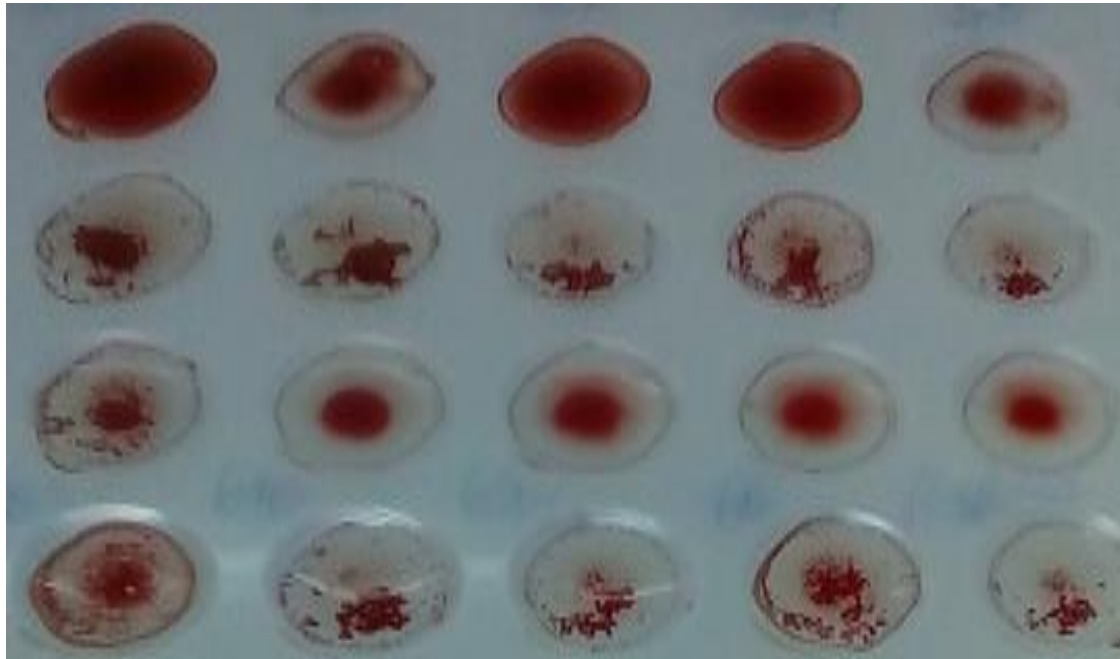


Figure 6 : Image d'une plaque de phénotypage RhCE.

➤ **Test moléculaire**

- **Extraction du matériel génétique**

Les échantillons positifs au test adsorption/élution ont été collectés pour extraire l'ADN à partir du kit d'extraction Qiagen QIAamp DNA Mini à partir du sang total prélevé sur un tube EDTA en même temps que le prélèvement de la poche de sang et conservé à -20°C. L'ADN était élué dans un volume final de 100µl de tampon d'élution (AE) en suivant les instructions du fabricant. L'ADN extrait a ensuite été dosé pour déterminer la concentration et l'absorbance avec le NANODROP ONE C. L'ADN a été conservé à -80°C jusqu'à son utilisation.

- **Amplification par PCR du gène RHD**

La PCR, *Polymerase Chain Reaction* ou réaction de polymérase en chaîne est une technique d'amplification enzymatique permettant d'obtenir un grand nombre de copies identiques du fragment d'intérêt.

Les 10 exons du gène RhD et l'allèle RhD 1227A ont été amplifiés par PCR classique en utilisant le kit One Tag 2X mastermix de BioLabs (Tableau III). Les amorces sens et antisens ont été préalablement diluées pour obtenir une concentration d'amorce de 10µM. Le programme d'amplification est résumé dans le tableau IV. La température d'hybridation de chaque couple d'amorces était adaptée au programme d'amplification, pour l'exon 1 et l'exon 5 (30 cycles de 94°C pendant 20 secondes et 45°C pendant 30s pour l'hybridation). Celle des exons 2, 4, 6, 8, 9, 10 et RhD 1227A était de 50°C pendant 30 secondes et pour l'exon 3 et 7 s'était de 53°C pendant 30 secondes. L'appareil Veriti PRO a été utilisé pour les variations de températures.

Tableau II : Amorces utilisées pour les analyses PCR

Amorces	Séquence 5' to 3'	Spécificité
E1-s	ATGCCTGGTGCTGGTGGGA	RHD/CE
E1-a	ATTTGCTCCTGTGACCACTT	RHD
E2-s	TGACGAGTGAAGCTCTATCTCGAT	RHD
E2-a	GGATTCCTTGTGATACACGGAGTAG	RHD
E3-s	GTCGTCCTGGCTCTCCCTCTCT	RHD
E3-a	CTTTTCTCCCAGGTCCCTCCT	RHD/CE
E4-s	GCCGACACTCACTGCTCTTAC	RHD/CE
E4-a	TGAACCTGCTCTGTGAAGTGC	RHD
E5-s	TACCTTTGAATTAAGCACTTCACAG	RHD
E5-a	TTATTGGCTACTTGGTGCC	RHD
E6-s	CAGGGTTGCCTTGTTCCCA	RHD/CE
E6-a	CTTCAGCCAAAGCAGAGGAGG	RHD
E7-s	TGCCCATCCCCCTTGGTGGCC	RHD
E7-a	CCAAGGTAGGGGCTGGACAG	RHD
E8-s	GGTCAGGAGTTCGAGATCAC	RHD
E8-a	TGGCAATGGTGGGAAGAAAG	RHD/CE

E9-s	CTGTCGTTTTGACACACAATATTTTC	RHD
E9-a	CACGTTAATAGGTGAAAAATCTTACC	RHD
E10-s	CAAGAGATCAAGCCAAAATCAGT	RHD/CE
E10-a	AGCTTACTGGATGACCACCA	RHD
RHD1227-s	GATGACCAAGTTTTCTGGAAA	RHD1227A
RHD1227-a	CATAAACAGCAAGTCAACATATATACT	RHD

s: sens, a: antisens.

Tableau III: Le mélange réactionnel pour la PCR

Réactif	Quantité N=1
One Taq 2X	12,5µl
H ₂ O	5,5µl
Amorce sens (10µM)	1µl
Amorce anti sens(10µM)	1µl
ADN	5µl
Volume final	25µl

Tableau IV: Programme d'amplification

Caractéristiques	Température	Temps	Cycles
Dénaturation	94°C	1mn	1X
Amplification (T _m adapté selon l'exon)	94°C	20sec	30X
	T _m	30sec	
	68°C	2min	
Elongation	68°C	5min	1X

Le T_m ou température moyenne est adaptée selon l'exon (Exon 1 et 5 : T_m= 45 °C ; Exon 2, 4, 6, 8, 9, 10 et RHD 1227A : T_m= 50°C et Exon 3 et 7 : T_m= 53°C).

- **Electrophorèse et visualisation des bandes sur gel d'agarose**

- **Préparation du gel d'agarose**

Un gel d'agarose à 1% a été préparé en pesant un gramme (1g) d'agarose qui a été dissout dans 100ml de tampon Tris acétate EDTA (TAE), ce mélange a été porté à ébullition grâce à un four micro-onde pendant 1-2 minutes afin d'obtenir un mélange homogène. Ce mélange était ensuite versé dans un moule contenant des peignes. Ceci est ensuite retiré du gel refroidit laissant place à des puits dans lesquels sont logés les échantillons (les produits PCR) pour l'électrophorèse

- **Electrophorèse**

Le tampon TAE est utilisé comme solution de migration dans la cuve, le gel doit être tout juste recouvert (environ 1mm au-dessus du gel).

Le Gel Red s'intercale dans l'ADN double brin puis émet une fluorescence lorsqu'il est excité par la lumière UV et le Loading Dye qui est un colorant de chargement de l'ADN. Les deux réactifs sont utilisés pour loger les produits PCR dans les différents puits.

Soit → 4ul de gel red + 2ul loading dye + 5ul de produit PCR (amplicons)

Un marqueur de taille de 100 pb a été logé pour mesurer la taille des bandes obtenues.

Les molécules d'ADN chargées négativement sont ensuite soumises à un champ électrique avec 160 volts et 400 A.

- **Interprétation des résultats**

Les amplicons (produits PCR) ont été visualisés et photographiés sous la lumière ultraviolette (UV 260) avec l'appareil ENDURO™ GDS TOUCH II.

4.12 Analyse des données

Les données sociodémographiques ont été collectées à partir d'un registre et saisies sur Microsoft Excel. L'ensemble des analyses statistiques était effectué avec le logiciel IBM® SPSS®. La prévalence était estimée avec un intervalle de confiance de 95%. Une relation potentielle entre les caractéristiques et le phénotype Del a été estimée avec le test Chi2 de Pearson et les bandes ont été observées sur le gel d'agarose à 1%.

4.13 Considération éthique

Tous les participants ont été informés sur les objectifs et le déroulement de l'étude avant les prélèvements. Une fiche de consentement libre et éclairé et/ou d'assentiment a été signée par chaque patient avant d'être enrôlé dans l'étude.

La pertinence scientifique du travail a été approuvée par le comité scientifique et technique du centre national de transfusion sanguine et l'étude a été approuvée par le comité d'éthique de la faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie du Mali sous le numéro d'approbation N° 2021/58/CE/USTTB.

5. RESULTATS

5.1 Données sociodémographiques des donneurs de sang

Les échantillons sélectionnés pendant notre étude ont suivi une sélection selon un cheminement précis. Le nombre d'échantillons initialement était de 365 donneurs de sang RhD négatifs du Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) de Bamako. Les résultats obtenus étaient comme suit :

Tableau V : **Caractéristiques sociodémographiques des donneurs de sang RhD négatif selon le sexe, l'âge et l'ethnie**

N=365	RhD -	RhD- %
Sexe		
Masculin	330	90,4
Féminin	35	9,6
Age (année)		
18-25 ans	101	27,7
26-39 ans	193	52,9
40-57 ans	71	19,5
Ethnie		
Bambara	115	31,5
Peulh	50	13,7
Malinke	49	13,4
Sarakole	31	8,5
Sonhrai	26	7,1
Kassonke	18	4,9
Dogon	18	4,9
Bwa	15	4,1
Miangua	12	3,3
Tamacheck	8	2,2
Senoufo	8	2,2
Bozo	3	0,8
Autres	12	3,3

Le sexe masculin était prédominant dans nos échantillons avec environ 90,4% avec un sex-ratio (sexe masculin sur féminin) de 9,4. La tranche d'âge majoritaire était celle des 26-39 ans (52,9%). L'ethnie la plus représentée était des Bambaras avec 31,5% comme fréquence.

5.2 Données analytiques

➤ Tests sérologiques :

- Répartition des donneurs Rh Del + parmi les RhD négatif

Au total 365 donneurs de sang Rh négatif ont été soumis au test d'absorption élution. La répartition des phénotypes Rh Del et RhD négatifs sont représentés dans le camembert suivant :

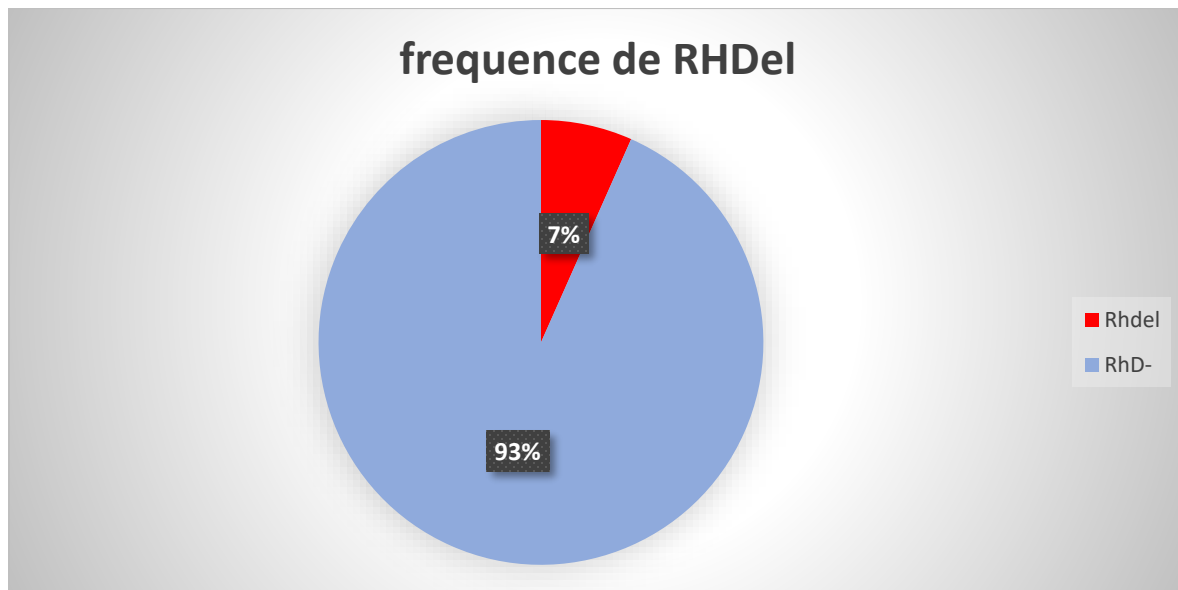


Figure 7 : Répartition du phénotype RhD

Le phénotype Rh Del était absent dans 92,9% de l'ensemble de nos donneurs de sang RhD négatifs.

- Répartition du phénotype Rh Del en fonction des groupes sanguins ABO

Les effectifs et les pourcentages des participants en fonction des groupes sanguins ABO ont été consignés dans le tableau VI.

Tableau VI : Répartition du phénotype Rh Del en fonction des groupes sanguins ABO

Groupe sanguin	Rh Del+	
	A	EFFECTIF
%		1,1
B	EFFECTIF	9
	%	2,5
AB	EFFECTIF	2
	%	0,5
O	EFFECTIF	11
	%	3,0

Le phénotype Rh Del retrouvé dans notre population d'étude appartenait au groupe sanguin O.

Tableau VIII : Répartition du phénotype Rh Del en fonction des groupes sanguins ABO

Groupe sanguin	RhD -	
	A	EFFECTIF
%		24,7
B	EFFECTIF	102
	%	27,9
AB	EFFECTIF	17
	%	4,7
O	EFFECTIF	130
	%	35,6

Le groupe sanguin O était majoritaire chez l'ensemble des donneurs.

- **Répartition du phénotype Rh Del en fonction du phénotype Rh CE**

Après test adsorption élution, vingt-six (26) échantillons ont été obtenus comme positif au Rh Del. La fréquence des phénotypes Rh CE est représenté dans le diagramme en cercle suivant :

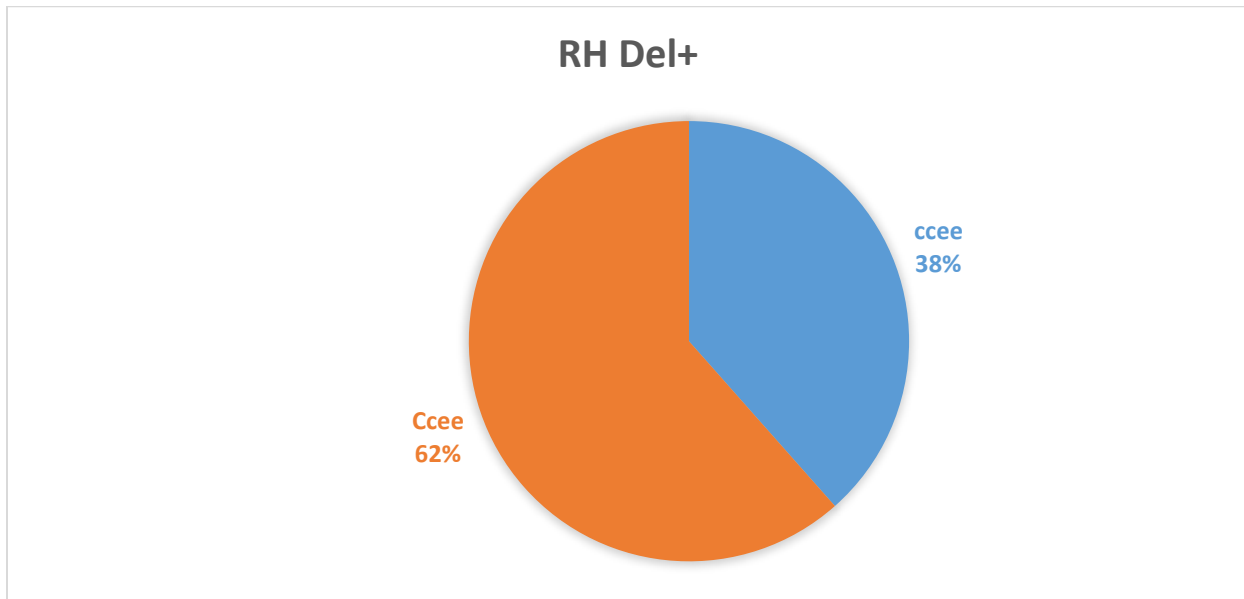


Figure 8 : **Fréquence du phénotype Rh Del en fonction du phénotype Rh CE**

Le phénotype Rh Ccee a été retrouvé chez 61,97% des phénotypes Rh Del.

- **Données sociodémographiques des donneurs de sang Rh Del selon le sexe l'âge (année) et l'ethnie**

Les données socio-démographiques des phénotypes Rh DEL ont été consignées dans un tableau récapitulatif. La répartition en fonction du sexe, l'âge et l'ethnie des donneurs de sang Rh Del se présentait comme suit :

Tableau VIII: **Données sociodémographiques des donneurs de sang Rh Del**

N=26	Rh Del	%
Sexe		
Masculin	25	96,15
Féminin	1	3,85
Age (année)		
18-25ans	4	15,49
26-39ans	12	46,48
40-57ans	10	38,02
Ethnie		
Bambara	7	26,76
Peulh	4	15,49
Malinke	3	11,26
Sarakole	3	11,26
Sonhrai	3	11,26
Dogon	1	4,22
Bwa	1	4,22
Tamacheck	1	4,22
Autres	3	11,26

Le sexe masculin était prédominant dans nos échantillons avec environ 96,15% avec un sex-ratio (sexe masculin sur féminin) de 24,9. La tranche d'âge majoritaire était celle des 26-39 ans (46,48%). L'ethnie la plus représentée était des Bambaras avec 26,76% comme fréquence.

➤ Tests moléculaires :

- Analyse des bandes sur gel d'agarose

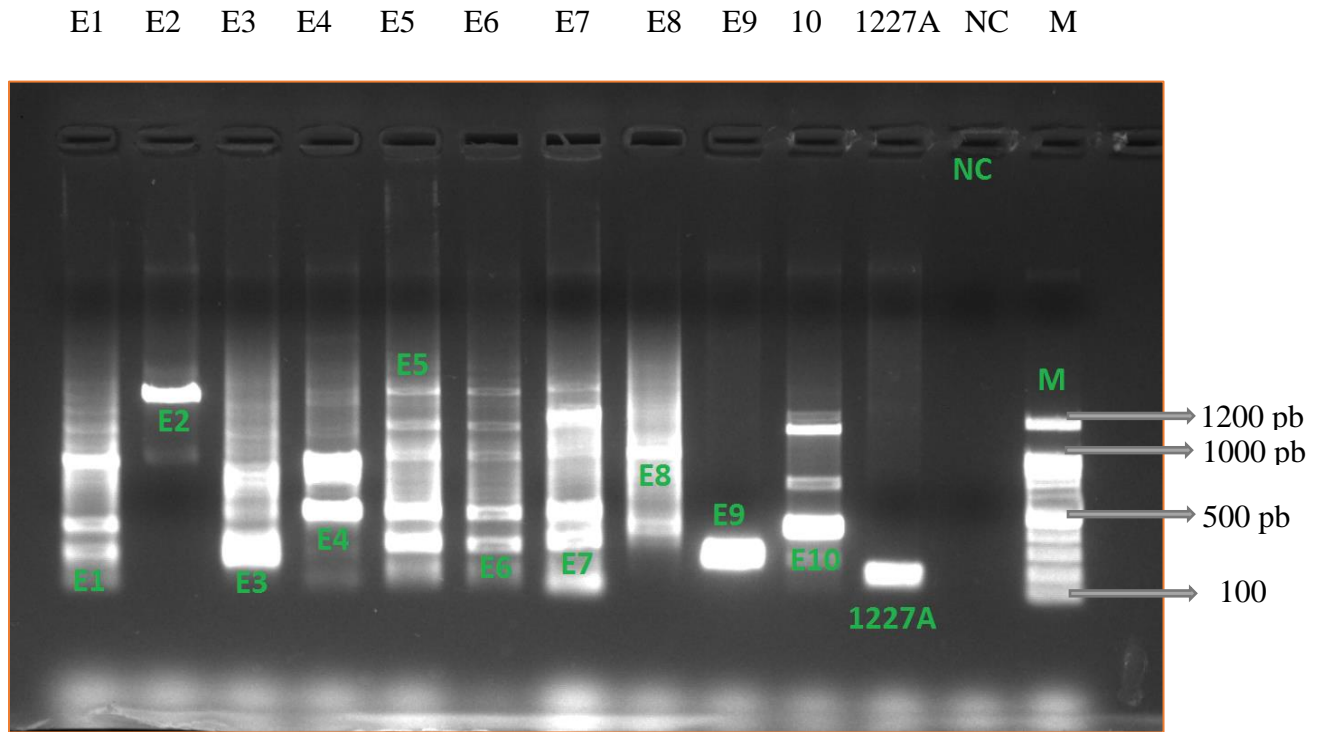


Figure 9 : Résultats de l'analyse par Polymerase Chain Reaction-Sepicific Sequence Primer (PCR-SSP)

Ce gel (ID : RhD004) représente de tous les échantillons Rh Del positifs. Un contrôle négatif C(N) était utilisé pour contrôler l'amplification ; Le marqueur de taille moléculaire (M) était de 100pb (100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 et 1200pb). La PCR-SSP pour 100% des Rh Del a montré une amplification des 10 exons (E) du gène RHD (E1 : 228pb E2 : 1476pb E3 : 219 pb ; E4 : 379pb ; E5 : 1458 pb ; E6 : 274pb ; E7 : 411 pb ; E8 : 709 pb ; E9 : 190pb ; E10 : 390pb) ; on remarque aussi la présence de l'haplotype (C) type 2 qui est un allèle RHCE variant qui porte les polymorphismes 48G>C dans l'exon 1, 733C>G dans l'exon 5 et 1006 G >T dans l'exon 7; l'ensemble des échantillons ont montré que l'amplification spécifique de RHD1227A (bande de 109 pb) était positive avec une taille d'environ (200 pb); d'autres bandes non spécifiques ont été observées au niveau de E5, E7 et E10.

6. DISCUSSION

Les donneurs de sang de sexe masculin dominait sur l'ensemble des dons était 90,4%. Comme les études antérieures réalisées au Mali [27] , le sexe masculin est toujours majoritaire. Cette prédominance des hommes pourrait s'expliquer par la participation actives des hommes au don de sang, par contre les femmes sont soumises à de multiples contre-indications du don de sang du fait de leurs présences actives au sein des foyers et/ou travail aussi par le fait des exigences de leurs l'état physiologiques.

La tranche d'âge comprise entre 26-39 ans prédominait (293/365 ; 52,9%) et ce résultat est comparable aux résultats des études antérieures,[18]; les jeunes sont les cibles privilégiées lors des campagnes de sensibilisations au don de sang.

Les Bambaras avaient le plus grand nombre de donneurs de sang. Cette présence massive de l'ethnie bambara aux dons de sang pourrait être due à leur présence majoritaire à Bamako.

Le groupe sanguin O était le plus rencontré chez l'ensemble des donneurs avec 38,6% suivi du groupe sanguin B 30,4%, du groupe A 25,8% et du groupe AB 5,2 %. Ce résultat est comparable aux études antérieures chez les donneurs de sang au Mali qui place le groupe sanguin O comme le groupe sanguin prédominant au Mali [27] . Selon des études, le groupe sanguin O se démarque nettement des autres groupes sanguins car les personnes du groupe O sont moins sujettes au paludisme [63], [64]. Le Mali étant une zone endémique de cette pathologie, la prédominance du groupe O pourrait s'expliquer par une sélection naturelle du meilleur gène transmet à la descendance [63], [64].

La détection sérologique des phénotypes Rh Del a été réalisée par adsorption/élution chez 365 donneurs de sang RhD négatifs du Centre National de Transfusion Sanguine de Bamako. La prévalence du Rh Del était de 7,1 % dans la population étudiée. Ce résultat est nettement supérieur à la fréquence rencontrée au Maroc 0,94% [10] et en Europe 0,88% [53] ce qui évoque des caractères différents avec la population marocaine et caucasienne. Par ailleurs il est nettement inférieur à celui de la population de Chine qui est à 24,85% [14] Cette prédominance peut s'expliquer par le fait que le Rh Del est connu comme étant très répandu chez les Asiatiques RhD négatifs [56].

Sur l'ensemble des donneurs de sang Rh Del de notre série, 2 phénotypes ont été individualisés : ccee et Ccee. Le phénotype Ccee (C+c-E-e+) représentait plus de la moitié des donneurs type Del soit 61,97%. Nos résultats concordent avec les résultats des études antérieures au Maroc, en Chine et en Taiwan qui ont tous évoqués une forte association entre le phénotype Rh Del et le phénotype C+ [10], [15], [65].

Nous avons constaté que tous les individus Rh DEL portent un gène RHD intact avec présence de l'allèle RHD 1227A. Ce résultat est confirmé par plusieurs études antérieures qui ont aussi trouvé des Rh DEL avec un gène RHD complet[15], [56].

Körmöczi et ses collègues ont suggéré que les phénotypes DEL pourraient être subdivisé en deux groupes : le phénotype Rh Del complète où la majorité des épitopes D sont conservés tels que RHD1227A et le phénotype Rh Del partiel avec une perte caractéristique de l'épitope D causée par RHD-CE-D gènes hybrides [57]

L'haplotype (C) de type 2 a été identifié dans notre étude, cet haplotype n'a été décrit qu'en 2009 (Pham et al., 2009a, Pham et al., 2009b ;), il porte des polymorphismes 48G>C dans l'exon 1, 733C>G dans l'exon 5 et 1006G>T dans l'exon 7 [15]. Tandis que les exons 2 et 3 présentent une séquence RHD sauvage [43]. Les études sérologiques ont mis en évidence une expression très faible de l'antigène RhCE [20]

Aucune donnée n'est disponible en notre connaissance quant à la fréquence de ce haplotype. Ceci peut être dû à la difficulté de sa détection par l'absence de signal d'immunisation. L'expression de cet antigène RhC n'est parfois détectable que par des techniques d'adsorption/élution [42].

7. CONCLUSION

Au terme de cette étude descriptive transversale conduite chez 365 donneurs de sang du CNTS soupçonnés Rhésus D négatif, nous pouvons conclure que : le phénotype Rh Del est présent chez les donneurs de sang de rhésus négatif avec une fréquence de 7,1%. Les 10 exons du gène RHD était présent chez tous les Rh Del ce qui signifie que l'antigène RhD est exprimé à la surface des globules rouges et l'allèle RHD 1227A a été identifié chez tous ces échantillons.

Nous pouvons déduire que RHD 1227A est un marqueur génétique important chez les Rh Del au Mali.

Il peut être utilisé pour la détermination du Rh Del chez les échantillons RhD négatifs en particulier ceux qui ont un phénotype Rh Ccee, afin d'assurer la sécurité transfusionnelle.

Notre étude est une contribution à la compréhension du mécanisme moléculaire sous-jacent à l'expression de l'antigène D des individus Rh Del et fournir des informations utiles pour concevoir des stratégies de génotypage et de transfusion adaptées pour les individus RhD-négatifs au Mali.

8. RECOMMANDATIONS :

Pour assurer à nos malades une meilleure sécurité transfusionnelle, une efficacité transfusionnelle, et éviter à des impasses transfusionnelles, nous formulons les recommandations suivantes :

➤ **AU CNTS :**

- Rechercher systématiquement le phénotype Del chez les donneurs Rh D négatif ;
- Rechercher les anticorps irréguliers chez les Rh D négatifs polytransfusés.

➤ **AU PERSONNEL DE LA SANTE :**

- Effectuer des transfusions iso-groupes, iso-rhésus et iso-phénotypes ;

➤ **AU MINISTERE DE LA SANTE ET DU DEVELOPPEMENT SOCIAL :**

- Mettre en place un plateau technique de biologie moléculaire pour permettre de faire les génotypages ;
- Mettre en place un système d'hémovigilance ;
- Assurer la formation initiale et continue du personnel sur les bonnes pratiques transfusionnelles ;
- Investir un budget suffisant au CNTS pour la bonne gestion de la transfusion ;
- Soutenir davantage la recherche au CNTS ;
- Créer quelques centres spécialisés en transfusion dans les différentes régions du pays.

Résumé

Le rhésus (Rh) est codé par deux gènes hautement homologues, le RHD et RHCE, tous 2 situés sur le chromosome 1p34-36. L'organisation très particulière de ces 2 gènes facilite leur réarrangement génique et l'apparition de gènes hybrides qui vont coder pour des protéines appelées variants Rh. Le Rh Del est une variante rare du système Rh qui pourrait être généré par de multiples mécanismes moléculaires avec un gène RHD grossièrement intact. L'allèle prédominant du phénotype Rh Del est le RhD 1227A qui est issu d'une mutation qui perturbe probablement l'épissage normal des introns.

L'objectif de cette étude était de caractériser le gène Rh Del par PCR classique et vérifier la présence de l'allèle RhD 1227A dans la population des donneurs de sang RhD négatifs du Centre National de Transfusion sanguine CNTS de Bamako.

Après une confirmation du Rh Del par adsorption/élution, l'ADN des participants a été isolé avec le kit d'extraction de Qiagen et amplifié par PCR classique avec le kit One Tag 2X mastermix en utilisant 10µM des amorces sens et antisens spécifiques au gène RhD et l'allèle RhD1227A dans un volume final de 25µl. Les amplicons ont été visualisés sur gel d'agarose 1%.

Un total de 365 donneurs de sang RhD négatifs du CNTS de Bamako, ont été recrutés dans cette étude. Les hommes étaient plus fréquents avec 90,4% ; la tranche d'âge 26-39 ans était la plus représentée avec une fréquence de 52,9% et l'ethnie la plus représentée était des Bambaras avec 31,5%. La fréquence du phénotype Rh Del était de 7,1% et le groupe sanguin O était le plus représenté avec 38,6% dans l'ensemble de la population. Le phénotype Ccee représentait 61,97% des phénotypes Rh Del. 95,77% des phénotypes Rh Del étaient de sexe masculin. La PCR-SSP pour 100% des Rh Del a montré une amplification des 10 exons du gène RHD avec la présence de l'haplotype (C). L'allèle RhD 1227A était présent chez tous les échantillons Rh Del.

Mots clés : Allèle RhD, Phénotype Del, Donneurs de sang.

Abstract

Rhesus (Rh) is encoded by two highly homologous genes, RhD and RhCE, both located on chromosome 1p34-36. The very particular organization of these 2 genes facilitates their gene rearrangement and the appearance of hybrid genes which will code for proteins called Rh variants. Rh Del is a rare variant of the Rh system which could be generated by multiple molecular mechanisms with a roughly intact RhD gene. The predominant allele of the Rh Del phenotype is RhD 1227A which is derived from a mutation that probably disrupts normal intron splicing.

The objective of this study was to characterize the Rh Del gene by classical PCR and to verify the presence of the RhD 1227A allele in the RhD negative blood donor population of the National Blood Transfusion Center (CNTS) of Bamako.

After confirmation of Rh Del by adsorption/elution, participants' DNA was isolated using the Qiagen extraction kit and amplified by conventional PCR with the One Tag 2X mastermix kit using 10µM of the gene-specific sense and antisense primers targeting RhD and the RhD 1227A allele in a final volume of 25µl. Amplicons were visualized on 1% agarose gel.

A total of 365 RhD negative blood donors from CNTS in Bamako were recruited in this study. Men were more frequent with 90.4%; the 26-39 age group was the most represented with a frequency of 52.9% and the most represented ethnic group was the Bambara with 31.5% as a frequency. The frequency of the Rh Del phenotype was 7.1% and the O blood group was the most represented with 38.6% in the whole population. The Ccee phenotype accounted for 61.97% of the Rh Del phenotypes. 95.77% of Rh Del phenotypes were male. PCR-SSP for 100% of the Rh DELs showed amplification of the 10 exons of the RHD gene with the presence of the haplotype (C). The RhD 1227A allele was present in all Rh Del samples.

Keywords: RhD allele, DEL phenotype, blood donor

9. REFERENCES

- [1] S. T. Wah, S. N. Chi, K. K. Kyaing, A. A. Khin, and T. Aung, “Serological Detection of Rh-Del Phenotype among Rh-Negative Blood Donors at National Blood Center , Yangon , Myanmar,” vol. 2020, 2020.
- [2] Y. Ying, J. Zhang, X. Hong, X. Xu, J. He, and F. Zhu, “The Significance of RHD Genotyping and Characteristic Analysis in Chinese RhD Variant Individuals,” *Front Immunol*, vol. 12, no. pp. 1–10, 2021, doi: 10.3389/fimmu.2021.755661.
- [3] M. R. Dezan *et al.*, “Variant genotypes associated with reduced expression of RhCE antigens among Brazilian blood donors,” *Transfusion (Paris)*, vol. 61, no. 6, pp. 1923–1931, 2021, doi: 10.1111/trf.16355.
- [4] B. P. Chiaroni Jacques, Roubinet Francis, “Les analyses immunohématologiques et leurs applications cliniques,” *Google Livres*. (accessed Dec. 17, 2022).
- [5] G. Daniels *et al.*, “International Society of Blood Transfusion Committee on Terminology for Red Blood Cell Surface Antigens: Macao report,” *Vox Sang*, vol. 96, no. 2, pp. 153–156, 2009, doi: 10.1111/j.1423-0410.2008.01133.x.
- [6] S. Kulkarni, D. S. Parchure, V. Gopalkrishnan, and M. Madkaikar, “Screening for DEL phenotype in RhD negative Indians,” *J Clin Lab Anal*, vol. 32, no. 3. 2018, doi: 10.1002/JCLA.22288.
- [7] X. Zhang *et al.*, “Molecular and computational analysis of 45 samples with a serologic weak D phenotype detected among 132,479 blood donors in northeast China,” *J Transl Med*, vol. 17, no. 1, pp. 1–11, 2019, doi: 10.1186/s12967-019-02134-9.
- [8] C. Peng, A. Yuan, and Z. Lin, “moléculaire du phénotype dans la population chinoise,” 2014.
- [9] W. A. Flegel, “Molecular genetics and clinical applications for RH,” *Transfusion and Apheresis Science*, vol. 44, no. 1, pp. 81–91, 2011, doi: 10.1016/j.transci.2010.12.013.
- [10] Z. Kabiri, M. Benajiba, K. Hajjout, H. Bellaoui, and N. Dakka, “Analyse sérologique du phénotype Del chez les donneurs de sang Rh D négatif marocains,” *Pathologie Biologie*, vol. 63, no. 2, pp. 111–112, 2015, doi: 10.1016/j.patbio.2014.11.004.

- [11] G. F. Körmöczi, C. Gassner, C. P. Shao, M. Uchikawa, and T. J. Legler, “A comprehensive analysis of DEL types: partial DEL individuals are prone to anti-D alloimmunization,” *Transfusion (Paris)*, vol. 45, no. 10, pp. 1561–1567, 2005, doi: 10.1111/J.1537-2995.2005.00584.X.
- [12] S. Dajak, J. L. Krstic, G. Körmöczi, V. Dogic, and V. Burilovic, “Characteristics and frequency of DEL phenotype detected by indirect antiglobulin test in Dalmatia county of Croatia.,” *Transfus Apher Sci*, vol. 50, no. 2, pp. 210–213, 2014, doi: 10.1016/j.transci.2014.01.019.
- [13] H. S. Yang *et al.*, “Primary Anti-D Alloimmunization Induced by ‘Asian Type’ RHD (c.1227G>A) DEL Red Cell Transfusion,” *Ann Lab Med*, vol. 35, no. 5, p. 554, Sep. 2015, doi: 10.3343/ALM.2015.35.5.554.
- [14] Q. Li, L. Hou, Z.-H. Guo, L.-Y. Ye, D.-Q. Yue, and Z.-Y. Zhu, “Molecular basis of the RHD gene in blood donors with DEL phenotypes in Shanghai.,” *Vox Sang*, vol. 97, no. 2, pp. 139–146, 2009, doi: 10.1111/j.1423-0410.2009.01181.x.
- [15] J. C. Chen, T. M. Lin, Y. L. Chen, Y. H. Wang, Y. T. Jin, and C. T. Yue, “RHD 1227A is an important genetic marker for RhDel individuals,” *Am J Clin Pathol*, vol. 122, no. 2, pp. 193–198, 2004, doi: 10.1309/3XMF2NV5707TJE7X.
- [16] F. F. Wagner, “RHD PCR of D-negative blood donors,” *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, vol. 40, no. 3, pp. 172–181, 2013, doi: 10.1159/000351604.
- [17] H. Yasuda, H. Ohto, S. Sakuma, and Y. Ishikawa, “Secondary anti-D immunization by Del red blood cells,” *Transfusion (Paris)*, vol. 45, no. 10, pp. 1581–1584, 2005, doi: 10.1111/J.1537-2995.2005.00579.X.
- [18] Thesis T. Oumou, “Phénotype érythrocytaires chez les donneurs de sang de Bamako,” 2002.
- [19] P. Ojok, C. Oyet, F. Webbo, B. Mwambi, and I. M. Taremwa, “Prevalence of RhD variants among blood donors at Gulu regional blood bank, Gulu, Northern Uganda,” *J Blood Med*, vol. 8, pp. 151–154, 2017, doi: 10.2147/JBM.S145550.
- [20] E. Hussein and J. Teruya, “Weak D types in the Egyptian population,” *Am J Clin Pathol*, vol. 139, no. 6, pp. 806–811, 2013, doi: 10.1309/AJCP1T9FGZBHIQET.

- [21] C. Opoku-Okrah, N. Amidu, and S. Amoah-Sakyi, “Detection of Weak D (Du) Phenotype among Rh-D Negative Males and Females in Kumasi, Ghana,” *Journal of Science and Technology (Ghana)*, vol. 28, no. 3, pp. 34–40, 2009, doi: 10.4314/just.v28i3.33105.
- [22] S. Kulkarni, D. S. Parchure, V. Gopalkrishnan, and M. Madkaikar, “Screening for DEL phenotype in RhD negative Indians,” *J Clin Lab Anal*, vol. 32, no. 3, pp. 30–32, 2018, doi: 10.1002/jcla.22288.
- [23] W. M. Watkins, “The ABO blood group system: historical background,” *Transfusion Medicine*, vol. 11, no. 4, pp. 243–265, 2001, doi: 10.1046/J.1365-3148.2001.00321.X.
- [24] F. Lugdivine, “Etude de la variabilité des gènes des groupes sanguins dans la population des patients de l’ EFS Alpes Méditerranée . To cite this version : HAL Id : hal-01690364,” 2018.
- [25] Gary P *et al*, “The New England Journal of Medicine Downloaded from nejm.org on April 1, 2015. For personal use only. No other uses without permission. Copyright © 1990 Massachusetts Medical Society. All rights reserved.,” *The New English Journal of medicine*, vol. 323, no. 16, pp. 1120–1123, 1990.
- [26] K. H. Kim, K. E. Kim, K. S. Woo, J. Y. Han, J. M. Kim, and K. U. Park, “Primary anti-D immunization by DEL red blood cells,” *Korean J Lab Med*, vol. 29, no. 4, pp. 361–365, 2009, doi: 10.3343/KJLM.2009.29.4.361.
- [27] M. Baby *et al.*, “Fréquence de l’allo-immunisation érythrocytaire chez les malades polytransfusés au centre hospitalo-universitaire du Point G, Bamako, Mali,” *Transfusion Clinique et Biologique*, vol. 17, no. 4, pp. 218–222, 2010.
- [28] J.-J. Lefrère and Philippe. Rouger, “Pratique nouvelle de la transfusion sanguine,” 2009.
- [29] M. Franchini and G. M. Liumbruno, “ABO blood group: old dogma, new perspectives.,” *Clin Chem Lab Med*, vol. 51, no. 8, pp. 1545–1553, 2013, doi: 10.1515/CCLM-2013-0168.
- [30] Thesis M. M. SISSOKO, “Apport des tests de compatibilité ABO/Rhesus dans l’amélioration de la sécurité transfusionnelle au CNTS de BAMAKO/MALI,” 2021.

- [31] C. Pipatpanukul *et al.*, “Rh blood phenotyping (D, E, e, C, c) microarrays using multichannel surface plasmon resonance imaging,” *Biosensors and Bioelectronics journal*, 2018, doi: 10.1016/j.bios.2017.10.049.
- [32] M. Franchini and C. Bonfanti, “Evolutionary aspects of ABO blood group in humans.,” *Clin Chim Acta*, vol. 444, pp. 66–71, 2015, doi: 10.1016/j.cca.2015.02.016.
- [33] J. P. Cartron and Y. Colin, “Structural and functional diversity of blood group antigens.,” *Transfus Clin Biol*, vol. 8, no. 3, pp. 163–199, 2001, doi: 10.1016/s1246-7820(01)00142-2.
- [34] G. Daniels, “Rh and RHAG Blood Group Systems,” *Human Blood Groups*, pp. 182–258, 2013, doi: 10.1002/9781118493595.ch5.
- [35] G. Daniels and I. Bromilow, *Essential guide to blood groups*. 2013. Accessed: 14, 2022.
- [36] J. B. Lowe, “The blood group-specific human glycosyltransferases.,” *Baillieres Clin Haematol*, vol. 6, no. 2, pp. 465–492, 1993, doi: 10.1016/s0950-3536(05)80155-6.
- [37] S. Hakomori, “Antigen structure and genetic basis of histo-blood groups A, B and O: their changes associated with human cancer.,” *Biochim Biophys Acta*, vol. 1473, no. 1, pp. 247–266, 1999, doi: 10.1016/s0304-4165(99)00183-x.
- [38] Sara SKALLI, “LE BILAN IMMUNO-HÉMATOLOGIQUE PRÉ-TRANSFUSIONNEL - PDF Free Download,” 2018. <https://docplayer.fr/112038060-Le-bilan-immuno-hematologique-pre-transfusionnel.html>.
- [39] “E. PELISSIER, A. FRANÇOIS, B. JAULMES : Hématologie Tome 3 : Collection LE MONITEUR International. Centre d’hématologie, Hôpital Broussais Paris. P : 191 - 194.
- [40] G. Lego, “Les bonnes pratiques,” *VST - Vie sociale et traitements*, vol. 135, no. 3, p. 124, 2017, doi: 10.3917/vst.135.0124.
- [41] L. Dean, *The Rh blood group*, no. MD 20892-6510. 2005.
- [42] A. Ba, S. Bagayoko, J. Chiaroni, P. Baiily, and M. Silvy, “Genotyping of 28 blood group alleles in blood donors from Mali: Prediction of rare phenotypes,” *Transfusion and Apheresis Science*, vol. 54, no. 2, pp. 289–295, 2016, doi: 10.1016/j.transci.2015.10.018.

- [43] A. Ba, S. Beley, J. Chiaroni, P. Bailly, and M. Silvy, “RH diversity in Mali: Characterization of a new haplotype RHD*DIVa/RHCE*ceTI(D2),” *Transfusion (Paris)*, vol. 55, no. 6, pp. 1423–1431, 2015, doi: 10.1111/trf.13109.
- [44] P. Gane *et al.*, “Flow cytometric analysis of the association between blood group-related proteins and the detergent-insoluble material of K562 cells and erythroid precursors.,” *Br J Haematol*, vol. 113, no. 3, pp. 680–688, 2001, doi: 10.1046/j.1365-2141.2001.02757.x.
- [45] B. Chérif-Zahar, M. G. Mattéi, C. le Van Kim, P. Bailly, J. P. Cartron, and Y. Colin, “Localization of the human Rh blood group gene structure to chromosome region 1p34.3–1p36.1 by in situ hybridization,” *Human Genetics 1991 86:4*, vol. 86, no. 4, pp. 398–400, 1991, doi: 10.1007/BF00201843.
- [46] P. Nuchnoi, J. Thongbus, A. Srisarin, U. Kerdpin, and V. Prachayasittikul, “Clinical and laboratory update on the DEL variant,” *Lab Med*, vol. 45, no. 4, pp. 285–290, 2014, doi: 10.1309/LMTUZ00O7VFTGCEB.
- [47] F. F. Wagner, A. Frohmajer, and W. A. Flegel, “RHD positive haplotypes in D negative Europeans.,” *BMC Genet*, vol. 2, p. 10, 2001, doi: 10.1186/1471-2156-2-10.
- [48] T. A. Luettringhaus, D. Cho, D. W. Ryang, and W. A. Flegel, “An easy RHD genotyping strategy for D- East Asian persons applied to Korean blood donors.,” *Transfusion (Paris)*, vol. 46, no. 12, pp. 2128–2137, 2006, doi: 10.1111/j.1537-2995.2006.01042.x.
- [49] G. L. Daniels *et al.*, “International Society of Blood Transfusion working party on terminology for red cell surface antigens,” *Vox Sang*, vol. 80, no. 3, pp. 193–196, 2001, doi: 10.1046/J.1423-0410.2001.00024.X.
- [50] C. Rouillac *et al.*, “Transcript analysis of D category phenotypes predicts hybrid Rh D-CE-D proteins associated with alteration of D epitopes.,” *Blood*, vol. 85, no. 10, pp. 2937–2944, 1995.
- [51] F. F. Wagner, C. Gassner, T. H. Müller, D. Schönitzer, F. Schunter, and W. A. Flegel, “Molecular basis of weak D phenotypes.,” *Blood*, vol. 93, no. 1, pp. 385–393, 1999.
- [52] G. A. Denomme, F. F. Wagner, B. J. Fernandes, W. Li, and W. A. Flegel, “Partial D, weak D types, and novel RHD alleles among 33,864 multiethnic patients: implications for anti-

- D alloimmunization and prevention.,” *Transfusion (Paris)*, vol. 45, no. 10, pp. 1554–1560, 2005, doi: 10.1111/j.1537-2995.2005.00586.x.
- [53] C. Gassner *et al.*, “Presence of RHD in serologically D-, C/E+ individuals: A European multicenter study,” *Transfusion (Philadelphia, Pa.)*, vol. 45, no. 4. pp. 527–538, 2005. doi: 10.1111%2Fj.0041-1132.2004.04211.x.
- [54] H. Ansart-Pirenne, M. Asso-Bonnet, P.-Y. le Penneec, M. Roussel, C. Patereau, and F. Noizat-Pirenne, “RhD variants in Caucasians: consequences for checking clinically relevant alleles.,” *Transfusion (Paris)*, vol. 44, no. 9, pp. 1282–1286, 2004, doi: 10.1111/j.1537-2995.2004.04063.x.
- [55] T. J. Legler *et al.*, “RHD sequencing: a new tool for decision making on transfusion therapy and provision of Rh prophylaxis.,” *Transfus Med*, vol. 11, no. 5, pp. 383–388, 2001, doi: 10.1046/j.1365-3148.2001.00327.x.
- [56] C.-P. Shao, J.-H. Maas, Y.-Q. Su, M. Köhler, and T. J. Legler, “Molecular background of Rh D-positive, D-negative, D(el) and weak D phenotypes in Chinese.,” *Vox Sang*, vol. 83, no. 2, pp. 156–161, 2002, doi: 10.1046/j.1423-0410.2002.00192.x.
- [57] G. F. Körmöczi, C. Gassner, C. P. Shao, M. Uchikawa, and T. J. Legler, “A comprehensive analysis of DEL types: partial DEL individuals are prone to anti-D alloimmunization,” *Transfusion (Paris)*, vol. 45, no. 10, pp. 1561–1567, 2005, doi: 10.1111/J.1537-2995.2005.00584.X.
- [58] W. A. Flegel, “Homing in on D antigen immunogenicity.,” *Transfusion*, vol. 45, no. 4. United States, pp. 466–468, Apr. 2005. doi: 10.1111/j.0041-1132.2005.05001.x.
- [59] A. S. G. Sandler, S. D. Roseff, R. E. Domen, and B. Shaz, “Politiques et procédures relatives aux tests de détection des phénotypes D faibles et à l’administration d’immunoglobulines Rh : résultats et recommandations relatifs aux questions supplémentaires de l’enquête complète sur la médecine transfusionnel,” vol. 16, no. 1, 2014.
- [60] D. Grey, M. Connolly, and W. N. Erber, “Comparison of low ionic diluents for use with the Diamed antiglobulin gel test.,” *Transfus Med*, vol. 12, no. 1, pp. 63–69, 2002, doi: 10.1046/j.1365-3148.2002.00347.x.

- [61] Y. Lapierre *et al.*, “The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions.,” *Transfusion (Paris)*, vol. 30, no. 2, pp. 109–113, 1990, doi: 10.1046/j.1537-2995.1990.30290162894.x.
- [62] H. S. Yang *et al.*, “Primary anti-D alloimmunization induced by ‘asian Type’ RHD (c.1227G>A) DEL red cell transfusion,” *Ann Lab Med*, vol. 35, no. 5, pp. 554–556, 2015, doi: 10.3343/alm.2015.35.5.554.
- [63] B. Maiga *et al.*, “Human Candidate Polymorphisms in Sympatric Ethnic Groups Differing in Malaria Susceptibility in Mali,” *PLoS One*, vol. 8, no. 10, 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0075675.
- [64] J. A. Rowe *et al.*, “Blood group O protects against severe Plasmodium falciparum malaria through the mechanism of reduced rosetting,” 2007.
- [65] Q. Yin and W. A. Flegel, “DEL in China: the D antigen among serologic RhD-negative individuals,” *J Transl Med*, vol. 19, no. 1, pp. 1–14, 2021, doi: 10.1186/S12967-021-03116-6/FIGURES/3.

10.ANNEXES

10.1 Annexe I : fiche de consentement libre et éclairé

Je soussigné reconnais avoir reçu toutes les informations utiles à ma décision de participer à l'étude sur la caractérisation moléculaire du gène RHD chez les donneurs de sang présentant le phénotype Rh Del chez les donneurs de sang au Centre National de Transfusion Sanguine de Bamako (CNTS), tant par la présente notice d'information qui m'a été remise que par les explications fournies par

Je connais les raisons et les objectifs de cette étude, et je sais que je peux à tout moment cesser ma participation pour quelque raison que ce soit, sans encourir aucune responsabilité.

Je sais que le médecin est astreint à une confidentialité.

J'ai eu connaissance de l'avis du Comité d'éthique,

Je souhaite / Je ne souhaite pas avoir connaissance des résultats.

Si toute fois vous avez des questions concernant votre participation à cette étude s'il vous plaît contactez l'équipe de recherche, Madame Ramatoulaye DIALLO, Centre National de Transfusion Sanguine, mobile : 91787766/fix CNTS : 20213958. Mais également, toute fois si vous avez les questions concernant vos droits comme participant, vous pouvez contacter le président du comité d'éthique de la FMOS, Pr au numéro de téléphone ou le secrétaire permanent dudit comité en la personne de Monsieur Numéro téléphone :

Si vous choisissiez de participer, nous vous remercions vivement pour la confiance que vous nous accordez pour aider à l'amélioration de la sécurité transfusionnelle au CNTS de Bamako.

En ce moment, avez-vous des questions à me poser sur cette étude ? Oui Non

Pouvez-vous me rappeler en quelques mots cette étude si vous m'avez bien compris ?

Voulez-vous participer à cette enquête ? Oui Non

*Caractérisation moléculaire du gène RHD chez les donneurs de sang présentant le phénotype Rh Del
au centre national de transfusion sanguine de Bamako*

Pourrions-nous vous contacter dans le futur ? Oui Non

Si vous êtes d'accord pour votre participation à cette étude, s'il vous plait signez ou apposez votre empreinte digitale ci-dessous.

Prénom et nom

Signature

Participant :

Enquêteur :

Lieu et date :

10.2 Annexe II : fiche d'enquête

FICHE D'ENQUETE Fiche N° _____ Date : ____/____/2022

Nom : _____ Prénom : _____

Téléphone : _____ Adresse : _____

I. DONNEES SOCIO-DEMOGRAPHIQUES

Q1. Sexe : /___/ (Masculin= 1, Féminin=2)

Q2. Age : Ans /___/ (18 à 25=1, 26 à 39=2, 40 à 57=3)

Q3. Ethnie : /___/ (Bambara=1, Peulh=2, Malinke=3, Sarakole=4, Sonhrai=5, Dogon=6, Bozo=7, Kassonke=8, Bwa=9, Tamacheick=10, Myangua=11, Senoufo=12, Autres=13 à préciser _____)

Q4. Profession : /___/ (Fonctionnaire=1, Commerçant=2, Cultivateur=3, Ménagère=4, Etudiant /Elève=5, Chauffeur=6, Tailleur=7, Pécheur=8, Autres=9 à préciser _____)

Q5. Statut matrimonial : /___/ (Marie=1, Célibataire=2, Divorcé(e)=3, Veuf(ve)=4)

Q8. Nombre de dons: /___/

II - DONNES BIOLOGIQUES

Q9. Groupe sanguin/ Rhésus /___/ A- =1, B- =2, AB- = 3, O- =4

Q10. Phénotype/_____/

Q11. Rhésus DEL /___/ Négatif=1, Positif=2

10.3 Annexe III : Serment de Galien

« Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;*
- D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;*
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères et consœurs si j'y manque. »

Je le jure.

FICHE SIGNALÉTIQUE



Nom : SAMAKE

Prénom : Zeinabou Ousmane

Titre de la thèse : Caractérisation moléculaire du gène RHD chez les donneurs de sang présentant le phénotype Rh Del au Centre National de Transfusion Sanguine de Bamako

Année universitaire : 2021-2022

Pays d'origine : République du Mali

Lieu de dépôt : La Bibliothèque de la Faculté de Médecine et Pharmacie de l'Université Kankou Moussa (UKM)

Résumé

Le rhésus (Rh) est codé par deux gènes hautement homologues, le RHD et RHCE, tous 2 situés sur le chromosome 1p34-36. L'organisation très particulière de ces 2 gènes facilite leur réarrangement génique et l'apparition de gènes hybrides qui vont coder pour des protéines appelées variants Rh. Le Rh Del est une variante rare du système Rh qui pourrait être généré par de multiples mécanismes moléculaires avec un gène RHD grossièrement intact. L'allèle prédominant du phénotype Rh Del est le RhD 1227A qui est issu d'une mutation qui perturbe probablement l'épissage normal des introns.

L'objectif de cette étude était de caractériser le gène Rh Del par PCR classique et vérifier la présence de l'allèle RhD 1227A dans la population des donneurs de sang RhD négatifs du Centre National de Transfusion sanguine CNTS de Bamako.

Après une confirmation du Rh Del par adsorption/élution, l'ADN des participants a été isolé avec le kit d'extraction de Qiagen et amplifié par PCR classique avec le kit One Tag 2X mastermix en utilisant 10µM des amorces sens et antisens spécifiques au gène RhD et l'allèle RhD1227A dans un volume final de 25µl. Les amplicons ont été visualisés sur gel d'agarose 1%.

Un total de 365 donneurs de sang RhD négatifs du CNTS de Bamako, ont été recrutés dans cette étude. Les hommes étaient plus fréquents avec 90,4% ; la tranche d'âge 26-39 ans était la plus représentée avec une fréquence de 52,9% et l'ethnie la plus représentée était des Bambaras avec 31,5%. La fréquence du phénotype Rh Del était de 7,1% et le groupe sanguin O était le plus représenté avec 38,6% dans l'ensemble de la population. Le phénotype Ccee représentait 61,97% des phénotypes Rh Del. 95,77% des phénotypes Rh Del étaient de sexe masculin. La PCR-SSP pour 100% des Rh Del a montré une amplification des 10 exons du gène RHD avec la présence de l'haplotype (C). L'allèle RhD 1227A était présent chez tous les échantillons Rh Del.

Mots clés : Allèle RhD, Phénotype Del, Donneurs de sang.



KE



Univ



2



*Caractérisation moléculaire du gène RHD chez les donneurs de sang présentant le phénotype Rh Del
au centre national de transfusion sanguine de Bamako*
