

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri
FACULTE DE MEDECINE
TIZI OUZOU



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة مولود معمري
كلية الطب
تيزي وزو

†•⊙:∞∞•∪ξ†E:H:∞•†E†:∞∞:Q

Département de Pharmacie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

N° D'ORDRE :

Présenté et soutenu publiquement le 03 Octobre 2021

En vue de l'obtention du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

Thème

**Fréquence et titrage des hémolysines anti-A et anti-B chez les
donneurs de sang du CTS W de Tizi Ouzou**

Réalisé par :

SI MOHAND Lilia

TACHERIFT Amel

SILEM Cylia

TERDJEMANE Kamelia

Encadré par :

Dr. KESSAL Fatma MAHU en Hémobiologie UMMTO

Membres de jury :

Dr. N.SISMAIL	MAHU en Hémobiologie	UMMTO	Présidente de jury
Dr. F.BERDOUS	MAHU en Hémobiologie	UMMTO	Examinatrice
Dr. S. AGOURNAZ	Assistante santé publique	CHU TO	Examinatrice

2020-2021

Remerciements

Avant toute chose nous tenons à remercier Allah le tout puissant de nous avoir donné les moyens, la force et la patience durant toutes ces années d'étude, afin que nous puissions en arriver là et pouvoir réaliser ce travail.

*Nos remerciements les plus sincères s'adressent à notre promotrice **Dr Kessal Fatma** Maitre- Assistante en Hémobiologie et Transfusion Sanguine au CHU de Tizi-Ouzou pour le temps qu'elle nous a consacré, pour ses remarques constructives, pour toutes les connaissances qu'elle nous a transmises et pour ses précieux conseils.*

*Nous tenons aussi à exprimer notre gratitude au **Dr. N.SISMAIL** Maitre- Assistante en Hémobiologie et Transfusion Sanguine ; **Dr.F BERDOUS** Maitre- Assistante en Hémobiologie et au **Dr. S. AGOURNAZ** Assistante santé publique au CHU Tizi Ouzou d'avoir accepté de consacrer leur temps afin d'évaluer notre travail et nous honorer autant que Président et membres de jury.*

Nous tenons également à exprimer notre reconnaissance à tout le personnel du CTS de Tizi Ouzou pour leur aide, ainsi que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

A tous ces intervenants, nous présentons nos remerciements, notre respect et notre gratitude

Merci.

DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail

A mes parents qui sont la source de ma réussite grâce à leurs encouragements et leurs prières pour moi, qui n'ont ménagé aucun effort pour me rendre heureuse et me permettre de mener mes études dans les meilleures conditions, tous les mots ne sauraient exprimer mes sentiments profonds d'amour, de respect et de reconnaissance.

Que Dieu vous bénisse et vous procure santé, bonheur et longue vie.

*A mes sœurs : **Louiza, Aïcha, Fazia et Kahina***

*A mes frères : **Ali, Djamel et Mourad***

Je vous remercie pour votre soutien et vos encouragements. .merci de m'avoir accompagnée et aidée tout au long de mon cursus.

A mes chers neveux et nièces

Que Dieu vous garde en bonne santé et vous prête une longue vie pleine de bonheur.

*A mes amis : **Imene et Islem***

Merci de m'avoir toujours écoutée et soutenue, que notre amitié soit éternelle.

*A toute la famille **TERDJEMANE** et tous mes proches*

Kamelia

Louange à dieu que la prière et le salut soit sur le prophète

Je dédie ce travaille à :

A mes très chers parents :

*Mon père **Ali** et ma mère **Ouardia**, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect et mon profond amour que j'éprouve envers vous. Votre générosité sans limite, vos sacrifices et vos conseils qui m'ont guidé chaque jour dans ma vie. Votre présence fait naître en moi l'espoir pour aller de l'avant.*

A mes très chères frères et sœurs :

***Kahina ,Dihia ,Arezki ,Thinhinane** et **M'hend**, pour leurs soutiens ,conseils et leurs encouragements tout au long de mon parcours.*

*Aux anges de familles mes adorables nièces et mon neveux : **Lina, Yanis et Léa***

*A ma tante : **Fatiha**, pour son soutien et son encouragement.*

*A mon grand-père :**Mohamed**, que dieu le protège, lui accorde santé et longue vie.*

*A mes grands-parents :**Arézki ,Smina** et **Ouiza** ,qui nos ont quitté très tôt, que dieu le tout puissant leurs accorde miséricorde et les accueille dans son vaste paradis.*

*A mes sœurs de cœur, mes meilleures amies : **Lilia, Zineb, Sofia** et **Sabrina**, pour toutes les expériences quelles soient bonnes ou mauvaises qu'on a pu partager, je vous souhaite une vie pleine de réussite et de bonheur. A mes camarades :*

***Lilia, Célia** et **Kamélia**, pour leur soutien, leur patience et leur compréhension tout au long de ce travail.*

A toute personne qui m'a adressé un mot de soutien et d'encouragement durant mon cursus merci.

AMEL

Je dédie ce travail

A mes chers parents, les mots ne seront pas suffisants pour décrire l'amour et le respect que je vous porte, merci d'avoir été derrière moi à m'encourager et me montrer le bon chemin, d'être là à chacun de mes faux pas et surtout merci pour vos sacrifices, pour l'éducation que vous m'avez léguée et pour les valeurs que vous m'avez inculquées. Que dieu vous garde pour moi.

*A mes chères sœurs **Nesrine, Feriel et Katia**, et mes chers frères **Moumen et Abdou** qui n'ont cessé d'être là pour moi, merci pour votre encouragement qui m'a donné la force pour continuer toujours vers l'avant, que Dieu vous préserve pour moi.*

*A toute ma famille et surtout ma tante **Ouiza** et son mari **Mouloud** qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études.*

A mes chères copines, je vous aime.

Enfin mon plus profond respect va tout droit à mes aimables professeurs dans tous les cycles de ma scolarité qui m'ont éclairé la voie du savoir.

CELLIA

Je dédie ce modeste travail, comme preuve de respect, de gratitude, et de reconnaissance à :

*A mes chers parents, **Arezki** et **Yamina** tout les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.*

A ma très chère Maman tu es pour moi une source d'amour de tendresse et de sacrifice, Merci pour ta sagesse et tes douaaas incessants.

A mon très cher papa pour ton profond amour et ta confiance en Moi.

*A mes chers frères **Lyes** ; **Youva** et **Eliane** Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond attachement, mon amour et Je vous remercie d'être toujours présents pour m'encourager dans tous les moments de ma vie. Je ne saurais exprimer les sentiments que j'éprouve pour vous. Je vous souhaite un avenir radieux plein de réussite. Que dieu consolide les liens sacrés qui nous unissent.*

*A toutes mes chères tantes **Karima**, **Meriema**, **Fatima**, **Farida** et **Malika** Merci pour votre appui et soutiens morales permanents. Je ne vous remercierai jamais assez.*

*A tous ceux que j'aime beaucoup, particulièrement mes chers oncles **Hand**, **Mohand**, **Meziane** et **Mohand**.*

*A mes très chères cousines : **Ania**, **Fatima**, **Lydia**, **Nabila**, **Ounissa**, **Sonia**, **Kahina**, **Mélissa**, **Ines** ,**Anais** merci pour votre soutiens.*

*A ma meilleure amie **Sarah**, à ma sœur, il était grand temps que je te dise à quel point tu es importante pour moi, les années passent tellement vite mais notre liens si fort reste toujours inchangé .que notre amitié restera éternelle*

*A mes très chères amies **Sarah** et **Mounira** en témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur. Merci pour votre soutien et d'être toujours présentes à mes côtés j'espère que notre amitié restera éternelle.*

*A mes biens aimés **Amel**, **Zineb**, **Sofia** et **Sabrina** je n'oublierai jamais nos années d'étude ensemble et nos beaux souvenirs, j'ai beaucoup d'estime pour vous, que dieu nous garde ensemble.*

*A mes collègues de mémoire : **Amel**, **Célia** et **Kamélia** ; pour leur indéfectible soutien et patiences infinies.*

A toute personne qui m'a adressée un mot de soutien et d'encouragement durant mon cursus merci.

LILIA

Table des matières

Liste des tableaux.....	i
Liste des figures	iii
Liste des abréviations.....	v
Introduction	01
Objectifs	03

Partie théorique :

Chapitre I: Rappels sur les systèmes des groupes sanguins érythrocytaire ABO/H Rhésus

1.Système ABO (ISBT 001).....	4
1.1.Phénotypes ABO	5
1.1.1.Phénotypes communs	5
1.1.2.Phénotypes A1 / A2.....	5
1.1.3.Phénotypes A-faibles.....	7
1.1.4.Phénotypes B-faibles.....	8
1.1.5.Autres phénotypes rares du système ABO.....	8
1.2.Anticorps du système ABO.....	10
1.2.1.Anticorps naturels	10
1.2.1.1.Anticorps naturels réguliers	11
1.2.1.2.Anticorps naturels irréguliers	11
1.2.2.Anticorps immuns	11
1.2.3.Auto-anticorps anti A et anti B	12
1.3.Etude génétique	12
1.4.Etude biochimique.....	14
1.4.1.Biosynthèse des antigènes ABH	14
1.4.2.Biosynthèse dans les globules rouges	14
1.4.3.Biosynthèse dans les sécrétions.....	16
1.4.4.Biosynthèse dans le plasma	16
1.4.5.Biosynthèse dans les autres cellules du tissu hématopoïétique et non hématopoïétique	16

1.5.Méthodes d'études des groupes sanguins ABO	17
1.5.1.Méthodes sérologiques	17
1.5.1.1.Méthode d'agglutination	17
1.5.1.2.Recherche des hémolysines anti-A et anti-B immuns.....	18
1.5.1.3.Fixation-élution	18
1.5.1.4.Méthode immuno-enzymatique sur support solide ELISA.....	18
1.5.1.5.Cytométrie en flux.....	18
1.5.2.Méthodes de biologies moléculaires :	19
1.6.Implications des groupes sanguins ABO/H en clinique.....	20
1.6.1.Clinique transfusionnelle.....	20
1.6.2.Maladie hémolytique du nouveau né (MHNN).....	20
1.6.3.Transplantation d'organes	20
1.6.4.Médecine légale.....	21
1.6.5.Autres implications	21
2.Système Rhésus (RH) (ISBT004)	21
2.1.Antigènes du système Rhésus	22
2.1.1.Etude génétique et moléculaire	22
2.1.2.Etude biochimique et Biosynthèse des antigènes du système Rhésus	23
2.2.Phénotypes antigéniques du système Rhésus.....	24
2.2.1.Antigènes : D (RH1), C(RH2), E(RH3), c(RH4), e(RH5).....	24
2.2.2.Phénotype D-négatif.....	26
2.2.3.Phénotypes D faibles (RH1 faible) et ses variants.....	26
2.2.4.Phénotypes D partiel.....	27
2.2.5.Antigènes(RH8), Cx (RH9).....	27
2.2.6.Antigènes composés.....	27
2.3.Anticorps du système Rhésus.....	28
2.4.Méthodes d'études du système Rhésus	29
2.5.Implications cliniques du système Rhésus	29

Chapitre II : Rappels sur la transfusion sanguine, et le risque immunologique lié aux hémolysines

1.Définition	32
2.Don de sang.....	32
2.1.Règles éthiques.....	32

2.2.Règles médicales et réglementaires.....	32
2.3.Techniques de prélèvements	33
3.Préparation des produits sanguins labiles à partir du sang total.....	33
3.1.Concentrés de globules rouges	36
3.1.1.Transfusion de concentré(s) de globules rouges (CGR) : règles et indications	37
3.2.Concentrés plaquettaires	38
3.2.1.Indications de la transfusion des plaquettes	39
3.3.Plasma	41
3.3.1.Transfusion du Plasma Frais Congelé : règles et indications.....	41
4.Qualification biologique des dons.....	41
4.1.Qualifications immuno-hématologiques déterminées pour chaque don	42
4.2.Marqueurs d'agents infectieux transmissibles dépistés sur les dons.....	42
5.Rappels sur les règles de sécurité immunologique.....	42
5.1.Sécurité immunologique érythrocytaire	43
5.2.Sécurité immunologique plasmatique	43
5.3.Sécurité immunologique en néonatalogie	44
6.L'allo-immunisation érythrocytaire dans le système ABO.....	45
6.1.Caractères généraux des anticorps immuns anti A et anti B du système ABO.....	46
6.1.1.Circonstances de survenue	46
6.1.2.Caractères sérologiques.....	47
6.2.Principe de recherche des allo AC immuns anti A et anti B dans le système AB ...	49
6.3.Mécanismes d'action des hémolysines anti A et anti B du système ABO et conséquences cliniques	49
6.3.1.Mécanisme d'action	49
6.3.2.Conséquences cliniques de l'hémolyse post transfusionnelle.....	50
6.3.2.1.Formes graves	51
i.Phase de choc	51
ii.Phase d'hémoglobinurie et d'ictère	51
iii.Phase d'insuffisance rénale aigue avec anurie	51
6.3.2.2.Forme mineures.....	51
6.3.2.3.Formes latentes.....	51

Partie pratique

I. Matériels et méthode

1. Cadre d'étude	52
1.1. Type d'étude.....	52
1.2. Population d'étude.....	52
1.2.1. Taille échantillonnale	52
1.2.2. Critères d'inclusion d'un donneur de sang total.....	53
1.2.3. Critères de non inclusion d'un donneur de sang total	53
1.3. Durée de l'étude	54
1.4. Lieu de l'étude.....	54
2. Matériels.....	54
2.1. Equipements	54
2.2. Réactifs et consommables	54
2.2.1. Consommables	54
2.2.1. Réactifs	54
3. Méthodologie de travail	55
3.1. Phase pré analytique.....	55
3.1.1. Etapes du don de sang total.....	55
3.1.1.1. Accueil du donneur	55
3.1.1.2. Entretien médical.....	55
3.1.1.3. Prélèvement proprement dit	55
3.2. Phase analytique.....	56
3.2.1. Réalisation et interprétation d'un groupage ABO	56
3.2.1.1. Principe.....	56
3.2.1.2. Technique de groupage ABO manuel sur microplaque	57
3.2.1.3. Interprétation des groupes possibles	59
3.2.2. Groupage Rhésus D (RH1)	59
3.2.2.1. Principe.....	59
3.2.2.2. Technique de recherche de l'antigène D sur microplaque	59
3.2.3. Détermination de l'antigène D faible (D ^u) sur tube	60
3.2.3.1. Principe.....	60
3.2.3.2. Mode opératoire	60
3.2.3.3. Interprétation des résultats	60
3.2.4. Recherche et titrage des hémolysines anti A et anti B	61

3.2.4.1.Recherche des hémolysines.....	61
3.2.4.1.1.Principe.....	61
3.2.4.1.2.Mode opératoire	61
3.2.4.1.3.Interprétation des résultats	62
3.2.4.2.Titrage des hémolysines	63
3.2.4.2.1.Principe.....	63
3.2.4.2.2.Mode opératoire	63
3.2.4.2.3.Lecture et interprétation des résultats.....	63
3.2.4.2.4.Préparation des hématies tests	63
4.Etude statistique	64
4.1.Saisie des données	64
4.2.Analyse statistique des données	64
5.Considérations éthiques.....	64
II. Résultats	
1.Résultats globaux	65
1.1.Répartition des donneurs de sang selon les caractéristiques épidémiologiques.....	65
1.1.1.Selon le genre	65
1.1.2.Selon les tranches d'âges.....	66
1.2.Répartition des donneurs de sang selon le groupe sanguin ABO et Rhésus D	67
1.2.1.Selon le groupe sanguin ABO	67
1.2.2.Selon le Rhésus D	67
2.Résultats analytiques	68
2.1.Fréquence des hémolysines	68
2.1.1.Taux globale des hémolysines anti A et anti B	68
2.1.2.Fréquence des hémolysines anti A et anti B selon le genre	69
2.1.3.Fréquence des hémolysines anti A et anti B selon les tranches d'âge	70
2.1.4.Fréquence des hémolysines Anti A et Anti B selon le Groupe sanguin	70
2.1.5.Fréquence des hémolysines Anti A et Anti B selon le Rhésus D	71
2.2.Description de la population d'étude à hémolysines positives	72
2.2.1.Selon le genre	72
2.2.2.Selon les tranches d'âge	72
2.2.3.Selon le groupe sanguin ABO	73
2.2.4.Selon le Rhésus D	74

2.2.5.Selon le groupe sanguin ABO et Rhésus D.....	75
2.3.Répartition des hémolysines selon la spécificité de l'anticorps.....	75
2.3.1.Répartition globale des hémolysines anti A et anti B	75
2.3.2.Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le genre et leur spécificité	76
2.3.3.Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon les tranches d'âge et la spécificité de l'anticorps.....	77
2.3.4.Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le groupe sanguin et la spécificité de l'anticorps.....	78
2.3.5.Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le Rhésus D et la spécificité d'anticorps	80
2.4.Résultats du titrage des hémolysines.....	81
2.4.1.Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le titre	81
2.4.2.Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le genre et le titre..	81
2.4.3.Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon les tranches d'âges et le titre.....	82
2.4.4.Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le groupe sanguin ABO et le titre.....	83
2.4.5.Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon la spécificité de l'hémolysine et le titre.....	85
2.5.Groupe sanguin O porteurs d'hémolysines	86
2.5.1.Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines	86
2.5.2.Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon le genre.....	87
2.5.3.Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon les tranches d'âge	88
2.5.4.Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon le Rhésus.....	89
2.5.5.Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon la spécificité d'anticorps	90
2.5.6.Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteur d'hémolysines selon le titre.....	91

III.Discussion

Conclusion.....	96
------------------------	-----------

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau 1: Fréquences des différents phénotypes ABO	21
Tableau II : Les fréquences antigéniques dans le système RH.....	26
Tableau III : Les trois principaux types de produits sanguins labiles et caractéristiques essentiels.....	35
Tableau IV : Règles de compatibilité ABO pour la transfusion de globules rouges	43
Tableau V : Règles de compatibilité pour la transfusion de plasma	44
Tableau VI : Règles de compatibilité érythrocytaire en néonatalogie.....	45
Tableau VII : Les caractères sérologiques différentiels des anticorps naturels et immuns du système ABO.....	47
Tableau VIII : Fréquences des groupes sanguins ABO/RHD en France	53
Tableau IX : Interprétation des épreuves de Beth-vincent et Simonin	59
Tableau X : Recherche des hémolysines anti A et anti B	62
Tableau XI : Répartition des hémolysines selon la spécificité d'anticorps	76
Tableau XII : Répartition des donneurs de sang à hémolysines anti A, anti B et anti A+ anti B selon le genre	77
Tableau XIII : Répartition des donneurs de sang à hémolysine anti A; anti B et anti AB selon le groupe sanguin ABO	79
Tableau XIV : Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le titre et le genre	82
Tableau XV : Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le groupe sanguin ABO et le titre.	84
Tableau XVI : Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon la spécificité de l'hémolysine et le titre.....	85
Tableau XVII : Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines.....	86
Tableau XVIII : Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon le genre	87
Tableau XIX : Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon le Rhésus D.....	89

Tableau XX : Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon la spécificité de l'anticorps.90

Tableau XXI : Répartition des donneurs de sang a groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon le titre.....91

Listes des figures

Figure 1 La différence structurale entre les phénotypes : A1 et A2	7
Figure 2 Organisation du gène ABO.....	13
Figure 3 Schéma des allèles ABO.....	13
Figure 4 Structure chimique des antigènes ABH.....	14
Figure 5 Schéma de biosynthèse érythrocytaire des antigènes ABH	17
Figure 6 Règles de compatibilité ABO en cas de transfusion des globules rouges	20
Figure 7 Mécanisme de duplication et de délétion du gène RH	23
Figure 8 Modèle de la protéine Rh dans la membrane du globule rouge.....	24
Figure 9 Antigènes composés du système Rhésus.....	28
Figure 10 Préparation des PSL.....	35
Figure 11 Cascade d'activation du complément	49
Figure 12 Répartition des donneurs de sang selon le genre.....	65
Figure 13 Répartition des donneurs de sang selon les tranches d'âges.....	66
Figure 14 Répartition des donneurs de sang selon le groupe sanguin.....	67
Figure 15 : Répartition des donneurs de sang selon le Rhésus D.....	68
Figure 16 : Proportion des hémolysines chez les donneurs de sang	69
Figure 17 : Fréquence des hémolysines anti A et anti B selon le genre.....	69
Figure 18 : Fréquence des hémolysines chez les donneurs de sang selon les tranches d'âge.....	70
Figure 19 : Fréquence des hémolysines anti A et anti B selon le groupe sanguin ABO.....	71
Figure 20 : Fréquence des hémolysines anti A et anti B selon le Rhésus D.....	71
Figure 21 : Répartition des donneurs de sang à hémolysines positives selon le genre.....	72
Figure 22 : Répartition des donneurs de sang à hémolysine positive selon les tranches d'âges.....	73
Figure 23 : Répartition des donneurs de sang à hémolysines positives selon le groupe sanguin ABO.....	74
Figure 24 : Répartition des donneurs de sang à hémolysines positives selon le Rhésus	74
Figure 25 : Répartition des donneurs de sang à hémolysines positives selon le Groupe sanguin ABO et Rhésus D.....	75

Figure 26 : Répartition globale des donneurs de sang à hémolysines positives selon leur spécificité.....	76
Figure 27 : Répartition des donneurs de sang a hémolysines anti A, anti B et anti A+ anti B selon le genre.....	77
Figure 28 : Répartition des donneurs de sang à hémolysines anti A, anti B et anti A+anti B selon les tranches d'âges	78
Figure 29 : Répartition des donneurs de sang à hémolysines anti A, anti B et anti A+anti B selon le groupe sanguin ABO.....	79
Figure 30 : Répartition des donneurs de sang à hémolysines anti A, anti B et anti A+anti B selon le Rhésus D.....	80
Figure 31 : Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le titre.....	81
Figure 32 : Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le genre et le titre.....	82
Figure 33 : Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon les tranches d'âges et le titre.....	83
Figure 34 : Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le groupe sanguin ABO et le titre.....	84
Figure 35 : Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon leur spécificité et le titre.....	86
Figure 36 : Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines.....	87
Figure 37 : Répartition des donneurs de sang a groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon le genre.....	88
Figure 38 : Répartition des donneurs de sang a groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon les tranches d'âge.....	88
Figure 39 : Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon le Rhésus D.....	89
Figure 40 : Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon la spécificité de l'anticorps	90
Figure 41 : Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon le titre.....	91

Liste des Abréviations

a.a : acide aminé

AC : AntiCorps

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AGH : Anti Globuline Humaine

AHAI : Anémie Hémolytique Auto-immune

Ala : Alanine

° C : Degré Celsius

CGR : Concentré de Globules Rouges

CHU : Centre Hospitalo-universitaire

CIVD : Coagulation Intra Vasculaire Disséminée

CMV : Cyto Mégalo Virus

CMF : Cytométrie en Flux

CP : Concentré Plaquettaire

CPA : Concentré Plaquettaire d'Aphérèse

CSH : Cellule Souche Hématopoïétique

CTSW : Centre de Transfusion Sanguine de Wilaya

DDS : Donneur De Sang

dl : Décilitre

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétra-Acétique

ELISA : Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay

ETS : Etablissement de Transfusion Sanguine

FUT : α 1,2-FucosylTransférase

Fy : Duffy

G : Guanine

G: Giga

g : Gramme

Gal: Galactose

GB : Globule Blanc

Glc : Glucose

GPB : GlycoPhorine B

GR : Globule Rouge

GS : Groupe Sanguin

GTA: Glycosyl Transferase A

GTB: Glycosyl Transferase B

HAS : Haute Autorité de Santé

Hb : Hémoglobine

Hbs : Antigène de surface de l'hépatite B

Ht : Hématocrite

HTA : Hypertension Arterielle

HTLV: Human T-Lymphotropic Virus

Ig: Immuno globuline

ISBT: International Society of Blood Transfusion

kDa :kiloDalton

kb :kilobase

Lw: Lewis

MCP : Mélange de Concentré de Plaquettes

MCPS : Mélange de Concentré de Plaquettes Standard

MHNN : Maladie Hémolytique du Nouveau-né

min : Minute

ml : Millilitre

mm³ : Mètre cube

NFS : Numération de Formule Sanguine

NN : Nouveau-né

NP : Numération Plaquettaire

PCR-RFLP : Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism

PCR-SSCP : Polymerase Chain Reaction- Single Strand Conformation Polymorphism

PCR-SSP : Polymerase Chain Reaction- Sequence-Specific Primer

PFC : Plasma Frais Congelé

PSL : Produit Sanguin Labile

q : Bras long du chromosome

RAI : Recherche d'Agglutinines Irrégulières

Rh : Rhésus

RHAG : Rh Associated Glycoprotein

Se : Sécréteur (gène)

SNP: Single Nucleotid Polymorphism

T: Thymine

Thr : Thréonine

TIA : Test Indirect à l'Antiglobuline

tr : Tour

µl : Microlitre

VHB : Virus de l'Hépatite B

VHC : Virus de l'Hépatite C

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

Introduction

Et

Objectifs

Introduction

La barrière immunologique liée au polymorphisme des groupes sanguins est un obstacle majeur à la réalisation des transfusions de sang. La découverte du système ABO en 1900 par Karl Landsteiner (1), puis celles de nombreux autres systèmes de groupes sanguins ont permis de définir des règles permettant d'assurer la sécurité immunologique des transfusions de produits sanguins labiles (PSL).

Le système de groupes sanguins ABO est caractérisé par la présence constante dans le sérum de chaque individu, d'anticorps (Ac) ou immunoglobulines (Ig) dirigés contre les antigènes (Ag) absents à la surface de ses globules rouges. Ainsi, les sujets de groupe sanguin A possèdent des Ac anti-B, les sujets de groupe B des Ac anti-A, les sujets de groupe sanguin AB ne possèdent ni d'Ac anti-A, ni d'Ac anti-B tandis que les sujets de groupe O possèdent à la fois des Ac anti-A et anti-B. Ce sont des Ac réguliers et de nature IgM. Ils sont agglutinants avec un optimum thermique à 4°C. Ils sont dits naturels car apparaissant en dehors de toute allo-immunisation préalable (2).

Par ailleurs, sous l'influence de divers stimuli de l'environnement, certains sujets peuvent développer des anticorps anti érythrocytaires anti A et/ ou anti B irréguliers dits immuns de type IgG. Ces circonstances stimulantes peuvent être soit une allo immunisation (grossesse ABO incompatible, transfusion de produits sanguins contenant des hématies ABO incompatibles) une hétéro-immunisation (vaccination, sérothérapie, etc.) (3).

Contrairement aux anticorps naturels, les anticorps anti-A et anti-B immuns sont fortement hémolysant car ils sont capables de déclencher la cascade du complément jusqu'à la formation du complexe d'attaque membranaire et provoquer une hémolyse, on parle ainsi d'hémolysines. Ces dernières sont caractérisées par un optimum d'activité à 37°C, sont difficilement absorbables par les antigènes A et B solubles et peuvent entraîner des hémolyses chez les receveurs de sang. C'est le cas du donneur universel dit : « dangereux » (sujet O avec hémolysines anti A et/ou anti B). Chez la femme enceinte, ces hémolysines sont capables de traverser la barrière placentaire et induire une incompatibilité fœto-maternelle, voire une maladie hémolytique du nouveau-né (4) (5). Au cours d'une transfusion non iso-groupe (phéno-compatible) de produits sanguins contenant du plasma, les anticorps naturels ABO du donneur sont en général, sans danger pour les globules rouges du receveur. Ils sont rapidement dilués dans la circulation sanguine du receveur et adsorbés sur les antigènes tissulaires A et B de la paroi vasculaire (6).

Cependant, les hémolysines, sont difficilement adsorbables sur les antigènes solubles ou tissulaires (7), s'il en existe dans un produit sanguin transfusé, avec un volume de plasma important (transfusion de sang total, de concentrés de plaquettes, de plasma) et leur titre élevé 32, peuvent induire des accidents hémolytiques chez le receveur (8) (9) (10).

La distribution et le titre des hémolysines sont variables en fonction du groupe sanguin ABO, de la race, de l'exposition antérieure à des stimuli immunisants (transfusion, grossesse, etc.) (11).

En Afrique Sub-saharienne, le groupe sanguin O est largement prédominant, contrairement à la population caucasienne (11). Il est connu que très souvent, dans des situations d'urgences, le sang O (DONNEURS UNIVERSELS) est délivré pour des malades de groupe sanguin A, B ou AB sans aucun dépistage des hémolysines ni test de compatibilité adéquat (test à l'anti globuline humaine à 37°C). Or plusieurs études montrent que parmi les donneurs de groupe sanguin O, une proportion importante possède des anticorps anti-A et/ou anti-B de type IgG. De nombreuses études africaines, maghrébines et européennes ont été publiées sur la prévalence des hémolysines anti-A et anti-B chez les donneurs de sang essentiellement du groupe O.....

La recherche d'hémolysines chez les donneurs de sang rentre dans le cadre de la sécurité immunologique de la transfusion. Le fait de transfuser du sang contenant une hémolysine peut induire une hémolyse chez le patient. Cette situation n'a lieu qu'en cas de transfusion compatible non iso-groupe, par exemple transfusion de sang O à un patient A ou B ou AB, sang A à un patient AB, sang B à un patient AB. Dans certains pays, en particulier européens, cette recherche a été rendue obligatoire et le sang dans lequel on met en évidence la présence d'hémolysines doit être réservé à une transfusion iso-groupe (12). En Algérie, à ce jour aucune étude n'a été réalisée sur la prévalence nationale des hémolysines chez les donneurs de sang. Au CWTS de Tizi Ouzou les demandes de sang (Concentrés de Globules Rouges, Concentrés de Plaquettes, Plasma Frais Congelé) sont de plus en plus croissantes, on ignore jusqu'ici la fréquence des hémolysines du système ABO et celui des donneurs dit : « UNIVERSELS DANGEURUX ». C'est pourquoi il nous a paru intéressant d'entreprendre cette étude sur les hémolysines chez les donneurs de sang au CWTS de Tizi Ouzou.

Objectifs

Pour répondre à notre problématique, nous nous sommes fixés un objectif principale qui porte sur la détermination de la fréquence d'hémolysines anti A et anti B chez les donateurs de sang du Centre de Transfusion Sanguine de wilaya (CWTS) de Tizi Ouzou, et des objectifs secondaires afin de :

- 1- Déterminer les caractéristiques sociodémographiques des donateurs
- 2- Déterminer la fréquence et titre des hémolysines anti-A et anti-B en fonction du sexe et de l'âge
- 3- Déterminer le taux des hémolysines en fonction du groupe sanguin ABO

Partie théorique

Chapitre I

***Rappels sur les systèmes des
groupes sanguins érythrocytaire
ABO/H Rhésus***

1. Système ABO (ISBT 001)

Le système ABO est le système de groupe sanguin le plus important du fait de son implication en transfusion sanguine et dans la transplantation d'organes.

Les antigènes **ABO** ont une distribution étendue dans l'organisme, sont exprimés par les cellules sanguines circulantes, mais aussi par les cellules endothéliales, des épithéliums. Ces antigènes sont de véritables antigènes d'histocompatibilité.

Quatre groupes sanguins (**A, B, AB, O**) sont définis par la présence ou l'absence des antigènes **A** et **B**. Les antigènes **A** et **B** sont les produits de 2 enzymes (**A** et **B**) codées par un gène se trouvant sur le chromosome 9. L'antigène **O** résulte de l'absence d'activité enzymatique. En outre, ils sont caractérisés par la présence ou non d'hétéro anticorps (anticorps naturels) réguliers anti-**A**, **-B**, **-AB** dans le plasma/sérum. Le système **ABO** est un système tissulaire, ce qui signifie que les antigènes **ABO** se retrouvent non seulement sur les hématies, mais aussi sur les cellules d'autres tissus, jouant ainsi un rôle fondamental dans la transplantation. En outre, ils sont trouvés sous forme soluble dans différents fluides corporels.

Le système ABO est le système 001 selon la nouvelle nomenclature des systèmes de groupe sanguin ISBT 2008. Chaque spécificité antigénique est également affectée d'un numéro : A : 001, B : 002, AB : 003 (13; 14).

☞ Historique

En **1900** Karl Landsteiner a publié une très courte communication dans laquelle il affirme que le sérum des personnes saines agglutine ; non seulement les globules rouges d'animaux mais également les globules rouges d'autres personnes.

En **1901** ; Landsteiner a systématisé ses premières observations et décrit trois groupes sanguins chez l'homme (1 ; 2 et 3 qui correspondent aux groupes sanguins A,B et O) en fonction des réactions d'agglutinations observées. En testant le sérum et les hématies des sujets de son laboratoire.

En **1902** Decastello et sturlien en répétant les expériences de Landsteiner découvrent l'existence d'hématies possédant à la fois les agglutinogènes (antigènes) A et B. ce sera le groupe AB (15).

En **1911** V.Dungren et Hirsfeld ont mis en évidence la présence de deux sous-groupes A1, A2 du groupe A.

En **1924** Beirnsstein montre que les groupes du système ABO constituent des caractères héréditaires transmis suivant les lois Mendéliennes.

En **1952-1953** Morgan et Watkins ont démontré que les déterminants antigéniques A, B et H sont de nature glucidique.

En **1990** : Yamamoto et al ont cloné le gène ABO et décrivent les bases moléculaires de trois principaux allèles ABO (16).

1.1. Phénotypes ABO

Par convention le group sanguin **ABO** est défini par les antigènes présents à la surface des globules rouges, ainsi on a 6 phénotypes courants : **A1**, **A2**, **B**, **O**, **A1B** et **A2B**, les anticorps présents dans le sérum correspondent à l'antigène absent ou aux antigènes absents de la surface des globules rouges (17).

☞ Ontogenèse des antigènes ABO

Les Ag du système ABO sont présents avant même la différenciation du tissu hématopoïétique, dès les premières semaines de vie fœtale les Ag A, B et H sont développés dans de nombreux tissus endothéliaux et épithéliaux (5ème semaine : Ag ABH sont développés sur l'endothélium cardiovasculaire, 8ème semaine : Ag ABH sont retrouvés au niveau des cellules épithéliales du tube digestif et le tractus respiratoire) (18).

1.1.1. Phénotypes communs

Le système **ABO** comprend quatre antigènes, **A (001)**, **B (002)**, **A B (003)** et **A1 (004)**, en fonction de la réactivité avec les anticorps monoclonaux. Le système **H**, comprend un antigène de grande fréquence, précurseur biochimique des antigènes **A** et **B**.

La détermination des groupes sanguins est basée sur la présence ou l'absence des antigènes **A** et / ou **B** à la surface des hématies et la présence « régulière » d'agglutinines naturelles, anti-**A** et anti-**B** correspondant aux antigènes absents des hématies (19).

1.1.2. Phénotypes A1 / A2

Un niveau de complexités a été rapporté à propos du phénotype A, qui se subdivise en 2 sous groupe A1 et A2 et pour le AB en A1B et A2B. ces globules rouges porteurs de l'antigène A

sont agglutinés par le réactif anti A, contrairement à l'anti A1 qui agglutine seulement les hématies A1 et A1B. Les hématies des individus porteurs de l'antigène A environ 80% des sujets sont A1 et 20% sont A2. Les anticorps anti- A agglutinent la totalité de groupe A.

Les anticorps anti- A1 ne réagissent qu'avec 80% des sujets, déterminent les individus A1, les globules rouges qui ne sont pas agglutinés par cet anticorps sont dits de groupe A2.

La différence entre A1 et A2 est à la fois :

- D'ordre quantitatif : les globules rouges des individus A1 expriment environ 1 à 2 millions de copies d'antigènes A, par contre ceux du groupe A2 n'en portent que 500.000copies. Cette différence dans la répartition antigénique peut être mise en évidence d'un point de vue sérologique par l'utilisation de la lectine (anti-A1).
- D'ordre qualitatif : les glycosyltransférases A1 et A2 sont issus de deux allèles distincts différents dans leurs propriétés électrochimiques et par la nature de leurs substrats et donc l'enzyme A2 a la capacité de convertir la substance H de type 1 et 2 seulement, alors que l'enzyme A1, en plus des types 1 et 2 convertit la substance H de type 3 et 4.

Sur le plan phénotypique cette distinction aboutit essentiellement à six Phénotypes où il existe une relation inverse entre l'expression des antigènes A et B et le précurseur H. L'intensité des réactions observées avec l'anti H décroît dans l'ordre suivant : O>A2>B>A2B>A1>A1B (16).

Cette différence peut être mise en évidence d'un point de vue sérologique par l'utilisation de la lectine « anti-A1 » dolichos biflorus qui sont des protéines, extraites de plantes. Elles ont la propriété de reconnaître spécifiquement certains polysaccharides et de se lier à eux, comme si elles étaient des anticorps spécifiques. Elles peuvent être utilisées comme réactifs de laboratoire, si correctement diluées, elles sont capables d'agglutiner uniquement les hématies porteuses d'une grande quantité de N-acétyle-Galactosamine.

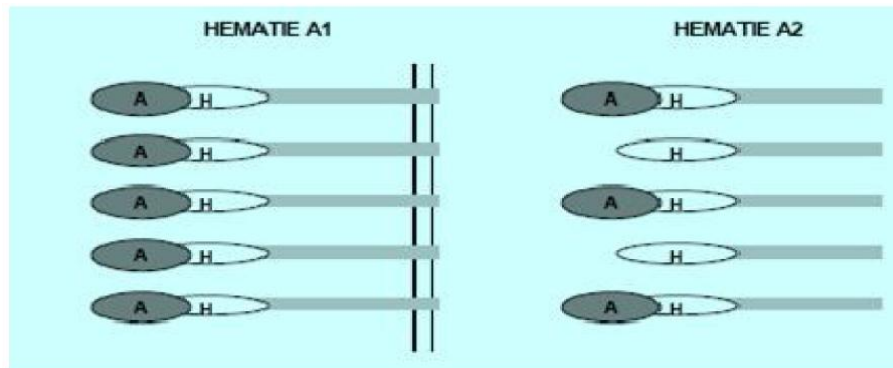


Figure 1 : La différence structurale entre les phénotypes : A1 et A2 (20).

1.1.3. Phénotypes A-faibles

Ce sont les phénotypes des individus dont les hématies ont une réactivité inférieure à celle des hématies A2 normales. Ces phénotypes A faibles sont dus à une baisse d'activité enzymatique de la glycosyltransférase, soit à une diminution de la production d'enzymes (21).

Les données sérologiques ont permis d'identifier différents variantes phénotypiques faibles de A. La classification sérologique de ces sous-groupes est basée sur les principes suivants :

- La réactivité des hématies avec les réactifs : Anti-A, -B, -A B, -H.
- La présence éventuelle d'une image de double Population.
- La présence éventuelle d'un anti-AI ou d'un Anti-A dans le sérum de l'individu;
- La sécrétion ou non, dans la salive, de substance A et/ou H par les sujets sécréteurs.

Leur intérêt en matière de transfusion est en général mineur. Actuellement on connaît six phénotypes A faibles qui sont : **A₃**, **A_{end}**, **A_x**, **A_y**, **A_{el}**, **A_{met}** et **A int**.

Le phénotype Aint (A intermédiaire) : possède certaines propriétés de A1 et de A2, la réactivité A est normale (comme GR A1) et la réactivité H est forte (comme GR A2), ce phénotype s'observe plus fréquemment dans la population noire.

Tous ces phénotypes présentent une expression normale ou renforcée de l'antigène H, à l'exception du phénotype Ay, qui est probablement le fait d'une mutation homozygote indépendante du locus ABO, tous sont le plus souvent liés à des formes alléliques de ce locus qui s'expriment en position *trans* d'allèles O ou B. En dehors du phénotype A₃, les hématies « A-faibles » ne sont pas agglutinées par de nombreux anti-A et/ou anti-AB et leur détection est le plus souvent le fait d'une discordance de groupage ABO (B ou O apparaissant sans anti-

A). Les différences entre le sous-groupe *AI* et les autres sous-groupes de *A* sont d'ordres quantitatif et qualitatif :

- *Aint* : *A* intermédiaire possède certaines propriétés de *AI* et *A 2*
- *A3, Ax, Aend* : agglutination détectable avec anti-*A*
- *Am, Ay, Ael* : pas d'agglutination détectable (19).

1.1.4. Phénotypes B-faibles

Ils sont moins fréquents (allèle *B* plus rare qu'allèle *A*) et leur classification sérologique est également délicate du fait de leur extrême hétérogénéité. En l'absence de consensus, une classification des groupes *B* faibles analogue à la classification des groupes *A*-faibles semble la plus pratique et la plus utilisée. Des équivalents des groupes *A3* = >*B3*, *Ax* = >*Bx*, *Am* = >*Bm* et *Ael* = >*Bel* ont été ainsi rapportés (22).

1.1.5. Autres phénotypes rares du système ABO (18; 23; 24; 25; 26)

☞ Phénotype Cis-AB

Tout se passe comme si les gènes *A* et *B* au lieu d'être en position « trans », c'est à dire situés chacun sur un des chromosomes d'une même paire étaient situés côte à côte sur un même chromosome donc en position « cis ».

Auparavant, on pensait que ce phénotype était le résultat d'un crossing-over intra génique entre les gènes *A* et *B* normaux, mais la biologie moléculaire a affirmé que ce phénotype était le produit d'une double mutation ponctuelle du locus *AB* conduisant à la synthèse d'une protéine capable de présenter à la fois une activité *A* et une activité *B*.

☞ Phénotype *B* acquis

Il s'observe chez des sujets de groupe *AI*, le plus souvent dans un contexte d'infection digestive associée à un cancer colique. Le germe responsable de l'infection produit une désacétylase qui transforme le sucre immunodominant de l'antigène *A*, la N-acétylgalactosamine, en galactosamine, très proche du galactose, sucre immunodominant de l'antigène *B*. Ce phénomène est transitoire et ne dure que le temps de la vie des hématies ayant subi l'action de cette enzyme bactérienne. Il était classiquement observé avec les réactifs anti-*B* polyclonaux et certains anti-*B* monoclonaux.

☞ **Phénotype *A acquis***

De nombreuses études ont démontré que les cellules de tissus qui expriment normalement les antigènes **ABH**, peuvent perdre partiellement cette expression quand un processus malin se développe (on parle de néoantigénécité). On observe fréquemment ce phénomène chez des patients atteints de pathologies malignes hématologiques et il affecte seulement une partie des érythrocytes (clone pathologique) donnant alors une image de double population.

☞ **Phénotypes déficitaires en antigène *H***

Le plus classique est représenté par le phénotype Bombay, qui est caractérisé par l'absence totale d'antigène **H**, et donc d'antigènes **A** et **B**, à la surface des hématies.

Décrit pour la première fois en 1951 chez un indien de Bombay, il est appelé receveur dangereux et appartient au sous groupe O.

Ce phénotype correspond à la présence de 2 gènes **h** inactifs, Il se définit par les caractères suivants :

- Absence d'Ag H érythrocytaire.
- Absence d'Ag A et B érythrocytaires
- Absence de la substance H dans la salive même chez les sujets sécréteurs.
- Présence dans le sérum d'anti A, anti B, et anti H.
- Les enzymes A et B peuvent être identifiés dans les GR et dans le sérum lorsque le sujet est génétiquement A ou B mais pas d'enzyme H, d'où l'appellation Oh, Oh A, Oh B.

Un autre phénotype peut posséder des traces d'antigène **H** et en fonction du génotype **ABO**, de petites quantités d'antigènes **A** et/ou **B** à la surface des hématies. Ce phénotype « **H-faible** », qui a été décrit dans les populations d'origine européenne est noté **Oh**, **Ah** ou **Bh**.

La différence entre un phénotype Bombay « indien » et un **Oh** « européen » repose sur le fait que la lectine Ulex europeus, après traitement de l'hématie par la papaïne, n'agglutine pas le premier mais agglutine le second.

D'autres phénotypes **H** déficitaires peuvent posséder des antigènes **A**, **B**, **H** dans les sécrétions et dans le plasma en raison de leur statut de « sécréteurs » (anciennement appelés para-Bombay). Ces substances **ABH** plasmatiques peuvent alors s'adsorber sur les hématies où des traces d'antigènes sont alors détectées. Sur le plan transfusionnel, les implications de ces phénotypes sont variables. Les sujets para- Bombay sécréteurs ayant dans leur sécrétion de la

substance **H**, ne « fabriquent » pas un anti-**H** puissant (anti-**HI**) tandis que les phénotypes **H** déficitaires « indiens » ou « européens » non sécréteurs comportent un puissant anti-**H**, très dangereux sur le plan transfusionnel et impliquant d'avoir recours à des unités de sang rare de même phénotype.

☞ **Phénotype Ohm**

Chez les sujets rares Ohm, les hématies ne portent aucun antigène du système ABO. Le sérum contient des anticorps A et anticorps B mais pas d'anticorps H (L'antigène H est sécrété dans la salive) (26) .w

1.2. Anticorps du système ABO

Les anticorps du système ABO sont de trois types : les hétéro-anticorps (anticorps naturels) ; les allo-anticorps (anticorps immuns) et l'auto anticorps.

1.2.1. Anticorps naturels

Lors de la transfusion de concentrés globulaires ; ces anticorps représentent le premier obstacle. Ils sont soit réguliers soit irréguliers (27).

☞ **Propriétés des anticorps naturels**

Les anticorps naturels présentent les caractéristiques suivantes :

- Essentiellement des IgM, mais aussi IgA et IgG,
- Issus d'une réponse primaire de l'organisme dirigée contre les Ag A et B présents dans l'environnement,
- Optimum thermique d'activité est à +4°C,
- Ils sont spontanément agglutinants en milieu salin [NaCl 0.9 %]
- Ils n'ont pas de pouvoir hémolysant in vitro,
- Thermolabiles (10min à 70°C),
- Neutralisés par les substances de groupe A et B,
- Ne traversent pas la barrière placentaire (27).

1.2.1.1. Anticorps naturels réguliers

Sont présents de manière constante dans le sérum des individus dont les hématies n'expriment pas l'antigène correspondant tel que l'anti A ; l'anti B ainsi que l'anti H chez les sujets Bombay.

Le nouveau né ne dispose pas de ces hétéro-anticorps à la naissance ; ils se développent à l'âge de 6 mois et ceci par immunisation contre les substances A et B de l'environnement (28).

1.2.1.2. Anticorps naturels irréguliers

Ces anticorps sont présents de façon non constante :

- L'anti A1 est présent chez 1-2% des sujets A2 et 22-26 % des sujets A2B ;
- L'anti H peut être présent chez les individus A1 et A1B (28).

Ces anticorps naturels irréguliers sont sans conséquences transfusionnelles (16).

1.2.2. Anticorps immuns

Sont des anticorps irréguliers anti érythrocytaires Anti A et/ou Anti B que certains sujets peuvent développer suite à divers stimuli supplémentaires de l'environnement, qui peuvent être dus à :

- Une allo immunisation : suite à l'exposition à des antigènes portés par les hématies lors de la grossesse ou lors des transfusions sanguines incompatibles,
- Une hétéro immunisation : vaccins, sérothérapie.

Ces anticorps immuns présentent beaucoup de caractères différentiels avec les anticorps naturels puisqu'ils sont fortement hémolysants d'où leur appellation hémolysines et sont capables de déclencher la cascade complète du complément (27).

☞ Propriétés des anticorps immuns

- Sont des anticorps essentiellement de nature IgG,
- Ne sont pas agglutinants en milieu salin,
- Leur activité est conservée à 37°C,
- Sont difficilement adsorbables par les Ag A et B solubles et peuvent donc entraîner des hémolyses chez les receveurs de sang,

- Thermolabiles,
- Ces anticorps immuns à la différence des anticorps naturels, sont capables de franchir la barrière placentaire et être impliqués dans des problèmes d'allo-immunisation fœto-maternelle (15).

1.2.3. Auto-anticorps anti A et anti B

Sont rarement observés dans le système ABO, ils sont de nature IgM (agglutinine froide) peuvent être transitoires ou au contraire permanents (cas des maladies auto-immunes). Ils sont mis en évidence par le test de Coombs direct ou par fixation - élution sur les globules rouges du sujet (27).

1.3. Etude génétique

Les différents gènes entrant dans la biosynthèse des antigènes ABH sont :

- **Le gène H ou FUT1 et le gène Sécréteur (Se) ou FUT2** : codent tous les deux pour une 2α -L fucosyltransférase. Ces deux gènes structuraux sont localisés sur le bras long du chromosome 19 (19q13.3). La protéine H comprend 365 acides aminés (15). Cette protéine est composée de 3 domaines : un domaine intra cytoplasmique NH₂ terminal de 8 acide aminés , un domaine transmembranaire de 15 acides aminés et un grand domaine extra cytoplasmique de 342 acides aminés ; le gène FUT1 s'étend sur moins de 9KB et possède 8 exons, le huitième exons étant la région codante (28). Plusieurs mutations inactivatrices ont été décrites, tel que le phénotype BOMBAY (H déficitaire) avec une mutation T725G (en leucine 242 arginine) (15).
- **Le gène ABO** : le locus de groupe sanguin ABO a été localisé en 1976 sur le chromosome 9 (9q34). En 1990 Yamamoto a cloné le gène ABO qui est constitué de sept exons et six introns .les exons 6 et 7 codent 91% des acides aminés du site catalytique de l'enzyme. Le gène ABO s'étend sur 20 KB et code pour une glycoprotéine transmembranaire de 354 acides aminés (29).

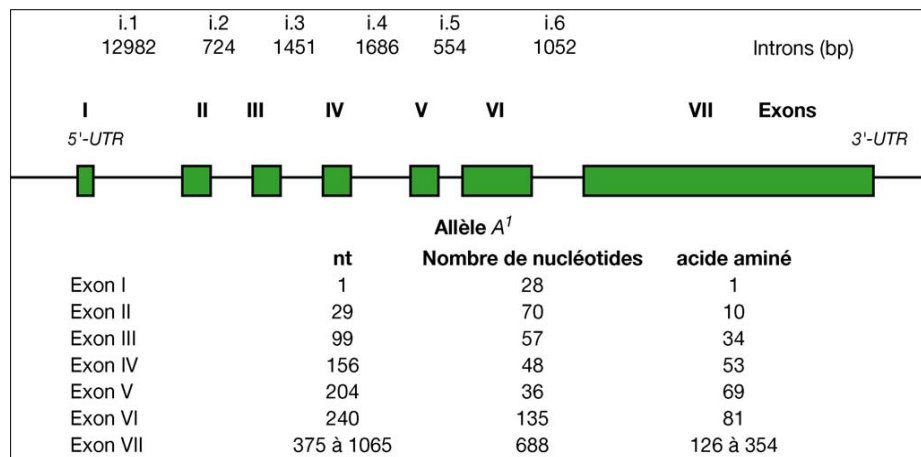


Figure 2 : Organisation du gène ABO (16).

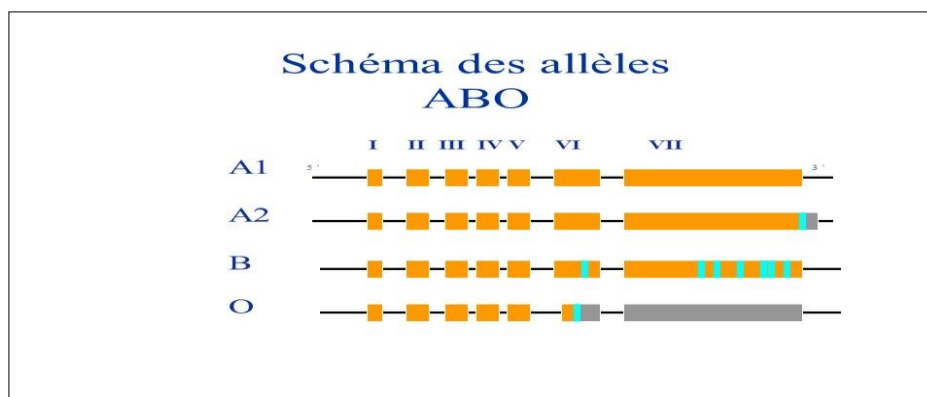


Figure 3 : Schéma des allèles ABO (30).

La différence entre les allèles de référence A1 et B et donc entre GTA et GTB, repose sur sept mutations nucléotidiques dont quatre entraînent une substitution d'acides aminés.

L'allèle A2 qui code pour l'enzyme A2 est particulier puisqu'il présente une délétion d'un nucléotide ce qui entraîne un décalage du cadre de lecture à l'extrémité 3' du gène avec une extension de 21 acides aminés supplémentaires, cette extension de la protéine est à l'origine des propriétés catalytiques différentes de l'enzyme A2.

L'allèle O1, non fonctionnel se caractérise par la délétion d'un nucléotide en position 261 par rapport à l'allèle de référence A1, entraînant un décalage de cadre de lecture et une séquence d'acide aminé tronquée. Il existe d'autres allèles O non fonctionnel et non délétionnels comme O1var et l'O2 qui résultent de quatre mutations faux-sens (29).

1.4. Etude biochimique

1.4.1. Biosynthèse des antigènes ABH

Les antigènes du groupe ABO sont ubiquitaires. Ils ne sont pas spécifiques aux globules rouges, car ils sont présents sur de nombreuses cellules de l'organisme comme les cellules épithéliales et endothéliales, les cellules rénales, les cellules épidermiques. Et ils sont retrouvés également sous forme soluble dans les sécrétions (31).

Les déterminants antigéniques A, B et H sont de nature glucidique, localisés sur la partie terminale des chaînes oligosaccharidiques, portés par des glycoprotéines membranaires, des glycosphingolipides membranaires ou solubles ou bien libres.

C'est la partie terminale des chaînes glucidiques qui est à l'origine de la spécificité antigénique :

- Pour la substance H : c'est le L-Fucose.
- Pour l'antigène A : c'est la N-acétylgalactosamine.
- Pour l'antigène B : c'est le α -D-galactose (19).

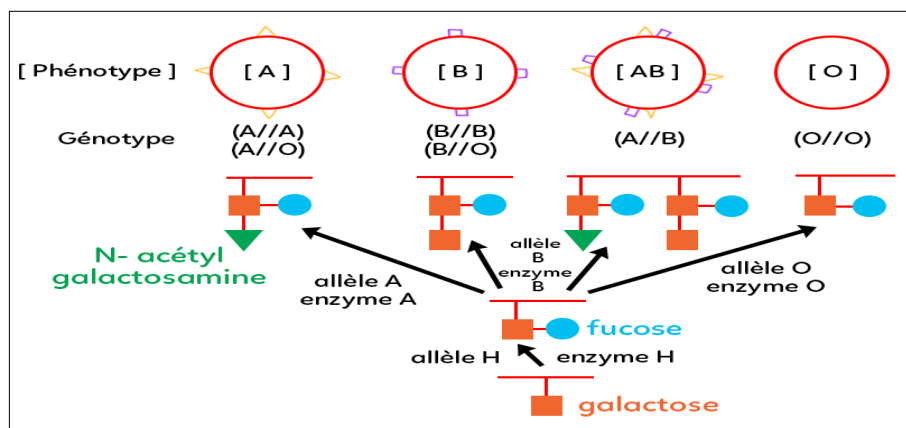


Figure4:Structure chimique des antigènes ABH (32).

1.4.2. Biosynthèse dans les globules rouges

La synthèse des Ag ABH se déroule dans le réticulum endoplasmique et dans l'appareil de Golgi, elle comporte trois étapes :

- L'étape d'initiation, est représentée par la fixation du premier motif mono saccharidique sur la molécule protéique ou lipidique.
- L'étape d'élongation est caractérisée par l'adjonction successive et répétée du motif : Gal β 1 \rightarrow 4 GlcNAc β 1 \rightarrow 3.
- L'étape de terminaison représente l'adjonction des sucres terminaux spécifiques des antigènes A, B et H sur la partie périphérique de ces chaînes qui est constituée de précurseurs di- saccharidiques.

Le précurseur di- saccharidique de type 2 est le substrat accepteur pour la formation de l'antigène exprimé dans la lignée érythrocytaire et a partir duquel dérive les antigènes A et B érythrocytaires (33).

Le transfert des motifs glucidiques terminaux sur les disaccharides précurseurs fait intervenir des produits des allèles H, A (A1, A2), B et O, qui sont des glycosyltransférases :

Le gène H : α 1-2 fucosyl transférase.

Le gène A : α 1-3 N acétylgalactosaminyl transférase.

Le gène B : α 1-3 D galactosyl transférase.

Ces dernières agissent de façon séquentielle pour catalyser la synthèse des déterminants antigéniques (34).

- L'allèle H code pour une α (1,2) fucosyl transférase (FUT1) qui fixe un résidu Fucose sur le D-GAL transformant ainsi le polysaccharide en une substance H, qui est indispensable pour l'expression des antigènes A et B.
- Les allèles A1 et A2 codent pour une α (1,3)N-acétylgalactosaminyl transférase qui fixe un résidu N-acétyl galactosamine sur la substance H aboutissant à la synthèse de l'antigène A. Le phénotype A1 a une enzyme très active où la substance H est totalement masquée contrairement au phénotype A2, où l'enzyme est peu active et la substance H persiste à la surface de la cellule.
- L'allèle B code pour une α (1,3) galactosyltransférase qui fixe un résidu galactose sur la substance H aboutissant à la synthèse de l'antigène B.
- L'allèle O est non fonctionnel (silencieux) qui ne code pour aucune enzyme. L'hématie n'exprime que l'antigène H à sa surface correspondant à l'antigène O (33).

Ces glycosylations peuvent s'arrêter dans deux situations :

- Par manque de l'enzyme appropriée, comme c'est le cas dans les phénotypes **H** déficitaires (Bombay). Ainsi le sang du type Bombay peut passer pour du sang O.
- Par présence d'une enzyme pathologique déficitaire comme dans certaines hémopathies malignes (16).

1.4.3. Biosynthèse dans les sécrétions

Les antigènes ABH peuvent être trouvés sous forme solubles dans les glandes muqueuses du tube digestif, du tractus génito-urinaire, du tractus respiratoire, dans les larmes ainsi que dans le lait maternel.

Leur synthèse est réalisée à partir de précurseurs de type 1, 2 et 3 et ceux-ci sous le contrôle du gène sécréteur (**Se**) qui code pour l'enzyme Fucosyltransférase 2 (**FUT 2**) assurant la synthèse des substrats **H** de type 1, 2 ou 3, puis les enzymes A et B interviennent.

La capacité de sécrétion des antigènes A, B et H est un caractère génétiquement transmis et indépendant du locus ABH.

L'allèle **Se** est présent chez 80% des individus qui sont dits « sécréteurs ».

Les individus « non sécréteurs » représentent 20% possèdent un allèle inactif (**se**) (34).

1.4.4. Biosynthèse dans le plasma

Les antigènes ABH portés par les glycoprotéines et les glycosphingolipides sont présents dans le plasma quelque soit le statut de sécrétion de l'individu. Chez les individus sécréteurs, ces antigènes sont synthétisés à partir de précurseurs de type 1 et 2 sous contrôle de l'allèle **Se**, alors que chez les non sécréteurs seule le type 2 est utilisé (34).

1.4.5. Biosynthèse dans les autres cellules du tissu hématopoïétique et non hématopoïétique (33)

Les molécules **ABH** sont des antigènes tissulaires. Les lymphocytes et les plaquettes expriment des antigènes **ABH** qui ont été acquis, par adsorption, à partir du plasma puisque aussi bien le gène **FUT1** que **FUT2** sont inactifs dans ces cellules. Les granulocytes et les monocytes n'expriment pas d'antigènes **ABH**.

L'expression de ces antigènes **A** et/ou **B** à la surface plaquettaire explique la possibilité de diminution du rendement transfusionnel plaquettaire en situation **ABO** incompatible. Dans les tissus dérivés du mésoderme et de l'ectoderme, les antigènes **ABH** sont contrôlés par les gènes **FUT1 (H)** et **ABO**. Dans les tissus dérivés de l'endoderme, les antigènes **ABH** sont de type 1 et 2 et contrôlés par le locus **FUT2 (Se)**.

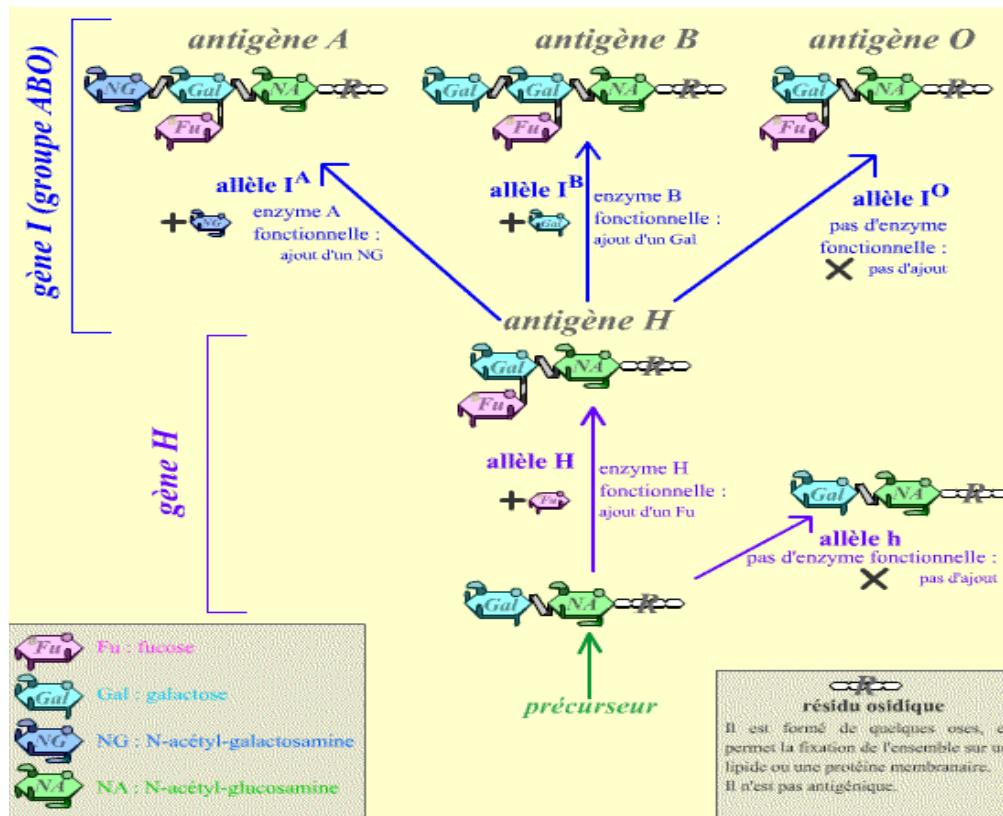


Figure 5: Schéma de biosynthèse érythrocytaire des antigènes ABH (35).

1.5. Méthodes d'études des groupes sanguins ABO

Différentes méthodes sont utilisées pour l'étude du système ABO, les méthodes sérologiques pour déterminer les phénotypes érythrocytaires ABO et les méthodes de biologie moléculaire qui permettent la détection des polymorphismes ABO.

1.5.1. Méthodes sérologiques

1.5.1.1. Méthode d'agglutination

La réalisation de groupage sanguin ABO comporte obligatoirement deux épreuves qui doivent être cohérentes entre elles :

- ☞ **Epreuve globulaire :** dite épreuve de « Beth-Vincent » qui permet la mise en évidence des antigènes A et/ou B à la surface des hématies ; en utilisant des sérums-tests : anti-A, anti-B et anti-AB.

☞ **Epreuve plasmatique** : dite de « Simmonin », qui permet la mise en évidence des anticorps naturels du système ABO dirigés contre les antigènes absents des érythrocytes, grâce à l'utilisation d'hématies-tests A1, A2, B, O.

Les deux épreuves (épreuve globulaire et épreuve sérique) doivent être réalisées par deux techniciens différents, sur deux prélèvements différents à l'aide de deux séries de réactifs différentes (36).

1.5.1.2. Recherche des hémolysines anti-A et anti-B immuns

Repose sur la réaction d'hémolyse en solution saline à 0,9% en présence du complément, après une incubation de 30min (37).

1.5.1.3. Fixation-élution

Elle permet de déterminer les variantes antigéniques faibles du système ABO.

Le principe de cette technique repose sur la dissociation de l'anticorps fixé in vitro en modifiant les conditions physico-chimiques de la réaction antigène-anticorps, afin d'étudier sa spécificité (38).

1.5.1.4. Méthode immuno-enzymatique sur support solide ELISA

La méthode ELISA type indirecte a été développée pour la détection des antigènes ABO dans le sang, la salive et à partir des taches de sang.

Le principe de cette technique repose sur la formation d'un complexe Ag-Ac qui sera visualisé par une réaction colorée produite suite à l'action d'un substrat d'une enzyme fixée à l'anticorps au préalable (39).

1.5.1.5. Cytométrie en flux

Le principe d'utilisation de la cytométrie en flux est basé sur la réaction antigènes anticorps.

Elle permet :

- La quantification des antigènes érythrocytaires,
- La détection des groupes faibles,

- La quantification des GB résiduels après filtration des PSL.

L'inconvénient de la CMF en immunohématologie est la formation d'agglutinats qui peuvent obstruer le circuit d'un cytomètre (40).

1.5.2. Méthodes de biologies moléculaires :

Depuis le séquençage du gène ABO, différentes méthodes de typage moléculaire en utilisant des échantillons d'ADN ont été développées en complément de la sérologie des groupes sanguins ABO. Pas moins de 30 façons différentes de réaliser un groupage sanguin ABO génétiques ont été suggérées dans les publications depuis 1990 (41). Cela a permis d'étudier le polymorphisme ABO et la détection des groupes faibles et rares.

- PCR- RFLP (Polymérase Chain Réaction à fragments de restriction polymorphes) : premier test de génotypage décrit pour les groupes sanguins, permet d'identifier le polymorphisme au niveau des sites de restriction des endonucléases au niveau des allèles. Une méthode largement utilisée pour l'étude des 5 allèles communs (A1, A2, B, O1 et O2) au niveau du locus ABO (42) (43). Elle permet la détection des homozygotes et des hétérozygotes.
- PCR- SSP (polymorphisme de restriction à séquence simple) : permet d'obtenir un produit d'amplification si et seulement si le polymorphisme d'intérêt est présent (44). Elle permet de distinguer les variations des allèles A1, A2, B, O1 et O2.
- PCR-SSCP : pratique et sensible, permet la détermination des allèles ABO communs et les nouvelles variantes génétiques. Suivie d'une électrophorèse sur gel de polyacrylamide ; est la détection facile des polymorphismes et des mutations d'ADN (45; 46; 47).
- PCR multiplex spécifique : une méthode de génotypage ABO, rapide (70min) et directe sans extraction d'ADN à partir du sang frais. Permet la détection simultanée de trois SNP (Single nucléotide polymorphisme) qui veut dire polymorphisme portant sur un seul nucléotide (SNP) qui sont des mutations ponctuelles (261,526 et 803) pour l'identification des allèles A, B, O1, O2, O3 et cis-AB. Elle est très utile dans les applications médico-légales (48).

1.6. Implications des groupes sanguins ABO/H en clinique (17; 49; 50; 51)

Les groupes sanguins *ABO* sont essentiellement impliqués en clinique transfusionnelle, où le respect de leur compatibilité est obligatoire.

1.6.1. Clinique transfusionnelle

Il existe un risque de survenue d'un choc hémolytique avec coagulation intra vasculaire disséminée en cas de fixation des anticorps du receveur sur des hématies incompatibles transfusées.

Groupe sanguin	Peut donner à	Peut recevoir de
O+	A+ O+ B+ AB+	O- O+
A+	A+ AB+	A+ A- O+ O-
B+	B+ AB+	B+ B- O+ O-
AB+	AB+	TOUS
O-	TOUS	O-
A-	A+ A- AB+ AB-	A- O-
B-	B+ B- AB+ AB-	B- O-
AB-	AB+ AB-	A- O- B- AB-

Ca peut sauver la vie ...

Figure 6 : Règles de compatibilité ABO en cas de transfusion des globules rouges (52).

1.6.2. Maladie hémolytique du nouveau né (MHNN)

Les anti-*A* et anti-*B* peuvent être à l'origine de maladies hémolytiques néonatales. Cette pathologie se voit surtout chez les nouveau-nés de mères *O* car les sujets de ce groupe présentent une proportion importante d'anticorps de type IgG.

1.6.3. Transplantation d'organes

Dans les greffes de rein, de foie ou de cœur les anticorps anti-*A* et/ou anti-*B* du receveur peuvent se fixer sur les antigènes homologues présents sur les tissus transplantés et être à l'origine de rejets. Cependant, la compatibilité n'est pas obligatoire pour les greffes de cornée, de peau, d'os et pour la greffe de cellules souches hématopoïétiques.

1.6.4. Médecine légale

- Recherche de paternité : basée sur l'étude des groupes sanguins des globules rouges ainsi que l'analyse du polymorphisme de leurs enzymes.
Cette méthode est de moins en moins utilisée au profit des recherches génotypiques de l'ADN, car elle n'est pas aussi fiable que la recherche génétique.
- Identification des corps et résoudre des scènes de crimes et de viols.

1.6.5. Autres implications

- De rares cas d'anémies hémolytiques auto-immunes, à auto-anti-**A** ou auto-anti-**B** ont été décrits.
- Les anti-**H** des sujets de phénotype Bombay (**H**-déficitaires et non sécréteurs) sont impliqués dans des réactions transfusionnelles sévères, d'où la sélection obligatoire d'hématies de même phénotype en cas de transfusion. Ces anti-**H** ont aussi engendrés des cas de MHNN.

Tableau I:Fréquence des différents phénotypes ABO (53; 54; 55)

Phénotype	Génotype	Antigène	Anticorps	Fréquence en Algérie	Fréquence en France	Fréquence au Burkinafaso
A	A/A ou A/O	A	Anti B	33 %	45 %	22%
B	B/B ou B/O	B	Anti A	9%	9 %	29%
AB	A/B	A et B	Absence d'anticorps	5 %	3 %	6%
O	O/O	Absence d'antigène	Anti A et Anti B	44%	43%	43%

2. Système Rhésus (RH) (ISBT004)

Le système Rhésus a été découvert en 1940 par Karl Landsteiner et Alexander Wiener (1) en immunisant des lapins avec des globules rouges d'un singe *Macacus Rhésus* et en identifiant dans leur sérum un anticorps actif sur les globules rouges de ces singes mais aussi sur les hématies de 85% des sujets humains testés.

On distingue les sujets Rhésus D positif qui portent l'antigène D à la surface de leurs hématies et les sujets Rhésus D négatifs qui ne présentent pas l'antigène D. Les sujets Rhésus D négatifs, ne développant pas l'antigène D, représentent environ 15% de la population caucasienne (56).

Les antigènes de ce système ne sont présents que sur les globules rouges.

2.1. Antigènes du système Rhésus

Les antigènes du système **Rh** sont localisés sur deux protéines codées par deux gènes homologues localisés sur le chromosome 1. La protéine **RhD** porte l'antigène **D** (**RHI**) et la protéine **RhCE** d'antigènes **C**, **c**, **E** et **e** (**RH2**, **RH4**, **RH5**) (57).

Bien qu'il existe environ 56 antigènes dans le système Rhésus, les 5 précédemment cités sont les antigènes primordiaux, à connaître dans la pratique quotidienne.

Les antigènes du système Rhésus sont complètement développés à la naissance et surtout dès la 6ème semaine de vie (15).

2.1.1. Etude génétique et moléculaire (58; 59)

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

En fait les données de la biologie moléculaire ont démontré que Le locus rhésus est localisé sur le bras court du chromosome 1 en position (1 p34-q 31) et sa structure n'est pas identique chez les sujets rhésus positif et négatif. En effet, chez les sujets rhésus positif, il existe deux gènes (deux structures de gènes RH D et RHCE) homologues en tandem (D et C c E e) sur le chromosome 1, alors qu'il n'en existe qu'un seul (C c E e) chez les sujets rhésus négatif, donc l'expression des antigènes du système rhésus est contrôlée par les deux gènes ; le gène D et le gène CE.

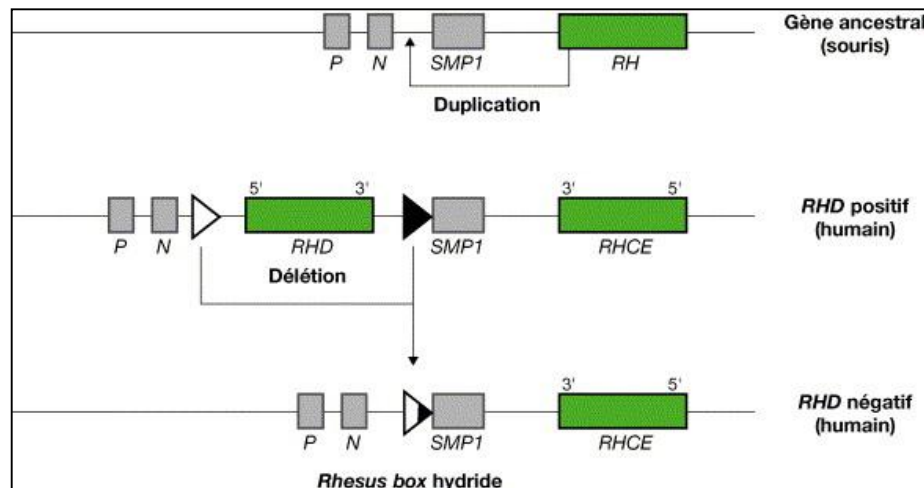


Figure 7 : Mécanisme de duplication et de délétion du gène RH (60).

La nomenclature des antigènes du système Rhésus est variée. Ils sont classés en :

D, C, E, c, e selon la nomenclature de Fischer et Race ;

Rho, rh', rh'', hr', hr'' selon la nomenclature de Wiener ;

Rh1, Rh2, Rh3, Rh4, Rh5 selon la nomenclature de Rosenfield (61).

2.1.2. Etude biochimique et Biosynthèse des antigènes du système Rhésus

Le gène *RHD* et le gène *RHCE* sont localisés sur le chromosome 1. Ils codent respectivement pour la protéine RhD et la protéine RhCE qui traversent la membrane du globule rouge. Ces deux protéines sont fixées sur la protéine RhAG codée par le chromosome 6. Cette protéine RhAG stabilise les protéines RH, mais également LW et le système MNS situé sur la GPB (antigène S, s, U). La protéine RhD porte l'antigène D alors que la protéine RhCE porte les antigènes C ou c et E ou e.

Les antigènes du système **RH** sont localisés sur deux protéines de 30 kDa. Ces deux protéines, hautement hydrophobes et non glycosylées, comportent 417 aa et présentent une structure basée sur six boucles EC, 12 segments transmembranaires, et cinq boucles IC. Les extrémités N- et Cterminales apparaissent en position IC. En fonction des allèles **RHCE** considérés, les protéines **RhD** et **RhCE** diffèrent de 34 à 38 aa (57).

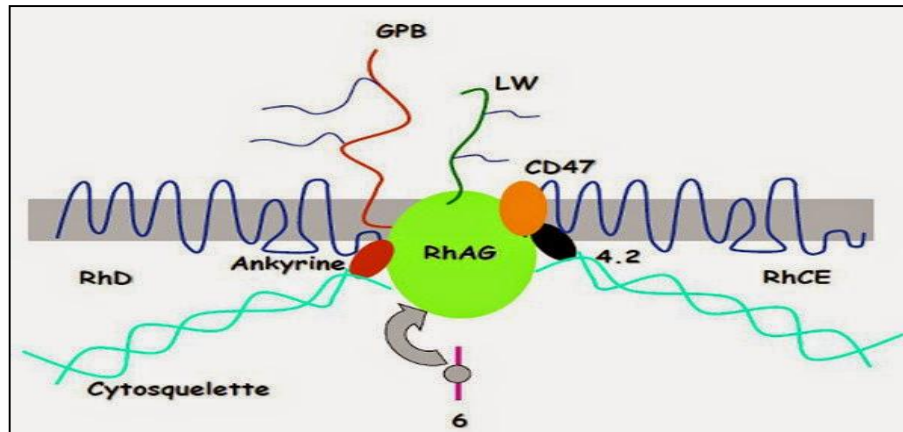


Figure 8 : Modèle de la protéine *Rh* dans la membrane du globule rouge (62).

2.2. Phénotypes antigéniques du système Rhésus

Il y a cinq antigènes qui ont essentiellement un intérêt en médecine transfusionnelles: *D*, *C*, *E*, *c*, *e* (17).

2.2.1. Antigènes : *D* (RH1), *C*(RH2), *E*(RH3), *c*(RH4), *e*(RH5)

☞ Antigène *D* (RH1)

Le premier antigène découvert fut l'antigène *D* en 1939 par Levine et Stetson. Cet antigène a été découvert à la suite de l'immunisation d'une mère avec les globules rouges de son enfant. C'est en 1940 que Landsteiner et Wiener découvrent que le *Maccacus Rhésus* peut s'immuniser contre l'antigène *D*. Ils vont donc appeler cet antigène Rhésus par rapport aux singes. Par la suite, il fut démontré que l'antigène découvert n'était pas le même que celui de la mère. Mais qu'en fait, ils avaient découvert un autre système qui a été nommé *LW* en l'honneur de Landsteiner et Wiener (62).

L'antigène *D* est le plus immunogène, il est responsable de la majorité des accidents d'allo-immunisations transfusionnelles ou fœto-maternelles, bien développé à la naissance (dès la 8ème semaine de gestation) et strictement limité aux érythrocytes.

Définit le groupe ***RH*** standard ou ***Rh*** positif, et son absence : ***RH -1***, le ***RH***-négatif.

On appelle par convention *Rh* positif, les sujets dont les hématies sont agglutinés et qui possèdent l'Ag *D* et *Rh* négatif, les individus dépourvus de cet Ag.

Étant le plus immunogène des antigènes de groupes sanguins érythrocytaires, sa détermination le rend indissociable du groupage sanguin ABO (63; 64).

Les structures porteuses de l'activité antigénique rhésus sont des polypeptides. L'antigène D ou facteur rhésus standard fut découvert le premier ; 85 % des caucasiens possèdent l'antigène D et sont dits rhésus positifs (Rh +), 15 % ne le possèdent sont dits rhésus négatifs (Rh-). Cet antigène D a un fort pouvoir immunisant lorsqu'il est introduit dans un organisme qui ne le possède pas, l'allo-immunisation qui en résulte peut avoir des conséquences transfusionnelles mais également obstétricales.

La fréquence du rhésus négatif varie beaucoup entre les populations humaines ; 15 % chez les caucasiens, 7-8 % chez les noirs Américains, 1 % chez les indiens d'Amérique du nord et extrêmement faible chez les Asiatiques (65).

☞ **Antigènes *C(RH2)*, *E(RH3)*, *c(RH4)*, *e(RH5)***

Les antigènes C, c, E, et e forment des couples antithétiques (Quand l'un est absent, l'autre est systématiquement présent.); C et c d'une part, E et e d'autre part. Ainsi, on trouve des individus C+ c - ; C - c + et C + c + mais (quasiment) jamais des individus C - c - de même avec le couple (E, e) tout individu E - est nécessairement e +.

L'antigène C est présent chez 68 % de la population Algérienne, E chez 18 %, c chez 81 %, et e chez 99 %.

L'allo-immunisation résultant des anticorps du système Rhésus se produit avec une fréquence décroissante selon leur immunogénicité $D > E > c > e > C$ (65; 66; 67).

Tableau II: Les fréquences antigéniques dans le système RH (66).

Nomenclature de Fischer	Nomenclature Internationale	Fréquence chez les Algériens	Fréquence chez les Asiatiques	Fréquence chez les Noirs	Fréquence chez les Caucasiens
D	RH1	93%	99%	92%	85 %
C	RH2	68%	93%	27%	68 %
E	RH3	18%	39%	22%	29 %
C	RH4	81%	47%	96%	30 %
E	RH5	99%	96%	98%	98 %

2.2.2. Phénotype D-négatif (22; 68; 69)

Le phénotype D négatif est caractérisé par l'absence totale de l'antigène D. Cette absence d'antigène est liée à l'absence de la protéine RhD. L'absence de protéine est soit due à une délétion de la totalité du gène RHD soit à un crossing over ; soit à la présence d'un gène Rh D non fonctionnel lié à des mutations (observé en Afrique).

La délétion de la totalité du gène **RHD**, est liée à un crossing over survenu entre les deux « Rhésus box » aboutissant à une séquence « Rhésus box » hybride. Ce mécanisme est surtout fréquent dans la population européenne et chinoise, mais rare chez la population africaine (18%).

85 % des Suisses ont l'antigène RHD et sont donc rhésus positif (70). Les chiffres sont similaires dans la population française, 85 % des personnes sont rhésus positif contre 15 % rhésus négatif (71). En Algérie 93 % de la population est RHD+ contre 07 % qui sont Rh D négatif (66).

2.2.3. Phénotypes D faibles (RH1 faible) et ses variants

L'Ag (D) faible (anciennement appelé Du) est un antigène normal mais en quantité moindre (un déficit quantitatif en sites antigénique RH1) donc à considérer comme positif .Ce déficit aboutit, en fonction du seuil de sensibilité de la technique utilisée, à un affaiblissement de la réactivité voire une absence de détection de cet Ag.

Compte tenu de l'amélioration des réactifs (anticorps monoclonaux, réactifs qui ont l'avantage d'être très puissants, et des techniques de filtration sur gel, le nombre de D^u dépistés est

maintenant très faible.

Les explorations par biologie moléculaire permettent de distinguer une vingtaine de *D* faibles en fonction des substitutions nucléotidiques considérées.

Cependant, chez le donneur de sang, il est absolument impératif de considérer le *D* faible comme positif, car l'antigène *D*^u est immunogène. Ceci explique le fait que certaines personnes peuvent être déterminées comme RH1 Positif (*D*) en tant que donneur de sang et RH1 Négatif (*dd*) en tant que malade susceptible d'être transfusé (15; 58; 72).

2.2.4. Phénotypes *D* partiel

Chez un sujet *D* partiel la protéine est qualitativement anormale dû au manque d'épitopes mais son expression quantitative reste normale. Par la suite, on s'est aperçu que certains sujets Rh positif, ou *D*^u, pouvaient faire un anticorps anti-*D*. On les considère alors comme des *D* partiels, que l'on doit transfuser en Rh négatif.

2.2.5. Antigènes(RH8), C_x (RH9)

Les antigènes C^w et C^x sont considérés comme des antigènes de basse fréquence, 2,6 % en Europe et 9 % au Japon. Leur présence aboutit à un changement conformationnel qui est responsable d'une diminution de l'antigénicité C.

L'antigène C^x est produit suite à une modification d'un acide aminé : **Ala36Thr**, situé au niveau de la boucle extracellulaire de la première boucle de la protéine *RHCE*. (19; 49).

2.2.6. Antigènes composés

Certains antigènes, dits composés, sont le résultat de l'association de deux antigènes. C'est le cas des antigènes **c** et **e**(RH6), **C** et **e** (RH7), **C** et **E** (RH22) ou **c** et **E** (RH27) qui sont codés par le même gène **RHCE**. Les anticorps spécifiques de ces antigènes reconnaissent des épitopes conformationnels nés de l'association des deux antigènes (ex : anti-ce) considérés sur la même molécule **RhCE**. Cet anticorps réagit avec les hématies comportant l'antigène **c** et l'antigène **E** (16).

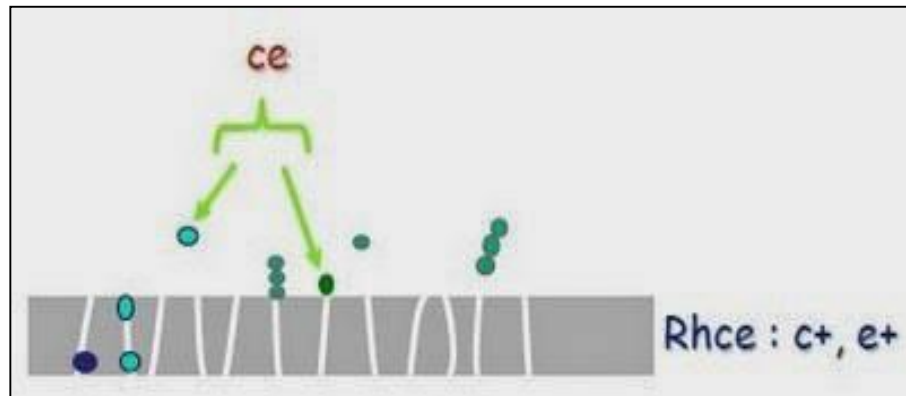


Figure 09 : Antigènes composés du système Rhésus (62).

2.3. Anticorps du système Rhésus

Les antigènes du système RH sont fortement immunogènes. La transfusion d'un sujet D- avec des hématies D+ aboutit à la synthèse d'un anti-D dans 80 % des cas. Les anticorps sont essentiellement nés de l'allo-immunisation et appartiennent aux sous-classes IgG1 et IgG3. Classiquement, ils n'activent pas le complément en raison d'un éloignement des molécules sur la membrane érythrocytaire lors d'une sensibilisation (73).

☞ Allo Anticorps

Ces anticorps peuvent être naturels, c'est le cas le plus fréquent pour les anti-E et anti-C^w. Les autres anticorps de système RH sont le plus souvent immuns, c'est-à-dire qu'ils résultent de transfusions ou de grossesses. Il s'agit essentiellement des anti-D, anti-c, les plus fréquents et entraînant les conséquences les plus graves. Mais tous les autres anticorps, moins fréquents, peuvent se voir. Très souvent, associé à l'anti-D, nous trouvons un anticorps que nous identifions comme un anti-C. En fait, l'anti-C pur est très rare, et il s'agit souvent non pas d'un anti-C, mais d'un anti-G (anti-RH12) qui est une spécificité commune à la molécule D et à la molécule RHCE C+.

☞ Auto Anticorps

À côté des alloanticorps, les antigènes RH apparaissent comme la cible d'autoanticorps chaud de classe IgG, pouvant reconnaître une spécificité courante (anti-e, anti-ce, anti-D ...) ou un antigène de grande fréquence comme des anti-RH17 ou anti-RH18. Enfin, des alloanticorps provenant des lymphocytes de donneurs immunisés ont été décrits après greffe de cellules souches hématopoïétiques. Ces anticorps ont été impliqués dans

des réactions hémolytiques immédiates et ont persisté parfois près de 2 ans après la greffe (74).

2.4. Méthodes d'études du système Rhésus

☞ **La recherche de l'Ag D (RH1)** se fait par technique d'agglutination directe entre l'antigène D porté sur les hématies à tester et le sérum test anti-D. Cette recherche s'effectue en association avec la recherche des Ag A et B lors du groupage ABO-RH1 (sur plaque d'opaline et micro plaque) selon les mêmes techniques.

Les Résultats des deux techniques doivent être concordants, la présence d'agglutinat indiquant une réaction positive. En revanche si réaction négative, il faut compléter obligatoirement par :

☞ **La recherche de l'antigène D faible** chez les donneurs de sang, les femmes enceintes et les nouveau-nés de mère RH1 négatif. Seule l'absence du D faible, permet d'étiqueter ces catégories de RH1 négatif. Cette recherche se fait par le test du Coombs indirect ou test indirect à l'anti-globuline(TIA).

☞ **Recherche des autres antigènes du système rhésus**

Repose sur le même principe décrit précédemment (recherche par deux personnes différentes, les Ag C, c, E, e, par technique d'agglutination directe).

☞ **Recherche des anticorps Rhésus**

Par la technique de RAI (Recherche d'agglutinines irrégulière) : consiste à rechercher les anticorps dirigés contre les antigènes érythrocytaires, hors système ABO. Cette recherche comporte deux étapes : le dépistage (qui consiste à rechercher la présence d'un éventuel anticorps dans le sérum ou le plasma d'un individu) et l'identification en cas de dépistage positif. Pour réaliser ces étapes, on utilise un panel d'hématies de groupe O. Cette analyse permet d'assurer la sécurité transfusionnelle ou le suivi immuno-hématologique des femmes enceintes (75).

2.5. Implications cliniques du système Rhésus

Contrairement, aux allo-anticorps du système ABO, les allo-anticorps dirigés contre les

antigènes du système rhésus sont toujours acquis soit lors des transfusions, soit lors de grossesses (le fœtus portant des antigènes d'origine paternelle et immunisant sa mère). Ces allo-anticorps acquis sont dits immuns n'apparaissant qu'après stimulations antigéniques, ils sont de nature Ig G. Les risques d'apparition des allo-immunisations imposent la compatibilité transfusionnelle chez les malades à risque (polytransfusés chroniques, enfant de sexe féminin, jeune femme). La détermination du rhésus standard est donc nécessaire avant toute transfusion et chez les deux conjoints en examen prénuptial.

Les allo-anticorps immuns du système rhésus sont impliqués également dans les réactions hémolytiques post-transfusionnelles et les maladies hémolytiques du nouveau-né (+++).

L'antigène D le plus immunogène est responsable de la majorité des maladies hémolytiques néonatales (incompatibilité fœto-maternelle) et de certains accidents transfusionnels (cas où l'antigénocompatibilité D n'a pas été observée). Les autres antigènes E, c plus rarement C et e peuvent également provoquer l'apparition d'anticorps immuns responsables d'hémolyses post-transfusionnelles et de maladies hémolytiques du nouveau-né. L'allo-immunisation résultant des anticorps du système rhésus se produit avec une fréquence décroissante selon leur immunogénicité $D > E > c > e > C$ (76).

Chapitre II

***Rappels sur la transfusion sanguine,
et le risque immunologique lié aux
hémolysines***

1. Définition

La transfusion sanguine est une thérapeutique essentiellement substitutive, dont bénéficient plusieurs centaines de milliers de malades chaque année. Fondée sur l'injection d'un produit biologique périssable obtenu à partir de dons bénévoles, elle nécessite une organisation rigoureuse, selon des règles de prélèvement, de préparation et de qualification répondant à des critères de bonnes pratiques de qualité et garantissant la sécurité des receveurs et des donneur. (77).

2. Don de sang

Le don du sang repose sur des règles éthiques, médicales, réglementaires et techniques.

2.1. Règles éthiques

Les règles éthiques appliquées au don de sang relèvent de quatre principes :

- Le bénévolat : le donneur ne perçoit ni rétribution ni gratification du fait de son don du sang
- L'anonymat : le donneur et le receveur doivent rester inconnus l'un de l'autre ;
- L'absence de profit : les établissements de transfusion sanguine n'ont pas de finalité commerciale ou lucrative ;
- Le consentement : le donneur effectue librement son don, après avoir été informé des enjeux de sécurité pour lui-même et pour les receveurs de son sang, et ne doit subir aucune contrainte entravant cette liberté (78; 79).

2.2. Règles médicales et réglementaires (80; 81)

Le prélèvement d'une unité de « sang total » correspond à la soustraction d'un volume de globules rouges inférieur à 13% de la masse globulaire et ne comporte de ce fait aucun risque pour un sujet en bonne santé (82).

Les critères de sélection des donneurs de sang sont régis par des textes réglementaires. En France, l'arrêté du 12 janvier 2009 fixe les critères de sélection des donneurs de sang et détermine les volumes des prélèvements, leur fréquence, l'intervalle entre deux dons ainsi que certaines normes cliniques et biologiques à contrôler et à respecter chez les donneurs.

Les données principales stipulent que toute personne en bonne santé, âgée de 18 à 65 ans, peut donner son sang. Le donneur doit peser au moins 50 kg, sauf cas particulier lié à un

phénotype sanguin rare ; la pression artérielle systolique doit être inférieure à 180mmHg et la diastolique à 100mmHg. Le volume maximal prélevé lors du don est de 8ml/kg.

Cependant, quelque soit le poids de la personne, un volume total de 500 ml de la poche de sang ne doit pas être dépassé.

Le nombre total de don par année ne doit pas excéder 5 pour les hommes et 3 pour les femmes, et l'intervalle doit être au moins égal à 8 semaines.

Toutefois, entre 60 et 65 ans, le nombre total par année chez les hommes et les femmes ne peut être supérieur à 3 dons (77).

2.3. Techniques de prélèvements

Le don de sang total est un prélèvement de sang veineux qui permet la préparation d'un Concentré de Globules Rouges (CGR) , d'une unité de plasma de l'ordre de 280 ml, et d'un concentré standard de plaquettes contenant environ $0,8 \times 10^{11}$ plaquettes. La technique d'aphérèse permet le prélèvement d'un composant sanguin (aphérèse « simple ») ou de plusieurs composants sanguins (aphérèse « combinée ») : globules rouges, plaquettes, plasma, granulocytes. Cette technique utilise un automate de prélèvement permettant la séparation des composants sanguins dès le prélèvement et le recueil d'un volume souvent plus élevé qu'à partir d'un simple don de sang total (77).

3. Préparation des produits sanguins labiles à partir du sang total

La préparation des PSL se fait dans un circuit clos et stérile, prévenant la contamination bactérienne. Selon le dispositif utilisé, on peut ainsi obtenir :

- Soit un CGR standard ou déleucocyté et une unité de plasma standard ou déleucocyté, après filtration du sang total, centrifugation et séparation. La Leucodéplétion des produits cellulaires est obligatoire depuis 1998.
- Soit un CGR et une unité de plasma non déleucocyté, ainsi qu'une couche leucoplaquettaire, après centrifugation et séparation (l'étape de filtration étant réalisée ultérieurement pour chacun des produits). À partir de la couche leuco plaquettaire, on peut obtenir :

- Soit directement, par une seconde centrifugation plus douce, un concentré de plaquettes standard (CPS), destiné à un mélange de concentrés de plaquettes (MCP) ;
- Soit, par association de plusieurs couches leuco plaquettaires, un MCP éventuellement resuspendu dans une solution de conservation, qui sera ensuite centrifugé, puis filtré.

Le plasma issu de sang total est destiné à la congélation c'est le plasma frais congelé (PFC) ou bien au fractionnement.

Exceptionnellement, un plasma peut être « solidarisé » avec le CGR issu du même don, c'est-à-dire transfusé avec lui : cette indication est limitée à l'exsanguino-transfusion du nourrisson. Depuis peu, des procédés d'inactivation des pathogènes sont disponibles pour certains PSL, et certains ETS (Etablissement de Transfusion Sanguine) les appliquent déjà pour ces PSL (77).

Enfin, trois principaux types de produits sanguins labiles (PSL) (Tableau III) sont régulièrement utilisés :

- Les concentrés de globules rouges (CGR) ;
- Les concentrés plaquettaires, dont il existe deux préparations : – les concentrés de plaquettes d'aphérèse (CPA) ; – les mélanges de concentrés plaquettaires (MCP) ;
- Le plasma frais congelé (PFC) (83).

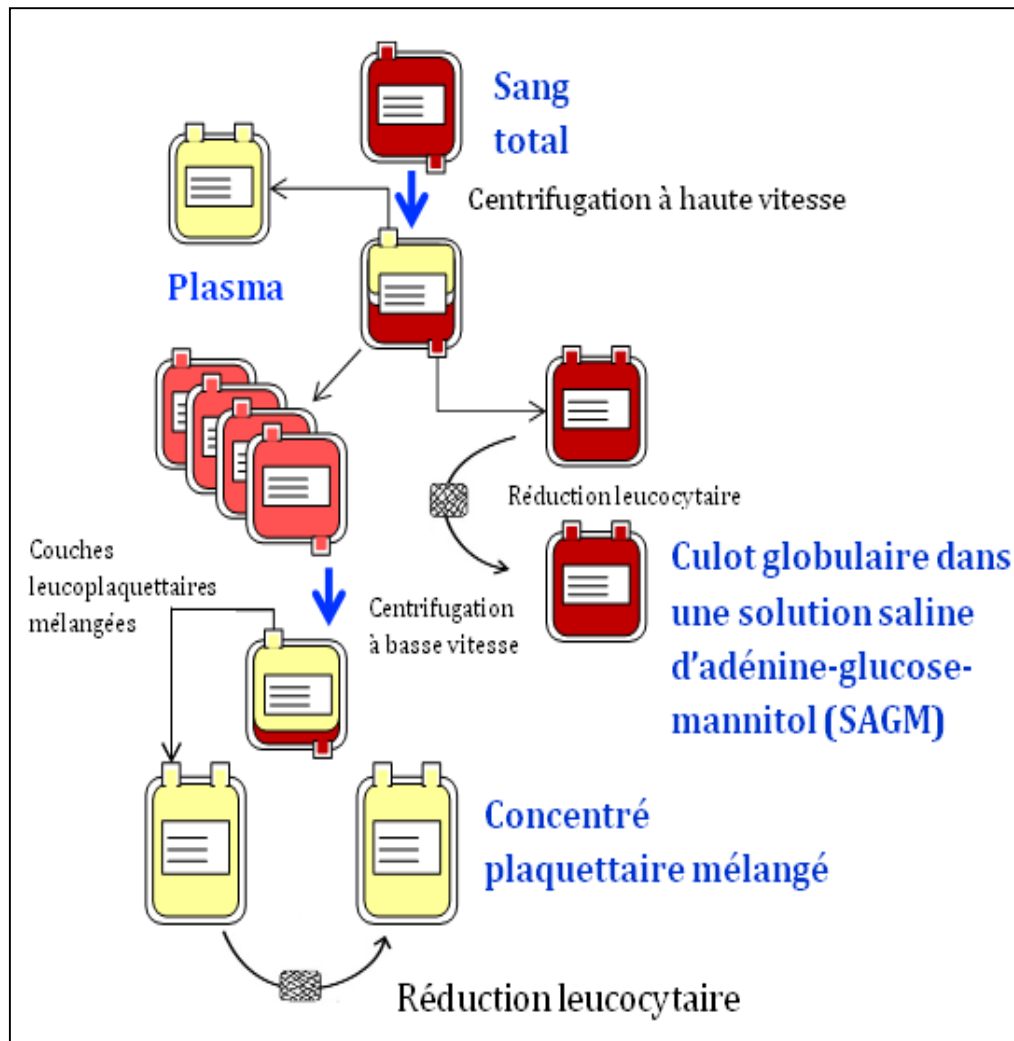


Figure10 : Préparation des PSL (84).

Tableau IV : Les trois principaux types de produits sanguins labiles (PSL) et caractéristiques essentiels (83).

	Concentrés de globules rouges	Concentrés plaquettaires	Plasma thérapeutiques frais congelé
Contenu	Au minimum 40 g d'Hb dans 200-300 ml (Ht 50-70%)	$1-2 \cdot 10^{11}$	Facteurs de la coagulation (variable)
Préparation Systématique	Déleucocytation	Déleucocytation	Déleucocytation
Conservation	42 jours (2-6°C)	5 jours (18-24 °C) avec agitation	1 an à -30 °C

De façon générale, les PSL sont obligatoirement déleucocytés: on épure le sang des leucocytes, afin de réduire les risques de réaction immunitaire et le risque infectieux.

3.1. Concentrés de globules rouges

Les CGR proviennent soit d'un don de sang total, après une étape de fractionnement, soit d'un prélèvement d'aphérèse.

La plupart des CGR transfusés sont des CGR standards pour lesquels seules les compatibilités ABO et Rhésus D sont imposées.

Pour certains patients spécifiques, les CGR doivent passer par une étape supplémentaire de qualification, prescrite par le praticien, consistant à sélectionner pour le receveur le CGR le plus adéquat possible :

- **CGR phénotypés** pour lesquels une ou plusieurs déterminations d'antigènes de systèmes de groupes sanguins ont été effectuées en plus du groupe ABO et de l'antigène RH1 (Rhésus D) : antigènes RH2, 3, 4, 5 et KEL1 (Rhésus C, E, c, e et Kell) ;
- **CGR phénotypés étendus** pour lesquels des déterminations d'autres systèmes de groupes sanguins ont été effectuées comme Duffy, Kidd, MNSs, etc. ;
- **CGR compatibilisés** pour lesquels a été réalisée une épreuve de compatibilité entre le sérum du receveur et les globules rouges du CGR.

De plus, afin de pouvoir être administrés à certains malades, les CGR doivent subir une opération complémentaire, appelée **transformation**, également prescrite par le praticien, qui consiste à modifier les caractéristiques du CGR, que ce soit en qualité ou en quantité. Voici les différentes transformations potentielles :

- **Irradiation** (inactivation des lymphocytes T résiduels pour éviter la prolifération de lymphocytes résiduels du donneur chez un patient profondément immunodéprimé) ;
- **Préparation pédiatrique** ;
- **Cryoconservation** (pour pouvoir conserver des CGR de groupes sanguins rares, décision prise par l'Établissement français du sang) ;
- **Déplasmatisation** (en cas d'antécédents de réactions transfusionnelles anaphylactiques majeures ou de déficit en IgA sériques avec présence d'anticorps anti-IgA chez le receveur (83).

3.1.1. Transfusion de concentré(s) de globules rouges (CGR) : règles et indications (85; 86; 87; 88; 89; 90; 91; 92; 93; 94)

A. Règles générales

Les seuils transfusionnels rejoignent ceux préconisés lors de l'anémie aiguë chirurgicale :

- Hb > 10 g/dl : transfusion exceptionnelle ;
- Hb < 8 g/dl : en général, la transfusion est nécessaire, sauf si l'anémie est bien tolérée ;
- 8 < Hb < 10 g/dl : l'indication transfusionnelle est discutée selon la tolérance clinique, les capacités d'adaptation du patient, l'étiologie, le mode d'installation, les possibilités d'alternatives, le rapport risque/bénéfice.

B. Indications de la transfusion de CGR en oncohématologie

B.1. Au cours des hémopathies malignes aiguës de l'adulte et des greffes de cellules souches hématopoïétiques (CSH)

Il faut tenir compte de la cinétique de l'aplasie induite par la chimiothérapie et de la date attendue de la sortie d'aplasie. Chez les patients en fin de vie, il est important d'étudier au cas par cas le retentissement objectif et subjectif de l'anémie afin d'évaluer le rapport bénéfice attendu par rapport aux éventuels effets indésirables.

B.2. Au cours des hémopathies malignes chroniques et en oncologie de l'adulte

Il faut prendre en compte la possibilité d'interaction entre l'efficacité de la radiothérapie et l'anémie.

B.3. Au cours des hémoglobinopathies

Au cours des thalassémies homozygotes majeures (anémie de Cooley), la transfusion conditionne le pronostic vital. Chez l'enfant et l'adolescent, il faut maintenir une Hb > 10 g/dl, ce qui permet de conserver une activité normale et de réduire l'hyperplasie érythroïde responsable des déformations morphologiques.

- Au cours des thalassémies homozygotes intermédiaires, la transfusion peut être indiquée en cas d'aggravation de l'anémie chronique soit aiguë (infection, érythroblastopénie) soit progressive (hypersplénisme), d'intolérance de l'anémie chronique ou de grossesse.

- Il n'est pas nécessaire de transfuser un patient drépanocytaire bien portant ayant une Hb ≥ 6 g/dl, sauf en cas de grossesse (maintenir une Hb > 10 g/dl). Un échange transfusionnel peut être indiqué en urgence en cas de crise vaso-occlusive grave ou de façon programmée en préopératoire (pour obtenir un taux d'HbS < 30 à 40 % selon le type de chirurgie).

B4. Au cours des maladies constitutionnelles et de l'aplasie congénitale

Pas de particularités par rapport aux règles générales.

B5. Au cours des AHAI

La transfusion de GR est peu efficace voire dangereuse du fait de la difficulté de mettre en évidence des allo anticorps masqués par les auto anticorps.

C. Indications de la transfusion de CGR en néonatalogie

Comme chez l'adulte, l'indication transfusionnelle érythrocytaire dépend des signes d'intolérance à l'anémie (dyspnée, tachycardie, tachypnée, difficultés d'alimentation, diminution de l'activité, pâleur, apnées, bradycardie, absence de gain pondéral, du contexte pathologique, et des facteurs de risque associés).

Chez un nouveau-né (NN) en détresse respiratoire sévère, en particulier s'il nécessite un support ventilatoire, l'indication de CGR pourra être portée si l'Hb $< 12-13$ g/dl ou l'Ht $< 35-40$ %.

Chez le prématuré, la transfusion n'est à priori pas indiquée si l'Hb > 12 g/dl au cours de la période initiale des soins intensifs, si l'Hb > 10 g/dl au cours des deux premières semaines de vie ou ultérieurement, si l'Hb > 7 g/dl avec une concentration de réticulocytes $\geq 100\ 000$ mm³.

3.2. Concentrés plaquettaires (95; 96)

Deux types de concentrés plaquettaires (CP) existent :

- Le **concentré de plaquettes d'aphérèse** (CPA) issu d'un seul don spécifique de plaquettes (par extraction sélective des plaquettes grâce à un séparateur de cellules qui restitue au donneur ses globules rouges et son plasma, ou thrombophérèse) ;

- Le **mélange de concentrés de plaquettes standards**(MCPS) ou mélange de CPS issus d'un mélange de plaquettes de même groupe ABO obtenues grâce à plusieurs dons de sang total (quatre à cinq donneurs en moyenne).

3.2.1. Indications de la transfusion des plaquettes

A. Transfusion de plaquettes au cours de thrombopénies centrales

C'est le cas des hémopathies malignes, tumeurs solides et aplasies médullaires. La transfusion de plaquettes peut être prophylactique ou curative.

Transfusion prophylactique est recommandée pour toute chimiothérapie thrombopéniante, associée ou non à une irradiation corporelle.

La transfusion de plaquettes prophylactique est indiquée si :

- NP (Numération Plaquettaire) ≤ 10 G/l en l'absence de facteur de risque ;
- NP ≤ 20 G/l si fièvre $\geq 38,5$ °C, infection, HTA, mucite de grade ≥ 2 , lésion à potentiel hémorragique, chute brutale de la NP en 72 heures ;
- NP ≤ 50 G/l en cas de traitement anticoagulant, coagulopathie ou de geste invasif (cathéter central, ponction lombaire...).

Transfusion curative est proposée en cas d'hémorragie extériorisée ou non dans le cadre des insuffisances médullaires chroniques faisant suite au traitement radical d'une hémopathie maligne ou d'une aplasie et pour lesquelles une prise en charge transfusionnelle prolongée est prévisible.

B. Transfusion de plaquettes en cas de thrombopénie réfractaire

Une inefficacité transfusionnelle plaquettaire constatée après deux transfusions successives définit un état réfractaire. On parle d'inefficacité transfusionnelle plaquettaire quand 1 à 24 heures après une 2e transfusion d'un nombre de CP adapté au poids du patient, ABO identiques, et conservés depuis moins de 72 heures, le CCI est inférieur à 7^2

La cause immunologique d'un état réfractaire ne peut être retenue qu'après élimination d'une autre cause : fièvre (avec ou sans infection documentée), coagulopathie intra vasculaire disséminée (CIVD), splénomégalie, complications d'une greffe de CSH.

En l'absence des causes précédemment citées, une recherche de l'allo-immunisation anti-HLA et anti-HPA est effectuée.

En présence d'un état réfractaire :

- ☞ la transfusion prophylactique n'est pas recommandée ;
- ☞ en cas d'hémorragie, d'actes invasifs ou chirurgicaux urgents, des transfusions en grandes quantités ($> 1 \times 10^{11}/10 \text{ kg}$) fractionnées dans le nyctémère sont recommandées.

En cas d'immunisation HLA/HPA, une transfusion prophylactique n'est possible que si des CPA HLA/HPA compatibles sont disponibles à partir des fichiers de donneurs ou d'un donneur apparenté au patient (97).

C. Transfusion de plaquettes au cours de thrombopénies périphériques

L'indication est portée lorsque la thrombopénie et les manifestations hémorragiques sont au premier plan et ne se corrigent pas rapidement malgré la mise en œuvre d'un traitement étiologique.

En cas de CIVD au cours de leucémies aiguës, en particulier promyélocytaires, il est recommandé de réaliser des transfusions plaquettaires quelle que soit la NP, s'il existe des signes hémorragiques ou, si la NP $\leq 50 \text{ G/l}$, qu'il y ait ou non des signes hémorragiques, et surtout si un traitement par héparine est entrepris parallèlement au traitement d'induction. Il n'y a pas d'indication à transfuser des plaquettes au cours du *purpurathrombopénique* auto-immun ou des thrombopénies médicamenteuses en dehors d'urgences hémorragiques mettant en jeu le pronostic vital.

D. Transfusion de plaquettes en néonatalogie

La transfusion plaquettaire chez le fœtus et le nouveau-né (NN) vise avant tout à prévenir l'hémorragie intracrânienne de survenue pré- ou per-natale, dont on redoute les conséquences sévères. Elle sera donc prophylactique ou curative selon la sévérité de la thrombopénie, l'importance des signes hémorragiques et le contexte clinique.

Dans le cadre d'une allo immunisation plaquettaire materno-fœtale, la transfusion de plaquettes compatibles avec l'anticorps circulant est indiquée en cas de thrombopénie sévère (NP $\leq 30 \text{ G/l}$ pendant les 24 premières heures) ou d'hémorragie.

3.3. Plasma

À la différence des CGR et des CP, il est conservé congelé après déléucocytation. La décongélation des PFC (plasma frais congelé) en vue d'une transfusion est contrainte à des règles strictes, afin de ne pas altérer les facteurs de coagulation (durée de décongélation de 20 minutes). Une sécurisation complémentaire est mise en place vis-à-vis du risque infectieux, soit par mise en quarantaine soit par des procédés physicochimiques.

3.3.1. Transfusion du Plasma Frais Congelé : règles et indications

A. Règles générales

Le texte de l'arrêté du 3 décembre 1991 stipule que « l'utilisation à de fins thérapeutiques de PFC est strictement réservée aux situations qui l'exigent de façon indiscutable» (98). Le PFC ne doit pas être utilisé comme produit de remplissage. L'administration prophylactique de PFC n'est pas indiquée.

B. Cas particuliers d'utilisation du PFC

La transfusion de PFC en cas d'insuffisance hépatocellulaire, chez un cirrhotique ou en cas de brûlures étendues n'est justifiée qu'en cas de chute des concentrations des facteurs de coagulation, dans le cadre d'une défaillance multi viscérale, de saignements ou s'il est prévu un geste réfractif.

Au cours des échanges plasmatiques, le PFC est utilisé en tant que produit de substitution et non de remplissage vasculaire.

Pour les exsanguino-transfusions, le sang est reconstitué en mélangeant CGR et PFC (99).

4. Qualification biologique des dons

Au-delà des analyses biologiques effectuées chez le donneur, la qualification biologique des dons répond elle-même à deux objectifs : d'une part déterminer les caractéristiques des PSL notamment immuno-hématologiques nécessaires à la transfusion-sanguine, d'autre part vérifier l'absence de marqueurs biologiques de divers agents infectieux transmissibles par la transfusion (Annexe I) (80).

4.1. Qualifications immuno-hématologiques déterminées pour chaque don

Ces analyses comportent un groupage ABO et Rh D (RH1), ainsi qu'une recherche d'anticorps anti-érythrocytaires irréguliers (RAI). Une recherche d'anticorps immuns anti-A et anti-B est systématiquement réalisée chez les donneurs O. Les données immuno-hématologiques peuvent être complétées par un phénotypage standard, qui comprend la détermination des antigènes du système Rh : Cc, Ee et du système Kell (KEL1). Ce phénotypage érythrocytaire peut être étendu, selon les besoins, aux systèmes Duffy, Kidd, Lewis, MNS.

4.2. Marqueurs d'agents infectieux transmissibles dépistés sur les dons

Elle permet d'assurer la sécurité du receveur vis à vis des risques infectieux et participe au suivi de la sante du donneur. Les analyses obligatoires au CTS W de Tizi Ouzou sont :

La recherche des antigènes et anticorps du virus de l'immunodéficience humaine (VIH1et 2), des anticorps du virus de l'hépatite C (VHC) et de la syphilis ainsi que l'antigène HBs du virus de l'hépatite B (VHB).

Dans les pays développés tel que la France, La détection du génome du VIH et du VHC est obligatoire depuis 2001, celle du VHB depuis 2010. Aussi, la recherche des anti-human T-celleukemia virus (HTLV)-I/II et de l'anti-HBc a été systématisée. En fonction des besoins, en particulier pour accroître la sécurité de la transfusion de certaines catégories de receveurs, tels que les allo-greffés de CSH ou les femmes enceintes séronégatives, les anticorps anti-cytomégalovirus (anti-CMV) sont recherchés pour disposer d'une banque de PSL dits «CMV négatifs ». Enfin, en cas de circonstances particulières liées au donneur (voyage en zone d'endémie ou origine géographique) sont recherchés les anticorps anti-*Plasmodium falciparum* entre le 4e et le 36e mois suivant le retour (100; 101).

5. Rappels sur les règles de sécurité immunologique

Le respect des règles de compatibilité transfusionnelle pour le système ABO est fondamental. Ces règles dépendent du PSL concerné :

- Pour les CGR, le receveur ne doit pas avoir d'anticorps qui reconnaissent les antigènes A ou B des globules transfusés (Tableau V), et il ne doit pas y avoir, chez le donneur, d'anticorps immuns susceptibles de réagir avec les hématies du receveur, ce qui conduit à dépister systématiquement ces donneurs dits « dangereux » ;

- Pour les plasmas thérapeutiques, la règle est de ne pas injecter de plasma qui contiendrait des quantités ou des concentrations d'anticorps susceptibles de provoquer une hémolyse des hématies du receveur (Tableau 4). Pour les volumes faibles de plasma, hormis le cas des donneurs présentant des hémolysines anti-A et/ou anti-B, les anticorps du système ABO du donneur sont suffisamment dilués dans le sang du receveur pour ne pas être dangereux ;
- Pour les CPS, les mêmes règles que celles de la transfusion de plasma s'appliquent. Cependant, les plaquettes expriment de faibles quantités d'antigènes ABO qui sont parfois en cause dans le mauvais rendement de certaines transfusions de plaquettes (77).

5.1. Sécurité immunologique érythrocytaire (85; 86; 87; 88; 89; 90; 91; 92; 93; 94)

Certains donneurs O possèdent des anticorps immuns anti-A ou anti-B acquis (hémolysines). Ces anticorps, même en faible quantité, peuvent initier une hémolyse de GR A, B ou AB du receveur. La transfusion de ces CGR est à réserver aux receveurs O. En cas d'injection de l'antigène D à un receveur D, il faut discuter une prévention de l'allo immunisation.

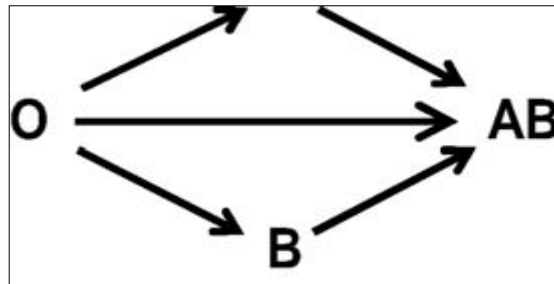
Tableau VI:Règles de compatibilité ABO pour la transfusion de globules rouges.

Groupe du receveur	Groupes possibles de donneurs	
	<i>Transfusions isogroupes Antigéno-identiques</i>	<i>Transfusio antigéno- compatibles</i>
O	O	O
A	A	O ^x , A
B	B	O ^x , B
AB	AB	O ^x , A ^x , B ^x , AB

^xCes donneurs ne doivent pas avoir d'anticorps ABO immuns dans le sérum.

5.2. Sécurité immunologique plasmatique

L'identité ABO est de principe sinon compatibilité



Exige une identité ABO de principe sinon compatibilité :

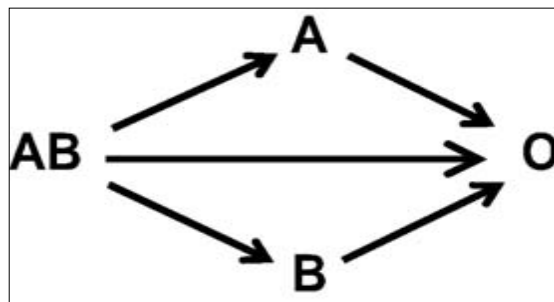


Tableau V : Règles de compatibilité pour la transfusion du plasma.

Groupe du receveur	Groupes possibles de donneurs	
	<i>Transfusions iso groupes Antigéno-identiques</i>	<i>Transfusions antigéno-compatibles</i>
O	O	O , A , B , AB
A	A	AB , A ^Y
B	B	AB , B ^Y
AB	AB	AB ^Y

^YLa transfusion de plasma d'autres groupes est possible si les volumes restent modères et si ces plasmas ne contiennent pas d'anticorps immuns dirigé contre les antigènes incompatibles du receveur.

5.3. Sécurité immunologique en néonatalogie

En néonatalogie (Tableau VII), les anticorps naturels anti-A et anti-B n'étant détectables que vers le 6e mois, le GS (groupe sanguin) réalisé à la naissance n'est pas considéré comme

définitif. Les anticorps maternels de classe IgG passent la barrière placentaire et sont retrouvés chez l'enfant pendant plusieurs semaines. Pour la transfusion en néonatalogie, il est indispensable de disposer du GS et de la RAI de l'enfant et de la mère (RAI du prépartum immédiat). Les GR transfusés doivent être compatibles avec le sérum de la mère, le plasma avec les GR de l'enfant. En cas de RAI positive chez la mère, il est nécessaire de réaliser un *cross match* entre le sérum de la mère et les GR à transfuser. En cas de RAI positive chez l'enfant il est nécessaire de réaliser un *cross match* entre les sérums de la mère et de l'enfant et les GR à transfuser (99).

Tableau VI: Règles de compatibilité érythrocytaire en néonatalogie (99).

		GS maternel			
		A	B	AB	O
GS enfant	A	A	O	A	O
	B	O	B	B/O	O
	AB	A	B	AB/A/B	-
	O	O	O	-	O

6. L'allo-immunisation érythrocytaire dans le système ABO

Dans le système de groupe sanguin ABO, à côté des anticorps « naturels » peut apparaître, à la suite d'une hétéro-immunisation (vaccinations, sérothérapie, infections) ou à la suite d'une grossesse, une nouvelle population d'anticorps dits « anti-A et/ou anti-B immuns » encore appelés « **hémolysines** » en raison de leur pouvoir hémolysant. Chez les donneurs de sang, ces hémolysines peuvent induire des hémolyses parfois importantes lorsque le sang est transfusé en compatible non iso-groupe.

6.1. Caractères généraux des anticorps immuns anti A et anti B du système ABO

6.1.1. Circonstances de survenue

Des anticorps d'immunisation peuvent apparaître dans des circonstances très variées. L'étude du sérum de sujets ayant reçu du sang incompatible dans le système ABO, a permis de nombreuses constatations. Quelle que soit la quantité de globules rouges incompatibles transfusés, le maximum d'élévation du titre d'agglutination se situe aux environs du 10^{ème} jour (102). L'amplitude du pic est relativement en rapport avec la quantité de globules rouges incompatibles injectés. WIENER (103) a montré, en injectant de faibles quantités de globules rouges, que chaque sujet possédait une capacité propre à répondre à une même stimulation. Néanmoins, cette capacité de réponse semble peu augmentée chez les sujets de groupe O (104).

Contrairement aux anticorps dit naturels, ces anticorps sont inconstant et transitoires. Ils surviennent à la suite d'une hyper immunisation occasionnelles par iso antigènes ou hétéro antigènes sous l'influence de stimulations liées également à l'environnement. Ils présentent beaucoup de caractères différentiels avec les anticorps naturels. Leur forte propriété d'hémolyse leur donne le nom d'hémolysines.

Les situations de survenue comprennent :

1-L'iso immunisation : exceptionnellement d'origine transfusionnelle dans les cas de transfusion incompatibles, grossesse.

2-L'hétéro immunisation : est la plus fréquente (95%), elle résulte d'une stimulation antigénique bactérienne, animale ou végétale car les structures polysaccharidiques de bases A et B sont ubiquitaires.

Parmi les substances impliquées dans cette hétéro-immunisation on peut citer :

- Les vaccins et sérums antitétaniques, antidiphtériques, on utilise des substances riches en substances A et B pour leur préparation (peptone et pepsine de porc) ;
- Les préparations thérapeutiques d'origine animales (extraits gastriques, hépatiques et fractions anti hémophiliques de porc etc....) ;
- Les bactéries : parmi les souches impliquées, on peut citer : *Escherichia Coli*, *Salmonelle*, *Schigella* et les *Entérobactéries* (105; 106; 107).

6.1.2. Caractères sérologiques

Les changements les plus typiques de leurs propriétés sérologiques sont basés sur une augmentation de leur titre, de leur avidité, de leur pouvoir hémolytique, de leur composante IgG et IgA ainsi que leur optimum thermique qui se rapproche de 37 °C. De tels anticorps sont par ailleurs difficilement neutralisables par des substances de groupe solubles.

Tableau VII: Les critères sérologiques différentiels des anticorps naturels du système ABO (108)

<u>AnticorpsABO naturels</u>	<u>AnticorpsABO immuns</u>
<ul style="list-style-type: none"> - Sont constants - De nature IgM - L'optimum thermique +4°C - Agglutinants en NaCl à 0,9% - Détectables après l'âge de 6 mois - Sont des agglutinines complètes, capables de provoquer directement en milieu salin l'agglutination des GR correspondantes - N'agissent pas en milieux albumineux - Provoquent la sensibilisation et l'agglutination directe des GR en milieu salin - N'agissent pas mieux sur des GR préalablement traitées par une enzyme (papaïne ou trypsine) - Sont détruites par chauffage de 10min à 70°C 	<ul style="list-style-type: none"> - Sont inconstants - Apparaissent après stimulation par grossesse, vaccination, infection... - De nature IgG anti A ou anti B appelés Hémolysines - L'optimum thermique +37°C - Sont le plus souvent des agglutinines incomplètes incapables de provoquer directement en milieu salin l'agglutination des GR correspondantes - Provoquent l'agglutination des GR correspondantes seulement en milieux albumineux - La sensibilisation des GR est révélée par le test de coombs indirect - Provoquent en milieu salin l'agglutination des GR préalablement traitées par une enzyme (papaïne ou trypsine) - Résistent au chauffage de 10min à 70°C - Les PSL issus de ces dons sont à transfuser en isogroupe ABO

6.2. Principe de recherche des allo AC immuns anti A et anti B dans le système AB

La recherche d'hémolysines chez les donneurs de sang rentre dans le cadre de la sécurité immunologique de la transfusion. Le fait de transfuser du sang contenant une hémolysine peut induire une hémolyse chez le patient. Cette situation n'a lieu qu'en cas de transfusion compatible non iso-groupe : sang O à un patient A ou B ou AB, sang A à un patient AB, sang B à un patient AB.

Les anticorps immuns peuvent entraîner l'agglutination directe ou la lyse à 37 °C des globules rouges, ou recouvrir les globules rouges de globuline (c'est-à-dire IgG).

On incube les cellules de dépistage avec le plasma du patient à 37 °C.

Après incubation, on examine les globules rouges pour détecter une agglutination directe et/ou une hémolyse, on les lave pour éliminer les globulines non fixées et on les soumet à de la globuline anti-humaine (GAH).

L'hémolyse ou l'agglutination en présence de GAH (indiquant que les cellules de dépistage ont été recouvertes de globuline) confirme la présence d'anticorps anti-A et/ou -B immuns.

6.3. Mécanismes d'action des hémolysines anti A et anti B du système ABO et conséquences cliniques (109)**6.3.1. Mécanisme d'action**

Pour rappel, la survenue d'une réaction antigène/anticorps peut se traduire de différentes façons. L'hémolyse intra vasculaire est secondaire à la destruction rapide dans les vaisseaux sanguins des hématies portant l'antigène cible, suite à l'activation du complément jusqu'à la phase finale de formation du complexe d'attaque membranaire. L'hémolyse extravasculaire correspond quant à elle au type d'hémolyse le plus fréquent. Elle est secondaire à la phagocytose des hématies opsonisées par les macrophages de la rate et du foie. La plupart du temps, les deux types d'hémolyse, intra- et extravasculaire, sont associés avec prédominance d'un type ou de l'autre.

Les hémolysines anti A et anti B ont pour cible respectivement les antigènes A et B du système ABO. Ces hémolysines sont en général recherchées dans les sérums des individus de groupe O.

Contrairement aux anticorps anti A et anti B naturels, les anticorps anti érythrocytaires anti A et /ou anti B irréguliers dits immuns de type IgG, sont difficilement adsorbables par les Ag A et B solubles et peuvent donc entraîner des hémolyses chez le receveur par formation de complexe d'attaque membranaire.

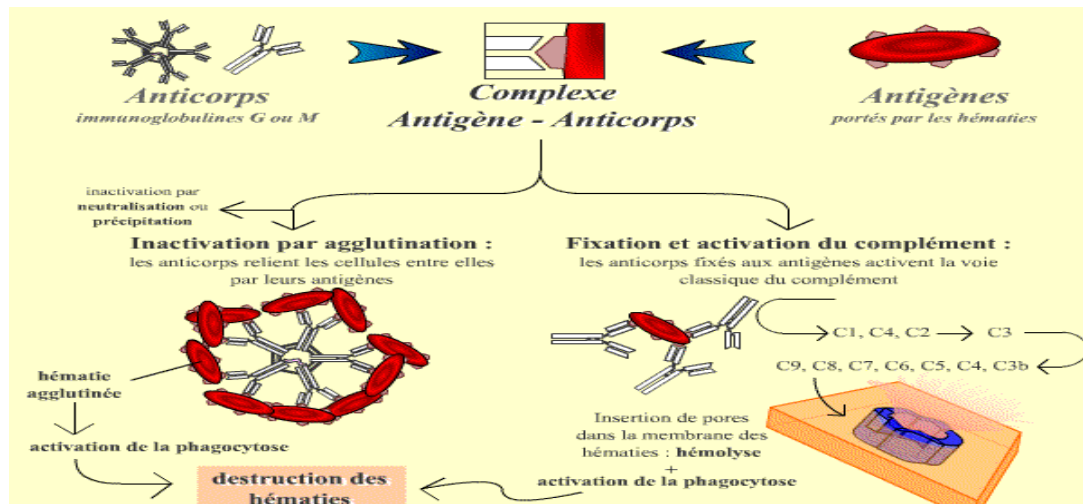


Figure 11 : Cascade d'activation du complément (110).

La reconnaissance d'un antigène par les anticorps IgG et IgM permet à l'organisme de se défendre contre les cellules porteuses de cet antigène.

Les deux classes d'immunoglobulines peuvent activer la voie du complément, mais seules les IgM peuvent agglutiner les hématies : les IgM sont donc communément dénommées agglutinines, l'agglutination restant leur premier mode d'action, alors que les IgG, activant le complément, sont dénommées hémolysines.

6.3.2. Conséquences cliniques de l'hémolyse post transfusionnelle

La clinique d'une hémolyse post transfusionnelle peut aller de l'inefficacité de la transfusion jusqu'à l'état de choc voire le décès, ainsi on distingue des formes graves, des formes mineures et des formes latentes.

6.3.2.1. Formes graves

i. Phase de choc

Les symptômes apparaissent après transfusion d'une certaine quantité de sang, on observe : frissons et hypothermie suivie d'une hyperthermie (dans 75 % des cas) malaise intense, céphalées et constriction thoracique, elle est caractérisée par une douleur lombaire bilatérale (c'est le classique coup de barre lombaire).

La complication la plus redoutable est la chute brutale de la pression artérielle et l'état de choc qui est parfois d'évolution rapide vers le décès suite à un état de collapsus cardiovasculaire (111; 112).

ii. Phase d'hémoglobinurie et d'ictère

La coloration des urines est foncée, elles sont chargées d'hémoglobine.

iii. Phase d'insuffisance rénale aiguë avec anurie

L'anurie s'installe progressivement, elle est d'autant plus grave que la durée du choc est importante (108).

6.3.2.2. Forme mineures

Ce sont des incidents qui apparaissent progressivement, comme :

- ✓ L'ictère post-transfusionnel précoce survenant dans les 24 h qui suivent la transfusion
- ✓ L'ictère post transfusionnel retardé survenant 3 à 4 jours après la transfusion
- ✓ La réaction frisson hyperthermie (113).

6.3.2.3. Formes latentes

Dans ce cas la transfusion est inefficace car elle n'engendre pas une élévation du taux d'hémoglobine ou des globules rouges, elle n'a pas de manifestations cliniques.

☞ Diagnostic

Il faut éliminer une hématurie, une hémolyse d'origine non immunologique et les anémies hémolytiques auto-immunes.

Les examens biologiques prescrits sont : l'hémogramme, la recherche d'une hémoglobinurie, test de Coombs directe, test de recherche d'agglutinines irrégulières, urée et créatinine sanguine (77).

☞ **conduite à tenir**

Elle dépend de la sévérité de la symptomatologie

Les gestes immédiats comportent :

- Un arrêt immédiat de la transfusion,
- Le maintien de la voie veineuse,
- Une évaluation des paramètres vitaux (température, pouls, tension, auscultation cardio-pulmonaire, volume de la diurèse et couleur des urines),

La décision d'arrêter la transfusion est indiscutable en cas de :

- Hypotension ou de choc,
- Dyspnée
- (Edème des voies aériennes supérieures
- Hémoglobinurie
- Nausées ou vomissements
- Douleurs thoraciques ou lombaires
- Une augmentation de la température au-delà de 39 °C (ou d'un décalage ≥ 2 °C/température basale).

La décision peut être plus discutée en cas de symptomatologie mineure, comme un prurit isolé (en étant attentif à une évolution rapide vers des signes plus sévères) ou une fièvre isolée supérieure ou égale à 38 °C (ou augmentation de la température ≥ 1 °C), situations où l'arrêt de la transfusion peut être temporaire et associé à une thérapeutique symptomatique (antihistaminique, paracétamol), suivie d'une reprise de la transfusion à vitesse lente et sous observation directe (114).

Partie pratique

I. Matériels et Méthode

I. Matériels et méthode

1. Cadre d'étude

1.1. Type d'étude

Il s'agit d'une étude transversale, descriptive ayant consisté en la recherche et le titrage des hémolysines anti-A et anti-B chez les donneurs de sang réalisée au sein du CTSW de Tizi Ouzou.

1.2. Population d'étude

1.2.1. Taille échantillonnale

Cette étude a concerné des donneurs de sang total, de groupe A, B et O quel que soit le rhésus « RH D+ et -, ayant donné leur sang au niveau du CTSW de Tizi Ouzou.

Nous avons recruté 1143 donneurs de sang issus de différentes régions de la wilaya de Tizi Ouzou.

Le calcul de la taille échantillonnale a été effectué par la formule suivante :

$$n = t^2 \times p \times (1-p) / m^2$$

n : Taille d'échantillon minimale pour l'obtention de résultats significatifs pour un événement et un niveau de risque fixé ;

t : Niveau de confiance (la valeur type du niveau de confiance de 95 % sera 1,96) ;

p : proportion estimée de la population qui présente la variable ;

m : Marge d'erreur (généralement fixée à 5 %).

Pour chaque groupe sanguin ABO RHD nous avons calculé le nombre moyen de donneurs à recruter pour valider cette étude, en se basant sur les fréquences internationales (115) des groupes sanguins ABO RHD en raison d'absence d'études nationales.

Tableau VIII: Fréquences des groupes sanguins ABO/RHD en France (115).

	<u>GS « A »</u>	<u>GS « B »</u>	<u>GS « O »</u>
RHD positif	37% (358)	9% (125)	36% (354)
RHD négatif	7% (100)	1% (15)	6% (86)

En appliquant la formule précédente, et en tenant compte des fréquences des groupes sanguins citées dans le tableau VIII, le nombre de donneurs de sang attendus à retrouver en fonction du groupe sanguin est :

- Donneurs A+ : 358
- Donneurs A- : 100
- Donneurs B+ : 125
- Donneurs B- : 15
- Donneurs O+ : 354
- Donneurs O- : 86

Cependant, le nombre de donneurs de sang réel qui a été retrouvé durant la période de notre étude est le suivant :

- Donneurs A+ : 360
- Donneurs A- : 84
- Donneurs B+ : 166
- Donneurs B- : 22
- Donneurs O+ : 412
- Donneurs O- : 99

1.2.2. Critères d'inclusion d'un donneur de sang total

- Remplir les critères du don de sang total (annexe II)
- Etre un donneur de sang total (régulier ou occasionnel ou contrepartie) âgé de 18 à 65ans ;
- De sexe masculin et féminin ;
- De groupe sanguin A, B et O quel que soit le Rhésus D.

1.2.3. Critères de non inclusion d'un donneur de sang total

- Présenter une contre-indication au don du sang total (annexe I) ;
- De groupe sanguin AB quelque soit le rhésus D.

1.3. Durée de l'étude

Notre étude s'est déroulée du 28 Février 2021 au 9 mai 2021 soit une durée de 3 mois.

1.4. Lieu de l'étude

Nous avons effectué notre travail pratique au centre de transfusion sanguine de la Wilaya de Tizi Ouzou.

2. Matériels

2.1. Equipements

- Centrifugeuse ;
- Incubateur à 37°C: "STABILITHERM" ;
- Agitateur de microplaques

2.2. Réactifs et consommables

2.2.1. Consommables

- Embouts jaunes et bleus ;
- Gants jetables ;
- Ciseaux ;
- Gaze ;
- Alcool à 90° ;
- L'eau physiologique (solution NaCl à 9 %) ;
- Microplaques à fond rond (96 puits) ;
- Tubes à hémolyse de 5ml ;
- Pipettes automatiques réglables à 100 µL ; 200µl et 1000µl.

2.2.1. Réactifs

- Des sérums tests monoclonaux de type IgM : Anti-A - Anti-B - Anti-AB - Anti-D ;
- Hématies tests A1, B et O ;
- Plasma AB frais ;
- Anti globuline humaine (AGH) polyvalente ou anti IgG.

3. Méthodologie de travail

3.1. Phase pré analytique

3.1.1. Etapes du don de sang total

La collecte de sang total se fait soit dans des sites fixes(CTS) ou en organisant des collectes mobile.

Quelque soit le lieu de collecte, une unité de collecte de sang doit obéir aux règles suivantes définies dans le guide de bonnes pratiques transfusionnelles publiées par l'agence nationale du sang total :

- Accueillir et informer le donneur ;
- Assurer le lien du donneur avec la fiche de renseignement ;
- Procéder à une bonne sélection médicale.

3.1.1.1. Accueil du donneur

Le donneur de sang est accueilli par un(e) secrétaire, il s'inscrit pour le don en fournissant ses informations personnelles (identité complète).

3.1.1.2. Entretien médical

Le médecin est tenu d'obtenir les renseignements nécessaires qui permettent d'identifier les contre-indications au don afin de protéger le donneur et le receveur. Cet anamnèse est accompagné d'un examen clinique qui comporte la prise de la pression artérielle, la fréquence cardiaque, la taille, le poids, et la température.

3.1.1.3. Prélèvement proprement dit

Une fois déclaré apte lors de l'entretien médical, le donneur est accueilli par un(e) infirmier(e) qui l'installera dans un fauteuil de prélèvement afin de réaliser le don. Une vérification de l'identité du donneur est également réalisée pour éliminer toute erreur éventuelle de l'identité du donneur au moment du prélèvement.

La procédure de prélèvement dure environ 45 minutes.

Pour chaque donneur, deux échantillons de sang de 5 ml sont prélevés, l'un sur tube EDTA et l'autre sur tube hépariné. Le tube EDTA est réservé pour les examens immuno-hématologiques tandis que le tube hépariné est utilisé pour les examens sérologiques. Pour assurer une bonne traçabilité de ces échantillons, les tubes doivent être étiquetés au moment du prélèvement et acheminés immédiatement aux laboratoires du CTS.

3.2. Phase analytique

Au cours de notre étude, nous avons effectué les analyses suivantes :

3.2.1. Réalisation et interprétation d'un groupage ABO

3.2.1.1. Principe

Le groupage sanguin ABO est la seule recherche des antigènes à la surface des globules rouges qui comporte deux épreuves : l'épreuve globulaire (Beth-Vincent) et l'épreuve plasmatique (Simonin-Michon). Ce groupage comporte cette spécificité du fait que chaque individu d'un groupe comporte les anticorps dirigés contre les antigènes du système ABO.

Deux épreuves obligatoires sont réalisées :

✓ Epreuve globulaire (Beth-Vincent)

Cette épreuve consiste à mettre en évidence les antigènes du système ABO à la surface des globules rouges du patient à l'aide d'anticorps (antisérum) spécifiques afin de déterminer le groupe ABO du patient. Lors de cette épreuve, il doit être utilisé un anti-A, un anti-B et un anti-A,B (l'anti-B ne doit pas reconnaître le B acquis, l'anti-A ou/et l'anti-AB doivent reconnaître les Ax). L'anti-A permettra de reconnaître les individus possédant les antigènes A; l'anti-B les individus possédant l'antigène B et l'anti-AB les individus possédant l'antigène A et/ou l'antigène B.

✓ Epreuve plasmatique (Simonin-Michon)

Cette épreuve consiste à mettre en évidence les anticorps du système ABO contenus dans le plasma du patient à l'aide de globules rouges de groupe ABO connu. Lors de cette épreuve, il est utilisé des globules rouges de groupe A1 et des globules rouges B (hors difficulté de groupe).

Un individu de groupe A possède les anti-B, le plasma conduira à une agglutination avec les globules rouges de groupe B ou de groupe AB. Un individu de groupe B possède des anti-A et des anti-A1, le plasma conduira à une agglutination avec les hématies de groupe A. Les individus O possèdent des anti-A, des anti-B, des anti-A,B et des anti-A1, le plasma conduira à une agglutination avec les hématies A, B et AB, alors que les individus de groupe AB ne possèdent pas d'anticorps, il n'y aura donc aucune réaction avec les différentes hématies.

Ces épreuves doivent être concordantes et validées par différents types de témoins :

- **Témoin allo** : hématies test O + sérum du patient ;
- **Témoin AB** : hématies du patient + sérum AB ;
- **Témoin auto** : hématies du patient + sérum du patient.

L'épreuve sérique est validée par le témoin allo , l'épreuve globulaire est validée par le témoin AB , les auto-anticorps sont mis en évidence par le témoin auto.

Durant notre étude nous avons réalisé le groupage ABO des donneurs de sang sur microplaque

3.2.1.2. Technique de groupage ABO manuel sur microplaque

✓ Epreuve plasmatique de Simonin

A l'aide d'une micropipette de 10 µL distribuer :

- 1 volume de suspension d'hématies tests B, dans la 1ère cupule ;
- 1 volume de suspension d'hématies tests A1, dans la 2ème cupule ;
- Enfin ajouter 1 volume de plasma dans chaque cupule.

Les suspensions d'hématies sont préparées à 5 % dans de l'eau physiologique.

✓ Epreuve globulaire de Beth Vincent

A l'aide d'une micropipette de 10 μ L distribuer :

- 1 volume de sérum test anti-A dans la 5^{ème} cupule ;
- 1 volume de sérum test anti-B dans la 6^{ème} cupule ;
- 1 volume de sérum test anti-AB dans la 7^{ème} cupule.
- Enfin ajouter dans chaque cupule 1 volume de suspension d'hématies à tester (préparée dans la dernière cupule).

Les hématies-tests A et B ayant servi pour le groupage sanguin ABO et la recherche/titrage des hémolysines ont été préparées localement à partir d'échantillons de donneurs de sang de groupes sanguins ABO connus prélevés sur tube EDTA. Après centrifugation et lavage, les hématies ont été mises en suspension à 5% dans du sérum physiologique et conservées entre 2°C et 6°C pendant 03 jours au maximum.

✓ Les Témoins

- Témoin Allo : dans la 4^{ème} cupule, on mélange 1 volume de suspension d'hématies test O et 1 volume de plasma du patient ;
- Témoin plasma AB : dans la 8^{ème} cupule, on mélange 1 volume de suspension d'hématies à tester avec du plasma AB ;
- Témoin Auto : dans l'avant dernière cupule, on mélange 1 volume de la suspension d'hématies à tester avec 1 volume du plasma du patient.

Incuber 10 min à température ambiante, puis agiter 2min par un agitateur automatique et lire immédiatement les agglutinations.

3.2.1.3. Interprétation des groupes possibles

Tableau IX : Interprétation des épreuves de Beth-Vincent et Simonin.

Groupe Sanguin ABO	Beth Vincent			Simonin		
	<i>Anti-A</i>	<i>Anti-B</i>	<i>Anti-AB</i>	A	B	O
A	+	-	+	-	+	-
B	-	+	+	+	-	-
AB	+	+	+	-	-	-
O	-	-	-	+	+	-

Le groupage ABO pour être validé, doit être déterminé sur deux prélèvements sanguins distincts (réalisés à deux moments différents par deux techniciens).

3.2.2. Groupage Rhésus D (RH1)

3.2.2.1. Principe

La détermination du phénotype « RhD standard accompagne toujours celle du groupe sanguin ABO. C'est le résultat de ces deux examens biologiques qui figurent sur la carte de groupe sanguin. La détermination du phénotype « Rh D standard » est uniquement globulaire.

On appelle « RhD positif » tout sujet dont les globules rouges possèdent l'antigène qui est mis en évidence par une réaction d'hémagglutination avec l'anticorps spécifique anti-D. Les sujets « RhD négatif » sont ceux dont les globules rouges sont dépourvus de l'antigène. Ils n'ont pas naturellement dans leur sérum l'anticorps anti-D.

3.2.2.2. Technique de recherche de l'antigène D sur microplaque

- Déposer 10 µl de réactif anti- D dans une cupule de la microplaque et 10 µl de contrôle RH1 dans la cupule suivante ;
- Ajouter dans chaque cupule, 10µl de suspension à 5% d'hématies à tester ;
- Agiter doucement et laisser la plaque 15 min dans l'incubateur puis lire l'agglutination.

3.2.3. Détermination de l'antigène D faible (D^u) sur tube

3.2.3.1. Principe

Les échantillons testés Rh D négatif ont été soumis à un phénotypage D faible. La recherche du phénotype D faible (D^u) est effectuée par le test Indirect à l'Anti globuline en utilisant l'Anti globuline humaine (AGH) poly spécifique et l'Anti D de type IgG monoclonale.

3.2.3.2. Mode opératoire

- Centrifuger le tube EDTA 3 min à 4000tr /mn puis prendre un volume 200 µl du culot globulaire dans un tube sec ;
- Faire 03 lavages pour le culot globulaire (bien mélanger par retournement lors de l'ajout de l'eau physiologique et centrifuger 3 min à 4000tr /mn) ;
- Préparer une suspension à 5 % du culot de globules rouge ;
- Prendre 50 µl de la suspension à 5 % dans un tube a essai de 5ml et y ajouter 100 µl du réactif anti D ;
- Incuber 45 min à 37° C ;
- Faire 03 lavages ;
- Jeter le surnageant et ajouter 100 d'AGH ;
- Centrifuger 1 min à 1000tr/min et faire la lecture.

3.2.3.3. Interprétation des résultats

Présence d'agglutination → Positif

Absence d'agglutination → Négatif

☞ Si D^u positif :

- Faire un test direct à l'anti globuline ;
- Si négatif → valider le D^u ;
- Si positif → refaire le D^u par la technique de fixation élution.

En tant que donneur de sang, il est absolument impératif de considérer le D faible comme positif, car l'antigène D^u est immunogène. Ceci explique le fait que certaines personnes

peuvent être déterminées comme RH1 Positif (D) en tant que donneur de sang et RH1 Négatif (dd) en tant que malade susceptible d'être transfusé.

3.2.4. Recherche et titrage des hémolysines anti A et anti B

3.2.4.1. Recherche des hémolysines

3.2.4.1.1. Principe

Elle consiste en la recherche d'une éventuelle hémolyse des hématies tests A et /ou B en présence du plasma du patient à examiner qui peut contenir des hémolysines anti A et /ou anti B en présence du complément.

3.2.4.1.2. Mode opératoire

- Préparer une suspension d'hématies tests A, B, O à 10 % après lavage à l'eau physiologique.
- Préparer 05 tubes secs, et mettre :
 - Dans le 1^{er} tube : mettre 100 µL de la suspension d'hématies A et rajouter 200 µL du plasma du patient.
 - Dans le 2^{ème} tube : mettre 100µL de la suspension d'hématies B et rajouter 200 µL du plasma du patient.
 - Dans le 3^{ème} tube : mettre 100 µL de la suspension d'hématies A et rajouter 200 µL d'eau physiologique.
 - Dans le 4^{ème} tube : mettre 100 µL de la suspension d'hématies B et rajouter 200 µL d'eau physiologique.
 - Dans le 5^{ème} tube : mettre 100 µL de la suspension d'hématies O et rajouter 200 µL du sérum du patient.
- Incuber 30 min à 37 °C.
- Centrifuger à 4000tr /mn pendant 03 min.
- Observer une éventuelle hémolyse.

Tableau X : Recherche des hémolysines Anti-A et Anti-B.

Tube N°	Tubes échantillons		Tubes témoins		
	1	2	3	4	5
Sérum frais (µl)	200	200	/	/	200
Solution saline 0.9% (µl)	/	/	200	200	/
GR A 10%(µl)	100	/	100	/	/
GRB10%(µl)	/	100	/	100	/
GR O 10%(µl)	/	/	/	/	100

3.2.4.1.3. Interprétation des résultats

- Les tubes 3, 4,5 doivent avoir un surnageant clair (absence d'hémolyse) ;
- Les tubes 1 et 2 :
 - Si surnagent rose foncé → présence d'hémolyse ;
 - Si surnagent clair → absence d'hémolyse.
- Les tubes témoins 3,4 et 5 ne présentent aucune hémolyse, la réaction est interprétable ;
- Une hémolyse dans le tube 1 indique la présence d'hémolysines Anti-A ;
- Une hémolyse dans le tube 2 indique la présence d'hémolysines Anti-B ;
- L'absence d'hémolyse dans les tubes 1 et 2 indique l'absence d'hémolysines ;
- Si l'un des tubes témoins présente une hémolyse, la réaction est ininterprétable et doit être refaite.

3.2.4.2. Titrage des hémolysines**3.2.4.2.1. Principe**

Repose sur le même principe que la technique de recherche en testant une série de dilutions à raison de $\frac{1}{2}$ en $\frac{1}{2}$, du sérum d'échantillons en solution saline 0,9 %.

3.2.4.2.2. Mode opératoire

- Tester différentes dilutions du plasma dont les hémolysines sont positives vis-à-vis des hématies correspondantes (A et/ou B) ;
- Les dilutions à réaliser sur le plasma positif sont :
 - Dilution 1/2 : mettre 200 μ L du plasma et rajouter 200 μ L d'eau physiologique ;
 - Dilution 1/4: mettre 200 μ l de la dilution 1/2 et rajouter 200 μ L d'eau physiologique ;
 - Dilution 1/8 : mettre 200 μ l de la dilution 1/4 et rajouter 200 μ l d'eau physiologique ;
 - Dilution 1/16 : mettre 200 μ l de la dilution 1/8 et rajouter 200 μ l d'eau physiologique ;
- Incuber 30 min à 37 °C ;
- Centrifuger à 4000tr /mn pendant 03 min.

3.2.4.2.3. Lecture et interprétation des résultats

Le titre d'hémolysines correspond à l'inverse de la dernière dilution donnant une réaction positive.

3.2.4.2.4. Préparation des hématies tests**☞ Lavage des hématies :**

- Dans un tube sec mettre une quantité du culot globulaire de groupe sanguin connu ;
- Compléter avec de l'eau physiologique ;
- Centrifuger pendant 3 minutes à 4000 tours /min ;
- Jeter le surnageant ;
- Répéter l'opération 03 fois.

☞ Préparation de la suspension des hématies :

- Dans un tube sec, mettre un volume de culot globulaire préalablement lavé groupé dans le système ABO (A, B et O) ;

- Ajouter 9 volumes d'eau physiologique pour obtenir une suspension d'hématies test diluée à 10 %.

4. Etude statistique

4.1. Saisie des données

Les données ont été recueillies à partir de :

- Fiche de renseignements du donneur (Annexe III) de sang remplie lors du don : âge, sexe, type de don, région...etc.
- Registre d'immuno-hématologie : résultats des groupes sanguins ABO RHD, et de la recherche du D^u.

4.2. Analyse statistique des données

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel SPSS-IBM version 20 et Excel 2013.

Les moyennes, les écarts types (ET) et les proportions ont été utilisées pour la description des variables numériques et catégorielles respectivement. Les tests *t de Student* et de *Chi2 de Pearson* ont été utilisés pour les comparaisons statistiques. Une valeur $p < 0,05$ représentait une différence statistiquement significative.

5. Considérations éthiques

L'étude a été autorisée par le responsable du CTSW de Tizi Ouzou. Elle s'est faite dans le respect strict des règles éthiques du don de sang. Leur anonymat ainsi que la confidentialité des données ont été respectés.

II. Résultats

II. Résultats

1. Résultats globaux

1.1. Répartition des donneurs de sang selon les caractéristiques épidémiologiques

1.1.1. Selon le genre

Nous avons inclus dans notre étude 1143 donneurs dont 1052 (92%) sont de genre masculin et 91(8%) sont de genre féminin avec un sexe ratio de 11.5.

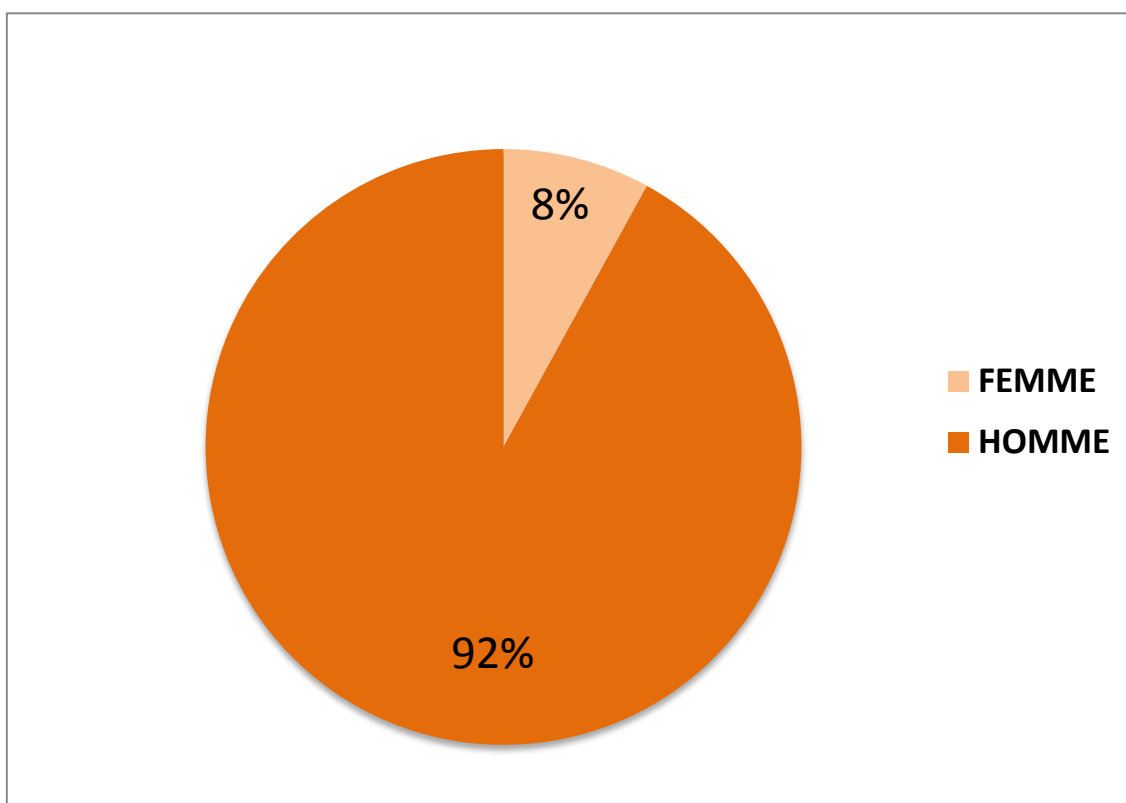


Figure 12 : Répartition des donneurs de sang selon le genre.

1.1.2. Selon les tranches d'âges

L'âge moyen des donneurs est de **33,33 ans ± 9,73** (Moyenne ± Ecart type) avec un âge minimum de 18 ans et maximum de 63 ans.

La majorité des donneurs appartiennent aux tranches d'âge [23 - 28[et [28 - 33[avec des fréquences respectifs de 18.1% et 18.9%.

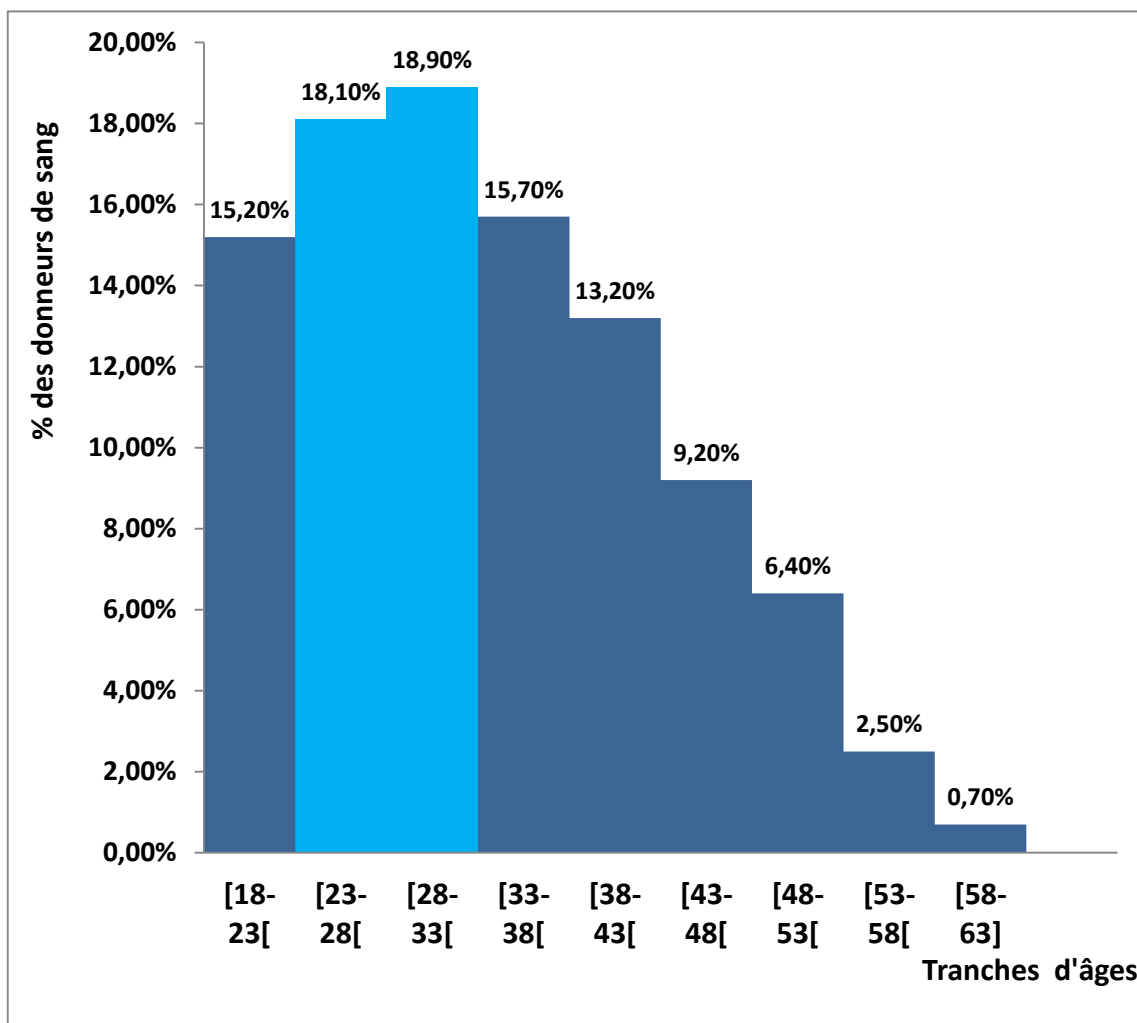


Figure 13 : Répartition des donneurs de sang selon les tranches d'âges.

1.2. Répartition des donneurs de sang selon le groupe sanguin ABO et Rhésus D

1.2.1. Selon le groupe sanguin ABO

Les groupes sanguins O et A sont les plus fréquents avec des fréquences respectifs de 44.97% et 38.76% tandis que le groupe B représente 16.27% de notre population d'étude.

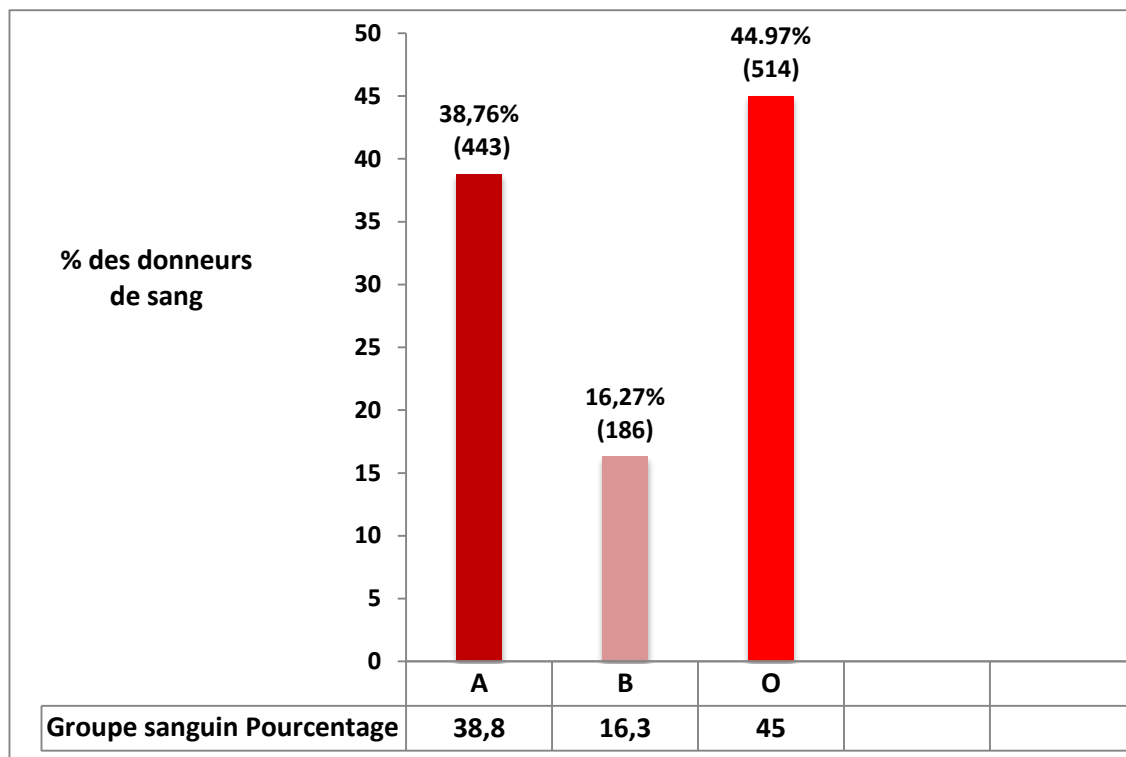


Figure 14 : Répartition des donneurs de sang selon le groupe sanguin ABO.

1.2.2. Selon le Rhésus D

On constate une prédominance du groupe Rhésus D positif avec 938 donneurs soit une fréquence de 82.10%.

Le Rhésus D négatif représente 205 donneurs soit une fréquence de 17.90%.

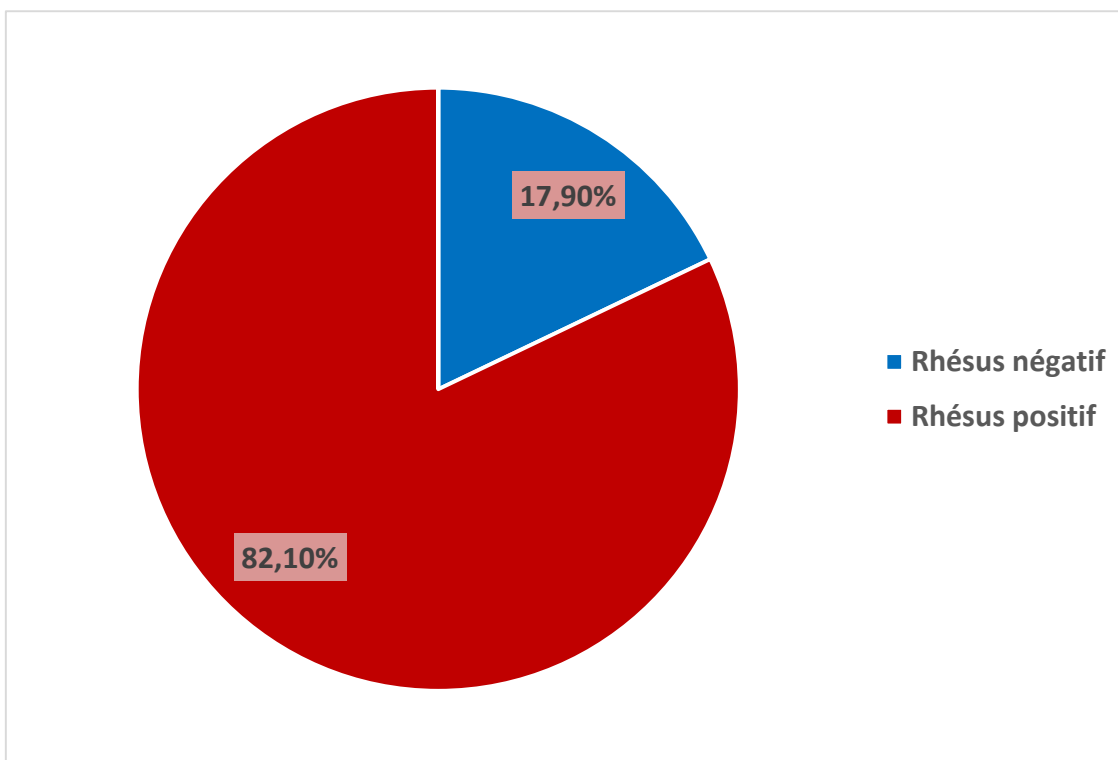


Figure 15: Répartition des donneurs de sang selon le Rhésus D.

2. Résultats analytiques

2.1. Fréquence des hémolysines

2.1.1. Taux globale des hémolysines anti A et anti B

Sur les 1143 donneurs de sang inclus dans notre étude, le nombre d'hémolysines retrouvé est de 87 cas soit une fréquence de 7.60%.

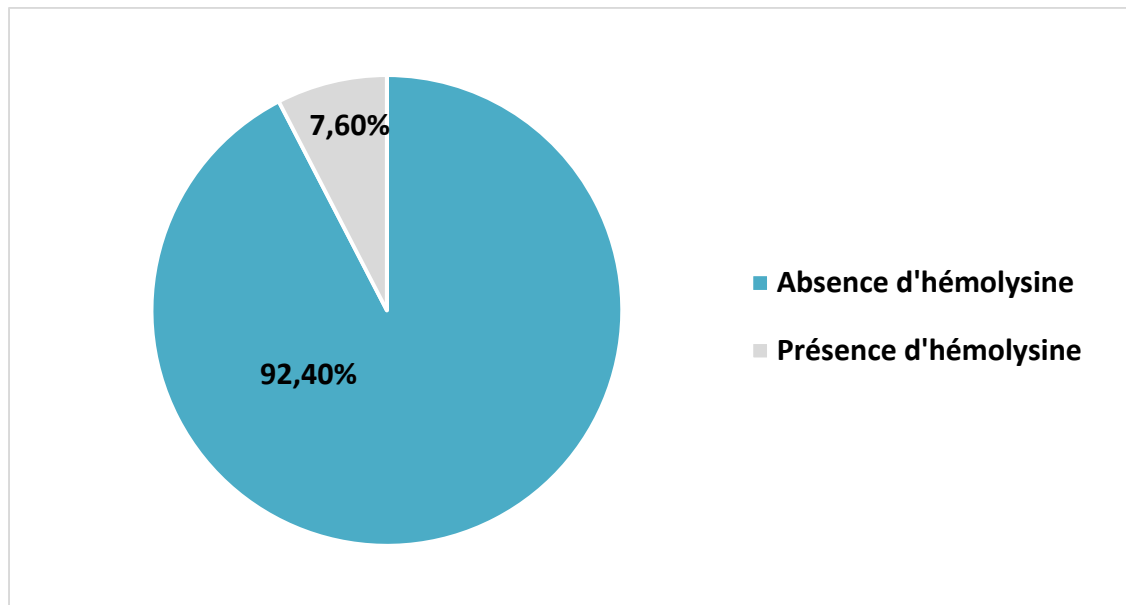


Figure 16 : Proportion des hémolysines chez les donneurs de sang

2.1.2. Fréquence des hémolysines anti A et anti B selon le genre

Le genre est significativement associé à la présence d'hémolysines avec une différence statistiquement significative ($P = 0.03$).

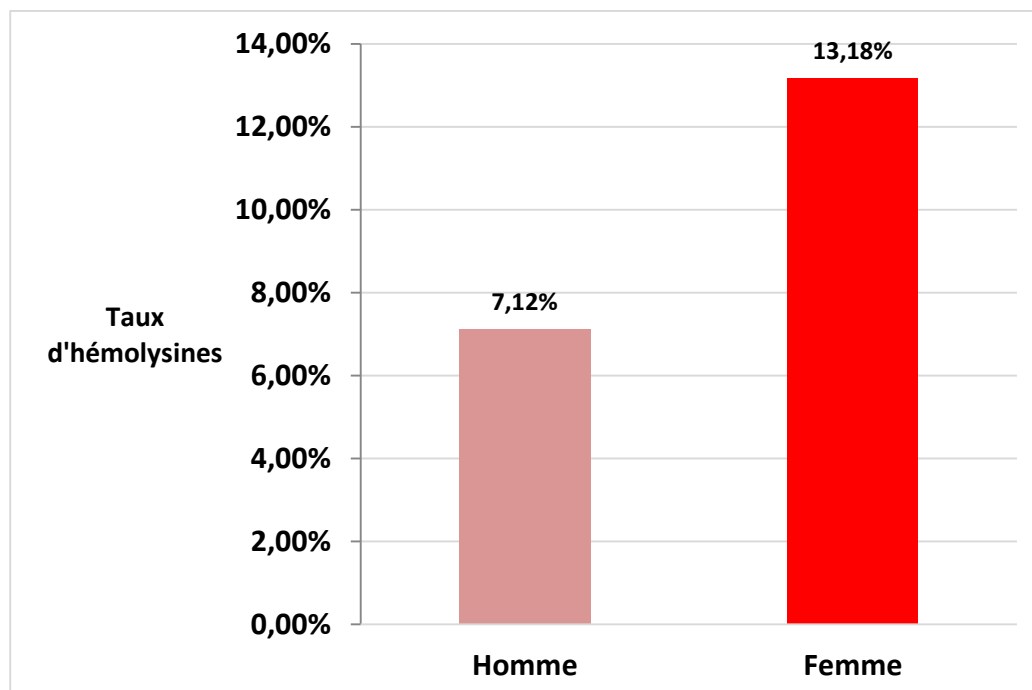


Figure 17 : Fréquences des hémolysines selon le genre.

2.1.3. Fréquence des hémolysines anti A et anti B selon les tranches d'âge

Le taux d'hémolysines est variable entre les tranches d'âge, allant de 5.17% à 17.24% sans différence significative, $p=0.33$.

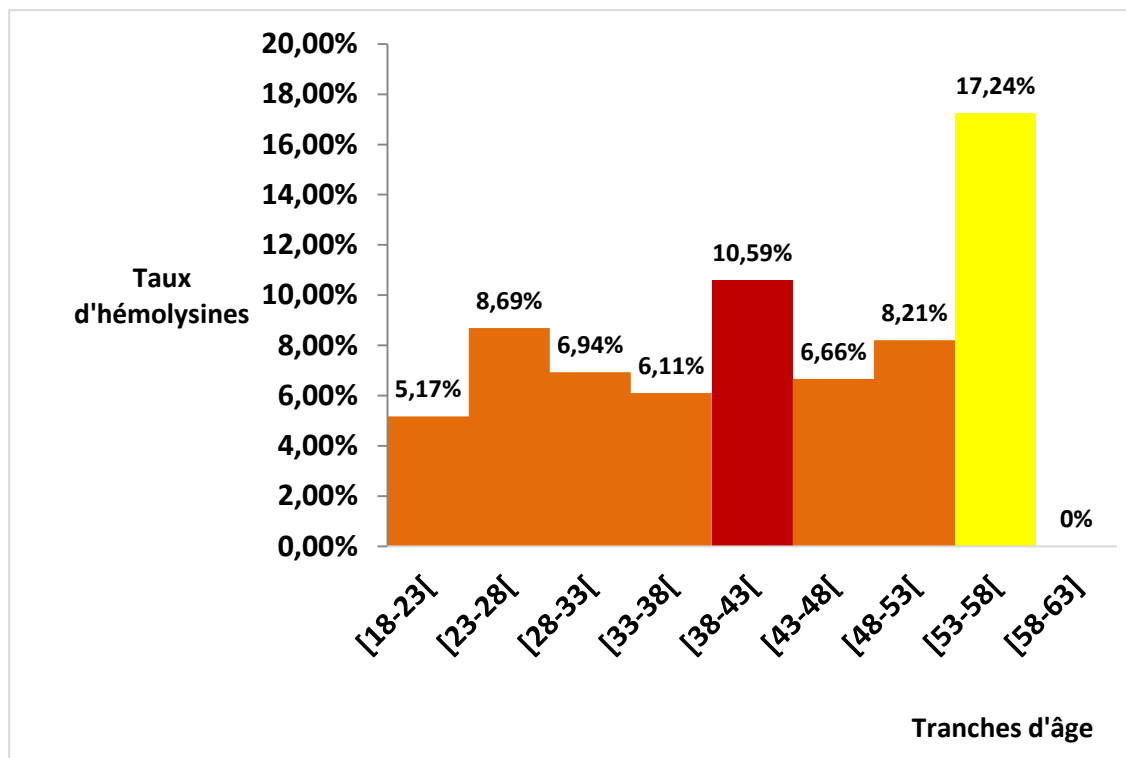


Figure 18 : Fréquence des hémolysines chez les donneurs de sang selon les tranches d'âges.

2.1.4. Fréquence des hémolysines Anti A et Anti B selon le Groupe sanguin

Le Groupe sanguin est significativement associé à la présence d'hémolysines avec une différence statistiquement significative ($P < 10^{-3}$).

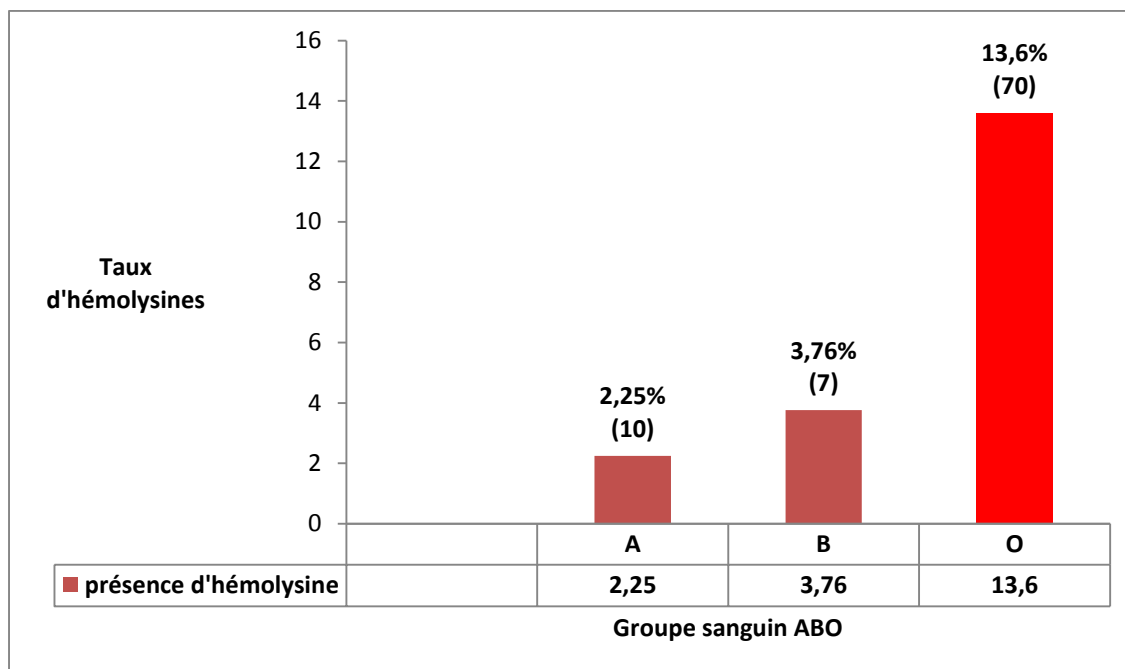


Figure 19 : Fréquence des hémolysines anti A et anti B selon le groupe sanguin ABO

2.1.5. Fréquence des hémolysines Anti A et Anti B selon le Rhésus D

Le Rhésus D est significativement associé à la présence d'hémolysines avec une différence statistiquement significative ($P < 10^{-3}$).

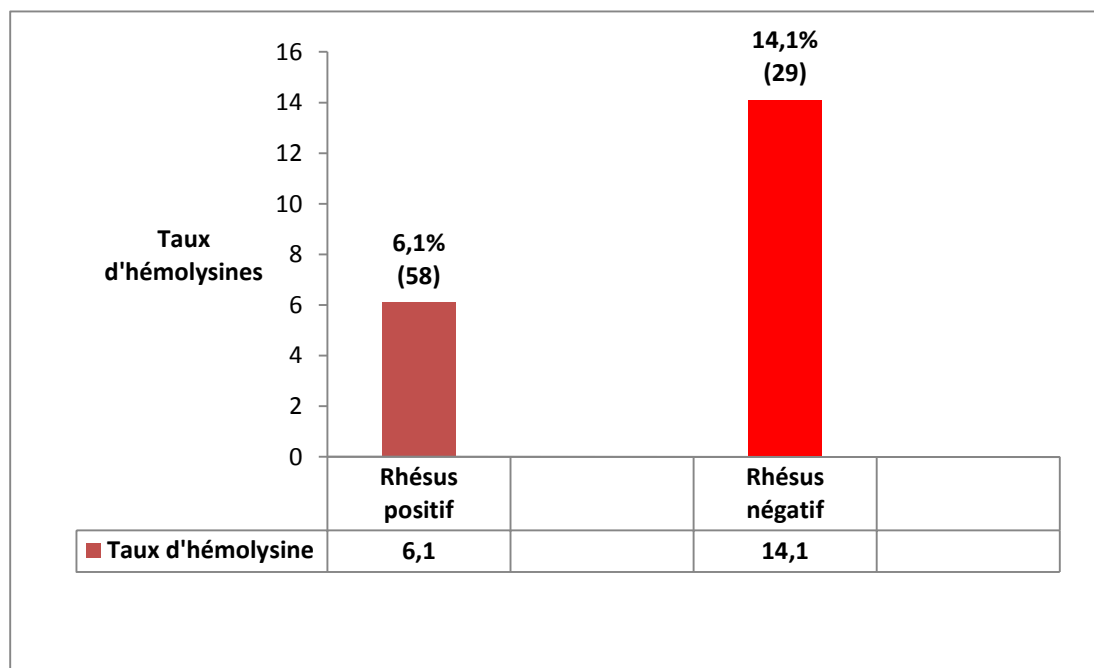


Figure20 : Fréquence des hémolysines anti A et anti B selon le Rhésus

2.2. Description de la population d'étude à hémolysines positives

2.2.1. Selon le genre

Prédominance du genre masculin dans la population des donneurs de sang porteurs d'hémolysines (86.20%) soit 75 donneurs avec un sexe-ratio de 6.25.

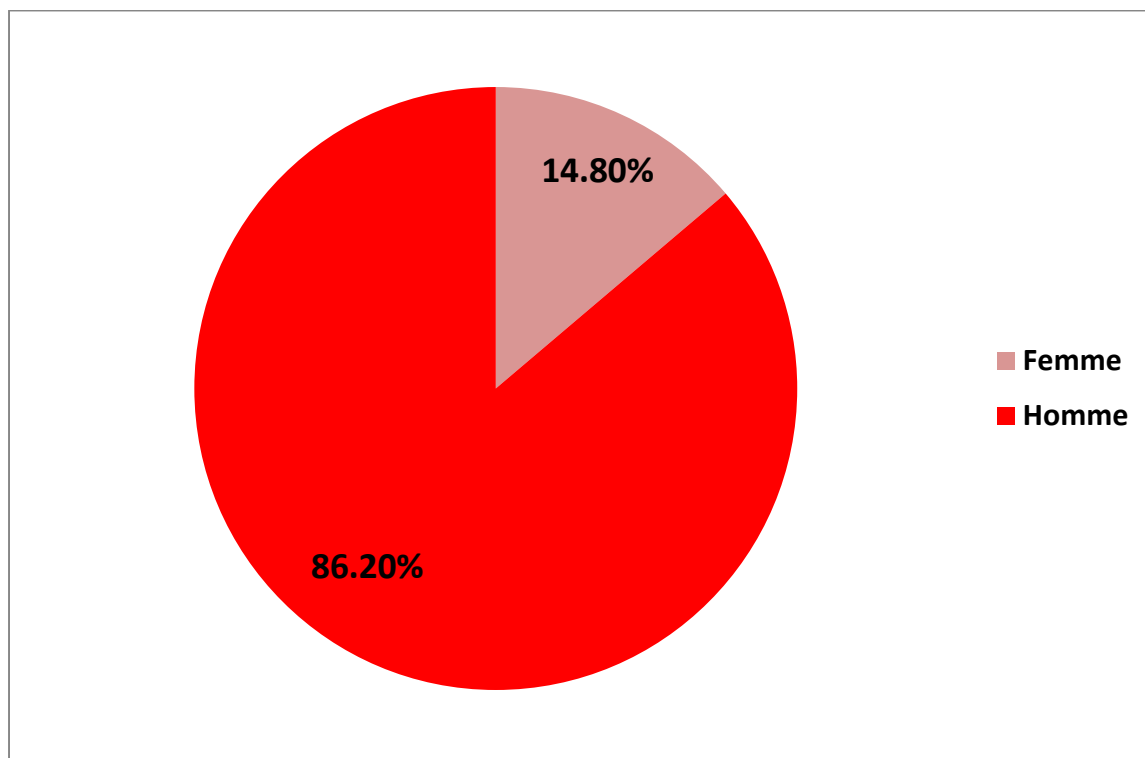


Figure 21 : Répartition des donneurs de sang à hémolysines positives selon le genre.

2.2.2. Selon les tranches d'âge

L'âge moyen des donneurs de sang à hémolysines positives est de $34,46 \pm 10,11$, avec des extrêmes d'âge allant de : 18 à 57 ans.

La majorité des donneurs possédant des hémolysines sont jeunes, ils appartiennent à la tranche d'âge [23-28] pour une fréquence de 20.70%.

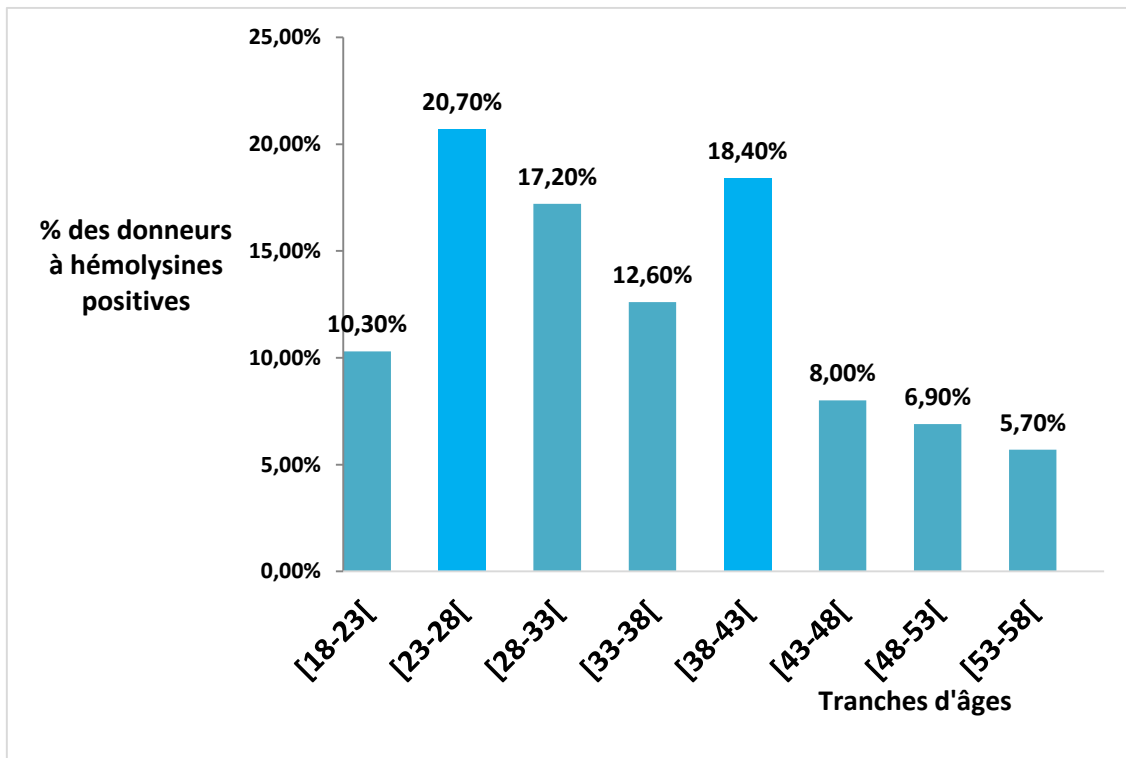


Figure 22 : Répartition des donneurs de sang à hémolysine positive selon les tranches d'âges.

2.2.3. Selon le groupe sanguin ABO

Le groupe sanguin O est majoritaire avec un taux de 80.5%, suivi du A et du B avec des taux respectifs de 11.50% et de 8%. Il existe une différence statistiquement significative entre la présence d'hémolysines et le groupe sanguin ABO ($p < 10^{-6}$).

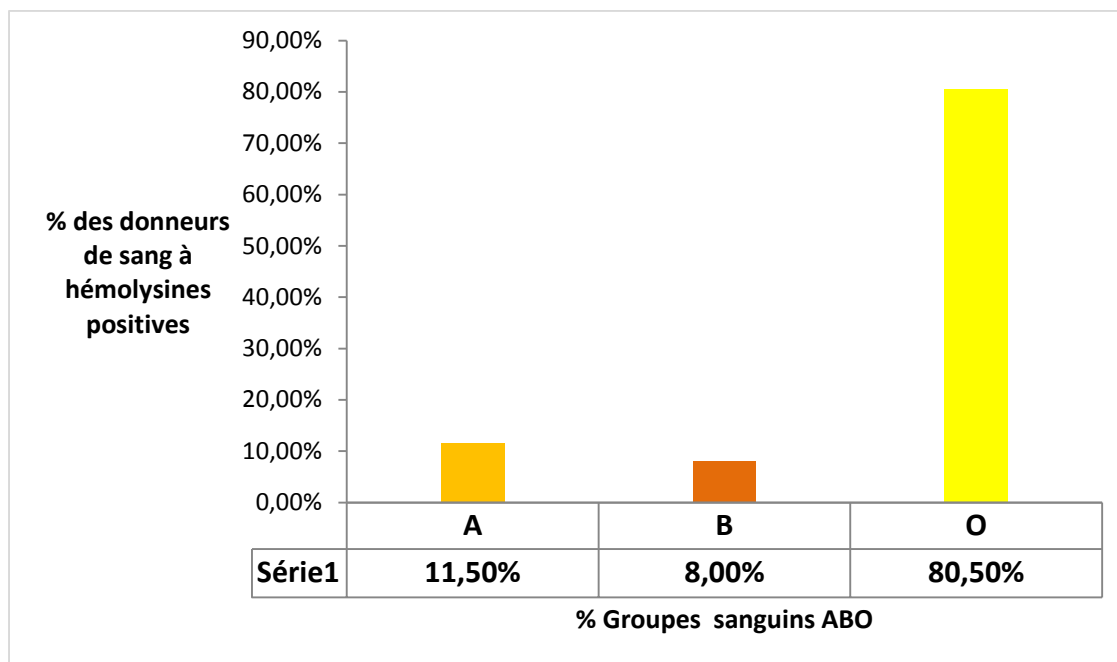


Figure 23 : Répartition des donneurs de sang à hémolysines positives selon le groupe sanguin ABO.

2.2.4. Selon le Rhésus D

Deux tiers des hémolysines sont présentes chez les donneurs de sang à Rhésus D positif avec une fréquence de 66.67%.

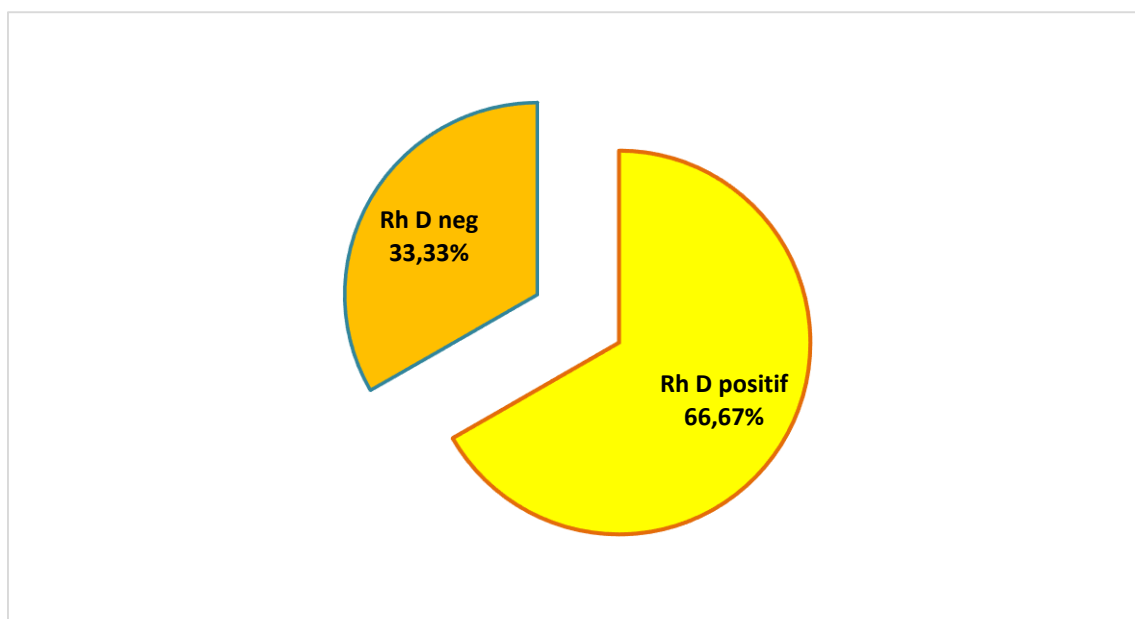


Figure 24 : Répartition des donneurs de sang à hémolysines positives selon le Rhésus D

2.2.5. Selon le groupe sanguin ABO et Rhésus D

L'étude a montré que près de la moitié des donneurs ayant des hémolysines positives sont de groupe sanguin O positif (51.72%) soit 45/87 donneurs de sang.

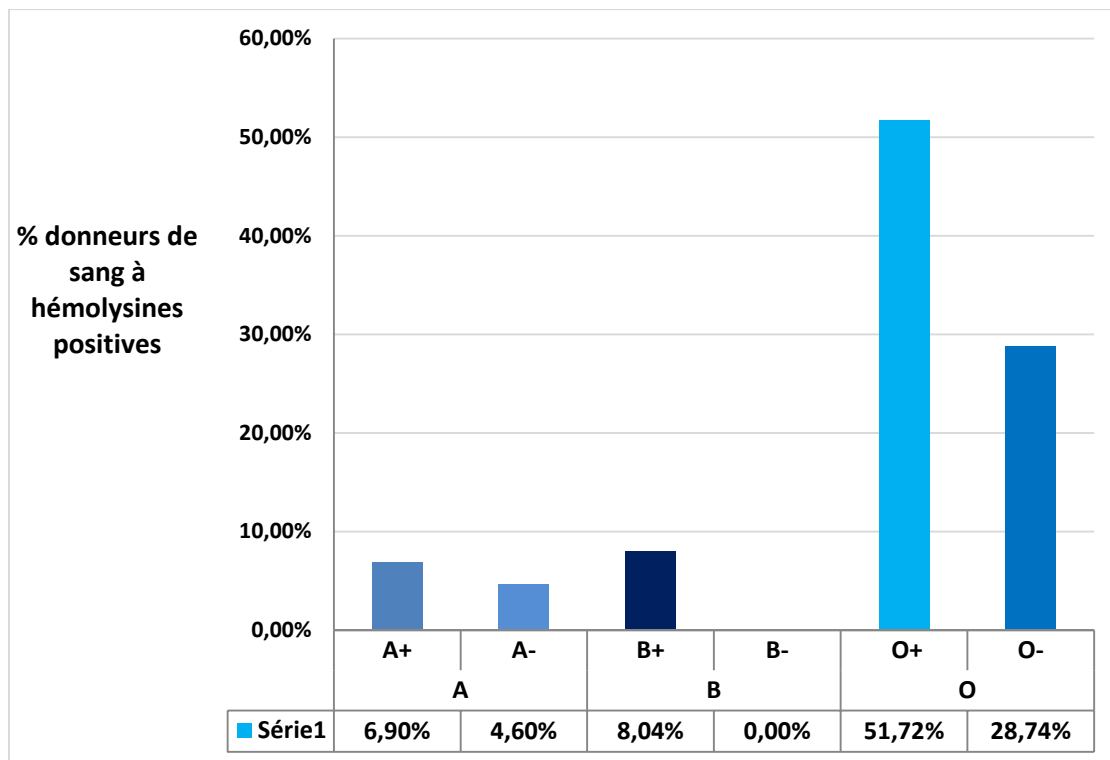


Figure 25 : Répartition des donneurs de sang à hémolysines positives selon le Groupe sanguin ABO et Rhésus D.

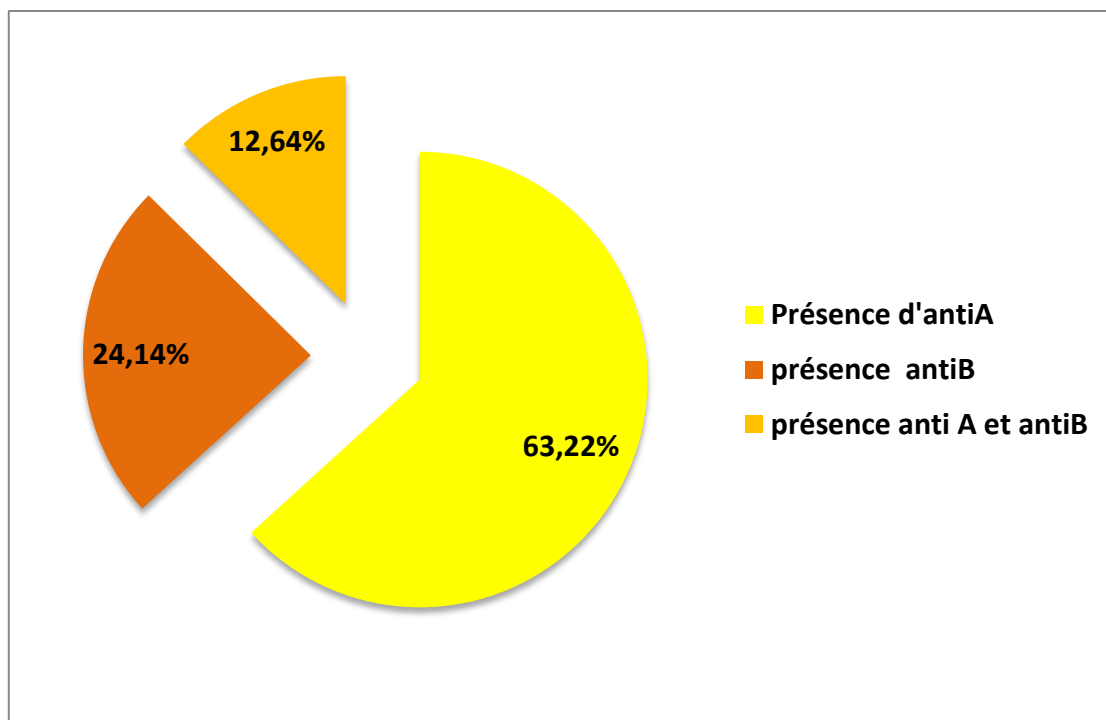
2.3. Répartition des hémolysines selon la spécificité de l'anticorps

2.3.1. Répartition globale des hémolysines anti A et anti B

L'hémolysine de type anti A est majoritaire avec un taux de 63.22%, suivie d'hémolysine anti B (24.14%), tandis que la présence concomitante d'hémolysines anti A et anti B est minoritaire soit 12.64%.

Tableau XI: Répartition des héolysines selon la spécificité d'anticorps.

	Anti-A	Anti-B	Anti-A et Anti-B	Total
Effectifs	55	21	11	87
Pourcentages	63,22 %	24,14 %	12,64%	100%

**Figure 26 :** Répartition globale des donneurs de sang à hémolysines positives selon leur spécificité.

2.3.2. Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le genre et leur spécificité

Les hémolysines anti A et anti A + anti B sont plus fréquentes chez l'homme avec des taux respectifs de 64% et de 13,33%. Tandis que les hémolysines anti B sont plus fréquentes chez la femme avec un taux de 33,33%.

Tableau XII : Répartition des donneurs de sang a hémolysines anti A, anti B et anti A+anti B selon le genre

		Anti-A	Anti-B	Anti-A et Anti-B	Total
Homme	Effectifs (n)	48	17	10	75
	Pourcentages (%)	64%	22.67%	13.33%	100%
Femme	Effectifs (n)	7	4	1	12
	Pourcentages (%)	58.34%	33.33%	3.33%	100%

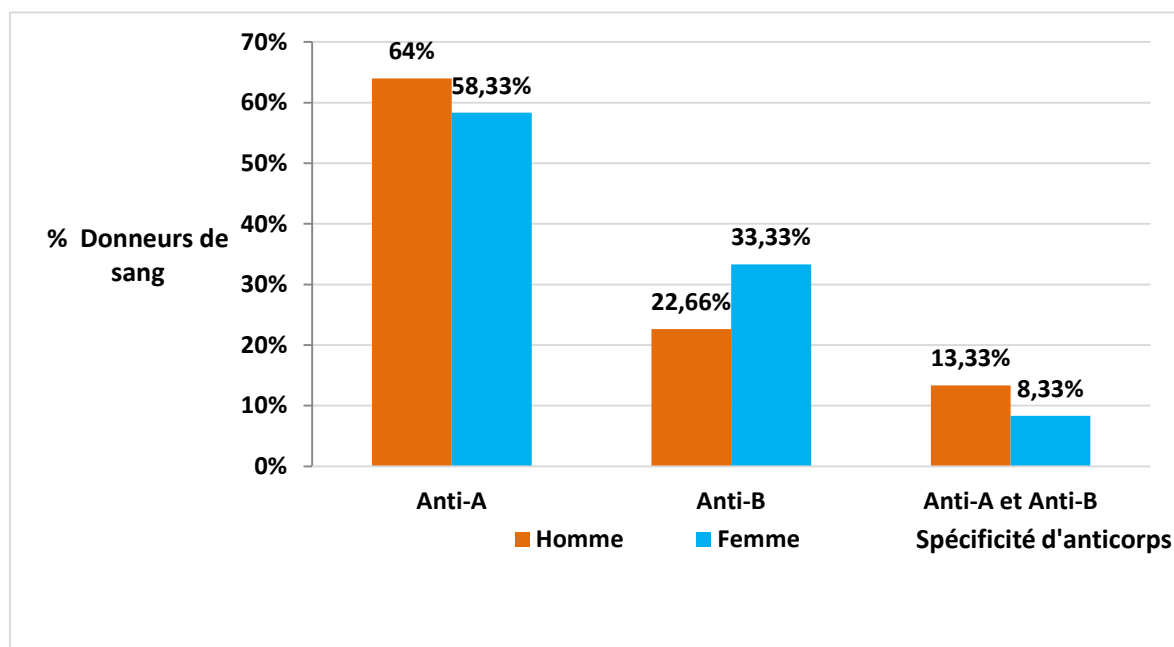


Figure 27 : Répartition des donneurs de sang a hémolysines anti A, anti B et anti A+ anti B selon le genre.

2.3.3. Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon les tranches d'âge et la spécificité de l'anticorps

L'hémolysine anti A est presque majoritaire dans toutes les tranches d'âge. Les donneurs appartenant à la tranche d'âge [18-23] possèdent plus d'hémolysine de type anti B

La présence à la fois d'anti A et d'anti B est prédominante chez les sujets ayant l'âge entre [33-38].

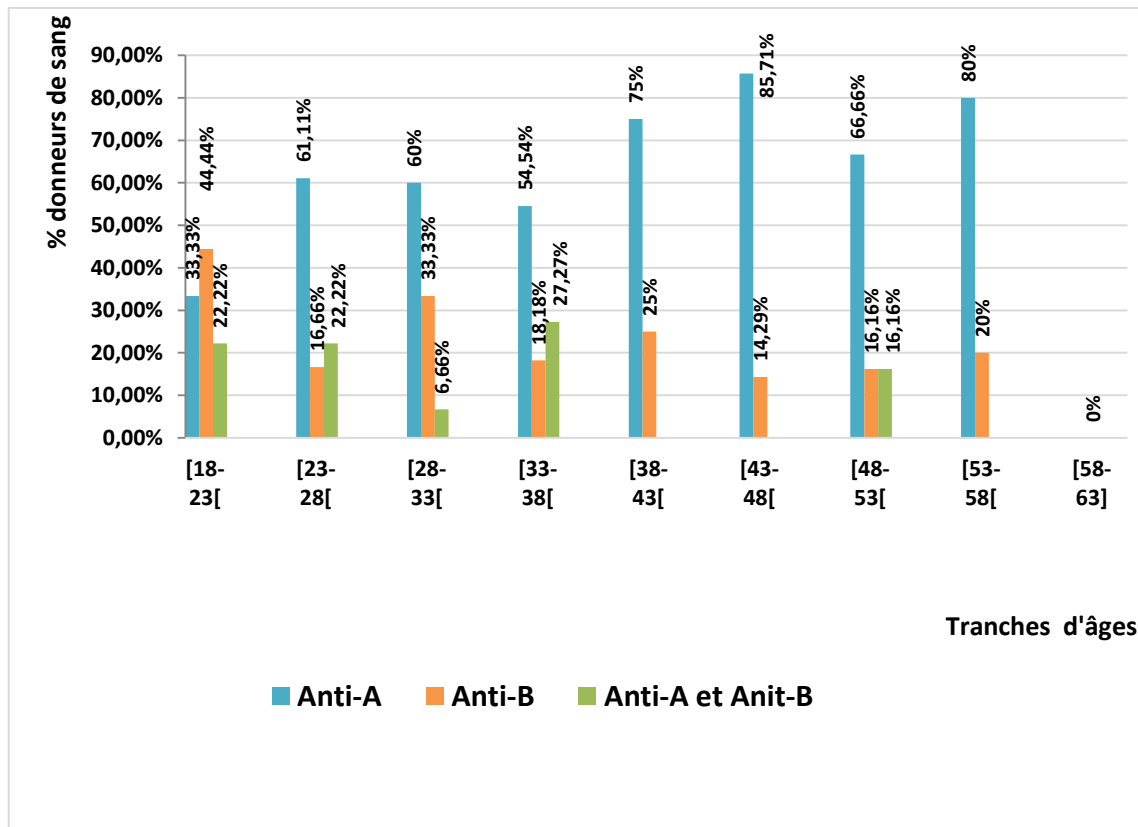


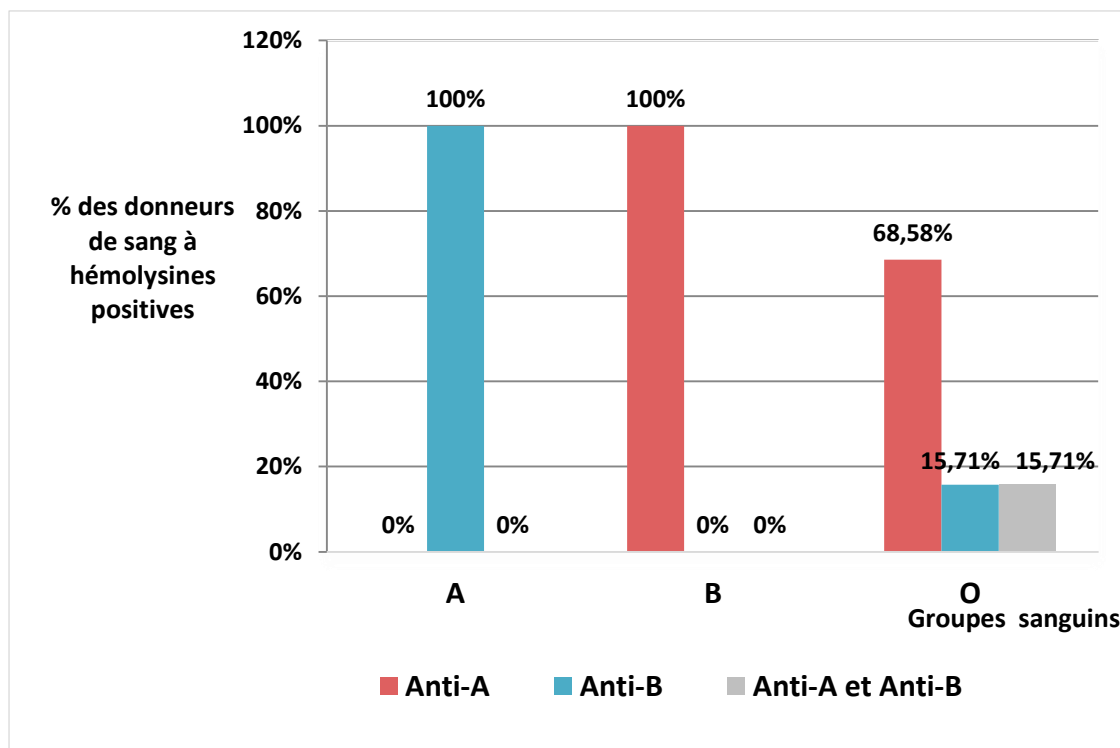
Figure 28 : Répartition des donneurs de sang à hémolysines anti A, anti B et anti A +anti B selon les tranches d'âges.

2.3.4. Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le groupe sanguin et la spécificité de l'anticorps

Nous avons retrouvé que les hémolysines de type anti-A sont plus fréquentes chez les donneurs de sang de groupe sanguin O avec 68.57%, tandis que celles de l'anti-B et celles de l'anti-A et de l'anti-B à la fois présentent chacun une fréquence de 15.71%.

Tableau XIII : Répartition des donneurs de sang à hémolysines anti A;anti B et anti A + anti B selon le groupe sanguin ABO.

		Anti-A	Anti-B	Anti-A et Anti-B	Total
A	Effectifs (n)	0	10	0	10
	Pourcentages (%)	0%	100%	0%	100%
B	Effectifs (n)	7	0	0	7
	Pourcentages (%)	100%	0%	0%	100%
O	Effectifs (n)	48	11	11	70
	Pourcentages (%)	68.58%	15.71%	15.71%	100%

**Figure 29** : Répartition des donneurs de sang à hémolysines anti A, anti B et anti A+anti B selon le groupe sanguin ABO.

2.3.5. Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le Rhésus D et la spécificité d'anticorps

Les hémolysines de type anti-A sont fréquentes chez les donneurs de sang à Rhésus D positif avec 68.97%, alors que la présence à la fois de l'anti-A et de l'anti -B est fréquente chez ceux à Rhésus D négatif.

Les hémolysines anti-B sont présentes de manière égale entre les deux types de Rhésus D.

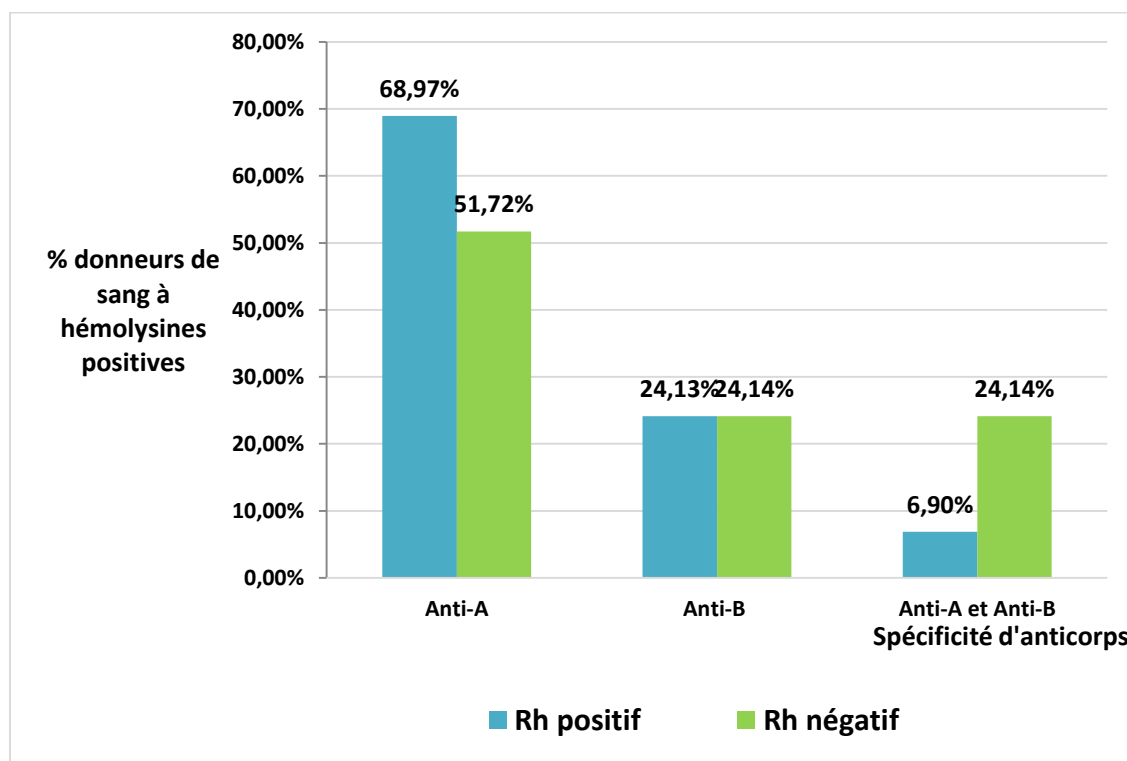


Figure 30 : Répartition des donneurs de sang à hémolysines anti A, anti B et anti A+anti B selon le Rhésus D.

2.4. Résultats du titrage des hémolysines

2.4.1. Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le titre

Environ la moitié des hémolysines retrouvées ont un titre 2 (43/87 hémolysines) soit 49,43% , suivi du titre 4 dans 39/87 cas soit 44,82%, tandis que le titre 8 et 16 sont minoritaires avec des taux respectifs de 3,45% et 2,30% ($p < 10^{-3}$).

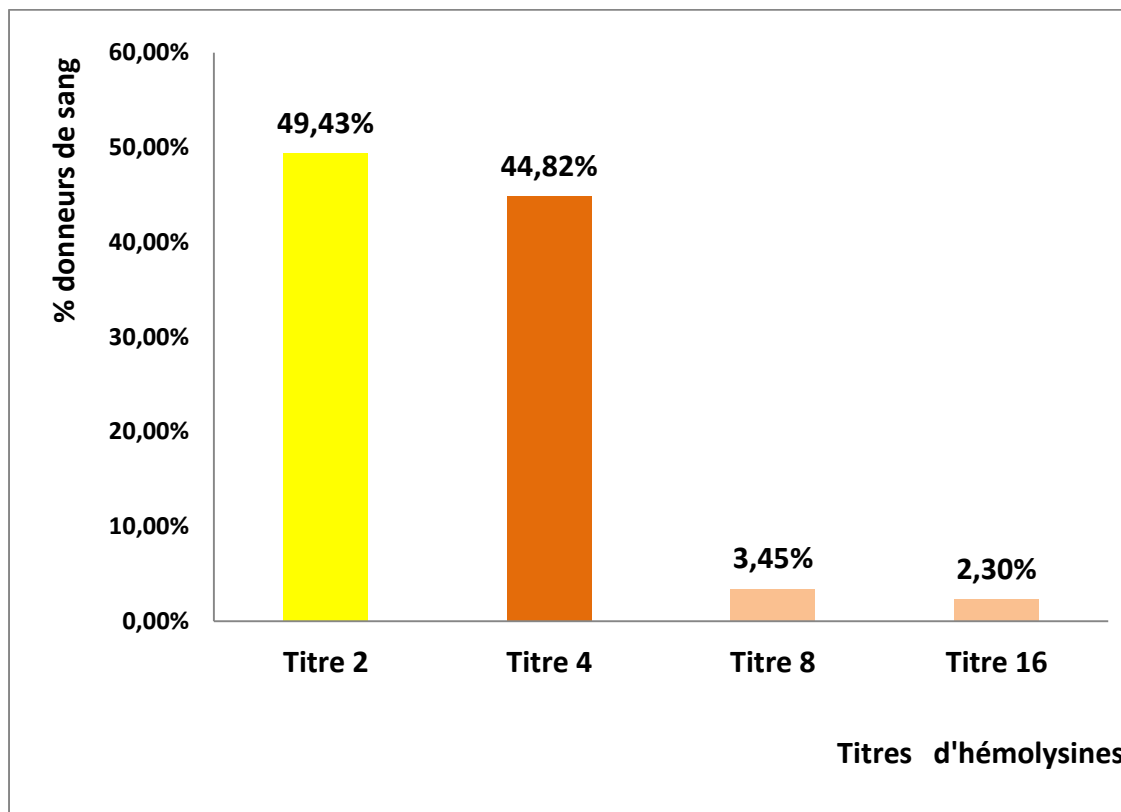


Figure 31 : Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le titre.

2.4.2. Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le genre et le titre

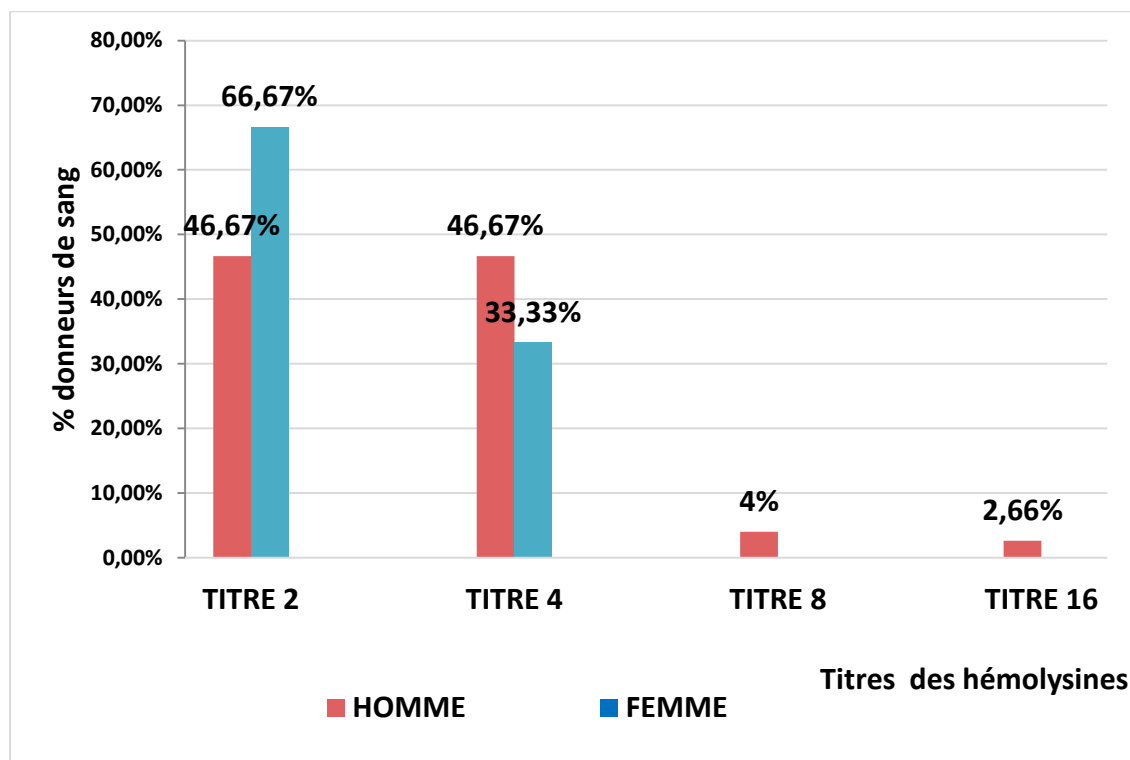
Le titre 2 et 4 sont majoritaires chez les donneurs de sexe masculin à des proportions égales 46,67% soit 35/75 donneurs.

Le titre 2 est majoritaire chez les donneurs de sexe féminin 66,67% soit 08/12 donneuses.

Le titre 8 et le titre 16 sont retrouvés uniquement chez les donneurs de sexe masculin à des proportions minoritaires qui sont respectivement 4% et 2,66% soit 3/75 et 2/75 donneurs.

Tableau XIV : Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le titre et le genre.

		Titre 2	Titre 4	Titre 8	Titre 16	Total
Homme	Effectifs (n)	35	35	3	2	75
	Pourcentages (%)	46.67%	46.67%	4%	2.66%	100%
Femme	Effectifs (n)	8	4	0	0	12
	Pourcentages (%)	66.67%	33.33%	0%	0%	100%

**Figure 32** : Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le genre et le titre.

2.4.3. Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon les tranches d'âges et le titre

Le titre 2 est fréquent chez les DDS ayant l'âge entre [48-53[;

Le titre 4 est plus fréquents chez les DDS ayant l'âge entre [38-43[;

Le titre 8 est plus fréquent chez les DDS ayant l'âge entre [53-58[;

Le titre 16 est fréquent chez les DDS ayant [43-48[.

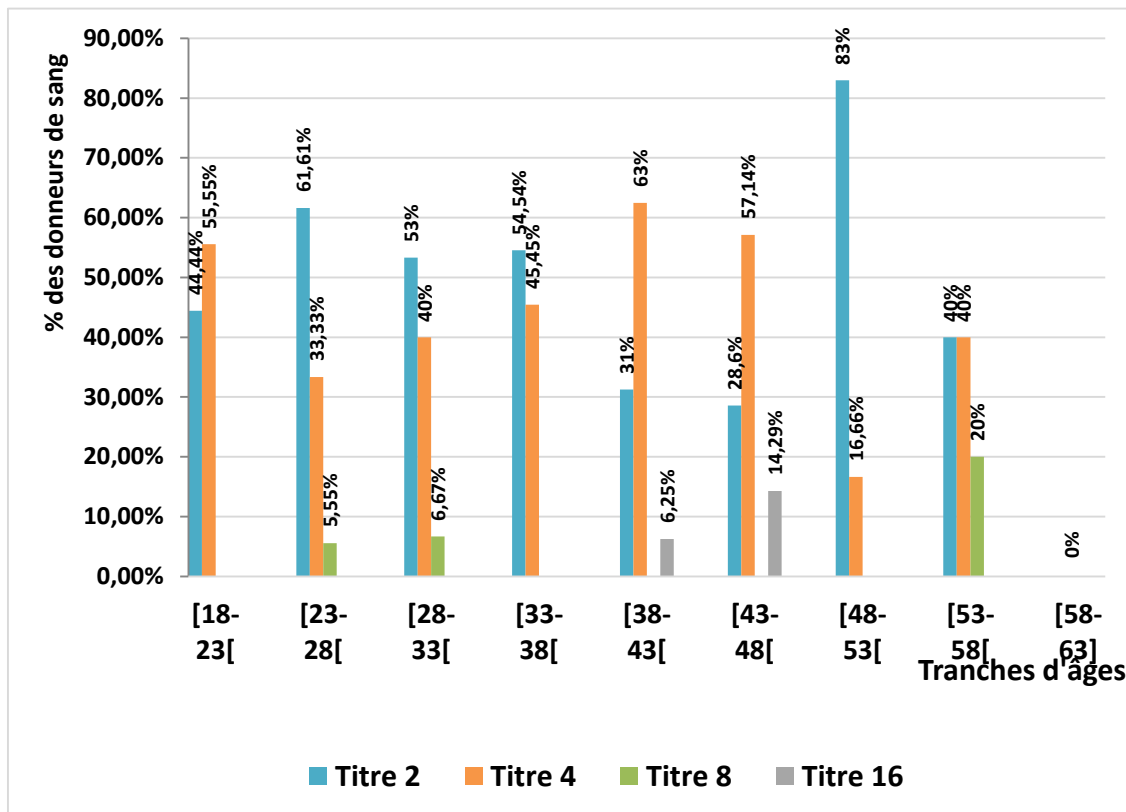


Figure 33 : Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon les tranches d'âges et le titre.

2.4.4. Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le groupe sanguin ABO et le titre

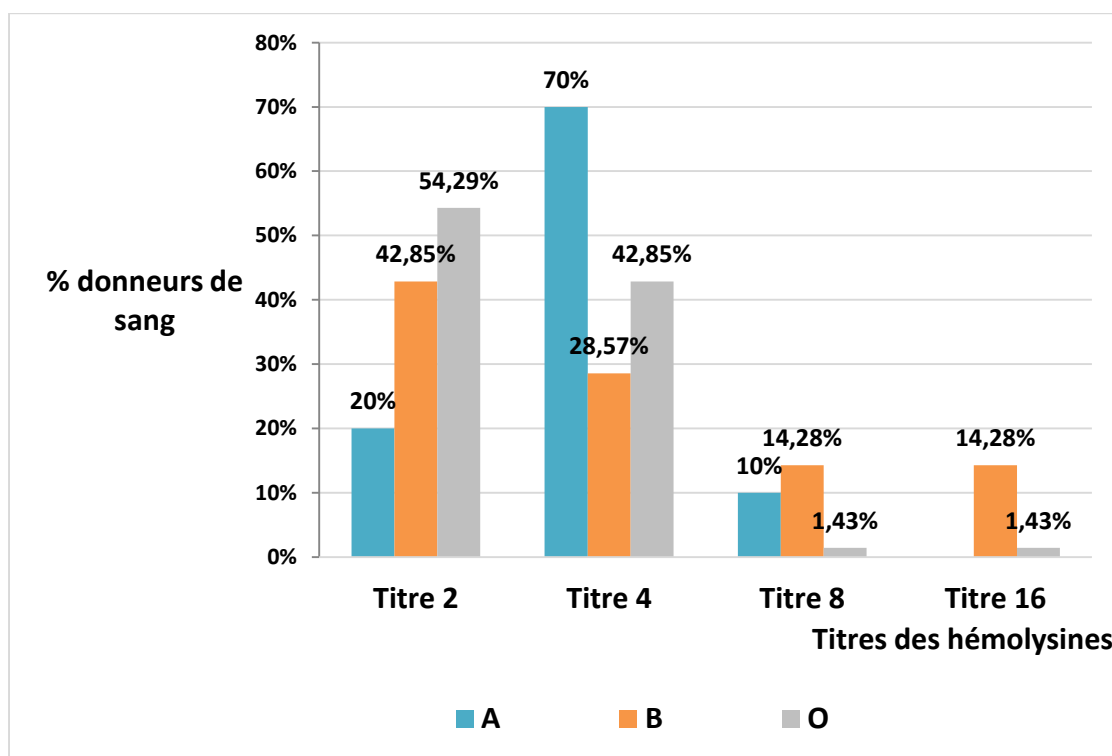
Le titre 2 est plus fréquent chez les donneurs de groupe sanguin B et O avec des taux respectifs de 42.88% et 54.29%.

Le titre 4 est majoritaire chez les donneurs de groupe A avec un taux de 70%.

Le titre 8 et 16 sont plus fréquents chez les donneurs de groupe B à des proportions égales de 14.29%

Tableau XV : Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le groupe sanguin ABO et le titre.

		Titre 2	Titre 4	Titre 8	Titre 16	Total
A	Effectifs (n)	2	7	1	0	10
	Pourcentages (%)	20%	70%	10%	0%	100%
B	Effectifs (n)	3	2	1	1	7
	Pourcentages (%)	42.85%	28.57%	14.29%	14.29%	100%
O	Effectifs (n)	38	30	1	1	70
	Pourcentages (%)	54.29%	42.85%	1.43%	1.43%	100%

**Figure 34** : Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon le groupe sanguin ABO et le titre.

2.4.5. Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon la spécificité de l'hémolysine et le titre

Le titre 2 est fréquent chez les donneurs de sang ayant des hémolysines anti A avec un taux de 52.72% soit 29/ 55 donneurs.

Le titre 4 est fréquent chez les donneurs de sang ayant des hémolysines anti B avec un taux de 66.67% soit 14/21 donneurs.

Tableau XVI : Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon la spécificité de l'hémolysine et le titre.

		Titre 2	Titre 4	Titre 8	Titre 16	Total
Anti A	Effectifs (n)	29	22	2	2	55
	Pourcentages (%)	52.72%	40%	3.64%	3.64%	100%
Anti B	Effectifs (n)	6	14	1	0	21
	Pourcentages (%)	28.57%	66.67%	4.76%	0%	100%
Anti A et Anti B	Effectifs (n)	8	3	0	0	11
	Pourcentages (%)	72.73%	27.27%	0%	0%	100%

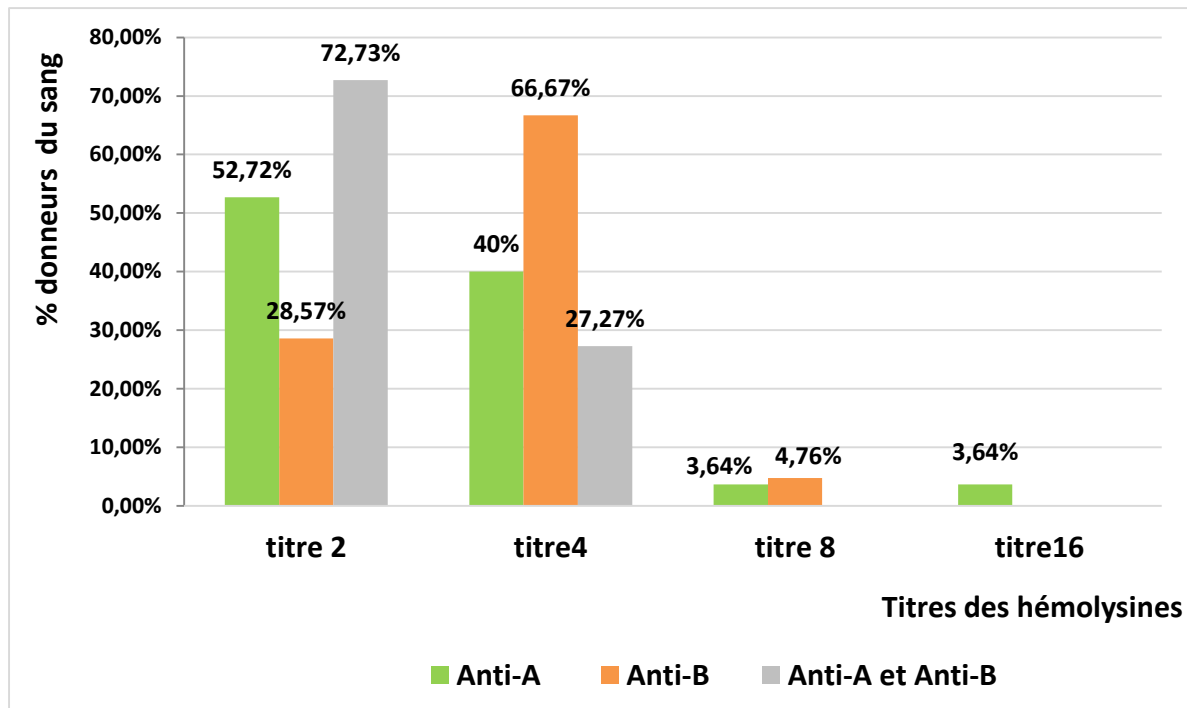


Figure 35: Répartition des hémolysines chez les donneurs de sang selon la spécificité de l'hémolysine et le titre

2.5. Groupe sanguin O porteurs d'hémolysines

2.5.1. Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines

La fréquence des hémolysines chez les donneurs de groupe sanguin O est de 13.60% soit 70/514 donneurs.

Tableau XVII : Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines.

	Absence d'hémolysines	Présence d'hémolysines	Total
Effectifs	444	70	514
Fréquences %	86.40%	13.60%	100%

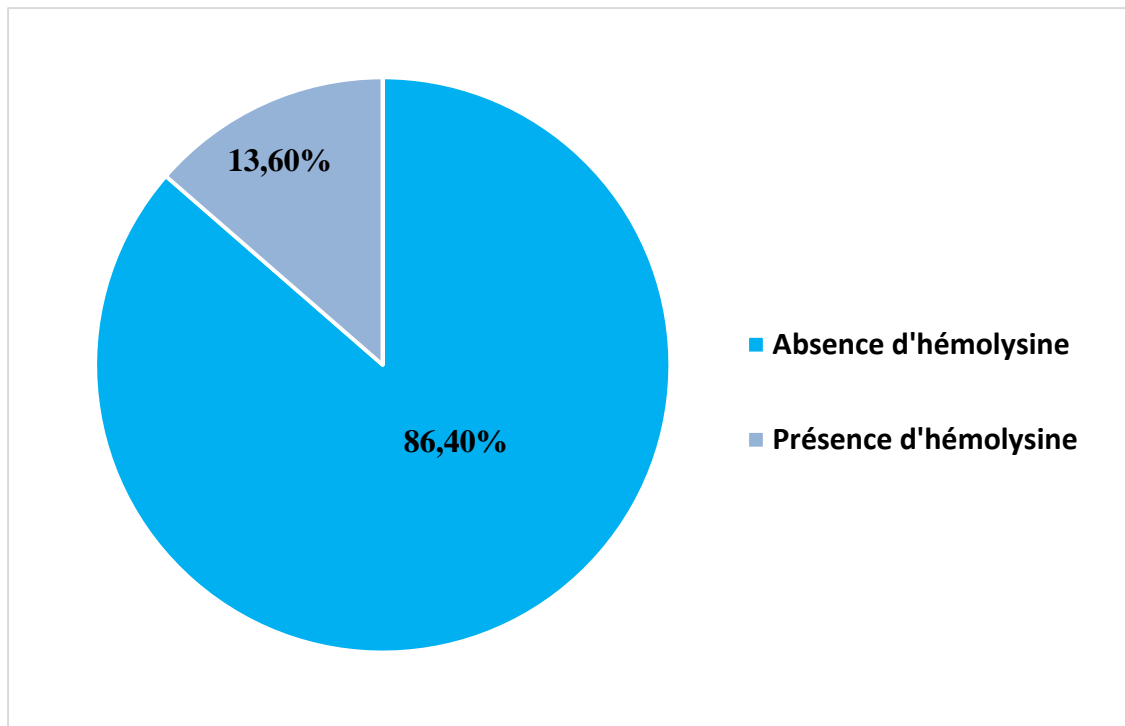


Figure 36 : Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines

2.5.2. Répartition des donneurs de sang a groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon le genre

Sur les 70 donneurs de groupe sanguin O porteurs d'hémolysines, le genre masculin est majoritaire avec 85.71% soit 60/70 donneurs.

Tableau XVIII : Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon le genre.

	Homme	Femme	Total
Effectif	60	10	70
Fréquence	85.71%	14.29%	100%

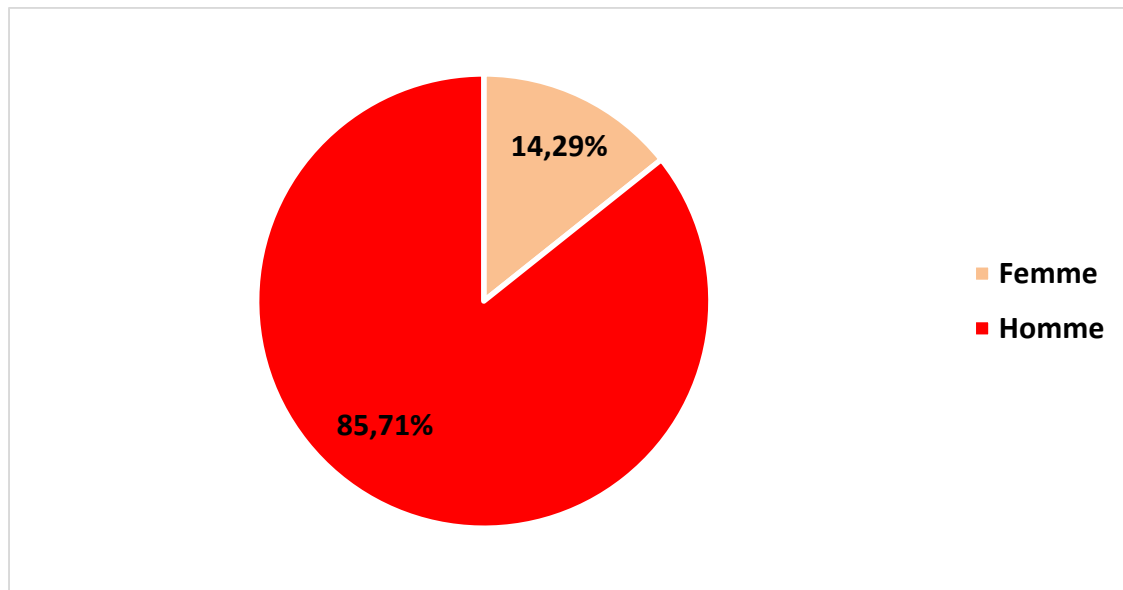


Figure 37 : Répartition des donneurs de sang a groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon le genre.

2.5.3. Répartition des donneurs de sang a groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon les tranches d'âge

Les donneurs de groupe sanguin O possédant des hémolysines sont plus fréquents dans la tranche d'âge [23-28[14/70 donneurs soit 20%.

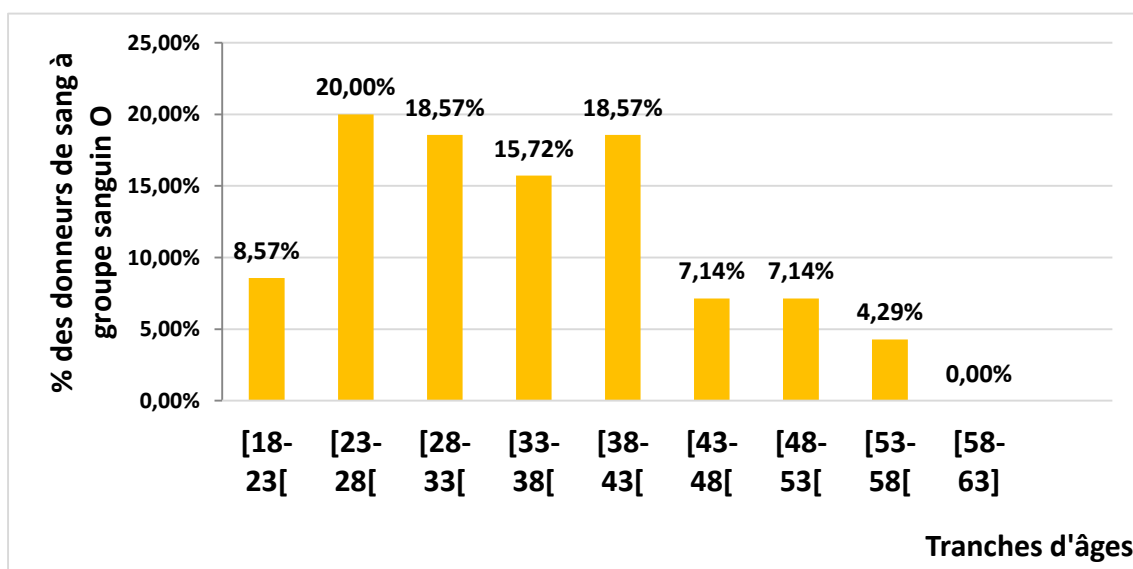


Figure 38: Répartition des donneurs de sang a groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon les tranches d'âge.

2.5.4. Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon le Rhésus

Sur les 70 donneurs de groupe sanguin O porteurs d'hémolysines ; le rhésus D positif est majoritaire avec 64.29% soit 45/70 donneurs.

Tableau XIX : Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon le Rhésus D.

	Rhésus Positif	Rhésus Négatif	Total
Effectif	45	25	70
Fréquence	64.29%	35.71%	100%

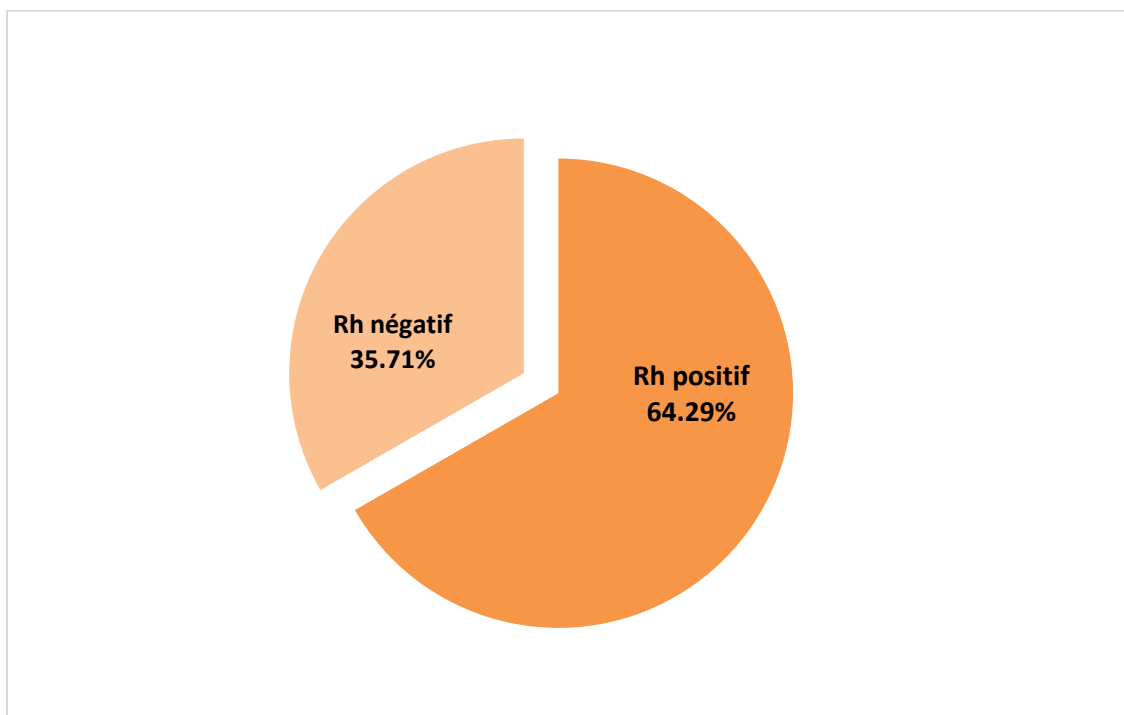


Figure 39 : Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon le Rhésus D.

2.5.5. Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon la spécificité d'anticorps

Chez les donneurs de groupe sanguin O, la fréquence des hémolysines de type Anti-A est plus fréquente avec 68.6% soit 48/70 donneurs.

Tableau XX : Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon la spécificité d'anticorps.

	Anti-A	Anti-B	Anti-A et Anti-B	Total
Effectifs	48	11	11	70
Fréquences %	68.6%	15.7%	15.7%	100%

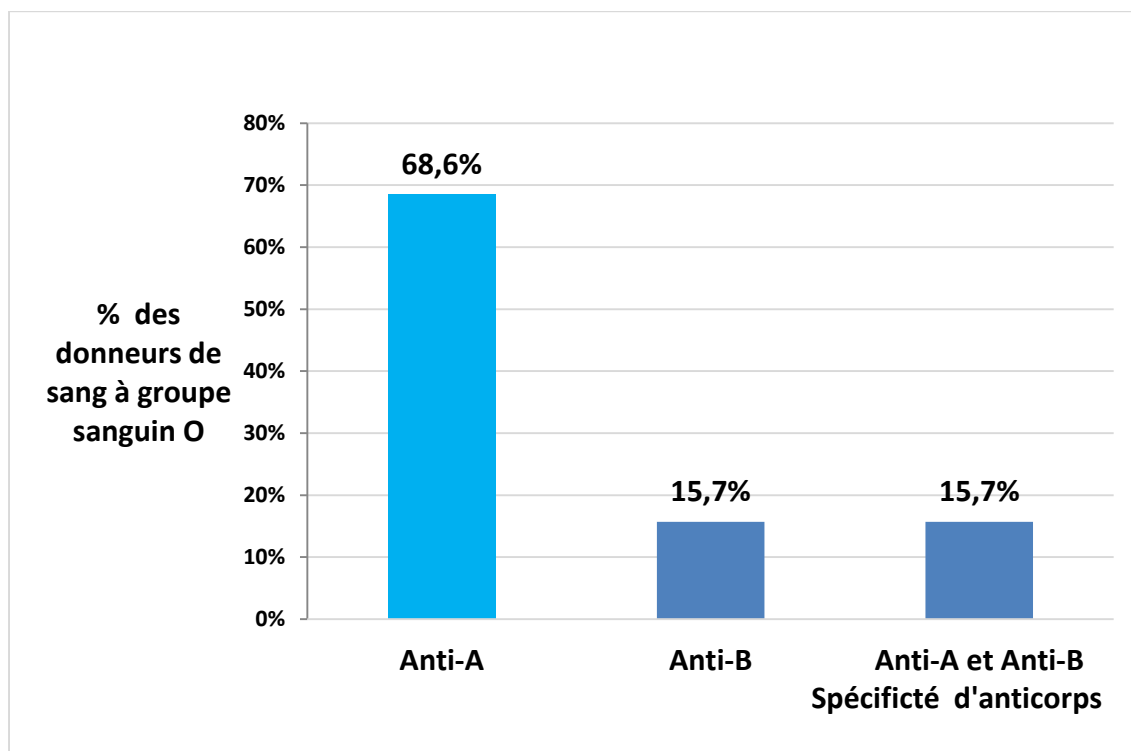


Figure 40 : Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon la spécificité de l'anticorps.

2.5.6. Répartition des donneurs de sang a groupe sanguin O porteur d'hémolysines selon le titre

Plus de la moitié des hémolysines retrouvées chez les donneurs de groupe O ont un titre de 2 avec 54.28% soit 38/70 donneurs.

Tableau XXI : Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon le titre.

	Titre 2	Titre 4	Titre 8	Titre 16	Total
Effectifs	38	30	01	01	70
Pourcentage %	54.28%	42.86%	1.43%	1.43%	100%

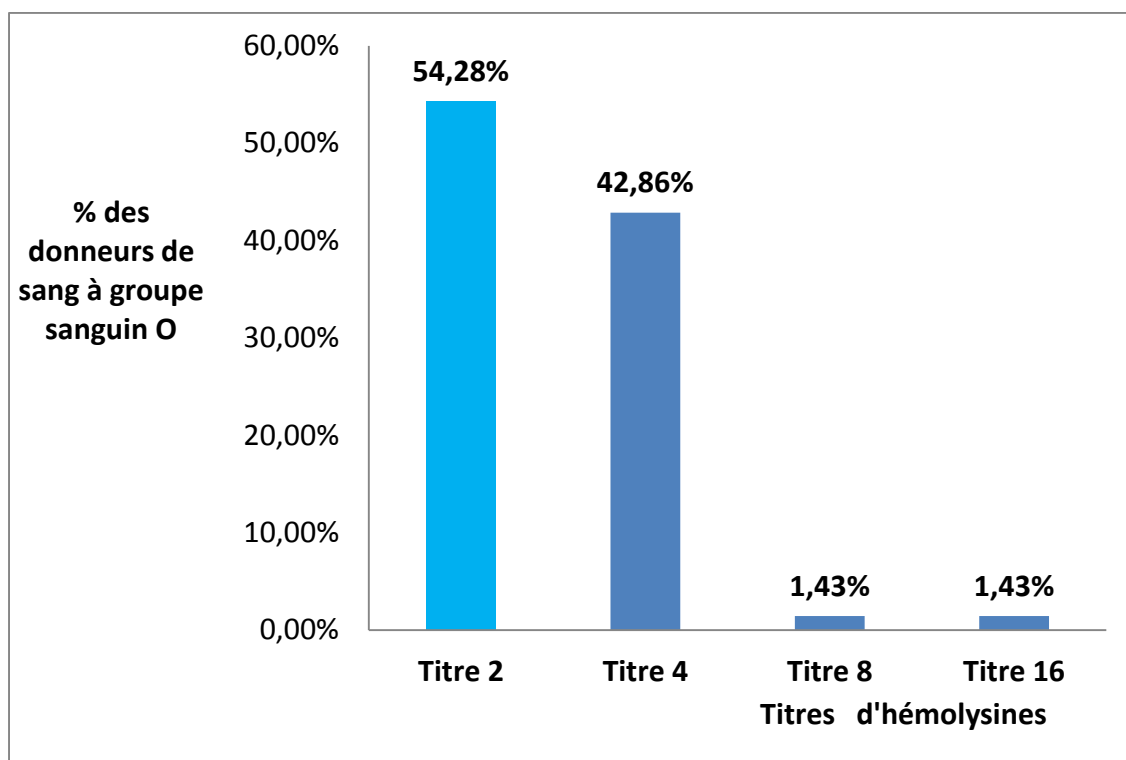


Figure 41 : Répartition des donneurs de sang à groupe sanguin O porteurs d'hémolysines selon le titre.

III. Discussion

III. Discussion

• Biais et contrainte

Vu que toutes les paillasses du CTS ont été occupées par le personnel, il nous a été difficile de trouver le matériel nécessaire pour le dosage voulu.

Les registres et les fiches des donneurs nous ont certes beaucoup aidés mais nous n'avons hélas pas retrouvé toutes les informations voulues (grossesse, vaccination, sérothérapie....)

Notre étude effectuée au CTSW de Tizi Ouzou, durant une période de 3 mois : du 28 Février 2021 au 9 Mai 2021, a porté sur 1143 donneurs de sang afin de rechercher des hémolysines anti-A et anti-B dans le plasma de chacun de ces donneurs et de déterminer leur fréquence quel que soit le groupe sanguin ABO Rh D.

Cette étude montre qu'il y a plus de donneurs que de donneuses bénévoles de sang (homme 92%, femme 8%) Ces résultats sont d'une part dus au fait que les femmes manquent de volonté et d'autre part dus aux contre-indications qui frappent les femmes enceintes, allaitantes ou les jeunes filles et les femmes en période de menstrues.

Nous avons retrouvé des hémolysines chez 87 DDS sur les 1143 collectés soit une fréquence de 7.60 %, avec une différence significative selon le sexe ($p= 0,03$). Une prédominance du sexe féminin 13.18% versus 7,12 % chez les hommes a été observée sans prédominance d'une tranche d'âge par rapport à l'autre malgré des taux qui vont de 5.17% à 17.24%. Contrairement aux résultats qui ont été observés dans l'étude de Louati et Al menée en Tunisie au CRTS de Sfax en 2008 sur 2824 DDS (3). La fréquence d'hémolysines était de 4.67%, avec un taux de 4.41 % chez les hommes et 4.99 chez les femmes (une différence non significative selon le sexe $p = 0.471$).

Les donneurs de sang de groupe O avec hémolysines positives étaient prédominants (70/514 DDS soit 13.60 %) par rapport au groupe A et au groupe B avec des fréquences respectives de 2,25 % (10/443) et 3,76 % (07/186) et une différence statistiquement significative $p < 10^{-6}$.

Les sujets de groupe O développent plus des hémolysines vu que celui-ci est le plus fréquent dans le monde et est dépourvu des deux Ag : A et B, la majorité de ces donneurs

de sang avaient un rhésus positif 45/70 DDS à hémolysines positifs soit 64.29%.

Ces résultats sont comparables à ceux trouvés à Tlemcen par Kebib en 2015 qui a trouvé un taux d'hémolysines de 17,19% chez 128 DDS de groupe sanguin O (116) tandis qu'au Burkina Faso, selon une étude menée en 2017 par Sawadogo et al et qui a concerné 370 DDS, le taux des hémolysines était relativement élevé 37,60% (117), de même au Zimbabwe selon l'étude de Adewuyi et al en 1994 qui a concerné 296 donneurs de groupe sanguin O, la prévalence des hémolysines était de 42,90 % (118).

Au Nigeria en 1985, Kulkarni et al ont mené une étude sur 5380 DDS de groupe O et ils ont constaté une prévalence allant de 17,30 % jusqu'à 60,20 % selon le groupe ethnique, les hémolysines étaient plus fréquentes au sud du Nigeria, les insectes qui y sévissent pourraient être à l'origine de cette immunisation qui est plus puissante que les A et B-like antigènes des bactéries intestinales (119).

La majorité des hémolysines dans notre étude ont été retrouvées chez les donneurs de groupe O jeunes âgés de moins de 38 ans avec un taux de 62,86%, ces résultats sont comparables à ceux retrouvés par Kebib (116) qui a retrouvé une fréquence d'hémolysines de 77,27 % chez les DDS âgés de moins de 40 ans (116).

Dans l'étude de Louati et al, un très faible taux d'hémolysines anti-A et anti-B chez les sujets de groupe O (1,98 %) a été retrouvé (3) et rassure de la faible éventualité d'accidents par donneur universel dangereux. D'autres études, ont été réalisées sur le sujet et ont montré des résultats variables. Nous avons l'exemple de l'étude de Garretta et al portant sur 1000 DDS de groupe O, il a trouvé un taux d'hémolysines anti A à 7 % (120). La même étude a été faite par la technique d'inhibition de l'agglutination par les substances de groupe solubles A et B a montré un taux d'hémolysines anti A à 3,8 %.

Plusieurs études Nigériennes ont montré des taux d'hémolysines élevés. En 1990, Emeribe, dans une étude sur 602 donneurs de groupe ABO a trouvé un taux d'hémolysines à 21,4 % avec des variations selon les groupes : groupe sanguin A 12,1% d'anti B, groupe sanguin B, 5 % d'anti A, groupe sanguin O 30,6 % d'anti-A et/ou anti B (121). Enfin, plus récemment, en 2001 Olawumia a trouvé, dans son étude de 250 donneurs de sang de groupe sanguin O 23,2% d'hémolysines avec une fréquence 2 fois plus élevée d'hémolysines de spécificité anti- B et une absence de corrélation avec le sexe et l'âge

(122).

Concernant la spécificité des hémolysines, nous avons constaté que l'hémolysine de type anti-A a été majoritaire avec un taux de 63.22%, suivie d'hémolysine anti-B (24.14%), tandis que la présence concomitante d'hémolysines anti-A et anti-Ba été minoritaire soit 12.64%.

Ces résultats sont comparables à ceux qui ont été obtenus dans deux études nationales : une faite à Tizi Ouzou par nos camarades en 2017 et qui a concerné 1800 donneurs de sang de groupe A, B et O, 5.2 % d'entre eux ont présentés des hémolysines avec une prédominance de la spécificité anti-A (anti-A : 69.9%, anti-B : 23.7% et anti-A et anti-B : 6.5%) (123). L'autre étude est celle de Kebib à Tlemcen où le taux d'hémolysines était de 17 % avec une prédominance de la spécificité anti-A à 50 %, l'anti-B à 31.81% et 18.18% d'anti-A et d'anti-B à la fois (116). Ils sont également similaires aux résultats d'une étude Nigériane faite en 2013 par Erhabor et al sur 140 DDS, 50% des hémolysines retrouvées étaient de spécificité anti-A, 28,5% de spécificité anti-B et 21,4% de spécificité anti-A et anti-B. (124) Ceci pourrait être expliqué par le fait que l'Ag A est plus fréquent dans l'environnement (bactéries, virus, parasites, aliments, pollens, etc.) que l'Ag B.

Cependant, les résultats étaient différents de ceux rapportés en 2002 par Mathai et al en Inde et ceux de Khampanon et al en Thaïlande en 2012 (125) (126). La première étude a trouvé que la présence concomitante de l'anti-A et l'anti-B était prédominante (anti-A : 16.6%, anti-B : 10.7% et 55,6% les deux types d'Ac). Quant à la seconde, le taux des hémolysines anti-A et anti-B était respectivement de 18,3% et 16,7%, tandis que celle des anti-A et anti-B était de 34%.

Notre étude a fait ressortir que la présence d'hémolysines anti-A et anti-A plus anti-B sont plus fréquentes dans le sexe masculin avec des pourcentages respectifs de 64% et 13.33%. Tandis que l'hémolysine anti-B est plus fréquente chez la femme avec un taux de 33.33%.

L'hémolysine anti-A est presque majoritaire dans toutes les tranches d'âge. Les donneurs appartenant à la tranches d'âge [18-23] possèdent plus d'hémolysine de type anti-B, alors que la présence à la fois d'anti-A et anti-B est prédominante chez les sujets ayant l'âge entre [33-38].

Chez les DDS de groupe sanguin O à hémolysines positives, les hémolysines anti-A ont été prédominantes avec 68.60% tandis que les hémolysines anti-B et anti-A plus B ont été minoritaires avec des proportions de 15,70 %, cette prédominance des hémolysines anti-A a été également observée dans l'étude de Kebib à Tlemcen (116) ou l'anti-Aa constitué 50% des hémolysines totales.

Dans la population de race noire deux études ont révélé que l'anti-A était minoritaire :

La 1^{ère} est celle faite au Zimbabwe par Adewuyi et al en 1994 sur 296 DDS où 12,8 % des donneurs ont présenté des hémolysines anti-B et 5,1% ont présenté des anti-A tandis que seulement 0,7% des donneurs avaient des hémolysines anti-A et anti-B (118).

La 2^{ème} étude est celle faite au Burkina Faso par Sawadogo et al qui ont rapporté des fréquences d'anti-A et B et des anti-B de 14,00% et 13,80% respectivement. Les anti-A venaient en dernière position avec 9,70 % des donneurs de groupe O (117), ceci pourrait s'expliquer par le facteur génétique ou une race pourrait être susceptible de développer un anticorps plus qu'une autre race.

Les titres enregistrés chez notre population de groupe O à l'instar des autres groupes sanguins sont faibles, 97.14 % des hémolysines avaient un titre inférieur à 8, 54.28% avaient le titre 2 et 42.86% avaient le titre 4. Le titre le plus élevé était le titre 16, c'est ce qui a été observé même dans l'étude de Kebib à Tlemcen où les titres faibles 2 et 4 prédominaient et le titre le plus élevé était le titre 16 (116).

Au Zimbabwe, selon l'étude de Adewuyi et al les titres ont atteint la valeur de 2048, l'agglutination est observée microscopiquement, 18,6 % des hémolysines étaient de titre élevé (supérieur à 64) (118).

Au Nigeria les titres étaient encore plus élevés : 33,40% selon l'étude de worlledge et al en 1974 (127) et 32,3 % selon l'étude de Kulkarni et al (119).

***Conclusion
et recommandations***

Conclusion

Le système ABO demeure l'un des systèmes majeurs en termes d'implication clinique notamment en contexte transfusionnel. Cette importance est liée aux accidents immunologiques immédiats lors de la transfusion d'un produit sanguin labile essentiellement ABO incompatible.

Les modalités de son exploration, le développement des recommandations en terme de sélection de produits sanguins labiles notamment la recherche d'hémolysines anti A et anti B chez les donneurs dits O dangereux ont largement contribué à maîtriser le risque transfusionnelle lié à ce système.

Dans cette étude que nous avons réalisé au CTSW de Tizi Ouzou, sur une période de 3 mois, nous avons retrouvé sur les 1143 sérums étudiés, 87 soit 7.60 % ont présenté une hémolyse totale dans l'un ou les deux tubes. Ce qui signifie la présence d'une ou deux hémolysines.

Selon le sexe nous avons retrouvé un taux d'hémolysines à 7.12 % chez les hommes et 13.18 % chez les femmes (différence significative : $p=0.03$). L'étude selon la tranche d'âge a montré des taux d'hémolysines variables allant de 5.17 % à 17.24 % (différences non significatives, $p=0.33$).

En tenant compte du groupe sanguin ABO, les taux d'hémolysines retrouvés sont de : 13.6 % chez les donneurs de groupe O (86.6 % anti A, 15.7 % anti B et 15.7 % anti A et anti B), 2.25 % dans le groupe A, et 3.76 % dans le groupe B.

La différence entre les taux retrouvés chez les donneurs de groupe O et ceux de groupe non O est significative ($p < 0,001$).

Ce travail montre que les hémolysines anti-A et anti-B ne sont pas rares. A cet effet, leurs recherche chez le donneur de sang doit être systématique quelque soit son groupe sanguin ABO RhD, vu leurs fort pouvoir immunogène, afin de prévenir des accidents hémolytiques lors de la transfusion ABO non iso groupe pour assurer une sécurité transfusionnelle optimale.

L'allo-immunisation anti-ABO demeure jusqu'à présent une préoccupation première au regard de ses conséquences cliniques. Peu nombreux ont été les progrès réalisés ces dernières années en termes de compréhension des mécanismes physiopathologiques. Jusqu'à présent, seules les données issues du suivi des patients, tant du point de vue des accidents hémolytiques immunologiques post-transfusionnels que de la maladie hémolytique du fœtus/nouveau-né, ont donné des indications quant au risque réel lié à l'allo-immunisation anti-ABO.

Il n'est, en effet, possible d'établir l'intérêt transfusionnel ou non des hémolysines que si la fréquence de ce type d'anticorps chez les patients est suffisante pour faire l'objet d'une identification correcte par un laboratoire d'immuno-hématologie expérimenté, et ce en rapport avec des données cliniques suffisantes.

Recommandations

Nous proposons les recommandations suivantes :

- Elargir la recherche des hémolysines des poches de sang du groupe sanguin O aux poches de sang du groupe sanguin A et B.
- Transfuser les poches de sang dans lesquelles des hémolysines ont été mise en évidence en phéno-identique (iso-groupe).
- Renforcer les Centres de Transfusion Sanguine d'une part en personnels qualifiés, et d'autre part en matériels et équipements adéquats pour mettre en place des techniques plus sensibles dans le but d'affiner la recherche des hémolysine anti A et anti B.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

1. K. Landsteiner, P. Levine Further observations on individual differences of human blood. Proc. Soc. exp. Biol. N. Y. 1927, 24:941-2.
2. Bain BJ, Bates I, Laffan MA. Dacie and Lewis Practical Haematology. 12th ed. London:Elsevier, 2017 .
3. Louati.N,Cherif.J, Ben Amor.I,Rekik.H,Gargouri.J . Recherche des hémolysines chez les donneurs de sang .CRTS de Sfax .2008.
4. Fopa D, Tagny CT, Tebeu M, et al.Recherche et Titrage des hémolysines anti-A et anti-B chez les femmes en periode du postpartum immédiat au Centre Hospitalier et Universitaire de Yaoundé.Afr Sang2013;16:4–8.
5. Bigot A, Zohoun I, Kodjoh N. Étude de l'incompatibilité foeto-maternelle dans les système ABO à Cotonou :A propos de 16 cas.Médecine Afr Noire 1996; 43: 587–590.
6. Oyedeji O, Adeyemo T, Ogbenna A,et al.Prevalence of anti A and anti B hemolysis among blood group O donors in Lagos.Niger J Clin Pract 2015;18: 328–332, .
7. de França NDG, Poli MCC, de Almeida Ramos PG, et al. Titers of ABO antibodies in group O blood donors. Rev Bras Hematol Hemoter 2011; 33: 259–62.
8. Amita R, Vijayalakshmi K. Prevalence and Haemolytic Significance of Red Cell Antibodies among Dangerous Universal Donors in a Tertiary Care Hospital in South India. Int J Med Lab. Epub ahead of print 14 December 2019.DOI: 10.18502/ijml.v6i4.1998.
9. Balbuena-Merle R, West FB, Tormey CA, et al. Fatal acute hemolytic transfusion reaction due to anti-B from a platelet apheresis unit stored in platelet additive solution: Fatal hemolytic reaction due to anti-B. Transfusion (Paris) 2019; 59: 1911–1915.
10. Berséus O, Boman K, Nessen SC, et al.Risks of hemolysis due to anti-A and anti-B caused by the transfusion of blood or blood components containing ABO-incompatible plasma: Hemolysis due to ABO-Incompatible Plasma. Transfusion (Paris) 2013; 53: 114S-123S.
11. Sawadogo S, Nebie K, Millogo T, et al.Distribution of ABO and RHD blood group antigens in blood donors in Burkina Faso. Int J Immunogenet 2019; 46: 1–6.
12. ROUGER.PH, SALMON.CH. Les allohémagglutinines du système ABO. Revue Française de Transfusion et d'Immunohématologie. Tome XX. -N°4-1977.
13. Ch Giraud, JM Korach,G Andreu,C Lacaze,M Vaicle , F Schooneman,and L Guillevin.Les bases immunologiques de la transfusion.Transfusion clinique et biologique,9(3) :163-167.2002. [En ligne]

14. Jean Jacques Lefrère and Philippe Rouger. Pratique nouvelle de la transfusion sanguine. ELSEVIER MASSON ,2010.
15. Janot C, Mannessier L, Chiaroni J, Lejealle A, Mathieu-N S, Roubinet F. Immuno-hématologie et groupes sanguins. Paris : Bioforma ; 2002.
16. Chiaroni J, Ferrera V, Dettori I, Roubinet F. Groupes sanguins érythrocytaires. EMC-Hématologie. 2005; 2 :53-112.
17. Pr. Messaoudi : Cours : Immuno-hématologie : Hôpital Militaire.Rabat,2009-2010. [En ligne]
18. Bhende YM, Deshpande CK, Bhatia HM, Sanger R, Race RR, Morgan WTJ, et al. A “new” blood group character related to the ABO system. Lancet Lond Engl. 1952 May 3;1(6714):903–4.
19. Prof : J.-D. Tissot. Dr. G.Canellini. et Dr. S.Waldvogel,Immuno-hématologie, Bases de médecine transfusionnelle. Cinquieme edition mise à jour :Aout- 2011, p : 76, 77, 78. [En ligne]
20. J. F. Schved : L’immuno-hématologie érythrocytaire , Hématologie Janvier, 2-7.2007. [En ligne]
21. The International Society of Blood Transfusion (ISBT) ; 2015 may 10.
22. J.Chiaroni, V.Ferrare, V Dattori et F. Roubinet : Groupes sanguins érythrocytaires : EMC-Hématologie. 53-88 .2005. [En ligne]
23. Koichi Suzuki, B. Dupont: ABO blood group alleles and genetic recombination: Legal Medicine, 76-81.2005. [En ligne]
24. Ranyard R, Charlton JP, Williamson J : Transfusion: Annales francaises d’anesthésie et de réanimation, p : 63-65.2009. [En ligne]
25. Simonin Iodice, Patrick Maisonnove, Edoardo Botteri, Maria Teresa Sandri: ABO group and cancer : European journal of cancer. 3345-3347.2010. [En ligne]
26. GOUDEMAM M.ET YVES D.M [MALI]Les systèmes de groupe érythrocytaires ABO et lewis in (Eléments d’Immuno-hématologie)Ed Med. Flammarion, Paris, 1967 :33-5.
27. Rouger P, Salmon C. Les groupes sanguins : approche d'une nouvelle définition et classification. Revue Française de Transfusion et Immuno-hématologie. 1986; 29(3):163-174.
28. JD Tissot, G canellini, and SWaldvogel. Immuno-hématologie , Base de médecine transfusionnelle. Lausanne : Service vaudois de transfusion , page 94-95,2011.
29. Yamamoto F, McNeill PD, Hakomori S. Human histo-blood group A2 transferase coded by A2 allele, one of the A subtypes, is characterized by a single base deletion in the coding

- sequence, which results in an additional domain at the carboxyl terminal. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992 Aug 31;187(1):366–74.
30. <https://slidetodoc.com/les-groupes-sanguins-erythrocytaires-dr-sylviz-gross-responsable//>.
31. Jean-Jacques Lefrère and Philippe Rouger. *Immunologie transfusionnelle. Transfusion sanguine (4e Édition)* Pages :75-131. 2011. [En ligne]
32. <https://www.lesbonsprofs.com/espace/seconde/svt/la-biodiversite/2713//>.
33. Elyamani R. *Approches aux mécanismes moléculaires du polymorphisme de groupes sanguins*(Thèse). Université Mohammed V-rabat-2012. [En ligne]
34. Ray S, Gorakshakar A C, Vasantha K, Nadkarni A, Italia Y, Ghosh K. *Molecular genotyping of ABO blood groups in some population groups from India.* *Indian J Med Res.* Jan 2014; 139: 105-111. [En ligne]
35. https://facmed-univ-oran.dz/ressources/fichiers_produits/fichiers_produits_2605.pdf.
36. Claviera B. *Le groupage sanguin en question : actualité et perspective .TRANSFUSION SANGUINE. REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES -N°439 //FÉVRIER 2012.* [En ligne]
37. Kagu M B, Sagir G A, Aisha A M, Waheed K M, Malah M B, Jimoh M K . *Anti-A and Anti-B Haemolysins amongst Group “O” Voluntary Blood Donors in Northeastern Nigeria.* *Journal of Trans.* 2011 ; 1 -3. [En ligne]
38. Chiaroni J, Roubinet F, Bailly P, Mannessier L, Noizat-Pirenne F. *Les analyses immuno hématologiques et leurs applications. Franco-britannique : John Libbey Eurotext.* 2012.
39. Naoki Takada, Chikahiro Mori, Mizuho Iida, Rie Takai , Tomohori Takayama , Yoshihisa Watanabe, Kohei Nakamura, and Kazuhiro Takamizawa. *Development of an indirect competitive ELISA for the detection of ABO blood group antigens.* *Legal medicine,* 16(3):139-145. 2014. [En ligne]
40. P. Gane. *la cytométrie en flux Immunohématologie .Transfusion clinique et biologique .* 9(4):271-279. 2002.
41. Martin L Olsson and MA Chester. *Polymorphism and recombination events at the ABO locus : a major challenge for genomic ABO blood grouping stratégies.* *Transfusion Medicine,* 11(4):295-313, 2001.
42. Fumi-ichiro Yamamoto, Patricia D McNeil, Yoshihiko Kominato, Miyako Yamamoto, Sen-itiroh Hakomori, Seiji Ishimoto, Sachiyo Nishida, Masayuki Shima, and Yoshihiro Fujimura. *Molecular Genetic Analysis of the ABO blood Group system: 2. cis-AB Alleles.* *Vox sanguinis .* [En ligne] (64)2:120-123, 1993.

43. DF Stroncek, R Konz, ME Clay, JP Houchins, and McCullough. Determination of ABO glycosyltransferase genotypes by use of polymerase chain reaction and restriction enzymes. *Transfusion*, 5(3):231-240, 1995. [En ligne]
44. C Tournamille. Les technologies de biologies moléculaires en immunohématologie. *Transfusion clinique et biologique*, 20(2) :72-79. 2013. [En ligne]
45. K Honda, T Nakamura, E Tanaka, K Yamazaki, Z Tun, and S Misawa. Graphic SSCP analysis of ABO genotypes for forensic application. In *International Congress Series*, volume 1261. Elsevier 2004, pages 586-588. [En ligne]
46. Kenichi Ogasawara, Makoto Bannai, Naruya Saitou, Ryuichi Yabe, Kenichi Nakata, Michiko Takenaka, Kiyoshi Fujisawa, Makoto Uchikawa, Yoshihide Ishikawa, Takeo Juji, et al. Extensive polymorphism of ABO blood group gene: three major lineages, of the alleles for the common ABO phenotypes. *Human genetics*, 97(6):777-783, 1996. [En ligne]
47. Shea Ping Yip. Single-Tube multiplex PCR-SSCP analysis distinguishes 7 common ABO alleles and readily identifies new alleles. *Blood*, 95(4):1487-1492, 2000. [En ligne]
48. Hwan Young Lee, Myung Jin Park, Na Young Kim, Woo Ick Yang, and Kyoung-Jin Shin. Rapid Direct PCR for ABO Blood Typing*. *Journal of forensic science international*, 1996, 82(3):227-232. [En ligne]
49. Le Manuel du résident Hématologie II. 2-27. 2009. [En ligne]
50. Jean-Jucques Lefrere et Jean-Francois Schved : transfusion en Hématologie: série : Médecine. *JK, Sciences P*:23-29. 2001. [En ligne]
51. MILLOGO M. Apports des empreintes génétiques dans la détermination de la paternité par rapport au système ABO/Rhésus et l'électrophorèse de l'hémoglobine (mémoire). Université de Ouagadougou, Janvier 2014. [En ligne]
52. <https://www.pinterest.fr/pin/>.
53. Tayou Tagny C, Diarra A, Yahaya R, Hakizimana M, Nguessan A, Mbensa G, et al. Le centre de transfusion, le donneur de sang et le sang donné dans les pays d'Afrique francophone. *Transfusion clinique et biologique*, 16(5) :431-438, 2009.
54. Giraud Ch, Korach JM, Andreu G, Lacaze C, Vaicle M, Schooneman F and Guillevin L. Les bases immunologiques de la transfusion. *Transfusion clinique et biologique* 9(3) :163-167, 2002.
55. Aireche H, Benabadji M. Les fréquences géniques dans le système ABO P et Luthéran en Algérie. *Transfusion clinique et biologique*, 1(4) :279-289, 1994.
56. « Rhésus : définition » [archive], sur www.docteurclic.com. consulté le 29 avril 2020.
57. Chiaroni J, Roubinet F, Bailly P. Groupes sanguins de nature protéique. *EMC-Hématologie* 2015;10(3):1-21 [Article 13-000-R-51].

58. Schved JF .Immuno-hématologie érythrocytaires. MB7 : Hématologie, H4 Immunohématologie. 2007 ;1-4 , Nimes .
59. TAZEROUT.T , GALINIER.Y. Les clés de l'hémovigilance, les groupes sanguins. Coordination Régionale d'Hémovigilance France. .
60. Wagner FF, Flegel WA. RHD gene deletion occurred in the Rhesus box. Blood 2000; 95:3662–8. 16.
61. J. Peng et C. H. Huang, « Rh proteins vs Amt proteins: an organismal and phylogenetic perspective on CO₂ and NH₃ gas channels », Transfusion Clinique Et Biologique: Journal De La Societe Francaise De Transfusion Sanguine, vol. 13, nos 1-2, mars 2006, p., , p. 85–94 (ISSN 1246-7820, PMID 16564193,DOI 10.1016/j.tracli.2006.02.006, lire en ligne [archive], consulté le 29 avril 2020).
62. https://www.toutsurlatransfusio.com/immuno-hematologie/sytemes/antigenes_RH.php.
63. Calot M, Van Huffel V, Peyrard T. Les bases théoriques des groupes sanguins ABO-Rh-Kell et phénotypes attendus et anticorps. Institut national de la transfusion sanguine; 2014.
64. Bouazza H. Caractérisation génétique de la population du littoral de Honaine par le polymorphisme des groupes sanguins [Mémoire]. Université Aboubaker Belkaid – Tlemcen Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Uni.
65. CARTRON JP. Les groupes sanguins. In : Traité d'immunologie, Flammarion, Médecine-sciences (Paris) 1993 ; 187-238.
66. Beghdad MA, Zazoua Khames F. Détermination des particularités phénotypiques érythrocytaires des donneurs de sang du groupe O de Tlemcen [Mémoire]. Université Aboubaker Belkaid Faculté de médecine. Tlemcen; 2014.
67. Oumou T. Phénotype érythrocytaires dans les systèmes de groupes sanguins immunogènes chez les donneurs de sang de Bamako [thèse]. Université de Bamako Faculté de Médecine de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie; 2001.
68. Cours : Immuno-hématologie : Hôpital Militaire .Rabat,2009-2010.
69. Willy A. Flegel, Menacker F, Kirmeyer S : Molecular genetics and clinical applications for RH: Transfusion and Apheresis Science. P: 53-63. (2011).
70. « Groupe sanguin et groupe Rhésus » [archive], sur rts.ch, 13 octobre 2017 (consulté le 29 avril 2020).
71. « FICHE TECHNIQUE Les systèmes ABO et Rhésus », Centre suisse de contrôle de qualité, novembre 2017 (lire en ligne [archive]).
72. Article original Khachaa.B, El Horri.M, Berrah.A, Chikh.K, Benmahdi.L. La recherche de phénotype D faible chez une population de donneurs de sang militaires : Première expérience documentée de la banque du sang de l'Hôpital militaire régional universitaire.

73. Daniels G, Poole J, De Silva M, Callaghan T, MacLennan S, Smith N. The clinical significance of blood group antibodies. *Transfus Med* 2002; 12:287–95.
74. Gandini G, Franchini M, DeGironcoli M, Vassanelli A, Benedetti F, Turrini A, et al. Detection of an anti-Rh D antibody 2 years after sensitization in a patient who had undergone an allogeneic BMT. *Bone Marrow Transplant* 2000 et 25:457–9.
75. Deba T, Etude du genotype du système ABO dans la population de l'ouest algérien (Thèse). Université d'Oran, 2017.
76. GENETET B, ANDREU G, BIDEJ JM. Groupes sanguins. In : Aide mémoire de transfusion, Flammarion Médecine-sciences (Paris) 1984 ; p 147-57. .
77. J.-J. Lefrère, G. Andreu, C. Barisien, P. Bierling, B. Danic, P. Morel, T. Peyrard, T. Schneider, J.-Y. Muller. Transfusion sanguine (I). Organisation, bases immunologiques et produits sanguins labiles. EMC - Hématologie. Volume 7 > n°3 > août 2012.
78. Loi no 93-5 du 4 janvier 1993 relative à la sécurité en matière de transfusion sanguine et de médicament. Paris, 1993.
79. Ramsey G. The pathophysiology and organ-specific consequences of severe transfusion reactions. *New Horiz* 1994;2:575–81.
80. Décision du 6 novembre 2006 définissant les principes de bonnes pratiques prévus à l'article L. 1223-3 du Code de la santé publique, 2006.
81. Arrêté du 12 janvier 2009 fixant les critères de sélection des donneurs de sang, 2009.
82. Danic B. Les incidents du prélèvement. *Transfus Clin Biol*; 12:153–9. 2005.
83. Collège des Enseignants de Médecine Intensive Rhéanimation (CEMIR). CHAPITRE 8: Transfusion sanguine.
84. <https://professionaleducation.blood.ca/fr/transfusion-de-plaquettes-lallo-immunisation-et-la-prise-en-charge-de-letat-refractaire-aux>.
85. Circulaire DGS/DHOS/AFSSAPS n° 2003-582 du 15 décembre 2003 relative à la réalisation de l'acte transfusionnel.
86. Décret n° 95-100 du 6 septembre 1995 portant code de déontologie médicale.
87. Loi n° 2002-303 du 4 mars 2002 relative au droit des malades.
88. Circulaire DGS/DH n° 98-231 du 9 avril 1998 relative à l'information des malades, en matière de risques liés aux produits labiles et aux médicaments dérivés du sang, et sur les différentes mesures de rappels effectuées sur ces produits sanguins.
89. Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale.

90. Arrêté du 26 avril 2002 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale.
91. Arrêté du 10 septembre 2003 portant homologation du règlement de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé définissant les principes de bonnes pratiques dont doivent se doter les établissements de transfusion sanguine .
92. Arrêté du 24 avril 2002 relatif aux bonnes pratiques de transport des prélèvements, produits et échantillons du sang humain.
93. Décret n° 2002-194 du 11 février 2002 relatif aux actes professionnels et à l'exercice de la profession d'infirmier.
94. Circulaire DGS/DH n° 609 du 1er octobre 1996 relative aux analyses et tests pratiqués sur des receveurs de produits sanguins labiles.
95. Rebull P. Platelet transfusion trigger in difficult patients. *Transfus Clin Biol* 2001;8:249–54.
96. British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for platelet transfusions. *Transfus Med* 1992;2:311–8.
97. https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2015-11/recommandations_-_transfusion_de_plaquettes.pdf//.
98. Arrêté du 3/12/1991 relatif à l'utilisation du plasma congelé.
99. H. Gouëzec a,*, P. Jégou b, Pierre Bétrémieux c, Stanislas Nimubona d, Isabelle Grulois. Les indications des produits sanguins labiles et la physiologie de la transfusion en médecine. *Transfusion Clinique et Biologique* 12 (2005) 169–176.
100. Cartron JP, Colin Y. Structural and functional diversity of blood group antigens. *Transfus Clin Biol* 2001;8:163–99.
101. Cartron J, Rouger P. Bases moléculaires des antigènes de groupes sanguins. Paris: Masson; 1998.
102. MOLLISON P.L. -- Blood Transfusion in Clinical Medicine. Fifth edition, (second printing). Blackwell Scientific Publications, 1974.
103. WIENER A.S., SAMWICK A.A., MORRISON H. and COHEN L. -- Studies on immunization in man. I the blood group substances A and B *Exp. Med. Surg.*, 11, 267, 1953.
104. DUNSEORD I. -- Group A blood weaker ill reaction than AD. *Bull. Centr. Lab. Bloedtr. Dienst.*, 2, 209, 1952.
105. DEMBELE A.S. Etude statistique des groupes sanguins ABO et Rhésus dans la population malienne. Enquête préliminaire. Thèse Pharm, N°5, Bamako, 1983.
106. Goudemand M et Salmon C. Le système ABO et ses associés in « Immuno-hématologie et immunogénétique ». Flammarion, Med Sciences, Paris, 1980, 6 : 79-130.

107. Reviron J, Reviron M. Les groupes sanguins érythrocytaires humains. Editions techniques-Encycl-Med-Chir, Paris-France, Hématologie, 1984, 1-5.
108. GOUDEMANT M et YVES D.M. Les systèmes de groupes érythrocytaires ABO et Lewis in «éléments d'immuno-hématologie». Ed Med, Flammarion Paris, 1967 :33-56.
109. B.-N Pharm a,b,*P.-Y. Le Penneca, b,P .Rouger a,b. Allo-immunisation anti-érythrocytaire. Transfusion clinique et biologique 19 (2012)321-3.
110. <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/sante/groupes-sanguins-et-consequences-medicales>:
111. GOUDEMANT M et YVES D.M. Les accidents hémolytiques transfusionnels et leur prévention in «éléments d'immuno-hématologie». Ed Med, Flammarion Paris, 1967 :193 - 213.
112. SALMON C .Les phénotypes B faibles B3, Bx, Bel, classification proposée .Revue-Franc, transfusion, immuno-hémat, 1976, 19 :1-89.
113. GENETET B, GINESTE J.P. Transfusion sanguine .Editions techniques –Encycl-Med-Chir, Paris-France, Hématologie, 1992, P20.
114. Chiaroni J, Pirenne F. Transfusion sanguine (II) : événements indésirables de la transfusion et système d'hémovigilance. EMC - Hématologie 2019;14(4):1-17 [Article 13-054-A-15].
115. <https://www.donneurdesang.be/fr/en-savoir-plus-sur-le-sang/les-groupes-sanguins/>.
116. Kebib .A. La recherche des hémolysines chez les donneurs de groupe « O » au centre d'hémodiologie et banque de sang de CHU Tlemcen. [Mémoire]. Tlemcen: Université Aboubekrbelkaid ; 2014-2015.
117. SAWADOGO S, BATIONO B.G, NEBIE K, KONSEIBO A, KOANDA J-E, DENEYS V, KAFANDO E .TITRE DES HEMOLYSINES ALPHA ET BETA CHEZ LES DONNEURS DE SANG DE GROUPE SANGUIN O ET LEUR IMPACT POTENTIEL SUR LA SECURITE DES RECEVEURS DE PRODUITS SANGUINS AU BURKINA FASO . J. Rech. Sci. Univ. Lomé (Togo), 2020, 22(1): 281-291.
118. Adewuyi J.O, Gwanzura C, Mvere D .Characteristics of Anti-A and Anti-B in black Zimbabweans .National blood transfusion service ,Harare, Zimbabwe .1994.
119. Kulkarni A G, Ibazebe R, Fleming A F. High Frequency of Anti-A and Anti-B Haemolysins in Certain Ethnic Groups of Nigeria. Department of haematology and blood transfusion, Ahmadu Bello University, Zaria, Nigeria .1985.
120. Garetta M, Muller A, Gener J. Détection des alloanticorps immuns anti-A et anti-B sur les équipements Groupamatic. Revue Française de Transfusion et d'Immunohématologie. Tome XXI.-N°2.-1978.

121. EmeribeAO. The status of alpha and beta haemolysins in Nigerian blood donors .East Afr Med J .1990 mars; 67(3):205-208.
122. Olawumi H O,OlatunjiP O. Prevalence and titre of alpha and beta haemolysins in blood group O donors in Ilorin .Afr J Med Sci. 2001 Dec ;30 (4) :319-21 .
123. SaoudiN ,IsmailB.La recherche des hémolysines anti-A et anti-B chez les donneurs de sang. [Mémoire].Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou ; 2016- 2017.
124. ErhaborO, Ahmed H, Zama I I,AbdulrahmanY.Prevalence of high titre alpha and beta haemolysins among blood donors in Sokoto ,North western Nigeria .2013.
125. Mathai J, Sindhu PN, SulochanaP V, SathyabhamaS. Haemolysin test for characterization of immune ABO antibodies. Indian J Med Res. 2003; 118:125-8.
126. Khampanon K, Chanprakop T, Sriwanitchrak P, Setthakarn M, Oota S, Nathalang O. The Characteristics of ABO Antibodies in Group O Thai Blood Donors. Journal of ClinLabo Anal. 2012; 26: 223-6.
127. WorlledgeS,Ogiemudia S E, Thomas C O, Ikoku B N, Luzzatto.L.Blood group antigens and antibodies in Nigeria. Ann. trop. Med. Parasit. 3 68: 249-264 (1974).

Annexes

ANNEXE I

Arrêté du 24 Mai 1998 fixant les règles régissant le don du sang et de ses composants.

Le Ministre de la Santé et de la Population ;

Vu la loi n° 85-05 du 16 Février 1985, relative à la protection et à la promotion de la santé, modifiée et complétée, notamment son article 158;

Vu le décret présidentiel n° 97-231 du 20 Safar 1418 correspondant au 25 juin 1997 portant nomination des membres du Gouvernement ;

Vu le décret exécutif n° 96-66 du 27 Janvier 1996 fixant les attributions du Ministre de la Santé et de la Population ;

Vu L'arrêté du 24 Mai 1998 fixant la liste des matériels et consommables nécessaires pour le fonctionnement des structures chargées de la Transfusion Sanguine

Arrête :

Article 1 : Le présent arrêté a pour objet de fixer les règles régissant le don du sang et de ses composants.

Article 2 : Le don du sang s'effectue dans l'intérêt du receveur sans léser le donneur et relève des principes éthiques du bénévolat, de l'anonymat du don et de l'absence de profit.

Article 3 : Les prélèvements de sang total sont effectués chez les sujets âgés de dix huit à soixante cinq ans jusqu'au jour de leur soixante sixième anniversaire exclu.

Il ne peut être prélevé de sang chez des personnes ayant atteint soixante ans et n'ayant jamais donné de sang auparavant.

Le volume maximal prélevé à chaque don est de 08millilitres par kilogramme sans dépasser un volume total de 500millilitres.

La fréquence des dons de sang total ne doit pas être supérieure à cinq fois par an pour les hommes et trois fois par an pour les femmes. Toutefois entre soixante et soixante cinq ans, le

nombre de prélèvements annuels chez les hommes et chez les femmes ne peut être supérieur à trois. L'intervalle entre deux dons est au moins égale à huit semaines.

Article 4 : Le prélèvement de plaquettes par aphérèse est effectué chez les sujets âgés de dix huit à soixante ans jusqu'au jour de leur soixante et unième anniversaire exclu.

Le volume maximum du prélèvement de plaquettes d'aphérèse est de 600 millilitres.

Le nombre de plaquettes prélevées est compris entre 6×10^{11} et 8×10^{11} .

La fréquence des prélèvements ne doit pas être supérieure à cinq fois par an.

La contamination résiduelle lymphocytaire lors de chaque don en aphérèse plaquettaire ne doit pas être supérieure à 5×10^6 .

L'intervalle entre deux prélèvements est au moins égale à huit semaines.

Article 5 : Les prélèvements de plasma par aphérèse sont effectués chez des sujets âgés de dix huit à soixante ans jusqu'au jour de leur soixante et unième anniversaire exclu.

Le volume de plasma prélevé ne doit pas excéder :

- 600 millilitres par don.
- 02 litres par mois
- 12 litres par an.

La fréquence des prélèvements de plasma ne doit pas être supérieure à vingt fois par an.

L'intervalle entre deux dons est au moins égale à deux semaines.

Article 6 : Un donneur peut participer aux différents types de don.

Toutefois le médecin des donneurs fixe les limites des possibilités de don pour chaque donneur.

L'intervalle entre un don de cellules et un don de plasma, d'une part, entre un don de plasma et un don de cellule, d'autre part ne peut être inférieur à deux semaines.

Article 7 : La prise en charge des donneurs est sous la responsabilité d'un médecin, qui est tenu de :

- a)- informer le donneur;
- b)- créer et gérer le fichier des donneurs;
- c)- faire l'entretien médical et l'examen clinique;
- d)- surveiller les donneurs et les prélèvements;
- e)- consulter et suivre le dossier médical des donneurs;
- f)- orienter les donneurs présentant une sérologie positive vers un service de soins spécialisé;
- g)- organiser des collectes de sang programmées.

Article 8 : Chaque prélèvement est obligatoirement précédé d'un examen médical du donneur comportant un entretien et un examen clinique sommaire : appréciation de l'état général, mesure de la tension artérielle et de la masse corporelle du donneur. Cet examen médical doit se dérouler dans la confidentialité propice à la confiance et au respect du secret médical. L'entretien médical doit permettre d'écarter du don les personnes à risque, ainsi que les personnes ayant des pathologies contre-indiquant le don du sang.

Article 9 : Pour tout prélèvement de cellules par aphérèse, un électrocardiogramme est effectué avant le don. Le médecin doit rechercher particulièrement toute contre-indication à l'aphérèse, notamment dans les domaines cardio-vasculaires, digestifs et hématologiques.

Article 10 : Les contrôles pré-dons pour les prélèvements des plaquettes par aphérèse comprennent un hémogramme et un bilan d'hémostase comportant une numération plaquettaire, une mesure du temps de Quick et du temps de Céphaline activée.

Article 11 : Les contrôles biologiques pour les prélèvements de plasma par aphérèse comprennent un hémogramme et une électrophorèse des protéines plasmatiques.

Article 12: Afin de limiter au maximum les prélèvements chez les donneurs présentant une anémie, un contrôle pré-don du taux d'hémoglobine peut être effectué. La décision en est laissée à l'appréciation du médecin.

Article 13 : L'identification du donneur s'établit sur la base d'une fiche dont le modèle est joint en annexe 1 du présent arrêté.

Les informations relatives à l'état civil du donneur de sang sont recueillies sur présentation d'une pièce d'identité.

Article 14 : A l'issue de l'accueil du donneur de sang, une fiche de prélèvement est établie selon le modèle joint en annexe 2 du présent arrêté.

Article 15 : une carte dite "carte de donneur régulier " établie conformément au modèle joint en annexe 3 du présent arrêté est délivré au donneur régulier.

Article 16 : Les prélèvements de sang total et d'aphérèse sont effectués sous la responsabilité d'un médecin, par des infirmiers (es) diplômés (es) d'état.

Article 17 : Au cours du prélèvement de sang total, il est indispensable de vérifier à intervalles réguliers, le débit, d'agiter la poche et d'en contrôler la masse.

La durée maximale du prélèvement ne doit pas être supérieure à 10 minutes. En cas de prélèvement d'une durée supérieure à 10 minutes, il ne doit en aucun cas servir à préparer un concentré plaquettaire.

Article 18 : La durée du prélèvement des plaquettes par aphérèse est conditionnée par la quantité maximale de plaquettes collectées et le débit du prélèvement :

- Le débit du prélèvement doit être compris entre 30 et 80 ml /mn.
- Le volume maximal de solution anticoagulante injecté par séance ne doit pas excéder un litre.
- Le volume extracorporel maximal en cours de prélèvement ne doit pas excéder 20% de la masse sanguine du donneur.
- La durée total du prélèvement doit être inférieure à deux heures trente minutes.

Article 19 : Le prélèvement des tubes échantillons se fait à partir du bras du donneur. Ils ne doivent pas être étiquetés avant le prélèvement mais pendant le déroulement de celui-ci.

Article 20 : Après le prélèvement, le donneur doit rester sous surveillance pendant dix minutes minimum en cas de don de sang total ou de trente minutes minimum en cas de don en aphérèse, au cours duquel une collation lui est offerte. En cas de prélèvement par aphérèse, les points de ponction, l'état général et la tension artérielle doivent être vérifiés avant le départ du donneur.

Article 21 : Les poches de sang sont éliminées dans les cas suivants :

- quantité prélevée insuffisante;
- présence de caillots (débit lent, agitation insuffisante);
- tout choc ou manipulation risquant de mettre en jeu l'étanchéité de la poche;
- toute cause remettant en question l'aptitude du donneur;

Les produits éliminés sont détruits par incinération.

Article 22: Monsieur le Secrétaire Général du Ministère de la Santé et de la Population est chargé de l'application du présent arrêté. Le Ministre de la Santé et de la Population.

Yahia GUIDOUM

ANNEXE II

PRECAUTIONS A RESPECTER LORS DES QUALIFICATIONS BIOLOGIQUES DU DON DE SANG

1. Les qualifications biologiques du don de sang, concerne l'ensemble des analyses et tests de dépistage obligatoires préalables à la distribution et à l'utilisation des produits sanguins labiles
2. L'identification des tubes de prélèvement destinés aux analyses Immuno hématologiques et sérologiques doit être faite par apposition d'étiquette mentionnant le numéro du don. Cette identification permet d'établir le lien, d'une part, avec le donneur et, d'autre part, avec les produits sanguins correspondants.
3. Les tubes doivent arriver bouchés et accompagnés d'un document mentionnant le nombre de tubes à analyser. Ces tubes échantillons doivent être préservés des écarts de températures préjudiciables aux analyses.
4. La centrifugation doit être effectuée avec les tubes bouchés. Les conditions de centrifugation doivent être définies (vitesse, temps freinage, température)
5. Lorsque l'examen est différé, la conservation des échantillons doit être faite à une température comprise entre + 2 °C et + 8 °C.
Dans ces conditions, les analyses doivent être effectuées dans un délai maximal de quatre jours après le prélèvement.
Si les tubes sont conservés entre + 2 °C et + 8 °C, ils doivent être remis à une température ambiante avant analyse.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

La technique utilisée doit permettre de détecter les anticorps correspondant aux antigènes suivants: D, C, E, c, e, K, k, Fya, Fyb, Jka, Jkb, M, N, S, s, P1, Lea, Leb.

ANNEXE III

Fiche du donneur du sang

C.H.U TIZI -OUZOU L032	C.H.T.S.
01 AOUT 2021	UNITE DE DON DE SANG
Date :	N° 046980
Nom :	
Prénoms :Sexe : M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	
Né (e) le : à :	
Adresse :	
Médecin du Don :	
Etat Civil : M - C - D - V	
Profession :Tél . :	
Donneur : Régulier <input type="checkbox"/> Occ. <input type="checkbox"/> Cp <input type="checkbox"/> Service :	
TA :Poids : Date du dernier Don :	
Volume à prélever : ml Support :	
Tubes : GS <input type="checkbox"/> Sérologie <input type="checkbox"/> Hémolysines <input type="checkbox"/> Autres <input type="checkbox"/>	
Horaires du prélèvement :HMin.	
Réaction au cours du Don :	
Nom, qualité et signature du préleveur :	

CHU TIZI-OUZOU SHT Bon de Collation pour l'Economat	CHU TIZI-OUZOU SHT Bon de Collation	CHU TIZI-OUZOU SHT Prélèvement
N° 046980	N° 046980	N° 046980 01 AOUT 2021
Date :	Date :	Date :

Résumé

Le but de cette étude est de déterminer la fréquence des anticorps immuns anti-A et anti-B chez la population de donneurs de sang collectée au CTSW de Tizi Ouzou afin de prédire de l'intérêt de la systématisation de leur recherche chez tous nos donneurs de sang. Il s'agit d'une étude transversale à visée descriptive d'une durée de trois mois. La recherche des hémolysines sur 1143 plasma de donneurs de sang (DDS) a été effectuée sur tubes, les positifs ont été titrés aussi par la méthode des tubes. Parmi les donneurs étudiés, 87 avaient des hémolysines, soit 7.60%. dont 12 de sexe féminin (14%) et 75 de sexe masculins (86%), appartenant à plusieurs tranches d'âges 18-23ans, 23-28ans, 28-33ans, 33-38ans, 38-43ans, 43-48ans, 48-53ans, 53-58ans, 58-63ans, avec une différence statistique vis-à-vis du sexe ($p = 0.037$) et aucune différence statistique vis-à-vis de l'âge des DDS n'a été observé ($p=0.33$). Par ailleurs, les donneurs de groupe O, A et B, ont respectivement une fréquence des hémolysines de 13.6 %, 2.25% et 3.76%. La différence entre les taux retrouvés chez les donneurs de groupe O et ceux de groupe non O est hautement significative ($p < 10^{-3}$). Ainsi, le Rhésus D est significativement associé à la présence d'hémolysines avec une différence statistiquement significative ($p < 0.001$), la fréquence est de 6.1% pour le Rhésus positif et 14.1% pour le rhésus négatif. L'hémolysine de type anti-A est majoritaire avec un taux de 63.22%, suivie d'hémolysine anti-B (24.14%), tandis que la présence concomitante d'hémolysine anti-A et anti-B est minoritaire soit 12.64%. Environ la moitié des hémolysines retrouvées ont un titre de 2 (43/ 87 hémolysines) soit 49,43% , suivi du titre 4 dans 39 cas soit 44,82%, tandis que le titre 8 et 16 sont minoritaires avec des taux respectifs de 3,45% et 2,30% ($p < 10^{-3}$). La recherche des hémolysines anti A et anti B, chez tous les DDS quelque soit le groupe sanguin ABO RhD doit être systématique , pour éviter toute probabilité d'un accident transfusionnel du aux hémolysines, afin d'assurer un maximum de sécurité transfusionnelle.

Mots clés : Donneurs de sang, hémolysines anti A et anti B, sécurité transfusionnelle

Abstract

The aim of this study is to determine the frequency of anti-A and anti-B immune antibodies in the population of blood donors collected at TiziOuzou's blood transfusion center. In order to predict the interest of systematizing their research in all our blood donors. This is a three-month descriptive cross-sectional study. The detection of hemolysins in 1143 blood donor plasma was carried out on tubes, the positives were also titrated by the tube method. Among the donors studied, 87 had hemolysins, that is 7.60% including 12 female (14%) and 75 male (86%), belonging to several age groups 18-23 years, 23-28 years, 28-33 years, 33-38 years, 38-43 years, 43-48 years, 48-53 years, 53-58 years, 58-63 years, with a statistical difference with respect to sex ($p = 0.037$) and no statistical difference with respect to the age of blood donors was observed ($p = 0.33$). Furthermore, group O, A and B donors have a hemolysins frequency of 13.6%, 2.25% and 3.76%, respectively. The difference between the levels found in donors of group O and those of non-O group is highly significant ($p < 10^{-3}$). Thus, Rhesus D is significantly associated with the presence of hemolysins with a statistically significant difference ($p < 0.001$), the frequency is 6.1% for Rhesus positive and 14.1% for Rhesus negative. Anti-A hemolysin is in the majority with a rate of 63.22%, followed by anti-B hemolysin (24.14%), while the concomitant presence of anti-A and anti-B hemolysin is in the minority, that is 12.64%. About half of the haemolysins found have a titre of 2 (43 / 87 hemolysins) or 49.43%, followed by titre 4 in 39 cases or 44.82%, while the titres 8 and 16 are in the minority with respective rates of 3.45% and 2.30% ($p < 10^{-3}$). The detection of anti A and anti B hemolysins in all blood donors regardless of the ABO RhD blood group must be systematic, to avoid any probability of a transfusion accident due to hemolysins, in order to ensure maximum transfusion safety.

Key words: Blood donors, anti A and anti B hemolysins, transfusion safety.

