الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة عبد الحميد بن باديس – مستغانم
كلية العلوم الاجتماعية
قسم علوم الإعلام والاتصال

مذكرة تخرج لنيل شهادة الماستر
تخصص صحافة علمية

دراسة الزمر الدموية (ABO)والريزوس (RH) على مستوى مستشفى السوقر -تيارت-

تحقيق عن حالة تصنيف الدم وكيفية نقل الدم في الحالات الإستعجالية

إعداد الطالبة:
- بن عمر أم الخير

تحت إشـــراف:
- الأستاذ مالفي عبد القادر

السنة الجامعية: 2010 – 2011

كلمة شكر وتقدير

الحمد لله الذي هدانا إلى نور العلم وميّزنا بالعقل الذي يسير طريقنا

الحمد لله الذي أعطانا من موجبات رحمته الإرادة والعزيمة على إتمام عملنا.

نحمدك يا رب حمدا يليق بمقامك وجلالك العظيم

أتقدم بالشكر الجزيل إلى كل الأساتذة الذين أشرفوا على تعليمنا

من الطور الابتدائي إلى الطور الجامعي

وشكر وتقدير خاص لأستاذي الكريم المشرف "مالفي عبد القادر"

وإلى كل التقنيين العاملين بمستشفى السوقر لولاية تيارت

عائشة، نادية، فتيحة ورئيس المخبر خديم خالد.

وشكر كبير إلى كل من ساهم وساعدني ولو بكلمة تشجيعية.

والحمد لله ربّ العالمين.

إهـــداء

الحمد لله القادر المقتدر، من هو ألطف من العباد وأحنّ من الآباء الذي قال في كتابه الجليل "ووصّينا الإنسان بوالديه إحسانا" ربّي اغفر لي ولوالداي وللمسلمين...

إلى من هي أندى من قطرات الندى وأصفى من ماء الدجى

إلى التي كانت تفرح لفرحي وتحزن لحزني من ستبقى القدوة الصارخة في الصبر والإرادة

إلى أمي الحبيبة أسكنها الله فسيح جنانه

إلى من أستمدّ منه قوتي واستمراريتي، من ألبسني ثوب مكارم الأخلاق والأدب من كان قدوة أقتدي بها، إليك أبي العزيز.

إلى التي غمرتني بحنانها، إلى التي أوقدت فيّ شعلة التواصل والمثابرة

إلى التي منحتني الشجاعة، من علمتني كلمة أقولها "أمي" من ربتني بعد أمي "جدتي الحبيبة" أطال الله في عمرها.

إلى من تقاسمت معهم حلو الحياة ومرّها، إلى من كانت بسمتهم ونظرتهم تبعث في نفسي القوة وحب الحياة أخواتي الأعزاء "فاطمة، فضيلة، مباركة، مريم، مصطفى، أحمد".

إلى كامل عائلتي من صغيرهم إلى كبيرهم وخاصة خالي الحبيب من كان دعما وسندا لي دائما "عابد خلف الله"

إلى من أفرح بلقائهم وأتألم لفراقهم، أصدقائي الأعزاء "أمينة، تركية، آمال، حبيبة، فايزة، بختة، ربيعة، عالية، صالح، ماسي، ناصر، عبد الله، مجدوب، زهير".

إلى كل من جمعتني بهم محاسن الصدف في حياتي.

أم الخير

الفهرس

- المقدمة ..... أ

الفصل الأول: الدم ومكوناته

المبحث الأول: تعريف الدم وأهميته 01
المبحث الثاني: مكونات الدم 03
المبحث الثالث: وظائف الدم 09
المبحث الرابع: أصل الكريات الحمراء 10
المبحث الخامس: تطور كريات الدم الحمراء 11

الفصل الثاني: الزمرة الدموية

المبحث الأول: تاريخ اكتشاف الزمرة الدموية 12
المبحث الثاني: مفاهيم مناعية 13
المبحث الثالث: نظام الـ ABO 14
المبحث الرابع: نظام الـ Rhésus 24
المبحث الخامس: الأمراض الانحلالية للمواليد الجدد MHNN 28

الفصل الثالث: طرق ووسائل معرفة فصائل الدم وعملية نقل الدم

المبحث الأول: لمحة عن مكان التربص 33
المبحث الثاني: تحديد الزمرة الدموية 35
المبحث الثالث: الكشف عن عامل الـ Rhésus
..... 42
المبحث الرابع: اختبار coombs 44
المبحث الخامس: اختبار الانسجام المتقاطع 49
- الخاتمة .....
- المراجع .....
- الملاحق .....

المقدمة

تتجلى دراسة الزمرة الدموية في احتياج الإنسان المستمر للدم، لذا كان لاكتشاف المجاميع الدموية دور عظيم في عملية نقل الدم الذي يعتبر عنصرا أساسيا وضروريا لجميع خلايا الجسم، لهذا تزداد النداءات للإعانة أو التبرع بالدم من أجل إنقاذ المرضى فيجب توعية وتحسيس المجتمع بأهمية هذا العمل الحساس.

ويشترط قبل الحقن التأكد من توافق الزمرة الدموية وإجراء تقنية البحث عن الحالات "Anti A, Anti B" في حالة ما إذا كان الواهب من الزمرة "O" المتبرع العام والآخذ (المستقبل) من الزّمَر: AB, B, A وهذا حتى نتفادى أي حوادث أو صدمات ناتجة من جراء هذا الحقن.

لهذا يتوجب على التقنيين والعاملين بمركز حقن الدم CTS (centre de transfusion sanguin) في الحالات الاستعجالية وعند انعدام أكياس الدم من الزمرة AB, B, A في بنوك الدم إجراء تقنية البحث عن الحالات Anti A, Anti B والتحقق من أن مصل الدم من زمرة "O" لا يحتوي نهائيا على هذه الحالات، بعد هذا يمكن حقن الدم "O" للمريض من الزمر: AB, B, A دون أي خطورة.

كما أن الخطورة تكون أكبر في حالة حقن الدم من الزمر: AB, B, A إلى شخص يحمل الزمرة "O" لوجود تنافر بين دم الآخذ والمعطي الذي يؤدي إلى تخريب الكريات الحمراء، وهذا التنافر راجع لوجود أجسام مضادة طبيعية Anti A, Anti B لدى الزمرة "O" الموجهة ضد كريات الدم الحمراء المحقونة.

لكن التبرع بالدم دون إدراك أو معرفة انسجام دم الآخذ مع دم الواهب قد يؤدي إلى الهلاك.

- فكيف يتم تحديد الزمر الدموية (ABO) ؟
- وما هي شروط عملية نقل الدم الواجب اتخاذها تفاديا لأي خلط مميت ؟

الفصل الأول

الدم ومكوناته

الدم هو عبارة عن نسيج حيوي ضام وهو سائل أحمر اللون لاحتوائه على الهيموغلوبين لزج القوام ملحي الطعم كثافته 1030 للبلازما 1100 للكريات، يقدر حجمه من 5 إلى 6 لترات عند الرجال، ومن 4 إلى 5 لترات عند النساء، ويبقى الحجم العام له ثابت لأن الكليتان تقومان بطرح السائل الزائد.

ويتغير هذا الحجم بتغير الحالات الفيزيولوجية كالحمل والرضاعة والتغذية، له درجة حموضة تعادل 8 حيث إذا قلت عن 7 تصبح مميتة.

أهمية الدم تبينت منذ الأزمنة القديمة، كان الناس يعتقدون أن الفصد والحجامة يؤديان لخروج المرض مع الدم.

بدأ اهتمام العلماء بالدم منذ عهد الطبيب الإغريقي أبُقراط الذي عاش خلال القرنين الخامس والرابع ق.م. افترض أبقراط أن كل الأمراض تنجم عن اضطراب التوازن لأربع أخلاط (سوائل) في الجسم، المرّة (الصفراء) ذات اللون الأسود، والدم والبلغم والصفراء ذات اللون الأصفر. وقادت النظرية لتطبيق الفصادة – الحجامة أو سحب الدم من وريد الشخص المريض – لكي يذهب الداء مع الدم. لقد كانت الفصادة لعدة قرون المعيار الطبي الوحيد للمعالجة. وكان الحلاقون يقومون بهذا الإجراء خلال العصور الوسطى.

وفي نهاية القرن الثامن عشر وبداية القرن التاسع عشر، وصف عدد من الأطباء الفصادة وسببت وفاة عدد من المرضى بسبب فرط فقد الدم. في عام 1628م، وصف الطبيب الانجليزي وليم هارفي كيفية حدوث الدورة الدموية خلال الجسم. وقد سبقه الطبيب المسلم علاء الدين بن النفيس عندما اكتشف الدورة الدموية الصغرى في القرن الثاني عشر الميلادي وقال: إن الدم ينقّى في الرئتين، قبل سرفيتوس بثلاثة قرون، ويظهر ذلك في كتابه الشهير شرح تشريح القانون.

ولقد أصبح عمله هو الأساس للاكتشافات اللاحقة عن وظائف الدم التي قام بها وليم هارفي. وفي عام 1882م، اكتشف إلي ميتشنيكوف عالم الأحياء الروسي طريقة البلعمة. وقد ساعد اكتشافه على تفسير كيفية القضاء على الجراثيم بوساطة الكريات البيض.

وفي عام 1882م أيضاً وصف عالم الأحياء الإيطالي جوليو بزوزيرو – بدقة ولأول مرة – وظائف الصفيحات وعلاقتها بتجلط الدم.

وبازدياد المعرفة لفائدة مشتقات الدم، قام الأطباء أولاً بنقل الدم مباشرة من المتبرع إلى المريض، وقد فشلت معظم هذه المحاولات.

وفي بداية القرن العشرين، اكتشف عالم المناعة النمساوي المولد كارل لاندشتاينر – الذي عمل في الولايات المتحدة الأمريكية – الفصائل الدموية (أ ب و). لقد أدى إجراء اختبار التوافق الذي يتم بين المتبرع بالدم والمريض إلى تحسن مذهل في عمليات نقل الدم الناجحة.

وفي عام 1940م اكتشف العالم لاندشتاينر وزميله العالم الأمريكي ألكسندر فنر العامل (ر هـ).

وأصبح تخزين الدم ممكنا في عام 1914م بإضافة المغذيات والمواد الكيميائية التي تتحكم في عملية التجلط في الدم. وقد تمت أول عملية تبرع طوعي للدم في لندن عام 1921م، وفي عام 1936م افتتح أول بنك دم في العالم في مستشفى كوك كاونتي في شيكاغو.

وخلال الحرب العالمية الثانية (1939-1945م) ساعد إعطاء الدم في إنقاذ حياة العديد من المصابين المدنيين والعسكريين، وقد تمكن الجراحون من استعمال البلازما التي كانت تحفظ لمدة أطوال من الدم الكامل، وذلك في ساحة المعركة وحالات الطوارئ (المعالجة الإسعافية).

وخلال الثمانينيات من القرن العشرين بدأت المستشفيات بإخطار المرضى المنتظرين لعمليات جراحية غير إسعافية لتخزين دمائهم في بنك الدم. وتتطلب إجراءات حفظ الدم في البنك جمع وحفظ الدم لعدة أسابيع قبل العملية الجراحية، ليكون جاهزاً للاستعمال إذا طلب. تعرف طريقة عودة المريض لاستعمال دمه الشخصي بنقل الدم الذاتي.

وظل العلماء يعملون على تطوير بدائل الدم أو الدم الصناعي الذي يمكن أن يغني عن الدم الإنساني في عمليات نقل الدم. وهذا البحث مهم جداً، حيث يمكن أن تنطوي عملية نقل الدم، بالرغم من الاحتياطات الشديدة، على تفاعلات خطرة ويؤدي لنقل الفيروسات والالتهابات الأخرى.

وتتضمن الأبحاث الحديثة الأخرى إنتاج واختبار العوامل المسؤولة عن تكوين خلايا الدم. وقد أصبح كثير من هذه العوامل متوافراً بكمية كبيرة بغية اختبارها في المرضى، وقد بُدئ باستعمالها عند المرضى الفاقدين لكمية زائدة من الكريات الحمر، والكريات البيض أو الصفيحات.

وبنهاية عام 2000م، كان هناك ثلاثة أجيال من الدم الصناعي في مراكز الأبحاث العالمية إلا أنها لم تحقق نجاحاً مشجعاً. ويرى بعض العلماء أن الدم الصناعي، من الناحية النظرية، قد يكون أفضل من الدم المتبرع به لأنه لا يسبب ارتكاسات مناعية، ولا يرفضه الجسم ولا ينقل الأمراض المعروفة مثل الأيدز والأمراض الفيروسية الأخرى، كما يمكن حفظه في جميع الظروف.

ولما فشلت التجارب السريرية في إثبات جدوى استخدام الدم الصناعي اتجه العلماء لبدائل أخرى منها إعطاء المريض عقاقير تساعد على إنتاج عناصر دموية تجمع قبل العملية بعدة أسابيع ثم يتم استخدامها للمريض نفسه. أو ربما ينتج دم بوساطة الهندسة الوراثية حيث تعدل مورثات بعض الحيوانات وتجبر على إنتاج دم بشري. وتكتنف هذه الطريقة مخاطر كثيرة أبرزها خطر انتقال الفيروسات الحيوانية إلى الإنسان[1].

الفيبرينوجين Fibrinogène:

له أهمية بالغة في عملية التجلط ويكون عمر هذه البروتينات 5-20 يوم حسب نوع البروتين ويعطي للدم لزوجة عالية.

II- المكونات الخلوية للدم:

1) كريات الدم الحمراء:

هي خلايا ذات شكل مستدير مقعرة الوجهين عديمة النواة نجدها عند الفقاريات واللافقاريات تنعدم عند عائلة من الحوت الموجودة في القطب الجنوبي Chaenichythides.

[1]- http://www.marefa.org/index.php.

ويكون قطرها 7,7 ميكرون عند الإنسان وعددها عند الرجال 5×10^6 كرية/ملم^3 وعند النساء $4,5 \times 10^6$ كرية/ملم^3.

وعند الماعز 18×10^6 كرية/ملم^3 وقطرها 4 ميكرون، بينما عند البرمائيات نجدها أقل عددا وأكبر حجما 6×10^6 كرية/ملم^3 قطرها 16-22 ميكرون.

ويكون حجمها وعددها ثابت عند نفس النوع ما عدا بعض الحالات المرضية[*].

غشاؤها:

يتركب غشاء الكريات الدموية الحمراء من معقدات بروتينية ليبيدية وهو غير نفوذ للمواد شبه غروية والأيونات K وNa بينما يسمح بنفوذ Cl^- وH^+ (عمران شلش 1984)[1].

حيث تكمن أهمية هذا الغشاء في حماية مكونات الكرية الحمراء مثل (الهيموغلوبين) ويؤمن عملية التبادل الخلوي والمحافظة على الضغط الأسموزي يساعد على مطاطية الكرية مما يسمح لها باسترجاع شكلها سريعا بعد عبورها من خلال الأوعية الدقيقة (Pasteur et al 1971)[2].

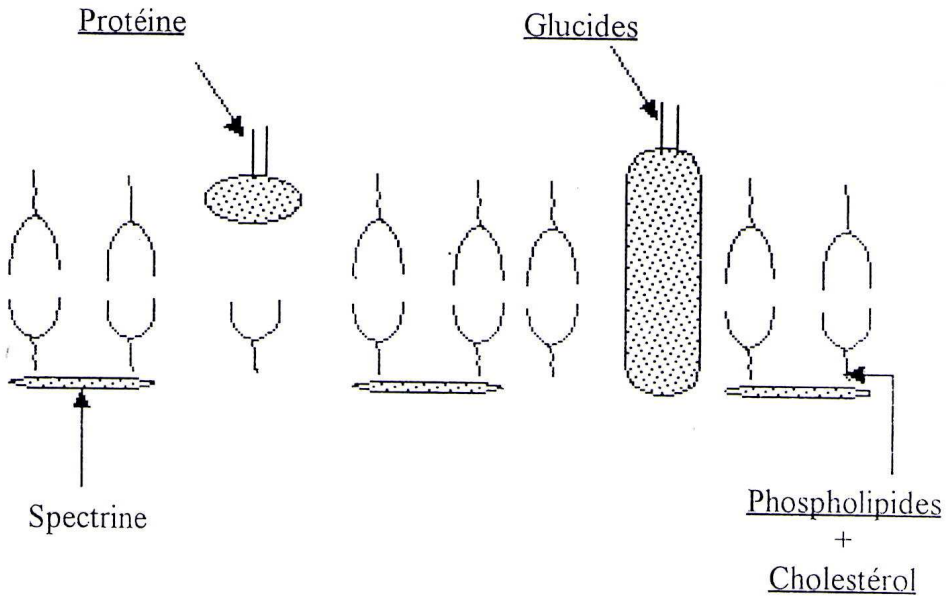
وتفقد هذه الأهمية عند انحلال الكريات الحمراء عن طريق تشكيل معقد التحطيم الغشائي في الحالات المرضية أو في حالات الحقن غير المتوافقة.

(*) Thebault. L. Aspects organiques, 1998, circulation sanguine (internet).

1- عمران شلش، 1984.

2- Pasteur et al, 1971.

3- Bernard et al, 1984, Hématologie, édition de la règne 75006, Paris.



الشكل رقم (1): رسم تخطيطي يوضح التركيب الغشائي لكريات الدم الحمراء[3].

الهيموغلوبين:

هو عبارة عن بروتين يمثل 33% من وزن الكرية الحمراء يتم تركيبه في مراحل تكوين الكرية الحمراء وله دور في التقليل من لزوجة الدم، مما يخفف العبء على القلب وينقل الأكسجين إلى الأنسجة ويدعى في حالة نقل الأكسجين أكسي هيموغلوبين.

وفي حالة نقل ثاني أكسيد الكربون يدعى كربوكسي الهيموغلوبين ويتكون من شقين هما: الهيم والغلوبين.

الهيم:

هو عبارة عن صبغة متحدة مع الحديد على شكل Fe^{+2} له قابلية نقل الأكسجين.

الغلوبين:

مادة بروتينية متصلة مع أربع جزيئات من الهيم.

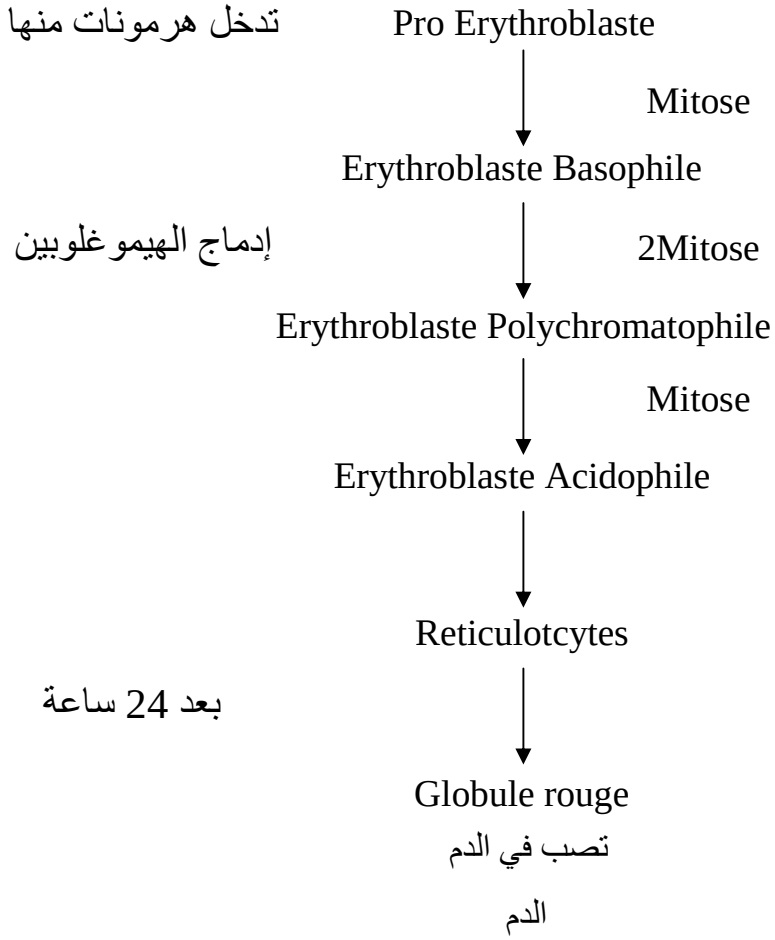
الحديد:

يعتبر من بين المعادن المنتشرة بكثرة في الجسم، يتمثل دوره في نقل الأكسجين بواسطة الهيموغلوبين، كما يتدخل في تفاعلات الأكسدة والإرجاع الخلوية[1].

[1]- نفس المرجع السابق، Bernard et al, 1984.

تكوين الكريات الحمراء:

تنشأ كريات الدم الحمراء في نخاع العظم بالتمايز وانقسامات على عدة مراحل ابتداءً من الخلايا الأم التكوينية حيث تمر بانقسامات خيطية وتتم العملية كالتالي:



مراحل تكوين كريات الدم الحمراء[1].

[1]- نفس المرجع السابق، Bernard et al, 1984.

2) الخلايا البيضاء:

هي خلايا قليلة العدد كبيرة الحجم إذا ما قورنت بكريات الدم الحمراء لها نواة وتوجد ما بين 5000 إلى 10000 كرية بيضاء/ملم^3 عند الإنسان البالغ.

ويرتفع هذا العدد في بعض الحالات المرضية الالتهابية كما لها أهمية كبيرة في عملية الدفاع، ويختلف قطرها حسب نوع الكائن فمثلا:

من 8 إلى 20 ميكرون عند الإنسان

من 5 إلى 10 ميكرون عند الحوت

من 20 إلى 70 ميكرون عند البرمائيات

من 30 إلى 100 ميكرون عند الزواحف

من 70 إلى 200 ميكرون عند الطيور

من 350 إلى 2 ملم عند الثدييات[1].

وتنقسم إلى نوعين من الخلايا:

- الخلايا المحببة
- الخلايا غير المحببة

أ- الخلايا المحببة Granulocytes:

تتميز بانتشار حبيبات داخل السيتوبلازم ولها نواة مفصصة ومتعددة الأشكال وتضم ثلاث أنواع من الخلايا:

- خلايا محببة حامضية Acidophiles.
- خلايا محببة قاعدية Basophiles.
- خلايا محببة متعادلة Neutrophiles.

1- Brkaloff et al, biologie et physiologie cellulaire, 1998 (internet).

أ–1– الخلايا المحببة الحامضية:

تتميز بالانتشار الواسع للحبيبات داخل السيتوبلازم وغالبا ما تكون نواتها لها فصين وتتلون بالملونات الحامضية ويتجلى دورها في تنشيط الهيستامين المفرز من الخلايا القاعدية في حالة الحساسية إفراز الفيبرينوليزين الذي يذيب فبرين التجلط.

أ–2– الخلايا المحببة القاعدية:

قطرها ما بين 12 إلى 18 ميكرون نواتها تحتوي على Heparine والهيستامين المفرزة عن طريق تفاعلات Antigène – Anti corp (Ag – Ac) ونجد حبيباتها كبيرة.

أ–3– الخلايا المحببة المتعادلة:

تشكل حوالي 96% من التعداد الكلي للكريات البيضاء عند الإنسان، متعددة الفصوص من 2 إلى 5 ويتجلى دورها في بلعمة الكائنات الدقيقة والتفاعلات الالتهابية.

ب– الخلايا غير المحببة Agranulocytes:

ب–1– خلايا بيضاء ليمفاوية:

قطرها صغير من 6 إلى 8 ميكرون عند الإنسان وشكلها دائري تنشأ من العقد الليمفاوية وهي مسؤولة عن تفاعلات مناعية نوعية وأيضا تدخل في الدفاع عن الجسم بإنتاج الأجسام المضادة.

ب–2– خلايا بيضاء منوسيت:

لها شكل إلى حد ما كروي ونواة تشبه حذوة الحصان ليست مفصصة قطرها من 9 إلى 12 ميكرون عند الإنسان تعمل كخلايا بلعمية تتدخل في تنقية الدم من الخلايا الميتة وبقايا الخلايا التالفة[1].

ويتراوح عدد الكريات الدموية البيضاء عند المواليد الجدد من 10 آلاف إلى 25 ألف كرية في ملم^3 من الدم، أما عند البالغين 4 آلاف إلى 10 آلاف كرية في ملم^3. [2]

1- Bray et al, 1986, lecteur smotes or human physiology, Editeur, Blackwell scientific Edition.

2- Bachir et al, 1993, Hématologie, S4, chimique (Tome I et II) office des publications universitaires, place …

3) الصفائح الدموية:

هي أجزاء خلوية بيضوية الشكل أو كروية عديمة النواة يصعب تمييزها عن الليمفاوية الصغيرة يتراوح عددها من 200.000 إلى 400.000 صفيحة/ملم^3 من الدم وهذا العدد يتغير كثيرا حيث تكون مدة حياتها 10 أيام تلعب هذه الصفائح دوراً هاما في عملية التجلط لاحتوائها على الترموبلاستين الذي يحرر خلال عملية التجلط ويكون نشاطها مرتفع نهاراً ومنخفض ليلاً.

III- وظائف الدم:

كما ذكرنا سابقا أن الدم عنصر أساسي وهام في العضوية نظراً لوظائفه المتعددة والمتنوعة منها.

1- النقل:

يجري الدم داخل العضوية مزوداً الأنسجة بالأكسجين والغذاء ويقوم بطرح ثاني أكسيد الكربون والفضلات الناتجة عن الاستقلاب وتوزيع الهرمونات والحرارة والمحافظة على الضغط الأسموزي.

توجيه الرسائل الكيميائية والهرمونية والمركبات الأخرى بين مختلف الأنسجة ومراقبة الـ pH.

2- الدفاع:

يكون الدور الدفاعي للدم ضد الأجسام الغريبة الغازية للجسم وذلك بوجود خلايا الدم البيضاء بأنواعها بما في ذلك الحامضية، القاعدية والمتعادلة والليمفاوية المنتجة للأجسام المضادة لهذه الأجسام الغريبة إضافة إلى المتمم ذلك النظام الأنزيمي الذي يكون له هو الأخر دور دفاعي ضد الكائنات الحية الدقيقة وتفاعلات (Ag – Ac).

3- التجلط:

تعتبر عملية التجلط مهمة ووظيفة أساسية حيث تظهر عند بعض اللافقاريات البحرية عند فقدانها للدم عن طريق جرح أو ضرر بحجز أو بتقلص أو تشنج الأوعية أما اللافقاريات الأخرى فالخلايا الدموية لها خاصية تشكيل جلطة دموية حيث يكون الدم أثناء خروجه من الأوعية عن طريق نزيف أو جرح سائلا وما يلبث أن يتجمد تدريجيا في مدة

تتراوح ما بين دقيقتين وخمس دقائق حسب نوع الكائن وحسب حالة الفرد نفسه، أثناء هذه العملية تتكون ألياف عديدة متقاطعة مع بعضها على شكل شبكة توجد بينها كريات الدم الحمراء والبيضاء، كما لوحظ أنه عند وضع البلازما لمدة زمنية خارج الجسم فإنها تشكل جلطة تميل إلى اللون الأبيض[1].

IV- أصل الكريات الحمراء:

في الجنين تظهر الكريات الحمراء الأولية في الميزوداوم للكيس المحي من الشهر الثاني إلى الشهر السابع من الحياة الجنينية، تتكون الخلايا الدموية في الكبد والطحال وفي نفس الوقت أثناء الشهر الخامس يبدأ إنتاج الخلايا الدموية في نقي العظام. وحين الولادة في الحالة الطبيعية تكون عملية تكوين الكريات الحمراء مقتصرة على النقي ولكن قد تستعيد الأنسجة الأخرى نشاطها مرة أخرى في الإنسان البالغ تحت ظروف مرضية لتكوين كمية كبيرة منها. تستخلف الخلايا الدموية باستمرار وبمعدل منتظم، لذلك فإن عددها يبقى ثابت ومدة حياتها 120 يوما.

الكريات الحمراء	الرجل	المرأة	الأطفال
- عدد الكريات الحمراء ($\times 12^{+12}$)/لتر	6,5 – 4,5	5,8 – 3,8	5,2 – 3,6
- تركيز الهيموغلوبين غ/ل	180 – 130	165 – 115	135 – 105
- هيماتوكريت pcu	0,65 – 0,4	0,47 – 0,37	–
- معدل حجم الكرية ($\times 10^{-15}$)/لتر	96 – 76	96 – 76	80 – 70
- معدل الهيموغلوبين بين الكريات غ/ل	350 – 300	350 – 300	–
- سرعة ترسب الكريات الحمراء ملم/ساعة	7 – 1	9 – 3	–

الجدول رقم (1): القيم الطبيعية بالنسبة لكريات الدم الحمراء في الإنسان[*].

[1]- نفس المرجع السابق، Brkaloff et al, 1998

[*]- عبد المجيد الشاعر، نزار فؤاد جاد الله وحكمت خليل جبر، 1993، بنوك الدم، دار المستقبل للنشر والتوزيع، عمان-الأردن.

V- تطور كريات الدم الحمراء:

تتكون الكريات الدموية من خلايا غير متميزة في النخاع العظمي، تعرف بالخلايا البدائية الأولية التي تتكاثر وتعوض بعضها بالانقسام الميتوزي، وبما أنّها تستطيع التطور بالعديد من الطرق فإنها تعرف بالخلايا الأم. تتميز هذه الخلايا بكبر حجم النواة وقلة كمية الهيولى ويبلغ قطر الخلية 10 – 15 ميكرون، ومنها تتطور خلايا متخصصة والتي تعطي بدورها كريات الدم الحمراء، الخلايا البيضاء، الصفائح والخلايا اللمفية. ونلاحظ أن هذه الأخيرة تتكون من سيتوبلازم الخلايا العملاقة، والخلايا المتميزة في نخاع العظام تدخل في مرحلة التحول والنضج والتكاثر عبد العديد من المراحل حتى تكون الخلايا البالغة.

وهناك عناصر أساسية لتطور الكريات الحمراء كالحديد الذي يعتبر أساسيا لتكوين هيموغلوبين والنقص في فيتامين B12 ينتج عنه نضج غير طبيعي للكريات الحمراء في نخاع العظام ونقص في عددها وكذلك تواجد خلايا غير مكتملة التكوين وخلايا حمراء كبيرة، كما أن مادة التيروكسين مهمة في تكوين الهيم.

الفصل الثالث

طرق ووسائل معرفة فصائل الدم وعملية نقل الدم

لمعرفة كيفية تحديد الزمرة الدموية وكذا عملية نقل الدم للإعانة أو التبرع من أجل إنقاذ المرضى انتقلنا إلى مخبر تحليل الدم بالمؤسسة الاستشفائية العمومية بالسوقر التابعة لولاية تيارت أين أجري تحقيق صحفي لمدة 15 يوم، تم أثناءه استجواب رئيس المخبر السيد: خديم خالد ورئيس مركز حقن الدم السيد: عبد الحفيظ ميلود وبعض الموظفين: عائشة بهلول، خلف الله حليف، نادية ميموني، ساكوري خيرة. الذين كانوا دعما لنا وعونا في تجهيز وتهيئة مادة التحقيق.

تعريف التحقيق الصحفي:

يقوم التحقيق الصحفي على خبر أو فكرة أو مشكلة أو قضية يلتقطها الصحفي من المجتمع الذي يعيش فيه ويقوم بجمع المادة موضوع التحقيق من بيانات، معلومات، آراء وغيرها تتعلق بالموضوع لعلاج المشكلة التي يطرحها هذا التحقيق.

مصادر التحقيق الصحفي:

يمكن للمحرر أن يلتقط أفكار تحقيقاته من خلال هذه المصادر وسائل الإعلام وما تقدمه كالصحافة، الراديو، التلفزيون وغيرها إضافة إلى الإعلانات التي قد تكون مصدر الفكرة أو تحقيق صحفي.

- المشاهدات المختلفة للصحفي وتجاربه أو تجارب غيره سواءا في بيئته أو بيئة أخرى.
- القصص الإنسانية والحالات الغير عادية.
- الدراسات والأبحاث والتقارير والنشرات وغيرها.

وظائف التحقيق الصحفي:

يقوم التحقيق الصحفي بعدو وظائف أساسية أهمها:

- وظيفة الإعلام: تشمل هذه الوظيفة نشر الحقائق والمعلومات الجديدة لإيصالها إلى الجمهور.
- تفسير الأنباء: يقوم التحقيق على تفسير الأحداث والأخبار وشرحها وذلك بكشف أبعادها الإقتصادية ودلالتها السياسية.

- التوجيه والإرشاد: تتمثل في التصدي لقضايا المجتمع ومشكلاته والبحث لها عن حلول.
- الإعلان: يشيد أحيانا التحقيق لمشروع معين ويسمى في هذه الحالة التحقيق الإعلاني.

ويمكن الحصول على الأفكار من كل ما تقع عليه عيون الصحفي وأفضل التحقيقات ما كان متصلا بهموم الناس ومشاكلهم.

والتحقيق الذي قمنا به كان حول حالة تصنيف الدم وكيفية النقل في الحالات الإستعجالية أين تم التربص بـمخبر تحليل الدم لمدة 15 يوما والذي يتم العمل به على النحو التالي:

- يستقبل المخبر الأشخاص المراد فحص دمهم يوميا، والمتبرعين بالنسبة لمركز حقن الدم (CTS).

- يتم تسجيل اسم الشخص المراد فحص دمه ولقبه والتحاليل المراد إجراؤها له في أنابيب الاختبار.

- يجب أن يكون الشخص المراد فحص دمه صائم، أما المتبرع يكون صائم أو يتناول وجبة خفيفة.

- يتصل المتبرع بالممرض فيسجل هذا الأخير اسمه، لقبه، تاريخ ومكان الازدياد والعنوان الشخصي والسن.

- ثم تحدد قدرة المتبرع على التبرع وهذا بأخذ ضغطه الدموي واستجوابه بطرح الأسئلة التالية:

- سنه الذي يجب أن يكون ما بين [18-60] سنة.

- إذا كان أجرى عملية جراحية أم لا.

- إذا كان مصابا بداء السكري.

- هل سبق وأن نقل له الدم.

- هل سبق له التبرع بالدم إذا كان بنعم، يسأل عن الفترة الفاصلة التي يجب أن تتجاوز ثلاثة أشهر.

بعدها يمدد المتبرع على السرير، ويشرع في عملية نقل الدم، وهذا باستعمال أكياس خاصة تحتوي على مادة مضادة للتجلط، تكون مزودة ببطاقة عليها البيانات التالية:

- رقم الكيس (المتبرع)
- زمرة الدم
- عامل الـ Rhésus
- تاريخ التبرع
- مدة صلاحية هذا الدم التي تنتهي بعد 35 يوما.

بعد ذلك توضع الأكياس في المبرد ويكون المخبري قد أخذ منها عينات في أنابيب معنونة، حيث يقوم بتحديد فصيلة الدم وكذا الاختبارات المصلية للكشف عن الأمراض المتنقلة عن طريق الدم ثم تسجل هذه النتائج في سجل خاص، كما تصنع لكل متبرع بطاقة التبرع.

في حالة احتياج للدم لا يتم إخراج أي كيس إلا بعد ضمان تعويضه إلا في بعض الحالات المستعجلة.

كما يكلف الشخص المسؤول في المركز بنقل الدم ويكون مرفوقا بتصريح ويتم نقل الدم في درجة حرارة منخفضة وفي ظروف جد وقائية.

II- تحديد الزمرة الدموية ABO:

1- أخذ الدم Le prélèvement:

تعتبر عملية أخذ الدم عملية سهلة تكون كالتالي:

نبدأ بوضع الشريط المطاطي أعلى المرفق قليلا حتى تسهل عملية الأخذ وبروز الوريد، ثم نعقد مكان الوخز نطلب من الشخص المراد أخذ دمه غلق وفتح راحة يده لتوضيح الوريد، نوخز الشخص بالإبرة، وبعد أخذ كمية كافية من الدم يتم سحب الإبرة بلطف، نقوم بتوزيع الدم في أنابيب الاختبار عليها بيانات حتى لا يتم الخلط.

يكون الأنبوب جافا وهذا لعدم احتوائه على مضاد التخثر يستعمل للاختبارات المصلية les tests sérologiques وكمية أخرى من الدم في أنبوب ثاني يحتوي على

مضاد التخثر Anti coagulant من نوع wintrobe أو citrate لتجرى به اختبارات أخرى كتحديد الزمر الدموية أو البحث عن الحالات.

2- المبدأ:

يعتمد على الكشف عن فصائل الدم في نظام الـ ABO وهذا الكشف يكون بواسطة تقنيتين دقيقتين ومتكاملتين وهما:

أ- **تقنية Beth-Vincent**: الهدف منها الكشف عن نوع Ag (Agglutinogène) الذي يوجد على سطح كريات الدم الحمراء، وتعتمد هذه التقنية على مزج كريات الدم المراد فحصها مع قطرة من مصول الفحص Anti A, Anti B, Anti AB في درجة حرارة ملائمة وقراءتها خلال دقيقتين.

ظهور التراص Agglutinations أو عدمه يستدل به على معرفة الزمرة الدموية.

ب- **تقنية Simonin**: الهدف من هذه التقنية هو معرفة نوع AC (Agglutinin) الموجود في المصل أو عدم وجوده وبالتالي يمكن معرفة نوع الفصيلة الدموية.

حيث يمكن فصل المصل للشخص المراد فحص دمه ويتم تحديد الزمرة عن طريق تفاعل مصل الشخص مع الخلايا المعلومة من A, B أو عدم التفاعل.

الجدول رقم (8): تلخيص التقنيتين معا

	Simonin	**Beth-Vincent**
دم الشخص المراد فحصه	المصل	كريات الدم الحمراء
الكواشف	كريات الدم الحمراء الاختبارية	مصل الاختبار: Anti AB, Anti B, Anti A

3- أخذ العينة:

5 ملل من الدم كافية لإجراء التقنيتين، حيث تأخذ هذه العينة من الدم في أنبوب جاف أو أنبوب يحوي على مضاد للتجلط ومن الأحسن أن يؤخذ هذا الأخير لتجنب أي انحلال للخلايا الدموية، ومن أهم مضادات التجلط (les anticoagulants) المستعملة في علم الدم لدينا:

Les oxalates

Le citrate

EDTA (Ethylene diamine tetra Acetate)

قبل أخذ العينة يجب عنونة الأنابيب وهذا لتفادي أي خلط خاصة في عملية الطرد المركزي.

4- الأدوات المستعملة:

- أنابيب اختبار [12 × 75 ملم].
- لوحة opaline.
- جهاز الطرد المركزي centrifugeuse.
- حمام مائي أو حضانة بـ 37°م.
- حامل porteures.
- ماصة باستور.
- أنبوبة زجاجية: - واحدة للماء الفزيولوجي.
  - واحدة للماء المقطر.
  - ماء عادي ممزوج بماء جافيل للتنظيف.

5- الكواشف:

أ- الأمصال الاختبارية:

الزمرة ABO تتفاعل بوجود الأمصال الاختبارية التالية:

- مصل الاختبار تحتوي على الأجسام المضادة Anti-A.
- مصل الاختبار تحتوي على الأجسام المضادة Anti-B.

- مصل الاختبار تحتوي على الأجسام المضادة Anti-AB.

ب- كريات الدم الحمراء الاختبارية:

كريات الدم الحمراء الاختبارية (كـ.د.ح.إ) تحضر فرديا في المخبر بحيث تأخذ عينة من الزمرة A و B وتكون هتين الزمرتين الخاضعتين لاختبارات السيرولوجية، توضع هتين العينتين في أنابيب Ahemolyse وعليها رمز كل زمرة، ونضيف لها نفس الكمية من الماء الفيزيولوجي حيث تتم عملية الغسل ثلاث مرات في جهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق بسرعة 5000 دورة/د.

ملاحظة: كل من الأمصال الاختبارية و[كـ.د.ج.إ] يجب أن تحفظ في درجة حرارة 4°م وتستخدم في شروط وقائية لتجنب أي عدوى بكتيريا وكذا يجب احترام مدة استعمالها.

6- طرق الكشف عن الزمرة الدموية:

أ- تقنية Beth-Vincent:

1) الكشف على اللوحة Opaline:

في هذا الكشف نأخذ عينة الدم من الأصبع وهذا بوخزه بإبرة معقمة.

نضع على اللوحة Opaline ثلاث قطرات من الدم في صف واحد وقرب كل واحدة نضع قطرة من مصل الاختبار – مصل اختبار Anti-A

– مصل اختبار Anti-B

– مصل اختبار Anti-AB

ثم نمزج بلطف بواسطة القضيب الزجاجي عينات الدم مع المصل الموجود قربها حتى نحصل على شكل دائري بقطر 2 سم. يجب تنظيف القضيب الزجاجي جيدا بالقطن بعد كل مزج بين كريات الدم والمصل المقابل لها.

قراءة النتائج:

توضع لوحة Opaline على Rhesuxope إذا تعذرت الملاحظة وهذا بتحريك اللوحة لمدة دقيقتين على الأقل. تدون إيجابية التراص Agglutination أو سلبية Non agglutination التفاعل حسب الجدول التالي:

الجدول رقم (9): نتائج الزمرة الدموية لتقنية Beth-Vincent.

الزمرة الدموية	مصل الاختبار Anti-AB	مصل الاختبار Anti-B	مصل الاختبار Anti-A
A			
B			
AB			
O			

: غياب التراص Non Agglutination (انظر الملحق)

: حدوث التراص Agglutination

2) الكشف عن طريق الأنابيب:

هذه الطريقة تستغرق وقتا لإنجازها وكذا تتطلب مستلزمات أكثر لكنها تعطي نتائج دقيقة في حالة الشك في بعض الزمر أو تعذر قراءتها على الصفيحة:

- **طريقة العمل**:
  - توضع ثلاث أنابيب مرقمة على الحامل.
  - في كل أنبوب نضع قطرة من الدم المراد فحصه:
    - في الأنبوب الأول نضع قطرة من مصل الاختبار Anti-A
    - في الأنبوب الثاني نضع قطرة من مصل الاختبار Anti-B
    - في الأنبوب الثالث نضع قطرة من مصل الاختبار Anti-AB
  - ثم نرج بلطف الأنابيب ونضعهم في جهاز طرد المركزي بسرعة 5000 دورة/ دقيقة.

قراءة النتائج:

تكون بعد رج خفيف للأنابيب وفي نفس الوقت نلاحظ سلوك كريات الدم الحمراء:

- إذا انفكت بسرعة ⟸ لم يحدث تراص.
- إذا ظهرت على شكل راسب culot أو انفصلت بصعوبة على شكل حجيرات ⟸ حدث تراص.

التفسير:

- ظهور التراص في الأنبوب -1- و-3- يؤكد أنها الزمرة A.
- ظهور التراص في الأنبوب -2- و-3- يؤكد أنها الزمرة B.
- ظهور التراص في الأنابيب -1- و-2- و-3- يؤكد أنها الزمرة AB.
- غياب التراص في الأنابيب الثلاث يؤكد أنها الزمرة O.

ب- تقنية Simonin:

1) الكشف على لوحة opaline:

- بعد فصل المصل من الدم المراد فحصه.
- نضع فوق لوحة opaline قطرتين من المصل على صف واحد وقرب كل قطرة نضع:
  - قطرة من المعلق لكريات الدم الحمراء الاختبارية A.
  - قطرة من المعلق لكريات الدم الحمراء الاختبارية B.
- نمزج بلطف بواسطة قضيب زجاجي.

قراءة النتائج:

نأخذ لوحة opaline ونقوم بحركة دائرية للوحة ونقرأ النتائج بعد 2 أو 3 دقائق:

- ظهور التراص في قطرة المعلق كـ.د.ح. اختبارية B فقط يؤكد أنها زمرة A.
- ظهور التراص في قطرة المعلق كـ.د.ح. اختبارية A فقط يؤكد أنها زمرة B.
- ظهور التراص في قطرة المعلق كـ.د.ح. اختبارية B و A فقط يؤكد أنها الزمرة O.

- عدم ظهور التراص في كلا المعلقين يؤكد أن الزمرة هي AB، وهذا ما يبين في الجدول التالي:

الجدول رقم (10): نتائج الزمر الدموية بتقنية Simonin.

خلايا الدم الحمراء A	خلايا الدم الحمراء B	زمرة الشخص
		A
		B
		AB
		O

: عدم حدوث تراص.

: حدوث تراص.

2) الكشف عن طريق الأنابيب:

- نضع على الحامل أنبوبين مرقمين.
- في كل أنبوب نضع قطرة من مصل العينة.
- ثم نضيف على التوالي: - قطرة من معلق كـ.د.ح. الاختبارية A.
  - قطرة من معلق كـ.د.ح. الاختبارية B.
- نحرك بلطف ثم نضع في النابذة 5000 د/دقيقة.

قراءة النتائج:

تقرأ النتائج كما في طريقة الكشف على لوحة opaline.

ملاحظة:

عند الطفل الحديث الولادة لا يمكن أخذ نتائج الكشف بالتقنية Simonin كنتائج نهائية لأن الأجسام المضادة لا تكون كاملة النشوء قبل 24 شهراً.

III- الكشف عن عامل الريزيس Rhésus:

1- أخذ العينة:

تؤخذ العينة على طرف الأصبع للشخص المراد فحص زمرته وهذا بعد تعقيم طرف الأصبع جيدا ووخزه بإبرة معقمة، فقطرتين من الدم كافية لإجراء الفحص.

2- الكواشف:

مصل اختبار Anti-D

3- المستلزمات:

- لوحة opaline
- قضيب زجاجي

4- طريقة العمل:

- توضع قطرتين على لوحة opaline من دم العينة.
- تضاف قطرة من مصل اختبار Anti-D.
- نمزج بلطف وبشكل دائري قطرة الدم مع مصل اختبار بواسطة قضيب زجاجي.
- نحرك اللوحة بلطف لمدة 2 إلى 3 دقائق على الأقل.

5- قراءة النتائج:

- ظهور التراص في 3 دقائق أو أقل يدل على أن الـ Rhésus موجب.
- غياب التراص أي الخليط بقي متجانس Homogène يعني أن الـ Rhésus سالب.

ملاحظة:

يجب عدم تصنيف أي مجموعة دموية بأنها سالبة العامل الريزيس قبل استبعاد وجود الأنتيجان Du (Rhv) الضعيف على سطح كـ.د.ج. والذي يمكن الكشف عليه كالآتي.

6- الكشف عن الأنتيجان D الضعيف (Du):

1) المبدأ:

إن كريات الدم الحمراء البشرية التي تحمل العامل Du لا تتفاعل مع Anti-D بسهولة ويمكن التعرف على هذا العامل باستعمال Anti globine.

حيث هذا الأنتيجان يثبت الأجسام المضادة Anti-D بدون إحداث ارتصاص مباشر للكريات الحمراء التي تحمله، ولذا يعتبر من أكثر العوامل أهمية في عملية نقل الدم وفي العلاقة دم الأم والطفل عند الولادة. وبالتالي من الضروري استعمال اختبار coombs كتحليل مكمل لكل زمرة دموية ذات Rhésus سالب لإظهار تواجد Du على الكريات الحمراء.

2) المستلزمات:

- صفيحة opaline - أنابيب

3) الكواشف:

- Anti globiline - IgG

4) طريقة العمل:

- نضع قطرة من مضاد الغلوبيني Anti globiline.
- نضيف قطرة من المعلق الكريات الحمراء المغسولة ثم نخلط بحركة دائرية.

5) قراءة النتائج:

تقرأ النتائج خلال 3 دقائق ويثبت التفاعل السلبي بغياب الارتصاص بقراءة النتائج خلال 05 دقائق.

صعوبات تحديد Rh:

- استعمال الخلايا الحمراء الكثيفة وغير المعدة بتراكيز صحيحة كمعلق دموي صحيح.
- قلة تركيز الأجسام المضادة المضافة على الخلايا.
- وجود الأنتيجين Du الضعيف على سطح الخلايا وعدم معاملة الفحص حسب الأصول.
- انتهاء مدة صلاحية الأمصال المستخدمة.
- السترة السريعة ولمدة طويلة.
- استخدام الأجسام المضادة الكاملة Anti D مع خلايا الأطفال حديثي الولادة مما سبب في تحلل الدم.
- وجود بروتينات عالية التركيز في المصل.
- حدوث خثرات فيبرين صغيرة الحجم.
- وجود خاصية التخثر الذاتية للخلايا الحمراء.

IV- اختبار Coombs:

1) المبدأ:

إن هذا الاختبار يكشف عن وجود الأجسام المضادة في الدم والمثبتة على كريات الدم الحمراء الحاملة للأنتيجينات الموافقة لها دون أن تؤدي إلى ارتصاص، فعملية الغسل المتكرر لهذه كريات الدم الحمراء غير كافية. للجسم المضاد الغلوبيني لفك الرابطة Ag – AC على سطح هذه الكريات الحمراء. ولذا يجب استخدام Anti globiline.

أ- فحص كومبس المباشر Test de coombs direct (TCD):

اختبار كومبس المباشر يكشف عن الأجسام المضادة الملتصقة على كـ.د.ح. بحيث تكون غير كاملة مثل IgG وليست لها المقدرة على تكوين ارتصاص لوحدها إلا بعد إضافة جسم مضاد ويستعمل هذا الاختبار في حالات الأنيميا الانحلالية عند المولود الجديد.

2) المستلزمات:

- أنابيب 12 × 75 سم
- حامل
- جهاز الطرد المركزي
- ماصة باستور

3) الكواشف:

- Anti globiline IgG

4) طريقة العمل:

- نأخذ 2 – 3 قطرات من دم المريض [المراد فحصه] في أنبوبة نظيفة.
- تغسل العينة بواسطة ماء فزيولوجي 3 إلى 4 مرات وتتم هذه العملية بإضافة الماء الفزيولوجي إلى الأنبوبة ثم وضعها في جهاز الطرد المركزي لمدة 5 دقائق وبسرعة 5000 دورة/دقيقة.
- وبعد ذلك التخلص من الجزء الطافي.
- ثم يضاف الماء الفزيولوجي مرة أخرى. [تكرار هذه العملية 3 مرات]
- وبهذا يتم غسل الدم من المواد البروتينية والشوائب التي يمكن أن تعيق التفاعل.
- يحضر المعلق الدموي بنسبة 3–5%.
- تؤخذ قطرتين من المعلق الدموي وتنقل في أنبوب آخر.
- نظيف إلى الأنبوب قطرتين من Anti globiline ثم يتم وضعه في جهاز الطرد المركزي لمدة 5 دقائق وعلى سرعة 5000 دورة/دقيقة.

5) قراءة النتائج:

تقرأ النتائج بناءً على حدوث التراص أو عدمه.

6) تفسير:

- في حالة حدوث التراص ⇐ وجود أجسام مضادة غير مكتملة على سطح كريات الدم الحمراء وبالتالي نسجل TCD^{+}. (اختبار كومبس مباشر موجب).

- في حالة عدم حدوث التراص ⇐ وجود أجسام مضادة ملتصقة بكريات الدم الحمراء ونسجل TDC^{-}.

ب- اختبار كومبس غير المباشر [TCI]:

يستعمل هذا الاختبار في الكشف عن وجود بعض الأجسام المضادة الموجودة حرة في دم الإنسان وليست ملتصقة على سطح الخلايا الحمراء.

1) الكواشف:

- Antiglobuline - ماء فيزيولوجي

2) المستلزمات:

- خلايا حمراء مختارة من فصيلة O^{-} مفحوصة المستضدات، على سطوح خلاياها الحمراء والمنتقاة بعناية كي تفي بعرض الاختبار.
- أنابيب 12×75 سم
- حامل
- جهاز الطرد المركزي
- ماصة باستور

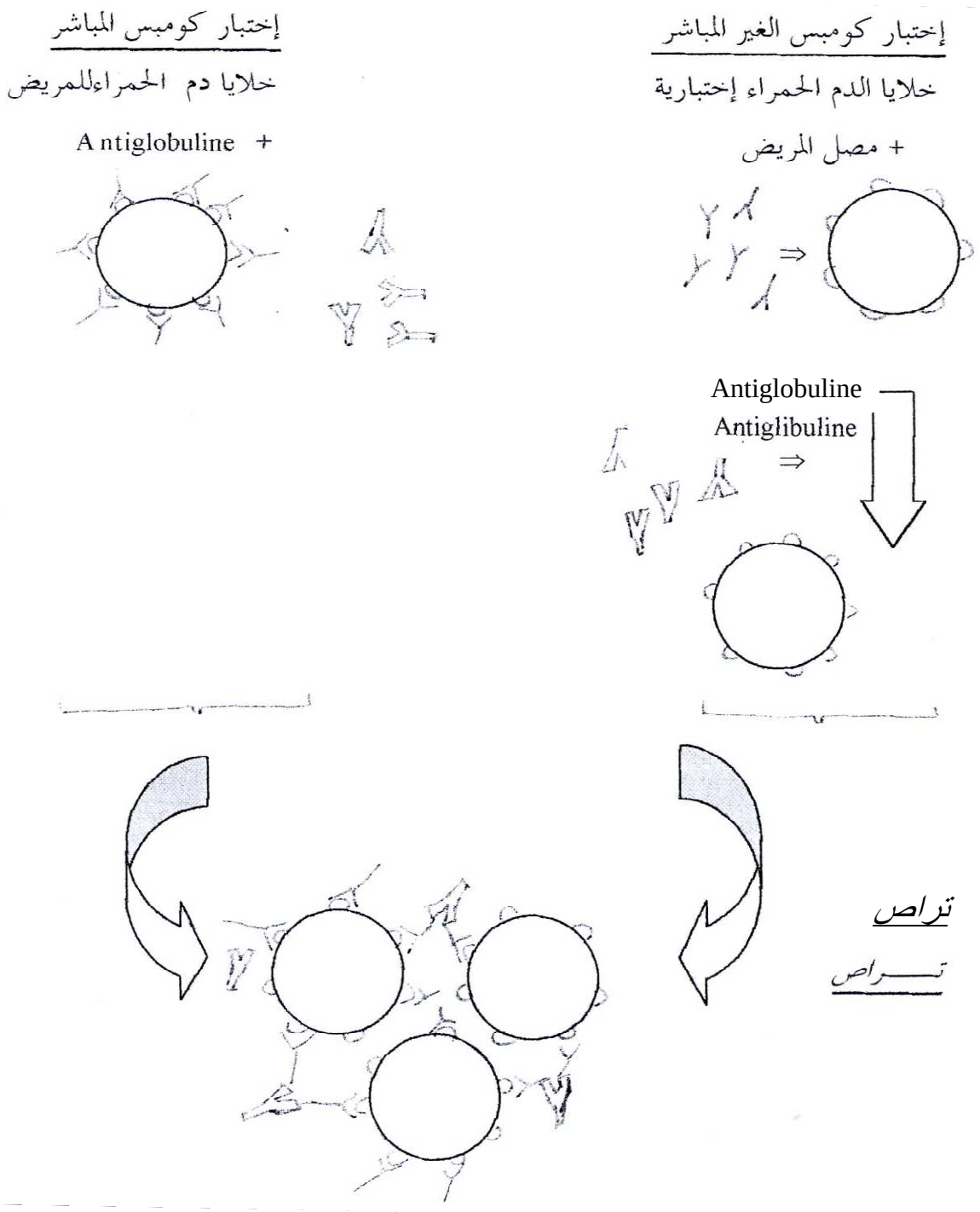
3) طريقة العمل:

- نقوم بغسل خلايا O^{-} ثلاث مرات بالطريقة المذكورة سابقا.
- تحضير المعلق 20%: - نأخذ 2,0 قطرة خلايا الدم الحمراء المغسولة
  - نأخذ 100 ملل ماء فزيولوجي
- في أنبوب آخر نضع قطرتين من المحلول المحضر + قطرتين من مصل المريض.
- نترك الكل في حمام مائي لمدة 30 دقيقة.
- بعد ذلك نضع الأنبوب في النابذة (5000 د/دقيقة) وتتم عملية الغسل ثلاث مرات.
- وفي الأخير نتخلص من الماء الطافي من الأنبوب ونضع فيه قطرتين من Antiglobuline.

4) قراءة النتائج:

يلاحظ إذا كان هناك تراص أم لا.

- وجود التراص ⇐ تفاعل إيجابي ونكتب TCI^{+}.
- غياب التراص ⇐ تفاعل سلبي ونكتب TCI^{-}.



اختبار كومبس المباشر وغير المباشر[1].

[1]- R. Zittoun et al, نفس المرجع السابق.

ج- العوامل التي تؤثر على فحص كومبس:

- وجود بكتيريا في العينة أو تلوث جرثومي في الأنابيب.
- زيادة نسبة الخلايا الشبكية في الدم.
- وجود شوائب كيميائية في الأنابيب مثل سيليكا الزجاج.
- وجود أجسام مضادة ذاتية.
- عدم غسل الخلايا الحمراء ثلاث مرات بالمحلول الملحي.
- عدم صلاحية مصل كومبس المستخدم.
- عينة الدم المحفوظة في الثلاجة متجلطة أو محفوظة بطريقة خاطئة.

V- اختبار الانسجام المتقاطع (Test de comptabilité croisée):

نظراً لخطورة نقل الدم والمشاكل التي يمكن أن تحدث أثناء هذه العملية نلجأ لاستعمال هذا الاختبار الذي له أهمية بالغة لتفادي هذه المشاكل نتيجة عدم توافق دم المستقبل والمتبرع الذي يجب أن يختبر بطريقة حساسة جدا.

1- المبدأ:

اختبار مباشر لدم المستقبل مع دم المتبرع على صفيحة opaline يتم لإثبات الانسجام أو عدمه بين دم الشخصين.

2- المستلزمات:

- صفيحة opaline

3- طريقة العمل:

- على سطح صفيحة opaline نضع قطرة من دم المستقبل + قطرة من دم المتبرع. ونضع قطرة من دم المستقبل كشاهد.
- نقوم بفصل المصل عن الكريات الحمراء للمتبرع. ونأخذ قطرة من دم المستقبل + قطرة من الكريات الحمراء للمتبرع.
- وأخيرا نقوم بعملية المزج.

4- قراءة النتائج:

- ظهور الارتصاص ⟸ معناه أن دم المتبرع والمستقبل غير منسجمين.
- عدم ظهور الارتصاص ⟸ معناه أن دم المتبرع والمستقبل منسجم ومتناسق.

ملاحظة:

يجب القيام بهذه التقنية قبل أي عملية نقل الدم للمريض.

الفصل الثاني

الزمر الدموية

كانت البداية الأولى لاكتشاف الفصائل الدموية منذ 1875 عندما لاحظ Landois الارتصاص لكريات الدم الحمراء وذلك عند خلط كريات حمراء لحيوان مع مصل حيوان من نوع آخر (ارتصاص خلطي heteroagglutination) ويمكن ملاحظة هذه الظاهرة بالعين المجردة. وفي عام 1900 لاحظ العالم النمساوي Landsteiner أن ظاهرة الارتصاص تحدث في مصل شخص لكن بحضور كريات حمراء لشخص آخر. ولأن غشاء الكريات الحمراء يحتوي على مولدات الضد Ag على أساسها قسم الدم إلى ثلاث مجموعات حسب نوع الأنتيجينات الموجودة على سطحها (قد تحمل الأنتجين A أو الأنتجين B أو لا تحمل أي منهما). وفي سنة 1902 أعاد Sturli و Decastello تجارب Landsteiner واكتشفا نوعا من الكريات الحمراء Hematies تملك الأنتيجيتين معا (A وB وتكون الزمرة AB). وفي عام 1924 بين Bernsein أن هذه الفصائل أو الزمر الدموية هي صفات وراثية تنتقل حسب قوانين مندل.

إن لكل فصيلة دموية أجسام مضادة خاصة AC وهي موجودة في المصل باستثناء الزمرة AB لأنه لا يمكن اجتماع مولد الضد والجسم المضاد الخاص به في دم واحد.

وفي سنة 1927 اكتشف Landsteiner و Leurin نظام M.N.S.D ودائما أثناء التجريب المناعي للأرانب وضعا أسس نظام جديد P. ثم في سنة 1940 اكتشف Landsteiner ة Weiner نظام Rh. ثم في سنة 1946 وضع Mourant أسس نظام Lewis الذي يتميز بوجود نوعين من الأنتيجينات التي يفرزها الجسم إذا كانت المورثة الخاصة بها موجودة، ولكن هذه الأخيرة تكون ذاتية ويمكن وجودها في البلازما واللعاب ثم تمتص الكريات الحمراء هذه الأنتيجات إذا كانت موجودة.

في نفس السنة تمكن العالمان Race و Calleuder من اكتشاف نظام Lutheran الذي يتسبب في عدد قليل من الحوادث نقل الدم. وفي سنة 1950 تم التوصل إلى اكتشاف نظام Duffy. وفي السنة الموالية اكتشف نظام kidd [1].

II- مفاهيم مناعية:

1- Pasloret p.p coverts B.H 1990 (Immunologie animale) Edition Med. Sciences flamarion

يعرف الأنتجين Ag (مولد الضد Agglutinogène) أنه كل مادة غريبة تدخل إلى الجسم وتكون قادرة تحت ظروف مناسبة حث الجسم على إنتاج أجسام مضادة أي حدوث استجابة مناعية، هذه الأخيرة عبارة عن مواد بروتينية تتكون في الجسم نتيجة وصول الأنتجين إلى الخلايا التي تكونها.

أما الأجسام المضادة Les agglutinines AC فهي أجسام بروتينية تفرزها نوع خاص من الخلايا الدموية (الخلايا اللمفاوية B) وتوجد في الجسم على شكلين:

1- أجسام مضادة طبيعية:

تظهر خلال 6 أشهر الأولى من المرحلة الجنينية حيث أن كل شخص يحوي على أجسام مضادة في البلازما خاصة بالأنتجينات التي لا يملكها الفرد على الكريات الحمراء لدمه، وبالتالي فهي بروتينات البلازما الطبيعية.

2- أجسام مضادة مكتسبة:

وهي عكس الأجسام المضادة الطبيعية لا تتواجد بصورة أصلية في جسم الإنسان، ولكن تصنع عند دخول جسم غريب، وبعد حدوث الاستجابة المناعية.

بعض الأمصال تملك خاصية الارتصاص Agglutination تعمل على رصّ الكريات الحمراء والبعض الآخر من الأمصال تنعدم عندها هذه الخاصية. ويجب أن نعلم أن الدم لا يمكن أبدا أن يحتوي على مولد الضد والجسم المضاد الموافق له معا. في أنظمة أخرى من نفس النوع تصنع مولدات الضد ذاتيا أو تلقائيا من طرف الجسم وهذا بوجود أجسام مضادة طبيعية مثل ما هو عليه في نظام Lewis و Rhesus[1].

III- نظام الـ ABO:

[1]- Belhani M(1989) hématologie S 04. Clinique office des publication universitaires (Alger) Page 227-235.

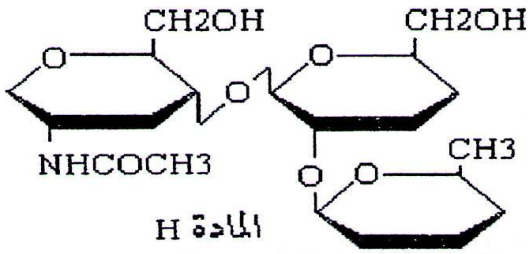
كما ذكرنا فإن جدار كريات الدم الحمراء للإنسان يحمل مستقبلات غليكوبرتينية وعلى أساسها قسم البشر إلى أربع مجموعات، فقد نجد أحد الأنتيجينات A أو B وإما الأنتيجين معا وإما لا نجد أي منهما – جدول 2 –

الجدول رقم (2): فصائل الدم الأساسية

مولدات الضد على الكريات الحمراء	الأجسام المضادة في المصل	الفصيلة الدموية
A	ANTI B	A
B	ANTI A	B
AB	O	AB
لا يوجد A ولا B	ANTI A + ANTI B	O

1- المادة H على الكريات الحمراء:

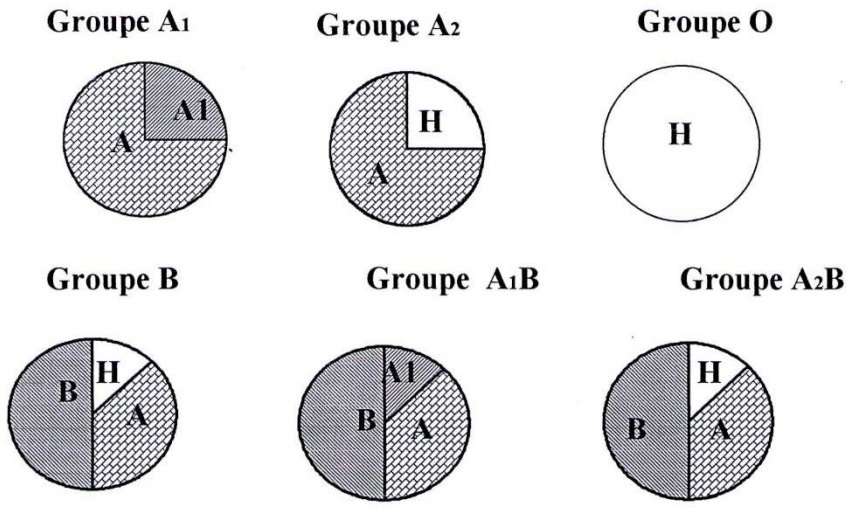
مولد الضد H عبارة عن ثلاث مجموعات سكرية من نوع جلاكتوز مرتبطة مع بعضها في نهاية السلسلة البروتينية السكرية glycoprotein، وهي موجودة تقريبا على كل الكريات الحمراء البشرية:



فالزمرة O لا تملك سوى هذا الأنتيجين. الزمرة A2 وA2B تملك كمية هامة منه والزمرة A1 أو A1B تملك كمية قليلة أو شبه منعدمة. الزمرة O وA2B أو A2 تتفاعل بقوة مع الأمصال Anti H عكس A1 أو A1B

كما وأن كمية الأنتيجين H الموجودة على سطح الكريات الحمراء ليست متساوية في جميع الزمر، بل بمستويات مختلفة على النحو التالي: (الشكل (2)).

$$A1B < A1 < B < A2B < A2 < O$$



الشكل رقم (2) : توزيع الـ Ag لنظام ABH
على مستوى الكريات الحمراء للأنماط الرئيسية[1].

2- أنتيجينات نظام ABO:

أنتيجينات نظام ABO تظهر وتتطور في مختلف الأنسجة ابتداءً من المراحل الأولى للحياة الجنينية.

3- مولد الضد A (الزمرة A1 و A2):

أثناء الكشف عن الزمر الدموية بالطريقة المباشرة Beth Vincent بين العالمان Hiaszfeld و Von Dungerm أن أشخاص الزمرة A ينقسمون إلى زمرتين:

- 80% من الأشخاص لديهم كريات دم ذات تراص قوي مع Anti A ويمثلون الزمرة A1.

[1]- Marcelli,et all 1981 Technique en immuno-hématologie et les examens de laboratoire. Flamarion médecine science. Page 38-44

- 20% من الأشخاص لديهم كريات دم حمراء ذات تراص ضعيف مع Anti A ويمثلون الزمرة A2.

• **مولد الضد A1**: كريات الدم الحمراء A1 لديها القدرة على التراص مع الجسم المضاد Anti A (الخاص بالزمرة B أو O) هي القادرة على امتصاص فعالية الجسم المضاد في المصل.

• **مولد الضد A2**: كريات الدم الحمراء A2 ضعيفة التراص مع Anti A إلا أنها ترتص مع الجسم المضاد Anti H.

الأشخاص الحاملين للزمرة A2 أو A2B يملكون بصفة غير دائمة الجسم المضاد Anti A1 الطبيعي في أمصالهم.

• **مولد الضد A الوسطي (Ag Aint)**: كريات الدم الحمراء Aint تحتوي على AgA بصفة معبرة بالمقارنة مع الكريات الحمراء A2. والتي تعطي تفاعل إيجابي ضعيف مع الجسم المضاد Anti A1 على عكس كريات الدم الحمراء A1 العادية، هذه الكريات تختلف بامتلاكها لكمية AgH بالمقارنة مع كميتها في كريات الدم A2. وبوجود هذين الأنتيجينين Ag A1 وAg A2 يمكن أن نقول أنه هناك 6 أنماط للزمرة الدموية بدلا من 4 زمر وهي: A2B, A1B, O, B, A2, A1.

• **أشكال أخرى للنمط A الضعيف**: إن الكشف عن هذه الأنماط النادرة يتطلب دائما طرق مختلفة وحساسة جدا للكشف عن Ag كريات الدم الحمراء، ولذا نجد هذه الأنماط النادرة تتسبب في بعض الأخطاء في عملية الكشف عن الزمر الدموية وخاصة في تقنية Beth Vincent ومن هذه الأنماط ما هي صعبة التركيب.

• **Ag A3**: وهو Ag A الضعيف ويوافق وراثيا الجين autonome A3 كما لديه قدرة ارتصاص فعالة مع الجسم المضاد Anti A الموجود في الزمرة O.

عند الأشخاص A3 أو A3B الجسم المضاد Anti A1 يوجد في بعض الأحيان في لعاب أشخاص A3 المفرزين، المادة A تتواجد بكمية قليلة بالمقارنة بأشخاص A1، A2، وتقدر نسبة تواجد النمط A3 بـ 1/2000 من الأشخاص A.

- **نمط Ax**: يحدث تراص واضح ولكن جزئي مع الجسم المضاد Anti A الموجود في أشخاص ذوي الزمرة O، تقدر نسبة تواجده بـ 1/40 000 من الزمرة A.
- **نمط Am**: لا يحدث تراص مع الجسم المضاد Anti A للأشخاص B و O.

وهناك مجموعة أخرى من الأنماط ولكن نادرة في الوجود منها:

Ah، Aeud، Ael، Abantu ...

- **النمط B الضعيف**: بالنسبة للزمرة B لا نجد أبدا B1 وB2 كما بالنسبة للزمرة A، ولكن نجد أنماط نادرة جدا في وجودها، وتفاصلها ضعيف مع l'Anti B. وهذه مصنفة إلى ثلاث مجموعات Bm، Bx، Bw[1].

4- تركيب وتكوين الأنتيجينات A و B:

الأشخاص الذين لديهم المورثة A و B يحولون المادة H إلى مادة أخرى وهذا بتثبيت سكر N-Acetyl-Galactosamin بالنسبة للمادة A وبتثبيت Galactose بالنسبة للمادة B على المادة H، هذا التثبيت يكون بفضل أنزيم Tansferase متخصص بالنسبة لكل سكر.

الأليل A يكون محمول على كروموزوم، والأليل B على كروموزوم آخر، وبالتالي يؤدي كل منهما على التوالي إلى تكوين الأنتيجان A والأنتيجان B والأشخاص الذين ليس لديهم لا الأليل A ولا B يكونون تحت الزمرة O، المواد A و B لا تثبت إلا إذا كانت المادة H متواجدة. أما في حالة أشخاص ذوي الزمرة bombay فإنهم لا يملكون إلا الإنزيم الذي يسمح بتثبيت الـ Fucose[2].

5- المكونات الكيميائية للأنتيجينات نظام ABO:

1- Mercelli et al, 1981 نفس المرجع السابق.

2- Zittoun et all , 1982. Hématologie Doin éditeurs paris Page 172-181-195-198

تتكون أنتيجينات نظام ABO من مركبات بروتينية نشوية glyco proteine حيث تمثل نسبة الكربوهيدرات حوالي 75% والنسبة الباقية 25% هي سلاسل بيبتدية. ومن أهم السكريات التي تكون أنتيجينات نظام ABO:

L–Fructose

D–Galactose

N–Acetyl galactosamine

N–Acetyl glycosamine

N–Acetyl neuraminicacid

والذي يحدد فعالية الـ Ag هو المادة النشوية في السلسلة النهائية للسكريات فمثل N–Acetyl galactosamine هو المركب النهائي المسؤول عن فعلية الـ Ag A.

6- فصائل الدم الفرعية:

يوجد متغيرات على مستوى الزمرة A. تم إثبات وجودها عام 1911 وقد وجد أن بعض الأشخاص لديهم مولد ضد A1 ويمثلون 80% من المجموعة A والباقي أي 20% يمثلون الزمرة A2. Ag A1 قوي التفاعل ونعني بذلك الأشخاص الذين لديهم كلا الأنتيجينين A وA1 أما الـ A2 فهو Ag ضعيف التفاعل والذي نعني به الأشخاص الذين لديهم فقط الأنتيجان A وبذلك تنقسم المجموعة AB إلى فصيلتين B1 وA2B. ومنها نستنتج أن نظام ABO يقسم إلى 6 أنماط ظاهرية بدلا من 4 وهي:

A1، A2، A، A1B، A2B وO.

ونستطيع التفريق بين الفصيلتين A1 و A2 بواسطة الأجسام المضادة Anti A1 وهذه تخصص للـ Ag A1 (أي تتفاعل معه وتؤدي إلى تراص) وهو جزء طبيعي من Anti A الموجود في فصيلة الدم "B" وفصيلة الدم "O".

وكما يمكن التمييز بينهما بواسطة مواد تدعى Lectines وهذه المستخلصات النباتية تتفاعل بصورة اختيارية مع بعض مولدات الضد مجموعة الدم الكربوهيدراتية

فمثلا يؤخذ اللاكتين في نبات صنف Dolicosbiflours ويعمل له تخافيف ملائمة فنجده يتراص مع خلايا A1 ولكن اللاكتين من Hexeurogaens الغني بالأجسام المضادة Anti H يتفاعل مع المادة H في A2 ويلازمها.

7- الأجسام المضادة لنظام ABO:

يمكن تعريف نظام ABO بالأنتيجينات المتواجدة على الكريات الحمراء أو بالأجسام المضادة المتواجدة في البلازما وهي Anti A، Anti B و Anti AB، وتكون إما طبيعية أو مكتسبة.

أ- أجسام مضادة طبيعية:

توجد في بلازما كل الأشخاص بصفة طبيعية ومنتظمة، هذه الأخيرة متوافقة مع الأنتيجينات الغائبة على غشاء الكريات الحمراء، وهكذا فإن Anti A موجود عند الأشخاص ذوي الزمرة B و Anti B، عند الأشخاص الذين زمرتهم A و Anti A و Anti B عند الأشخاص المنتمون إلى المجموعة O.

هذه الأجسام المضادة عبارة عن IgM التراص لا تعبر المشيمة، نشيطة عند الدرجة 40°، وتظهر عند الطفل من الشهر 0 إلى 6.

ب- الأجسام المضادة المناعية:

تظهر عند أي تحريض أنتيجيني، أحيانا بسبب حادث نقل الدم، وهي عبارة عن IgM وفي معظم الحالات IgG منحلة (hemolysants)، نشيطة في الدرجة 37°.

8- وراثة نظام الـ ABO:

لقد عرف أن مولدات الضد A و B تتحكم في تكوينها مورثات موجودة في الهوية الوراثية للفرد، وتنتقل من جيل إلى جيل بناء على قوانين وراثية تتحكم في وجودها قوانين مندل الوراثية (الجدول 3).

الجدول رقم (3): التراكيب الوراثية والظاهرية الممكنة لنظام ABO[1].

النمط الظاهري Phenotype	النمط الوراثي الممكن Genotype
A1	A1 A1 – A1 A2 – A1 O
A2	A2 A2 – A1 A2 – A2 O
B	B B – BO
A1B	A1 B
A2B	A2 B
O	OO

ووجود المستضدات A، B تتحكم فيها ثلاث أليلات لموقع وراثي واحد كما بين ذلك Bernstein في عام 1925. والمورثات هي I^B، I^A و I^O. تكون التركيبات الوراثية المختلفة لهذه المورثات أربعة زمر دموية هي A (I^AI^A، I^AI^O)، B (I^BI^B، I^BI^O)، AB (I^AI^B) و O (I^OI^O)، الجدول (4).

[1]- Goudemanety M et all , 1981. Eléments d’immuno-hématologie flamarion Page 36-40.

الجدول رقم (4): الزمرة الدموية المتوقعة وغير المتوقعة في نسل ناتج عن زواج أشخاص مختلفة الزمر الدموية.

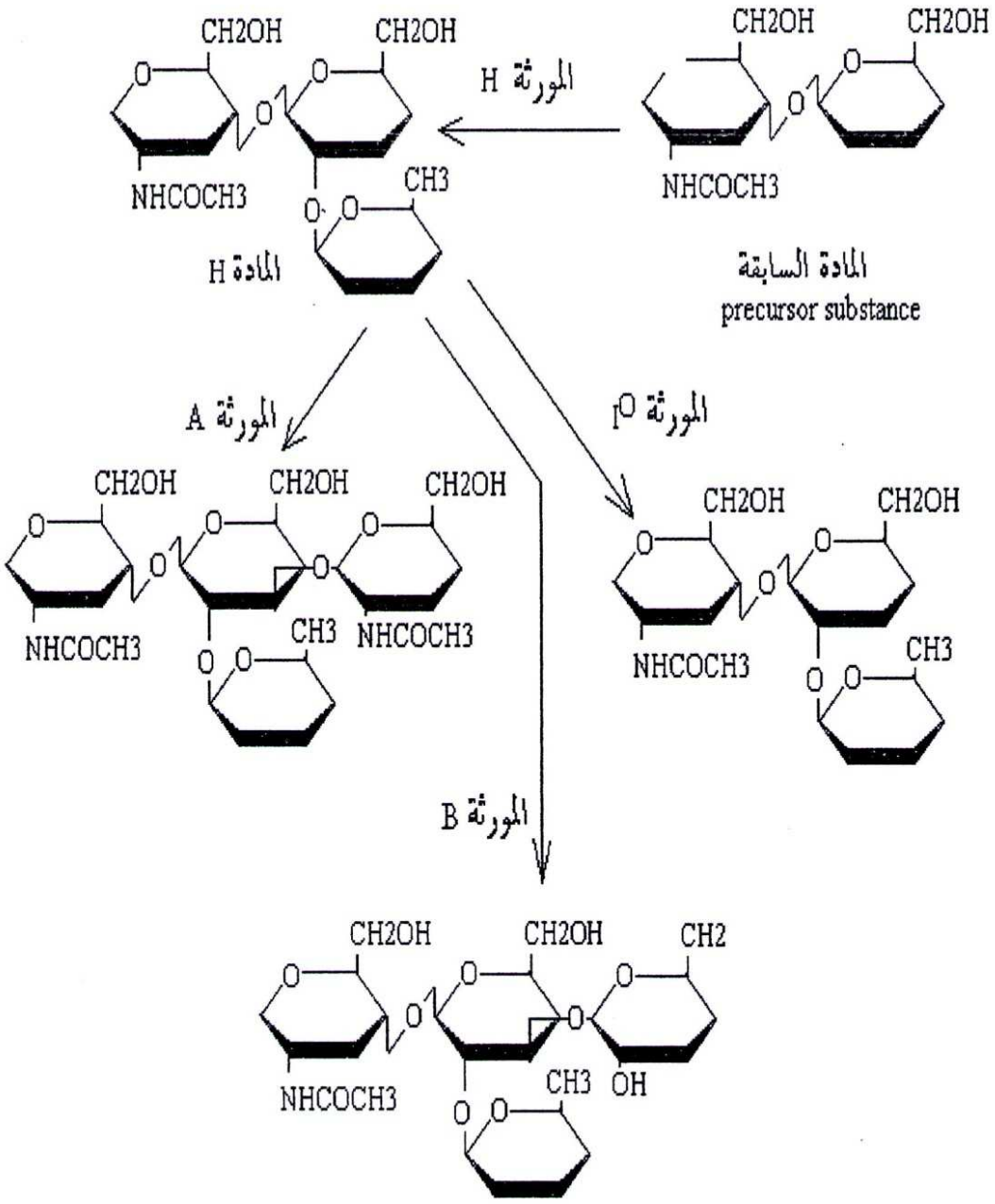
النمط الوراثي للآباء	النمط الظاهري	الزمرة المتوقعة في الأبناء	الزمرة غير المتوقعة في الأبناء
$I^OI^O \times I^OI^O$	O × O	O	AB, B, A
$(I^AI^O \times I^OI^O)$ $(I^AI^A \times I^OI^O)$	A × O	A, O	AB, B
$(I^AI^B \times I^OI^O)$	AB × O	B, A	AB, O
$(I^BI^B \times I^AI^O)$ $(I^BI^O \times I^AI^A)$ $(I^BI^B \times I^AI^A)$ $(I^BI^O \times I^AI^O)$	B × A	AB, B, A, O	
$(I^AI^A \times I^AI^O)$ $(I^AI^O \times I^AI^A)$ $(I^AI^A \times I^AI^A)$	A × A	A, O	AB, B
$(I^AI^B \times I^AI^O)$ $(I^AI^A \times I^AI^B)$	AB × A	AB, B, A	O
$(I^BI^O \times I^BI^O)$ $(I^AI^B \times I^BI^O)$ $(I^BI^B \times I^BI^B)$	B × B	B, O	AB, A
$(I^BI^O \times I^OI^O)$ $(I^BI^B \times I^OI^O)$	O × B	B, O	AB, A
$(I^AI^B \times I^BI^O)$ $(I^AI^B \times I^BI^B)$	O × AB	AB, B, A	O
$(I^AI^B \times I^AI^B)$	AB × AB	A, B, BA	O

عندما تكون الزمر الدموية للوالدين معروفة فإن دراسة التركيب الوراثي للفصائل الدموية المحتملة للأولاد ممكنة وبسهولة.

أما إذا كانت المجموعة الدموية لأحد الأبوين (الأم مثلا) معروفة ومجموعة الابن معروفة فإنه يمكن معرفة المجموعة الدموية للوالد الآخر (الجدول 5). وهذه المعرفة الوراثية ذات أهمية طبية، وخصوصا في بحث حالات الأبوة المدعاة، ولكن يجب أن يعرف أن هذه الطريقة لا تدل إلا على شيء واحد وهو أن الرجل ليس أبا للطفل ولكنها لا تثبت أنه أبا له.

تحتوي الخلايا الجسمية في الإنسان على صبغيين يحمل كل منهما واحد من هذه المستضدات A, B, H صبغي من كل والد، فالمورثة A تنظم تصنيع مولد الضد A والمورثة B تنظم تصنيع مولد الضد B أما المورثة O فهي مورثة ضعيفة لا تغير المادة الأساسية H. فمولد الضد A يحمل مجموعة N–acetyl على الذرة رقم 2 من سكر الغالاكتوز، بينما مولد الضد B فيحمل في نفس الموضع مجموعة هيدروكسيل. لذلك فإن تكون الزمرة A أو B يعتمد على أي نوع من سكر الغلاكتوز تم نقله إلى السلسلة الغالاكتوبروتينية، وذلك حسب المورثة الموجودة في الخلية (الطابع الوراثي) إذا كانت A أو B. فالأولى تنتج إنزيم N–acetyl–galactosaminyl transferase، أما الثانية فتنتج إنزيم galactosyl transferase (الشكل).

أما في حالة الزمرة O فلا يوجد أي إنزيم، أي أن المركب السابق يبقى كما هو (أي المركب H) (الشكل). وهذا ما يفسر انعدام السيادة بين المورثة A والمورثة B، فكلاهما ينتج مولد الضد في الحالة الهجينة.



الشكل رقم (3): الأساس الكيميائي والوراثي لاختلاف الزمر الدموية في نظام ABO.

9- التوزيع الجغرافي للزمر الدموية:

إن توزيع الزمر الدموية يختلف باختلاف النمط التكويني لكل فرد وكذا باختلاف الموقع الجغرافي، لذا قامت منظمة الصحة العالمية بإحصاء مختلف زمر سكان العالم حيث ميزت ثلاث عروق، العرق الأسود يمثل معظم سكان قارة إفريقيا والعرق الأبيض يمثل كل من سكان قارة أمريكا وأوروبا والعرق الأصفر يمثل قارة آسيا. فتوصلت إلى النتائج المبينة في الجدول رقم (5).

فالزمرة "O" أكثر سيادة في العرق الأصفر والعرق الأسود، والزمرة "A" أكثر سيادة في العرق الأبيض.

الجدول رقم (5): نسبة توزيع الزمر الدموية الرئيسية على العرق الأبيض، الأصفر، الأسود في مختلف سكان العالم (منظمة الصحة العالمية- بنوك الدم) [1].

	العرق الأصفر	العرق الأسود	العرق الأبيض
الزمرة O	%36	%48	%34
الزمرة A	%28	%27	%44
الزمرة B	%23	%21	%18
الزمرة AB	%13	%4	%4

IV- نظام Rhesus:

1- اكتشاف هذا النظام:

في سنة 1930 فسّر Levine و Stetson إنجاب امرأة لطفل ميت بانتقال الزمرة غير المتجانسة لزوجها إلى جنينها. وفي سنة 1940 قام Leudsteiner و Wiener بعدة تجارب تتعلق بعملية نقل الدم، فقد أدى إعطاء دم القرد Rhesus macacus للأرانب والجرذان تواجد أجسام مضادة خاصة بالقرد في دم الأرانب والجرذان.

نفس الحالة حدثت عند أشخاص نقل لهم دم من غير فصيلتهم. وقد سميت هذه الأجسام نسبة لهذا القرد Anti Rh.

[1]- بنوك الدم، المرجع السابق.

وفي سنة 1940 بين Levine وفريقه أن Erythroblaste الجنينية التي تسبب الأمراض الانحلالية للمواليد الجدد هي ناتجة عن عدم الانسجام في الزمر Rh بين الأم والجنين.

لقد سمح اكتشاف زمرة Rh بفهم أساس الأمراض الانحلالية عند المواليد الجدد. وبعد حوالي 30 سنة تم اكتشاف غلوبين مناعي Anti D يقضي على هذا الشكل.

2- وصف مبدأ عامل الـ Rh:

إن عامل Rh عبارة عن مولد ضد مركب موجود على سطح كريات الدم الحمراء لأغلب البشر. وهو يتألف من مجموعة من موالد الضد كل منها قادر على تحريض تشكيل مضادات أجسام لدى إدخاله إلى جسم الشخص الذي لا يحمله. والأكثر أهمية هو Antigene D حسب التسمية الانجليزية أو عامل Rho حسب التسمية الأمريكية بالنسبة للقرد Rhesus.

وقد تم الاصطلاح على إعطاء الرمز Rh^+ على من يملك هذا العامل في دمه، ويشكلون حوالي 85% بينما الذين لا يملكونه فهم سلبي العامل Rh^- ويشكلون حوالي 15% من البشر.

يمكن الكشف عن نظام Rh بواسطة الأجسام المضادة المناعية والموجودة في الأمصال المنقولة للأشخاص كالمرأة الحامل مثلا، هذه الأجسام المضادة في الغالب من نوع IgG ونادرا إلى IgM ويمكن أن تكون من نوع IgA.

3- الأنواع المختلفة لأنتيجينات نظام Rhesus:

إن تصنيف البشر إلى إيجابيين وسلبيين بحسب احتواء كرياتهم الحمراء لعامل الريزيس D أو عدمه هو تبسيط شديد ولكن الصحيح أنه هناك ثلاث أفواج من الأليلات الخاصة بعامل الريزيس: Ee, Cc, Dd وهي موجودة على صبغي واحد.

في نهاية 1950 استطاع العالم Fischer أن يحدد خمس أنواع من الأجسام المضادة لهذا العامل وهي Anti e, Anti c, Anti E, Anti C وكل هذه الأجسام المضادة هي مناعية ماعدا d الذي لا يعبر عن نفسه gene amorph.

كل المورثات المتماثلة الخاصة بطابع معين (AA, ee, CC) مثلا يمكن أن تستجيب مناعيا ضد الأنتيجان الذي لا يحتوي عليه الشكل الأليلي للجين[1].

4- التركيب الوراثي لـ عامل Rh:

يمكن تحديد الطابع الوراثي للعامل Rh عن طريق الكشف عن وجود الأجسام المضادة وذلك بإجراء التفاعل على الدم باستعمال الـ Anti D, Anti e', Anti E, Anti C', Anti c (Anti d غير موجود) كل على حدة ثم نلاحظ الارتصاص والتخثر الذي يعتبر موجبا، وعدم حدوثه يعتبر سالبا. ولو أخذنا D فإنه من الممكن أن يكون DD أو Dd ولا نستطيع التحديد لعدم وجود Anti d. وإذا أخذنا c فإنه يجب النظر إلى C' معها مرتبطة وبناءً على التفاعل فإن C' غير موجودة وهذا يعني أن الطابع الوراثي للفرد هو cc. وإذا أخذنا E مع e فالتفاعل يعني أن E غير موجود فلذلك هو ee والآن نستطيع كتابة الأزواج وتكون النتيجة cDe/cDe أو CDe/Cde[2].

[1]- عبد المجيد الشاعر، نفس المرجع السابق.

[2]- عبد المجيد الشاعر، نفس المرجع السابق.

الجدول رقم (6): التراكيب الوراثية بالتسمية الحديثة حسب Ficher ونتيجة التفاعلات مع الأجسام المضادة.

النمط الظاهري Ficher– race	النمط الوراثي المحتمل	Anti-e	Anti-C	Anti-E	Anti-c	Anti-D
DCe	DCe/dce Dce/dCe DCe/Dce	+	+	–	+	+
Dce	Dce/Dce Dce/dce	+	–	–	+	+
DCe	Dce/dCe DCe/DCe	+	+	–	–	+
Dce	dce/dce	+	+	–	–	–
DCE	dCE/dce	+	+	+	–	–

5- أهمية معرفة عامل الـ Rh:

تكمن أهمية معرفة العامل Rh في عدة أمور منها:

1. عمليات نقل الدم لتفادي نقل الدم بين الأشخاص يختلفون وراثيا في مورثات Rh.
2. لابد من معرفة العامل Rh للعلاقة بين الأم وطفلها الوليد، وما قد يسببه من عدم التوافق وكذلك ما قد ينتج عنه من مرض تحلل الدم عند الوليد MHNN.
3. للدراسات الوراثية ولمتابعة القضايا الجنائية والطب الشرعي[1].

[1]- عبد المجيد الشاعر، نفس المرجع السابق.

6- وراثة عامل الـ Rh:

يدعى الشخص الذي يحوي أليلات متماثلة لأنه متماثل اللواقح (Rh^+ Rh^+ أو Rh^- Rh^-) بينما يدعى من يحوي أليلات متغايرة بالمختلف اللواقح (Rh^+ Rh^-) فالعامل Rh^+ سائد بينما Rh^- بالمتنحي، حاليا يمكن معرفة النمط الوراثي لـ Rh كل شخص، حسب نظرية Fisher وrace عامل Rh أو rh قسم إلى ثلاث أقسام:

D أو Rh	C أو Rh’	E أو Rh’’
d أو Rh	c أو rh’	e أو rh’’

لكل قسم جسم مضاد خاص Anti D, Anti C, Anti e, Anti c، إذن 8 أنماط وراثية فبالنسبة لـ Rh الموجب نجد CDE, Cde, cDE, cDe أما الريزيس السالب cde, cdE, CdE, Cde ويوجد أيضا أنتيجينات أخرى عدا تلك الموصوفة سابقا، فمثلا G يكون بين D و C[1].

الجدول رقم (7): توارث عامل الـ Rh.

الأبناء		الآباء	
Phenotype	**Genotype**	**Genotype**	**Phenotype**
Rh+ Rh+ ¾Rh^+ ¼Rh^-	DD ½ Dd ½ DD ¼ dd ½ Dd ¼ DD	DD × DD Dd × DD Dd × Dd	$Rh^+ \times Rh^+$
½Rh^- ½Rh^+	½ dd ½ Dd	Dd × dd	$Rh^+ \times Rh^-$
Rh^-	dd	dd × dd	$Rh^- \times Rh^-$

V- الأمراض الانحلالية للمواليد الجدد MHNN:

لقد عرف هذا المرض منذ وقت طويل وكانت أول علاماته هي ظهور الصفراء La jaunisse الذي منع من التعرف على أسبابه الحقيقية، وفي سنة 1939 أمكن التعرف

[1]- Roit-Jonathan B David M 1985. Immunologie Fondamentale et Appliqué.

إلى أحد أسبابه وهو مرور الأجسام المضادة من الأم إلى الجنين. ومن تلك اللحظة أصبحت فحوصات هذا المرض روتينية للأطفال والأمهات، وبهذا أمكن تجنب حدوثه.

1- الأجسام المضادة المسببة له:

ذكرنا أن الغلوبينات المناعية توجد بعدة أنواع وكل نوع له صفات وتفاعلات خاصة، فالنوع المسبب لهذا المرض هو IgG فقط وذلك لإمكانية مروره عبر المشيمة ومع التقدم لوحظ أن هناك أنواع أخرى مثل Anti C, Anti E, Anti K يمكنها أن تسبب هذا المرض، فكل جسم مضاد يوجد على شكل IgG وفعال في درجة حرارة 37° يمكن أن يسببه ومنها الأجسام المضادة لـ ABO[1].

2- أسباب حدوث MHNN:

هذه الحالة ملاحظة بكثرة عندما تكون الأم Rh^- (dd) والزوج Rh، والذي يحدث أن كريات الدم الحمراء للجنين تحتوي AgD ولا توجد عند الأم التي تتحسس لهذه المستضدات الداخلة إليها عند الولادة الأولى (حيث يمر جزء من دم المولود إلى جسم الأم عبر المشيمة الممزقة) وتنتج ضدها أجسام مضادة فالطفل الأول لا يتأثر ولكن المشكل في الحمل الموالي، عند الولادة يظهر شحوب على الطفل ويكون مصابا بفقر الدم (Hemoglobine < 120g/l)، ضخامة الكبد والطحال (الشكل -5-). يزداد معدل البيليروبين، فإذا ارتفع معدله عن 200 مغ/ل يحدث ما يسمى باليرقان النووي. الغلوبين المناعي Anti D يجب أن يعطى لكل أم Rh^- خلال 72 سا بعد وضع الطفل Rh^+، أو حتى بعد الإجهاض، الجرعة الثابتة تكون 200 µg حقن عضلي و100 µg حقن وريدي، الحماية تراقب باختيار Goms غير المباشر أثناء حمل آخر[2].

1- عبد المجيد الشاعر، نفس المرجع السابق.

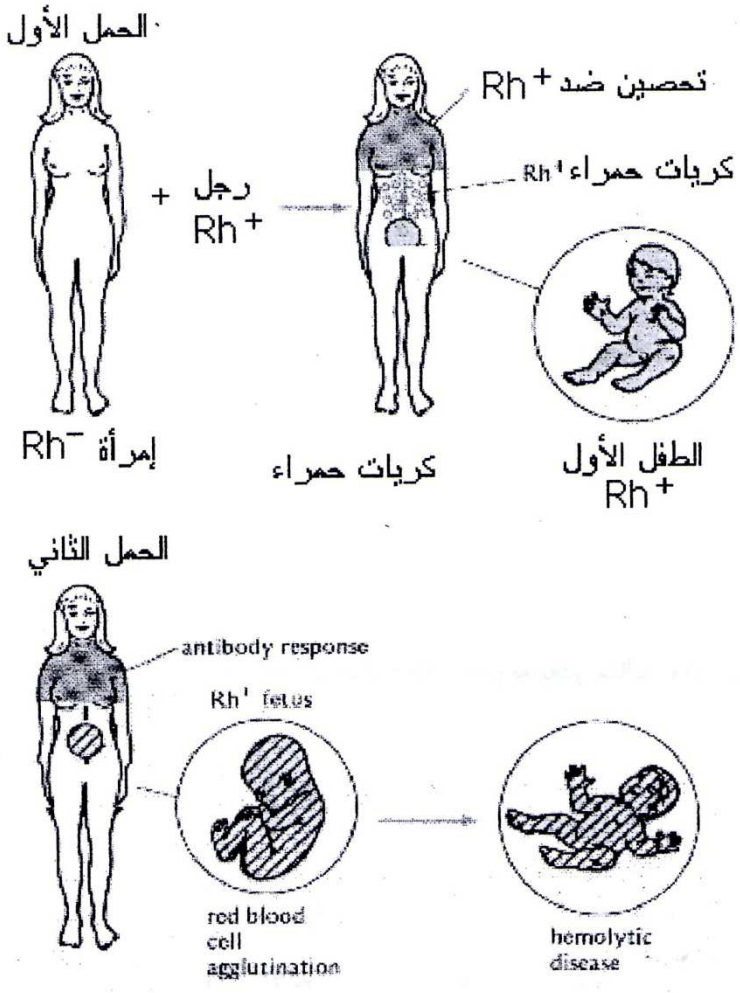
2- Zittoun R et al : Hématologie, Doin éditeurs, Paris, pages 172-181/195-198.

هذه الحالة الأكثر شيوعا من مثيلتها الناجمة عن العامل Rh لكنها نادراً ما تكون ملحوظة.

وتحدث عندما تكون زمرة الجنين والأم متنافرتين، فلدينا أم زمرتها O والجنين A فالأم تحتوي في دمها بشكل طبيعي أجسام مضادة من نوع IgM Anti لا تعبر المشيمة والذي يحدث هو أن المستضد A يعبر إلى الأم فتنتج له أجسام مضادة Anti A وهو من نوع IgG.

✦ الحالة الثالثة: عدم التوافق في الزمر الدموية الأخرى:

كما هو معروف هناك مجموعة من الزمر الدموية قد سبق التعرف عليها، ولهذا يمكن أن يحمل الطفل زمرة منها لا توجد عند الأم، عندها سينطبق عليها ما ينطبق على حالة التحلل بسبب اختلاف الزمرة ABO، نسبة حدوثها قليلة وعلاجه أن يعطى الطفل المصاب دما طازجا من نوع O^+ أو O^- أو نفس نوع دم المريض بشرط أن لا يحتوي على Antigène المطابق.



الشكل رقم (4): عدم التوافق بين الأم والجنين في مورثة الـ Rh، وما ينتج عنه من مرض الانحلال الدموي الوليدي[1].

[1] - Swika C et al : Hématologie et soin infirmiers, 1992, Edition lamarre 75006, Paris, pages 152-157.

كخلاصة للفصل الثاني:

- **أنظمة الدم الأخرى:**

لقد درسنا نوعين من الأنظمة ABO وRh ورأينا أهميتها وخصائصهما وبعض تطبيقاتها الطبية الأكبر وذلك لعدة أسباب نذكر:

- اكتشاف هذين النظامين مبكراً ومعرفة العلاقة المباشرة مع بعض الأمراض.
- فهم كيفية وراثتها والقوانين المحددة لها.
- الصفات الخاصة التي تتميز بها أنتيجينات هذين النظامين، فهي قوية التحضير وأجسامها المضادة قوية التفاعل.

ومع التقدم العلمي وجد أن الكريات الحمراء يمكن أن تحتوي على أنتيجينات أخرى تكون سببا في بعض الحالات المرضية.

1- نظام لويس Leuis: يتميز هذا النظام بوجود نوعين من الأنتيجينات التي يكونها الجسم إذا كانت المورثة الخاصة بها موجود وهما Le a و Le b يتحكم فيهما أليل السائد Le. ويمكن التعرف على هذه الفصيلة بواسطة أجسام مضادة Anti Le a و Anti Le b.

2- نظام Kell cellano: هو نظام مكون من الأنتيجينات K و'k، 92% من الأشخاص لا تملك الأنتيجان K والأجسام المضادة Anti K تسبب رد فعل قوي عند نقل الدم.

3- نظام Duffy: هذا النظام له أنتيجينين Fya وFyb.

4- نظام Kidd: أنتيجيناته Jka وJKb.

5- نظام P: هيم الأنتيجان P1 وP2 وهذا النظام ليس له أهمية عملية، أجسامه المضادة طبيعية وكاملة من نوع IgM[1].

6- نظام MNSS: المستضدات MN وSS هما أزواج متقابلة على الكريات الحمراء أتت من جينات متلاصقة، يمكن التعرف عليها بواسطة أجسام مضادة هي Anti M, Anti s, Anti N.

7- نظام Lutheran: يضم أنتيجينين Lub وLua.

8- نظام I: مستضد هذا النظام هو I (I^-, I^+).

9- نظام Xg: له مستضد واحد هو Xga.

[1]- Berkaloff et all. نفس المرجع السابق.

المراجع

المراجع باللغة العربية:

1. شلش ص.ع، 1982: الدراسات العملية في بيولوجيا الحيوان، علم وظائف الأعضاء الحيوان "الجزء الثاني"، معهد العلوم الحيوية، جامعة عنابة.

2. عبد المجيد الشاعر، نزار فؤاد جاد الله وحكمت خليل جبر، 1993: بنوك الدم، دار المستقبل للنشر والتوزيع، عمان – الأردن.

المراجع باللغة الفرنسية:

1. Bachir dora – Belabes Saliha – Bouzid Kamel – Smail Farida. 1993 Hématologie S4 Chimique (Tome I et II) office des publications universitaires. Place centrale de Benaknoun.

2. Bernard Dreyfus – Janine Breton – Felix Reyes – Henni Rochant – Jean Paul 1984. Hématologie. Edition de la rigne 75006 Paris.

3. Belhani M. 1989. Hématologie (Tome I) Office des publications universitaires Alger.

4. Bray J. – Gragg P.A. Macknight A, Mills R, Taylor W. 1986 Lecteur snotes or human physiology Editeur, Blackwell scientific Edition.

5. Berkaloff (A), Bourget (J), Javoid (P.W), Lacroix (J-C) Biologie et physiologie cellulaire, 1998 (internet).

6. Dutheil V. Trquin B, La transfusion sanguine, 1997 (internet).

7. Coasguen, 1999, sécurité transfusionnelle, hémato-cancérologie (internet).

8. Journal de l'association médicale Canadienne JAMC, 1997 (internet).

9. Marcelli J.M – Fine J. Chamberg et L. Rivat, 1981, Technique en immuno-hématologie et les examens de laboratoire. Flammarion médecine science.

10. Pasteur Vallery – Rado Jean Hamburger – François Thermite, Flammarion médecine sciences, 1971.

11. Pasloret P.P – Coverts B.H, 1990 (Immunologie animale) Edition Med. Sciences Flammarion, 1990.

12. Roit- Jonathan B. David M. 1985, Immunologie fondamentale et appliquée.

13. Thebault Ludovic. Livre I, Aspect organismiques, 1998, circulation sanguine (Internet).

14. Zittoun R.., A. Bernadou et M. Samama (1982) Hématologie. Doin editeurs, Paris, pages 172-181/195-198.

15. Sliwka C., F. Le Frère et R. Traineau, (1992) Hématologie et soin infirmiers, Edition Lamarre 75006, Paris, pages 152-157.

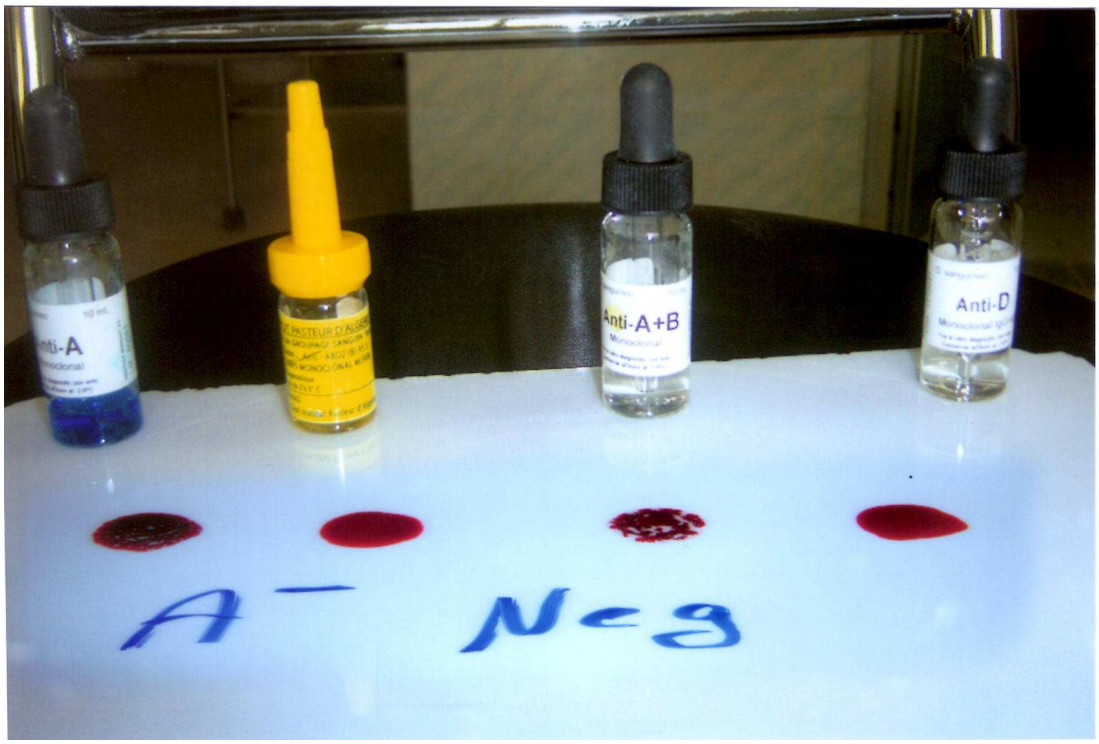
16. Belhani M. (1989) Hématologie S4 clinique. Office des publications universitaires (Alger), pages 227-235.

17. Goudemandety M. et D. Marsalet (1981), Eléments dimmuno-hématologie. Flammarion.. page 36-40.

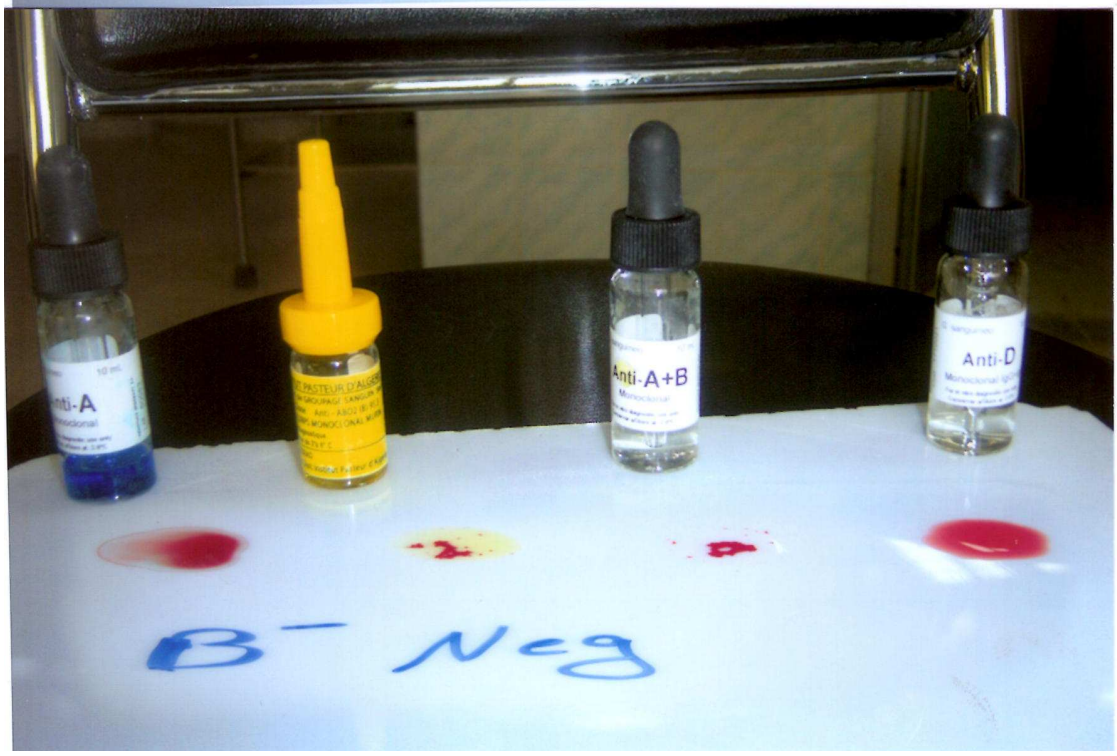
18. Marcelli, J.M. Fine, J.C. Homberg et L. Rivat (1981) Technique en immuno-hématologie et les examens de laboratoire. Flammarion médecine- science, page 38-44.

19. Mesani S. et F. Belmiloud (1997), Actualisation des groupes sanguins. Mémoire de fin d’étude en pharmacie, université d’Oran.

الملاحق

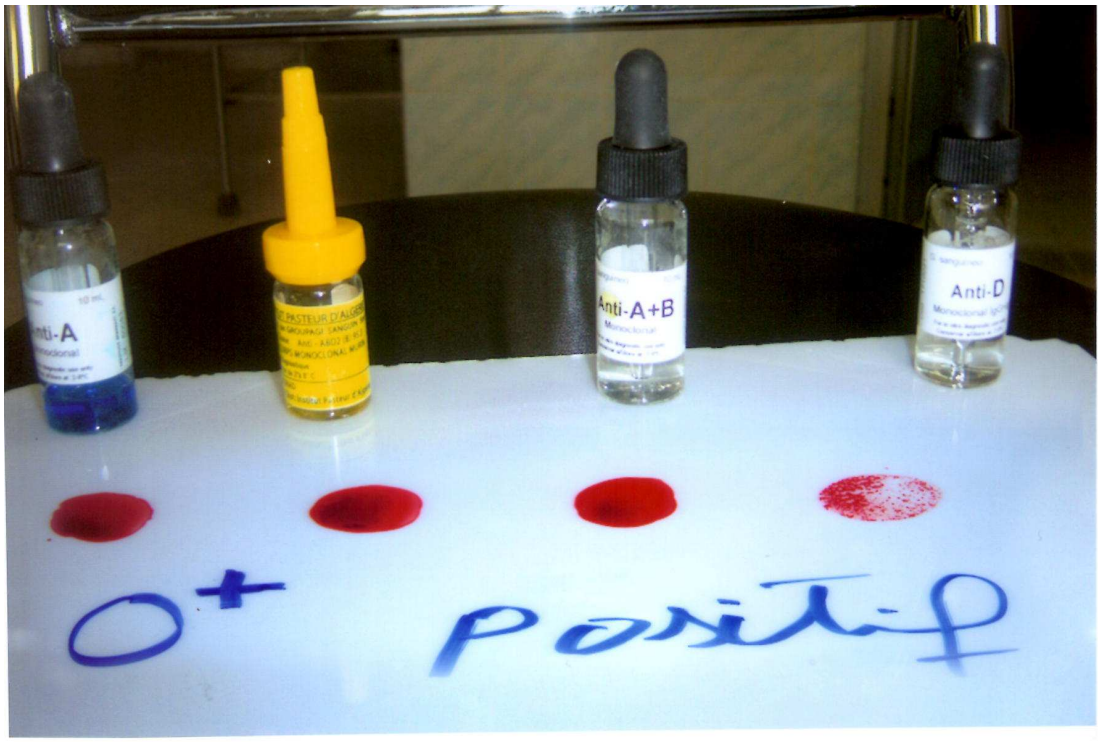


الملحق رقم 01 : الزمرةA
نتائج الكشف بتقنية beth-vincent
طريقة لوحة Opaline



الملحق رقم 02 : الزمرة B
نتائج الكشف بتقنية beth-vincent
طريقة لوحة Opaline

الملحق رقم 03 : الزمرة AB
نتائج الكشف بتقنية beth-vincent
طريقة لوحة Opaline



الملحق رقم 04 : الزمرة O
نتائج الكشف بتقنية beth-vincent
طريقة لوحة Opaline

3. Pour chaque échantillon, distribuer, dans une microplaque fond U, 25 µl de réactif préparé en C-a) dans une cupule et 25 µl de RH Control M dans une autre.
4. Remettre les globules rouges en suspension.
5. Ajouter 25 µl de suspension globulaire à tester dans les cupules correspondantes.
6. Homogénéiser le mélange réactionnel à l'aide de l'agitateur de microplaques.
7. Centrifuger 1 minute à 250g.
8. Agiter les microplaques une par une pour décoller les boutons cellulaires et permettre une bonne remise en suspension des témoins négatifs. **Les paramètres d'agitation doivent être établis en fonction de l'agitateur de microplaques utilisé.**
9. Laisser reposer 2 minutes à température ambiante et lire.

VII - RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION

- Une réaction d'agglutination des globules rouges en présence du réactif correspond à un résultat positif et indique la présence de l'antigène érythrocytaire correspondant.
- L'absence d'une réaction d'agglutination des globules rouges correspond à un résultat négatif et indique que l'antigène correspondant n'a pas été détecté.
- **Les résultats sont valides uniquement si les témoins positif et négatif donnent les résultats attendus et si le RH Control M montre un résultat négatif lorsqu'il est utilisé.**

Le groupage ABO comporte 2 épreuves complémentaires : l'épreuve globulaire réalisée avec les réactifs anti-ABO1 (A), anti-ABO2(B) et éventuellement anti-ABO3 (AB) et l'épreuve sérique réalisée avec les globules rouges test A1, B, et éventuellement A2 et O. Les profils des réactions attendues avec les réactifs anti-ABO1 (A), anti-ABO2 (B), anti-ABO3 (AB) et les globules rouges test A1, A2, B, O ainsi que leurs interprétations sont présentés dans le tableau suivant.

GROUPES	ÉPREUVE GLOBULAIRE : RÉACTIFS			ÉPREUVE SÉRIQUE : GLOBULES ROUGES TEST			
	Anti-ABO1 (A)	Anti-ABO2 (B)	Anti-ABO3 (AB)	A1	A2	B	O
A	+	-	+	-	-	+	-
B	-	+	+	+	+	-	-
AB	+	+	+	-	-	-	-
O	-	-	-	+	+	+	-

L'épreuve globulaire et l'épreuve sérique doivent être concordantes. Toute divergence entre les épreuves globulaire et sérique doit être résolue avant de rendre un résultat. A chaque fois qu'une divergence entre les épreuves globulaire et sérique est observée, des tests complémentaires avec des contrôles appropriés doivent être effectués.

VIII - PERFORMANCES

a) Performances spécifiques du réactif anti-ABO1 (A)

Les performances du réactif TransClone Anti-ABO1 (A) 26A2 ont été évaluées sur panel de 5763 échantillons (5100 donneurs, 625 patients et 38 nouveaux nés) complété par un panel d'antigènes faibles.

Les échantillons (dont 47 % de positifs pour l'Ag ABO1 (A)) ont donné des résultats en sensibilité et en spécificité conformes à ceux attendus.

Le réactif TransClone Anti-ABO1 (A) 26A2 présente une bonne reproductibilité aussi bien en intra essai qu'en inter-essais.

b)Performances spécifiques du réactif anti-ABO2 (B)

Les performances du réactif TransClone Anti-ABO2 (B) X9 ont été évaluées sur panel de 1356 échantillons (457 donneurs, 879 patients et 20 nouveaux nés) complété par un panel d'antigènes faibles.

Les antigènes B acquis testés n'ont pas été détectés par le réactif TransClone Anti-ABO2 (B) X9.

Les échantillons (dont 15 % de positifs pour l'Ag ABO2(B)) ont donné des résultats en sensibilité et en spécificité conformes à ceux attendus.

Le réactif TransClone Anti-ABO2 (B) X9 présente une bonne reproductibilité aussi bien en intra essai qu'en inter-essais.

c) Performances spécifiques du réactif anti-ABO3 (AB)

Les performances du réactif TransClone Anti-ABO3 (AB) ont été évaluées sur panel de 6492 échantillons (4290 donneurs, 2111 patients et 91 nouveaux nés) complété par un panel d'antigènes faibles.

Les échantillons (dont 59 % de positifs pour l'Ag ABO3 (AB)) ont donné des résultats en sensibilité et en spécificité conformes à ceux attendus.

Le réactif TransClone Anti-ABO3 (AB) présente une bonne reproductibilité aussi bien en intra essai qu'en inter-essais.

LIMITES

Des résultats anormaux peuvent être provoqués par:

- une contamination bactérienne ou chimique des échantillons, des réactifs ou du matériel.
- une médication ou un état pathologique du patient donnant une réaction croisée.
- utilisation d'un milieu de dilution des réactifs autre que celui préconisé (technique microplaque uniquement).
- une préparation des globules rouges différente de celle préconisée.
- une agitation insuffisante entraînant une remise en suspension incomplète des globules rouges.
- une agitation trop forte cassant les agglutinas.
- tout autre usage que celui décrit dans cette notice.

IX -BIBLIOGRAPHIE

1. Arrêté du 8 février 1984. *Journal Officiel N.C.* du 17 mars 1984 fixant les caractéristiques des réactifs utilisés en immunohématologie érythrocytaire.
2. Technical Manual of the American Association of Blood Banks. 10th édition 1990.
3. CH. Salmon, J.P. Cartron, PH. Rouget et collaborateurs - Les groupes sanguins chez l'homme. Masson 1991 .
4. Issitt P.O. : Applied blood group serology. 4th ed. Miami : *Montgomery Scientific Publications,1998.*

BIO-RAD

TransClone® Anti-ABO1 (A) 26A2
TransClone® Anti-ABO2(B) 95.3
TransClone® Anti-ABO3(AB)

ANTICORPS MONOCLONAUX MURINS

Détermination de l'Ag ABO1 (A)

Détermination de l'Ag ABO2 (B)

Détermination de l'Ag ABO3 (AB)

PLAQUE (+15°C - +25°C) **TUBE** (CENTRIFUGATION IMMEDIATE) **ET MICROPLAQUE** (+15°C -+25°C)

Institut Pasteur d'Algérie

[03071 0110]

الملحق رقم (05)

I- UTILISATION ET PRINCIPE DU TEST

Ces réactifs (sérums-test) sont strictement réservés à des usages professionnels et diagnostiques in vitro.

Destiné à la détermination de l'antigène ABO1(A) ou à la détermination de l'antigène ABO2(B) ou à la détermination de l'antigène ABO3(AB), le test est basé sur le principe d'agglutination.

Des globules rouges présentant à leur surface l'antigène testé agglutineront en présence du réactif, en revanche des globules rouges dépourvus de l'antigène n'agglutineront pas.

Le test peut être effectué en utilisant une des trois techniques suivantes: plaque d'opaline (+15°C - +25°C), tube (centrifugation immédiate) ou microplaque (+15°C - +25°C).

II- CARACTÉRISTIQUES DES RÉACTIFS

Ces réactifs se présentent sous forme liquide, prêts à l'emploi, fournis avec des bouchons compte-gouttes (une goutte = 50 µl).

Ils contiennent des anticorps monoclonaux issus de clones produits par fusion cellulaire de lymphocytes de souris immunisées et de cellules de myélome murin. Les sumageants sont produits à partir des clones suivants :

- TransClone Anti-ABO1 (A) 26A2 ; 26A2
- TransClone Anti-ABO2 (B) 95.3;95.3
- TransClone Anti-ABO3 (AB): AB5-63A5A2/26A2/95.3

,Ces réactifs contiennent de l'azide de sodium (< 0,1 %) comme conservateur. L'azide desodium peut former des azides de plomb ou de cuivre dans les canalisations du laboratoire. Ces azides sont explosifs. Pour éviter toutes accumulations d'azides, rincer à grande eau les canalisations si les solutions contenant de l'azide sont éliminées par l'évier après leur inactivation. Le code produit et le volume sont mentionnés sur l'étiquette de chaque boîte

III- CONSERVATION - VALIDITÉ

La date limite d'utilisation et les conditions de stockage sont indiquées sur l'étiquette de chaque flacon.

Ces réactifs doivent être conservés entre +2°C et +8°C.

Après ouverture, sous réserve de conservation à +2°C - +8°C et de respect des conditions de manipulation visant à éviter toute contamination, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le flacon.

IV-AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

La fiabilité des résultats dépend de la bonne exécution des Bonnes Pratiques de Laboratoire suivantes :

- Ne pas utiliser les réactifs au delà de la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents dans une même série.
- Utiliser un embout de pipette différent pour chaque réactif.
- Il est indispensable de prendre les précautions nécessaires pour ne pas provoquer de contaminations et ce, particulièrement lors des étapes de distribution.

- Vérifier la précision et le bon fonctionnement des pipettes et autres équipements.
- Porter des gants et des lunettes de sécurité lors de la manipulation de réactifs et d'echantillons.
- Ne jamais pipeter directement a la bouche.
- Manipuler tout échantillon comme s'il pouvait être contaminant.
- Eviter les éclaboussures. En cas d'eclaboussures, nettoyer avec de l'eau de javel à 12° Cl diluée au1/10, et essuyer avec un papier absorbant. Le matériel utilisé pour nettoyer devra être jeté dans un conteneur pour résidus contaminés.
- Les consommables et produits ayant été en contact avec les échantillons de patients ou des réactifs d'origine humaine ne doivent être éliminés qu'après décontamination.
- Les fiches de sécurité sont disponibles sur demande.

V - RECUEIL ET TRAITEMENT DES ECHANTILLONS

Le sang doit être prélevé aseptiquement dans un tube avec anticoagulant (EDTA, CPD).

Le test doit être pratiqué le plus tôt possible après le recueil. Les échantillons qui ne peuvent être analysés rapidement devront être conservés entre +2°C et +8°C et testés dans les 48 heures. En aucun cas une hémolyse ne doit être visible.

Ne pas chauffer les échantillons.

VI-TECHNIQUES

•Matériel fourni

- TransClone Anti-ABO1 (A) 26A2ou TransClone Anti-ABO2(B)95.3 ou TransClone Anti-ABO3(AB)

- **Autre matériel nécessaire non fourni**

- Solution saline isotonique (0.85-0.90% NaCl)
- Microdil
- Microbrom
- RH Control M
- Centrifugeuse
- Pipettes automatiques ou semi-automatiques
- Embouts de pipette
- Tubes à usage unique
- Baguette de verre rodé
- Plaque opaline
- Microplaques fond U
- Agitateur de microplaques
- Centrifugeuse de microplaques
- Récipient pour déchets à risques biologiques
- Eau de Javel
- Gants latex
- Papier absorbant
- Lunettes de sécurité

- **Contrôles**

- RH Control M :milieu peu enrichi en macromolécules, permet de mettre en évidence une

éventuelle agglutination non spécifique liée au milieu réactionnel. Compte tenu du faible t
protéines des réactifs monoclonaux IgM de la gamme TransClone, l'utilisation du RH Co
M n'est pas indispensable en techniques tube et plaque mais peut être néanmoins requis
certaines législations. Elle est par contre nécessaire en technique microplaque.

- Témoins positif et négatif : globules rouges connus positifs et négatifs pour l'antigène
testés simultanément avec l'échantillon à tester pour valider l'activité propre du réactif.

- **Mode opératoire**

Le mode opératoire doit être strictement suivi.

Tous les réactifs doivent être remis à température ambiante avant utilisation.

Par centrifugation (2000 g x 2 minutes) séparer le plasma des globules rouges de l'échantillo
tester.

A- Technique sur plaque d'opaline (+15°C-+25°C)

1. Dans un tube à usage unique, identifié, préparer une suspension de globules rouges à teste
10 à 50 % en solution saline isotonique.
2. Sur une plaque d'opaline, à température ambiante (+15°C - +25°C) déposer 50 µl de r
3. Ajouter 50 µl de suspension globulaire à côté de la goutte de réactif.
4. Pour chaque test, mélanger réactif et globules rouges à l'aide d'une baguette de verre ro
manière à obtenir un cercle de 2-3 cm de diamètre.
5. Changer de baguette de verre entre chaque réaction.
6. Agiter doucement la plaque par des mouvements d'oscillation et lire l'agglutination à 3 mi

B- Technique en tube (centrifugation immédiate)

1. Préparer une suspension de globules rouges à tester de 3 à 5% en solution saline isoto
2. Dans un tube à usage unique, identifié, distribuer 50 µl de réactif.
3. Ajouter 50 µl de suspension globulaire à tester.
4. Homogénéiser le mélange par agitation douce.
5. Centrifuger à 450 g pendant 1 minute.
6. Remettre doucement en suspension le culot globulaire au fond du tube et lire macrosco-
piquement l'agglutination.

C- Technique en microplaque (+15°C-+25°C)

a) Préparation des réactifs

Ajouter: - 1.25 ml de TransClone Anti-ABO1 (A) 26A2 dans un flacon de 5 ml de Microdil
- 0.75 ml de TransClone Anti-ABO2(B) 95.3 dans un flacon de 5 ml de Microdil
- 1.25 ml de TransClone Anti-ABO3(AB) dans un flacon de 5 ml de Microdil

- Mélanger.
- Les réatifs ainsi dilués, sont prêts à l'emploi pour usage microplaque et peuvent être conservés 7 jours entre +2°C et +8°C.

b) Technique

1. Dans un tube à usage unique, identifié ou dans une microplaque conçue à cet effet, préparer une suspension de globules rouges à tester à 2% en Microbrom.
2. Incuber entre 5 à 20 minutes à température ambiante (+15°C - +25°C).

الملحق رقم 05 :

تقنية نظام ABO

الملحق رقم (06)

- Technique en microplaque (+ 15°C - +25°C)

Préparation du réactif

Ajouter 1,25 ml de TransClone Anti-RH1 (D) FAST M dans un flacon de 5 ml de crodil

Mélanger.

Le réactif ainsi dilué est prêt à l'emploi pour usage microplaque et peut être nservé 7 jours entre +2°C et +8°C.

Technique

Dans un tube à usage unique, identifié ou dans une microplaque conçue à cet let, préparer une suspension à 2% en Microbrom de globules rouges à tester.

Incuber entre 5 à 20 minutes à température ambiante (+ 15° C - +25°C)

Pour chaque échantillon, distribuer, dans une microplaque fond U, 25 µl de réactif préparé en **C-a)** dans une cupule et 25 µl de RH Control M dans une autre.

Remettre les globules rouges en suspension.

Ajouter 25 µl de suspension globulaire à tester dans les cupules correspondantes

Homogénéiser le mélange réactionnel à l'aide de l'agitateur de microplaques.

Centrifuger 1 minute à 250 g.

Agiter les microplaques une par une pour décoller les boutons cellulaires et permettre une bonne remise en suspension des témoins négatifs. **Les paramètres d'agitation doivent être établis en fonction de l'agitateur de microplaques utilisé.**

Laisser reposer 2 minutes à température ambiante et lire.

II- RÉSULTATS ET INTERPRETATION

Une réaction d'agglutination des globules rouges en présence du réactif est un résultat positif et indique la présence de l'antigène RH1 (D).

L'absence d'une réaction d'agglutination des globules rouges est un résultat négatif et indique que l'antigène RH1 (D) n'a pas été détecté

Les résultats sont valides uniquement si les témoins positif et négatif donnent les résultats attendus et si le RH Control M montre un résultat négatif lorsqu'il est utilisé.

III- PERFORMANCES

Les performances du réactif TransClone Anti-RH1 (D) FAST M ont été évaluées sur panel de 2078 échantillons (609 donneurs, 1412 patients et 57 nouveaux nés) complété par un panel de 52 échantillons particuliers (Ag faibles ou variants). Les 2078 échantillons (dont 82 % de positifs pour l'antigène RH1 (D) ont donné des résultats de sensibilité et de spécificité conformes à ceux attendus. 95% des Ag RHW1 (D faibles) testés ont été détectés en technique tube.

Malgré ses performances, le réactif TransClone Anti-RH1 (D) FAST M ne permet pas la détection de tous les antigènes RHW1 (D faible) ni la détection du phénotype RH1 partiel catégories VI (DVI). Si la détection de l'ensemble des Ag RHW1 (D faible) et Ag RH1 (D) variants est requise, les échantillons négatifs doivent être contrôlés par une recherche de l'antigène RHW1 (D faible) en technique indirecte à l'antiglobuline

(par exemple le réactif Scangel Monoclonal Anti-RH1 (D)/RHW1 sur cartes Scangel COOMBS Anti-IgG, -C3d).

Le réactif TransClone Anti-RH1 (D) FAST M présente une bonne reproductibilité aussi bien en intra essai qu'en inter-essais.

LIMITES

Des résultats anormaux peuvent être provoqués par :

- une contamination bactérienne ou chimique des échantillons, des réactifs ou du matériel.
- une médication ou un état pathologique du patient donnant une réaction croisée.
- l'utilisation d'un milieu de dilution des réactifs autre que celui préconisé (technique microplaque uniquement).
- une préparation des globules rouges différente de celle préconisée.
- une agitation insuffisante entraînant une remise en suspension incomplète des globules rouges.
- une agitation trop forte cassant les agglutinats.
- tout autre usage que celui décrit dans cette notice.

IX - BIBLIQGRAPHIE

1. Arrêté du 8 février 1984. *Journal Officiel* N.C du 17 mars 1984 fixant les caractéristiques des réactifs utilises en immunohématologie érythrocytaire.
2. Ph. Rouger, D. Geossens, F. Champomier, G. Tsikas, G.Liberge, J. Leblanc, Ch. Richard, C. Bailleul, Ch. Salmon. Utilisation diagnostique et therapeutique d'anticorps monoclonaux humains anti-D (RHO). Revue française de *transfusion et immunohématologie*. Tome XXVIII - N°6 - 1985.
3. VAN RHENEN DJ, P.M.HJ. et coll. - CLB Amsterdam- Testing efficacy of anti-D sera by e panel of donor red cells with weak reacting D antigen and with partial D antigen - *Vox. Sang.* 1989 - 56 : 274-277.
4. Technical Manual of the American Association of Blood Banks. 10th edition 1990.
5. Ch. Salmon, J.P. Cartron, Ph. Rouger et collaborateurs Les groupes sanguins chez l'homme. *Masson* 1991.
6. Third international workshop and symposium on monoclonal antibodies and related antigens. Section RH. TCB 1996;6:331-404.

BIO-RAD

TransClone® Anti-RH1 (D) FAST M **RH1**

Anticorps monoclonal Humain IgM
Détermination de l'Ag RH1
Plaque (+15°C - + 25°C)
Tube (Centrifugation immédiate)
Et microplaque (+15°C - + 25°C)

Institut Pasteur d'Algérie

[03072 0110]

I- UTILISATION ET PRINCIPE DU TEST

Ce réactif (sérum-test) est strictement réservé à des usages professionnels et diagnostiques in vitro.

Destiné à la déterminations de l'antigene RH1(D), le test est basé sur le principe d'agglutination.

Des globules rouges humains, pourvus de l'antigene RH1(D) agglutineront en présence du réactif TransClone Anti-RH1(D) FAST M, en revanche des globules rouges dépourvus de l'antigene RH1 (D) n'agglutineront pas.

Le test peut être effectué en utilisant une des trois techniques suivantes : plaque d'opaline (+15°C - +25°C), tube (centrifugation immédiate) ou microplaque (+15°C- +25°C).

II- CARACTÉRISTIQUES DU RÉACTIF

Ce réactif se présente sous forme liquide, prêt à l'emploi, fourni avec un bouchon compte-gouttes (une goutte = 50 µl).

L'anticorps monoclonal de spécificité anti-RH1 (D) utilisé comme fraction active de ce réactif est issu de l'hétérohybride B9A4-B2A6A6A1A1. Ce clone produit des anticorps de classe IgM.

Ce réactif contient de l'azide de sodium (< 0,1 %) comme conservateur. L'azide de sodium peut former des azides de plomb ou de cuivre dans les canalisations du laboratoire. Ces azides sont explosifs. Pour éviter toutes accumulations d'azides, rincer à grande eau les canalisations si les solutions contenant de l'azide sont éliminées par l'évier après leur inactivation.

Le code produit et le volume sont mentionnés sur l'étiquette de la boîte.

III- CONSERVATION - VALIDITE

La date limite d'utilisation et les conditions de stockage sont indiquées sur l'étiquette du flacon.

Ce réactif doit être conservé entre +2°C et +8°C.

Apres ouverture, sous réserve de conservation à +2°C - +8°C et de respect des conditions de manipulation visant à éviter toute contamination, le réactif est stable jusqu'a la date de péremption indiquée sur le flacon.

IV- AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS

La fiabilité des résultats dépend de la bonne exécution des Bonnes Pratiques de Laboratoire suivantes :

- Ne pas utiliser les réactifs au delà de la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents dans une même série.
- Il est indispensable de prendre les précautions nécessaires pour ne pas provoquer de contaminations et ce, particulièrement lors des étapes de distribution.
- Utiliser un embout de pipette différent pour chaque échantillon.

- Vérifier la précision et le bon fonctionnement des pipettes et autres équipements.
- Porter des gants et des lunettes de sécurité lors de la manipulation de réactifs et d'echantillons.
- Ne jamais pipeter directement à la bouche.
- Manipuler tout échantillon comme s'il pouvait être contaminant.
- Eviter les éclaboussures. En cas d'eclaboussures, nettoyer avec de l'eau de javel à 12°Cl diluée au 1/10, et essuyer avec un papier absorbant. Le matériel utilisé pour nettoyer devra être jeté dans un conteneur pour résidus contaminés.
- Les consommables et produits ayant été en contact avec les échantillons de patients ou des réactifs d'origine humaine ne doivent être éliminés qu'après décontamination.
- La fiche de sécurité est disponible sur demande.

V- RECUEIL ET TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS

Le sang doit être prélevé aseptiquement dans un tube avec anticoagulant (EDTA, CPD).

Le test doit être pratiqué le plus tôt possible après le recueil. Les échantillons qui ne peuvent être analysés rapidement devront être conservés entre +2°C et +8°C et testés dans les 48 heures. En aucun cas une hémolyse ne doit être visible. Ne pas chauffer les échantillons.

VI- TECHNIQUES

Matériel fourni

- TransCloneAnti-RH1 (D)FAST M

Autre matériel nécessaire non fourni

- Solution saline isotonique (0.65-0.90% NaCl)
- Microdil
- Microbrom
- RH Control M
- Centrifugeuse
- Pipettes automatiques ou semi-automatiques
- Embouts de pipette
- Tubes à usage unique
- Baguette de verre rodé
- Plaque opaline
- Microplaques fond U
- Agitateur de microplaques
- Centrifugeuse de microplaques
- Récipient pour déchets à risques biologiques
- Eau de Javel
- Gants latex

- Papier absorbant
- Lunettes de sécurité

Contrôles

- RH Control M : milieu peu enrichi en macromolécules, permet de mettre évidence une éventuelle agglutination non spécifique liée au milieu réaction Compte tenu du faible taux de protéines des réactifs monoclonaux IgM d gamme TransClone, l'utilisation du RH Control M n'est pas indispensable techniques tube et plaque mais peut entre néanmoins requise par certa l'égislations. Elle est par contre nécessaire en technique microplaque.
- Témoins positif et négatif : globules rouges connus positifs et négatifs l'antigene RH1, testés simultanément avec les globules rouges de l'échant pour valider l'activité propre du réactif.

Mode opératoire

Le mode opératoire doit être strictement suivi.

Tous les réactifs doivent être remis à température ambiante avant utilisation.

Par centrifugation (2000 g x 2 minutes) séparer le plasma des globules rouges l'échantillon à tester.

A - Technique sur plaque d'opaline (+ 15°C - +25°C)

1. Déposer 70 µl de réactif sur une plaque d'opaline à température ambi (+15°C- +25°C).
2. Déposer 35 µl de culot globulaire non lavé de 80 à 90 % à côté de cha goutte de réactif.
3. Pour chaque test, mélanger réactif et globules rouges à l'aide d'une baguette verre rodé de manière à obtenir un cercle de 2-3 cm de diamètre.
4. Reprendre les étapes 1.2.3. avec le RH Control M lorsque son utilisation est requise
5. Changer de baguette de verre entre chaque réaction
6. Agiter doucement la plaque par des mouvements d'oscillation et l'agglutination à 3 minutes.

B - Technique en tube (centrifugation immédiate)

1. Préparer une suspension de globules rouges à tester de 3 à 5% en solution saline isotonique.
2. Dans un tube à usage unique, identifié, distribuer 50 µl de réactif.
3. Ajouter 50 µl de suspension globulaire à tester.
4. Reprendre les étapes 2. et 3. avec le RH Control M lorsque son utilisation requise.
5. Homogénéiser le mélange par agitation douce.
6. Centrifuger à 450 g pendant 1 minute.
7. Remettre doucement en suspension le culot globulaire au fond du tube et lire macroscopiquement l'agglutination.

الملحق رقم 06 :

تقنية نظام ABO

الخاتمة

من خلال هذا العمل البسيط تمكنا من التعرف على عنصر حيوي ومهم في الحياة وهو الدم ومعرفة مكوناته ونظام الزمر الدموية وكيفية تحقين الدم وفق شروط واحتياطات وإجراءات لازمة تجنبا للحوادث والمخاطر الناتجة عن هذه العملية.

كما تبين لنا مدى إلزامية الفرد بمعرفة زمرته الدموية التي تحميه من حوادث نقل الدم وأخطار اختلاف الريزوس (Rh) عند المرأة الحامل وعلى جنينها.

ومن خلال التربص الذي قمنا به رأينا أن مستشفياتنا تعتمد فقط على حقن الدم من نفس الزمرة. وفي الحالات الاستعجالية وغياب نفس الزمرة يبحثون عن متبرعين آخرين رغم وجود أكياس الدم من الزمرة "O" في بنوك الدم، ولهذا نحسس مجتمعنا بما أن هذه العملية بسيطة وضرورية فينبغي القيام بها لإنقاذ حياة المرضى.

كما يمكن إجراء هذه التقنية على البلازما المراد استعمالها في صنع مركبات صيدلانية كالتلقيحات والألبومين.

لذا يجب على التقنيين المشتغلين في مخابر التحليل خاصة تلك الواقعة في المستشفيات الكبرى حيث يكثر إقبال المرضى والمتبرعين أن يلتزموا التزاما تاماً بمراحل ودقة الكشف عن نظام الـ ABO ونظام الـ Rhésus ضمن شروط تضمن سلامته وسلامة المتبرع.

;ومع ظهور الفيروسات الخطيرة التي تنتقل من خلال نقل الدم مثل: فيروس إلتهاب الكبد نوع (ب) أو (ج) وكذلك فيروس الإيدز، فقد باتت الأهمية عظيمة لاكتشاف دم اصطناعي خال من هذه المخاطر المختلفة كما يعتبر ناقل جيد للأكسجين من الرئتين إلى سائر خلايا الجسم ويستخدم في الحالات الاستعجالية لإنقاذ المريض حتى إيجاد دم يطابق دمه.

والهدف الأساسي من هذه المذكرة هو تحسين الأشخاص بمدى أهمية التبرع بالدم للمرضى المحتاجين ومدى أهمية التأكد من توافق الزمر الدموية حتى لا يحدث ما لا يُحمد عقباه. في انتظار نجاح الأبحاث العالمية للتوصل إلى صنع دم صناعي لا يسبب ارتكاسات مناعية، ولا يرفضه الجسم ولا ينقل الأمراض المعروفة مثل الإيدز والأمراض الفيروسية الأخرى، ويمكن حفظه في جميع الظروف.

الخـاتـمـة