

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



وزارة التعليم العالي
والبحث العلمي
جامعة ابو بكر بلقايد
كلية الطب
د. ب. بن زرجب - تلمسان

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAÏD
FACULTE DE MEDECINE
DR. B. BENZERDJEB - TLEMCEN

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

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

THÈME:

**LE RECHERCHE DES HEMOLYSINES CHEZ LES DONNEURS DE
GROUPE « O » AU CENTRE D'HEMOBIOLOGIE ET BANQUE DU SANG DE
CHU TLEMCEN.**

Réalisé par :

KEBIB Ahmed

2014 / 2015

Encadreur:

Dr. ADDA.F Maitre-assistante en hémobiologie-transfusion sanguine.

Remerciement

*Je remercie le BON DIEU tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie,
avec lequel j'ai pu réaliser cette modeste tâche.*

*Je tiens à remercier mon encadreur : DR.F.ADDA qui m'a aidé par ses
orientations et ses précieux conseils.*

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

*Je remercie aussi tous ceux qui ont rendus ce travail possible
Et également tous le personnels du Centre d'Hémodiologie et
Banque du sang et plus particulièrement Dr.M.Ramdaoui .*

*Merci aussi à tous mes collègues et ami(e)s de CHU de TLEMCEN
en particulier Jbrahim, Youcef et Abdelhakim. Je leur exprime ma
profonde sympathie et leur souhaite beaucoup de bien et beaucoup de
courage pour la suite de leur vie professionnelle.*

Dédicaces

Je dédie, ce travail au seigneur de l'univers : ALLAH le clément le miséricordieux,

Je dédie également ce travail au dernier des prophètes, Salut et paix sur toi MOHAMED.

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

A mes sœurs Amel et Kawter pour leurs encouragements et leur soutien tout au long de mes études et également pour les bons moments passés et à venir.

A Ouidad pour ces encouragements incessants et son soutien moral, que Dieu la protège et la donne une vie pleine de réussite et de bonheur.

A Madame ADDA.F pour son écoute, le temps et l'attention consacrés à ce travail, sa compréhension, ses connaissances, sa sagesse et pour ses précieux conseils.

A Monsieur Ramdaoui.M. Pour sa franche collaboration pour la réalisation de ce travail, sa compétence et sa disponibilité.

A mes collègues Ibrahim,ADIL. Abdelhakim, Youcef pour les bons moments partagés, sans oublier Safia pour son aide .Que Dieu les protège et réalise leurs vœux.

Ainsi qu'à toute la famille **KEBIB ET CHARIF**

petits et grands, sans exception.

Sommaire

SOMMAIRE	I
LISTE DES TABLEAUX	IV
LISTE DES FIGURES.....	V
LISTE DES ABREVIATIONS.....	VI
INTRODUCTION.....	1

Sommaire

PARTIE THÉORIQUE

I. SYSTÈME ABO	3
1. Introduction	3
1.1. Définition.....	3
1.2. Intérêt d'étude	3
1.3. Historique	4
1.4. Nomenclature ISBT	4
2. Bases moléculaires de système ABO	5
2.1. Étude génétique du système ABO.....	5
2.1.1. Gène ABO	5
2.1.2. Gènes partenaires H et SE	7
2.2. Étude biochimique du système ABO	8
2.2.1. Les enzymes	8
2.2.2. Les substrats	8
3. Étude des antigènes et des phénotypes du système ABO	10
3.1. Ontogénèse et distribution.....	10
3.2. Principaux antigènes et phénotypes.....	11
3.3. Phénotypes courants	11
3.3.1. Phénotype A1	11
3.3.2. Phénotype A2	11
3.3.3. Différence entre A1 et A2.....	12
3.4. Variants génétiques rares	12
3.4.1. Phénotypes A et B faibles.....	12
3.4.2. Phénotype Cis AB	13
3.5. Modifications antigéniques.....	13
3.5.1. Anomalies congénitales	13
3.5.2. Phénotypes acquis.....	13
4. Étude des anticorps du système ABO	15
4.1. Anticorps naturels.....	15
4.2. Anticorps immuns	116
4.3. Auto anticorps	116
5. Applications	116
5.1. Transfusion sanguine	116
5.2. Transplantation et allogreffe.....	18
6. Méthodes d'étude	19
6.1. Méthodes immunologiques	19
6.1.1. Techniques classiques.....	19
6.1.1.1. Groupage ABO classique	19
6.1.1.2. Fixation-élution	19
6.1.1.3. Recherche des substances ABH (et LEWIS) dans la salive.....	20
6.1.1.4. Recherche d'hémolysine anti-A et anti-B immuns	20
6.1.2. Techniques modernes.....	20
6.1.2.1. Technique automatique de groupage sanguin.....	20
6.1.2.2. Méthodes de biologie moléculaire	20
II. Hémolysines	21
1. Définition.....	21
2. Conditions d'apparition.....	21
3. Implication pathologique.....	21
4. Méthodes de recherche	22

PARTIE PRATIQUE

1. Objectifs	24
1.1. Objectif principale	24

Sommaire

1.2. Objectif secondaire.....	24
2. Cadre d'étude:	24
2.1. Lieu d'étude	24
2.2. Type et période d'étude	24
2.3. Population d'étude	24
2.3.1. Critères d'inclusion	24
2.3.2. Critères de non inclusion	24
3. Matériel et méthodes	25
3.1. Prélèvements, matériel, consommables et réactifs	25
3.1.1. Prélèvement.....	25
3.1.2. Matériel	25
3.1.3. Consommables	25
3.1.4. Réactifs	25
3.2. Méthodes	26
3.2.1. Étude sérologique	26
3.2.1.1. Groupage sanguin ABO sur plaque	26
3.2.1.2. Groupage RHD sur plaque	27
3.2.1.3. Recherche et titrage des hémolysines.....	27
3.2.1.3.1. Préparation des hématies-tests:.....	27
3.2.1.3.2. Recherche des hémolysines	28
3.2.1.3.3. Titrage des hémolysines	30
3.2.2. Étude statistique	31
3.2.2.1. Recueil de données.....	31
3.2.2.2. Analyse de données	31
4. Résultats et interprétation	32
4.1. Répartition globale des hémolysines anti-A et anti-B	32
4.2. Répartition des hémolysines anti-A et anti-B selon le sex	33
4.3. Répartition des hémolysines anti-A et anti-B selon les tranches d'âge	34
4.4. Répartition des hémolysines anti-A selon leur taux.....	35
4.5. Répartition des hémolysines anti-B selon leurs taux	36
4.6. Répartition des hémolysines anti-A selon le sex et le titre.....	37
4.7. Répartition des hémolysines anti-B selon le sex et le titre	38
4.8. Répartition du taux des hémolysines anti-A selon les tranches d'ages.....	39
4.9. Répartition du taux des hémolysines anti-B selon les tranches d'ages.....	40
5. Discussion :.....	41
CONCLUSION	43
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	44
ANNEXES.....	45

Liste des tableaux

Tableau I : Polymorphisme des allèles A1 et B.....	6
Tableau II : Gènes et gènes partenaires du système ABO et leurs produits	7
Tableau III : Principaux antigènes et phénotypes du système ABO.....	11
Tableau IV : Différences entre les phénotypes A1 et A2.....	12
Tableau V : Principaux phénotypes A et B faibles	12
Tableau VI : Caractéristiques des anticorps du système ABO	15
Tableau VII : Caractéristiques des anticorps immuns du système ABO	16
Tableau VIII : Règles de compatibilité en transfusion néo-natale.....	17
Tableau IX : Test d'hémolyse sur sérum frais	28
Tableau X : Test d'Hémolyse sur sérum conservé.....	29
Tableau XI : Distribution des dilutions pour le titrage des hémolysines.....	30
Tableau XII : Répartition globale des hémolysines anti-A et anti-B	32
Tableau XIII : Répartition des hémolysines anti-A et anti-B selon le sex.....	33
Tableau XIV : Répartition des hémolysines anti-A et anti-B selon les tranches d'âge...	34
Tableau XV : Répartition des hémolysines anti-A selon leurs taux.....	35
Tableau XVI : Répartition des hémolysines anti-B selon leurs taux	36
Tableau XVII : Répartition des hémolysines anti-A selon le sex et le titre	37
Tableau XVIII : Répartition des hémolysines anti-B selon le sex et le titre.....	38
Tableau XIX : Répartition du taux d'hémolysines anti-A selon les tranches d'âge.....	39
Tableau XX : Répartition du taux d'hémolysines anti-B selon les tranches d'âge	40

Liste des figures

Figure 1 : Polymorphismes des allèles A, B et O	5
Figure 2 : Structure des substrats des enzymes pour les synthèses des antigènes ABO ...	9
Figure 3: Schéma d'OTTENBERG	17
Figure 4 : Résultats d'agglutination.....	27
Figure 5 : Répartition globale des hémolysines anti-A et anti-B.....	32
Figure 6 : Répartition des hémolysines anti-A et anti-B chez selon le sex.....	33
Figure 7 : Répartition des hémolysines anti-A et anti-B selon les tranches d'âge	34
Figure 8 : Répartition des hémolysines anti-A selon leurs taux	35
Figure 10 : Répartition des hémolysines anti-B selon leurs taux	36
Figure 11 : Répartition des hémolysines anti-A selon le sex et le titre.....	37
Figure 12 : Répartition des hémolysines anti-B selon le sex et le titre.....	38
Figure 13 : Répartition du taux d'hémolysines anti-A selon les tranches d'âge.....	39
Figure 14 : Répartition du taux d'hémolysines anti-B selon les tranches d'âge.....	40

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

CHUT : Centre hospitalo-universitaire de Tlemcen

°C : Degré Celsius

F : Femmes

H : Hommes

Ig : Immunoglobuline

ISBT : International society of blood transfusion

μL : Microlitre

mL : Millilitre

Mn : Minute

OMS : Organisation mondiale de santé

INTRODUCTION

Introduction

Le système de groupes sanguins ABO est caractérisé par la présence constante, dans le sérum de l'individu, des anticorps correspondant aux antigènes absents de la surface du globule rouge, ce sont les anticorps naturels. Ces derniers sont réguliers, de nature IgM, agglutinants et ayant un optimum thermique à 4° C.

Par ailleurs, sous l'influence de divers stimuli supplémentaires de l'environnement, certains sujets peuvent développer des anticorps anti-érythrocytaires anti-A et/ ou anti-B irréguliers dits immuns. Ces derniers proviennent par :

- ✓ Allo immunisation : c'est le cas d'une grossesse ABO incompatible ou d'une transfusion de produits sanguins contenant des hématies ABO incompatibles (PFC, CPS...),
- ✓ ou hétéro immunisation telle que par vaccination, sérothérapie, ou par certaines préparations pharmaceutiques contenant des substances de groupes sanguins ...

Contrairement aux anticorps anti-A et anti-B naturels, les anticorps immuns sont fortement hémolytiques car ils sont capables de déclencher la cascade complète du complément. On parle ainsi d'hémolysines. Ces dernières sont caractérisées par un maximum d'activité à 37°C et sont surtout de nature IgG. Elles sont difficilement absorbables par les antigènes A et B solubles et peuvent donc entraîner des hémolyses chez les receveurs de sang.

Le cas le plus éloquent étant le donneur universel dangereux (sujet O avec hémolysines anti-A et/ou anti-B). Les hémolysines peuvent, enfin, traverser la barrière foetoplacentaire et être responsable de la maladie hémolytique du nouveau-né.

La détection des anticorps naturels se fait par l'épreuve de Simonin. Celle des anticorps immuns peut se faire, soit par le test indirect à l'antiglobuline en utilisant des substances de groupe solubles permettant d'absorber les anticorps naturels, soit par destruction à la chaleur, ou par la recherche directe de l'effet hémolytique de ces anticorps.

L'objectif de notre travail est la recherche de hémolysines anti A et anti B dans le sérum des donneurs de sang. Ce qui nous permettra d'utiliser ces résultats pour la pratique courante dans le cadre de la sécurité transfusionnelle.

PARTIE THEORIQUE

I. SYSTÈME ABO

1. Introduction :

1.1. Définition

Le système ABO est un système allotypique de groupe sanguin défini par 3 gènes-allèles : 2 allèles codominants A et B, et 1 allèle silencieux (ou amorphe) O, situés sur le chromosome numéro 9 en position q34 qui définissent la présence ou l'absence de :

- Deux antigènes A et B sur les globules rouges, les tissus et les sécrétions.
- Deux anticorps anti-A et anti-B « naturels » et réguliers dans le sérum.

1.2. Intérêt d'étude :

1.2.1. Intérêt immunologique :

□ Transfusionnel :

Le système ABO est le système de groupe sanguin le plus important en transfusion sanguine en raison de la présence constante de deux anticorps naturels et réguliers anti-A et anti-B qui correspondent aux antigènes absents sur les GR, imposant le respect de la compatibilité dès la première transfusion.

□ Fœto-maternel :

La compréhension de ce système permet de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques de l'allo-immunisation fœto-maternelle.

□ Transplantation d'organes :

Le système ABO est impliqué dans la greffe d'organe en raison du caractère ubiquitaire de ses antigènes (leur présence dans la plupart des tissus et liquides biologiques en fait de véritables antigènes tissulaires), ce qui implique le respect de la compatibilité entre le donneur et le receveur.

1.2.2. Intérêt anthropologique :

Le système ABO est impliqué dans l'étude des profils génétiques des populations et dans la détermination des isolats de populations.

1.2.3. Intérêt en médecine légale :

- Pour l'identification de taches de sang et pour des recherches en exclusion de paternité : dans ce cas, on détermine les groupes de la mère, de l'enfant, du ou des pères présumés : les antigènes présents chez l'enfant doivent obligatoirement être présents chez la mère ou chez le père.
- Là aussi, la biologie moléculaire apporte maintenant la réponse.

1.2.4. Intérêt scientifique :

Le système ABO est impliqué dans l'étude de la génétique fondamentale et dans l'étude des variants d'un point de vue génétique et protéique.

1.3. Historique :

- **En 1875, LANDOIS** est le premier chercheur à observer le phénomène de l'hétéro-agglutination.
- **En 1900, Karl LANDSTEINER** met en évidence les trois premiers groupes sanguins chez ces six assistants, puis en 1901, dans un rapport original, l'auteur rapporte les réactions d'agglutination.
- **En 1902, Von DECASTELLO et STURLI** identifient un quatrième groupe sanguin (groupe AB).
- **En 1910, Von DUNGERN et HIRTZTIEDL** mettent en évidence les sous-groupes A1 et A2 de A.
- **En 1924, BERSTEIN** met en évidence le caractère mendélien de la transmission des antigènes du système ABO ainsi que le contrôle génétique de ce système par trois gènes allèles, dont deux allèles codominants A et B et un allèle silencieux O.
- **En 1974, LELOIR** identifie les glycosyltransférases A et B, apportant la preuve biochimique de la transformation « in vitro » des GR O en A par l' α -N-acétyl-galactosaminyl-transférase et des GR O en B par la β -D-galactosyl-transférase.
- **En 2001, YAMAMOTO** apporte la preuve génétique que les allèles A, B et O sont les produits d'un seul gène.

1.4. Nomenclature ISBT :

- Cette nomenclature a été proposée en 1980 par un comité d'expert de l'ISBT.
- Le principe de cette nomenclature repose sur le classement par ordre chronologique de description de 33 groupes sanguins connus, de 001 à 033.
- **Description :**
 - ✳ Chaque système est désigné par un numéro de trois chiffres correspondant à l'ordre de sa découverte, le système ABO prend ainsi le numéro 001.
 - ✳ Chaque antigène est désigné par un numéro de six chiffres :
 - Les trois premiers correspondent au système (001 pour le système ABO).
 - Les 3 derniers correspondent à la spécificité antigénique (001001 pour l'antigène ABO1 ou A).
 - Il est également possible de décrire un antigène par le symbole du système (ABO001 ou ABO1).
 - ✳ Les phénotypes sont indiqués par le symbole du système, suivi de la liste des numéros des antigènes, séparés par une virgule. Le phénotype B (ABO2) est ainsi désigné par ABO : -1, 2,-3.
 - ✳ Les gènes sont indiqués par le symbole du système en italique, suivi d'un espace ou d'un astérisque (*), puis du numéro de l'antigène (ABO*1 ou ABO1).

- * Les génotypes sont indiqués en italique par le symbole du système, suivi d'un astérisque, suivi des numéros des gènes, allèles ou haplotypes, séparés par une barre oblique (exemple : ABO*1/ABO*2), les gènes amorphes sont indiqués par 0 (ABO*1/ABO*0).
- **Intérêt :**
Cette nomenclature permet l'uniformisation de la nomenclature et facilite ainsi l'informatisation des groupes sanguins dans le cadre de la discipline transfusionnelle.

2. Bases moléculaires de système ABO :

2.1. Étude génétique du système ABO :

2.1.1. Gène ABO :

□ Localisation chromosomique :

Le gène *ABO* est localisé sur le chromosome 9q34.2. Il code pour trois formes alléliques principales:

- 2 Allèles codominants A et B : 1065 nucléotides chacun
 - * L'allèle A code pour une α 3-N-acétylgalactosaminyl transférase,
 - * L'allèle B code pour une β 3-D galactosyltransférase,
- L'allèle amorphe (déléte) O : 261 nucléotides porte une délétion dans l'exon 6, qui la rend inactive.

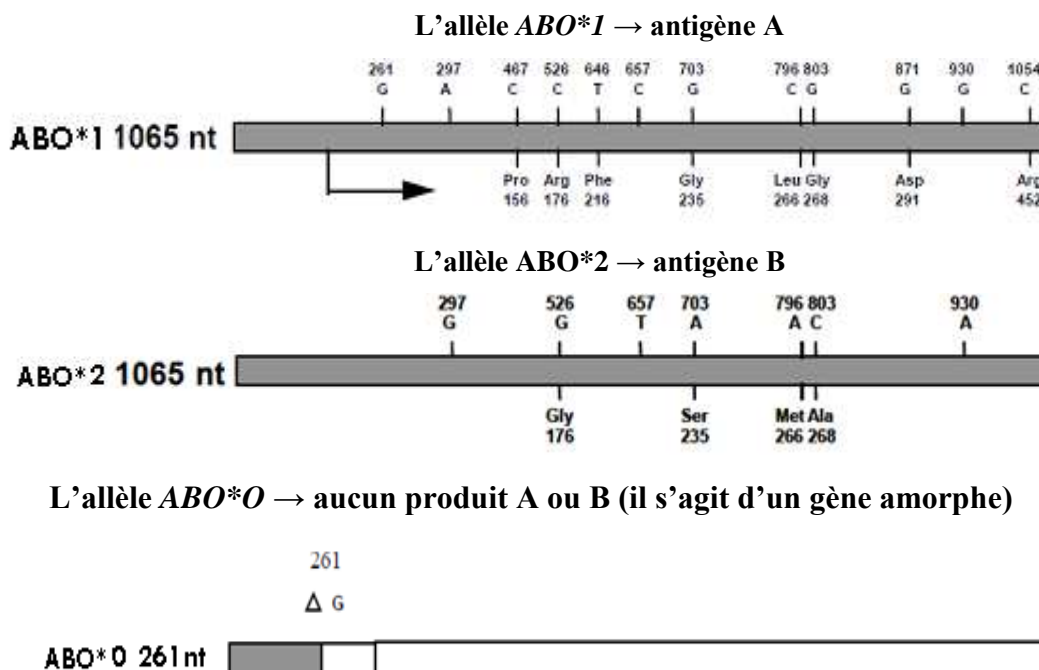


Figure 1 : Polymorphismes des allèles A, B et O

□ **Nombre d'exons :**

- Le gène *ABO* est organisé en 7 exons, répartis sur environ 20 kb d'ADN.
- Les exons 6 et 7 du gène *ABO* codent à eux seuls pour la plus grande partie de la protéine enzymatique (contiennent 90% de la région codante).

□ **Taille :**

Les deux allèles codominants *ABO*1* et *ABO*2* contiennent 1065 nucléotides, alors que l'allèle silencieux *ABO*0* contient 261 nucléotides.

□ **Polymorphisme du système ABO :**

- Les acides aminés en position 266 et 268 jouent un rôle critique dans l'activité catalytique des enzymes.
- L'allèle *ABO*2* diffère de l'allèle *ABO*1* par 7 nucléotides, dont 4 sont responsables de substitutions d'acides aminés en position 176, 235, 266 et 268.

Tableau I: Polymorphisme des allèles A1 et B

	176	235	266	268
Allèle <i>A₁</i>	Arginine	Glycine	Leucine	Glycine
Allèle <i>B</i>	Glycine	Sérine	Méthionine	Alanine

- L'allèle *ABO*5* (*A₂*) diffère de l'allèle *ABO*4* (*A₁*) par une mutation C467T (Proline156leucine), mais également et surtout par une délétion d'une cytosine parmi 3 en position 1059 à 1061 qui entraîne une extension du cadre de lecture de 64 nucléotides. La séquence d'acides aminés est prolongée de 11 acides aminés (365 au lieu de 354).
- Quant à l'allèle *ABO*0* (*O*), l'élément fondateur essentiel est une délétion de la guanine en position 261 au sein de l'exon 6 qui entraîne un décalage du cadre de lecture et l'apparition d'un codon stop prématuré. Ceci aboutit à une protéine tronquée de 117 acides aminés (au lieu de 354), dépourvue du site catalytique. La très grande majorité des allèles *O* possède cette délétion en 261. Des allèles *O* plus rares ne la possèdent pas :
 - * Un premier, présente deux mutations ponctuelles au niveau des nucléotides 297, 526 et 802. Cette dernière mutation (G802A), est responsable de l'abolition de l'activité catalytique de l'enzyme en modifiant l'acide aminé 268 (Arginine à la place d'une Glycine).
 - * Un deuxième, est identique à l'allèle *A₂* mais possède en plus une insertion de guanine entre les nucléotides 798 et 804.

- * Un troisième diffère seulement de l'allèle A_I par une autre insertion d'une guanine entre les nucléotides 87 et 88 qui entraîne un décalage du cadre de lecture et l'apparition d'un codon stop en position 56.
- * Un dernier cas (selon les données actuellement disponibles) se manifeste par la mutation C322T qui crée un codon stop.
- De plus les bases moléculaires de nombreux variants faibles ont été rapportées. Il est aujourd'hui clair que le polymorphisme génétique des groupes sanguins ABO est très nettement supérieur au polymorphisme phénotypique. Ainsi 27 allèles *A*, 15 allèles *B* et au moins 26 allèles *O* sont aujourd'hui décrits, sans tenir compte de plusieurs allèles hybrides qui ont été également rapportés.

2.1.2. Gènes partenaires H et SE :

- L'expression du gène *ABO* dépend des gènes gouvernant la fabrication de l'enzyme H, l' α_2 L-fucosyltransférase qui fixe l' α_2 L-fucose sur le C2 du disaccharide précurseur. Cette action crée la substance H identifiable sur tous les globules rouges et présente dans la salive de tous les sujets sécréteurs. C'est une étape indispensable à l'action des enzymes A ou B pour la transformation totale ou partielle de l'antigène H en A et B.
- Les gènes *H* et *SE* codent pour la même enzyme : une α_2 L-fucosyltransférase. Suivant le type de cellules, c'est l'un ou l'autre de ces 2 gènes qui intervient :
 - * Allèle *H* (*FUT1*) agit sur un substrat de type 2 dans l'érythroblaste et les cellules muqueuses.
 - * Allèle *SE* (*FUT2*) agit sur un substrat de type 1 dans les cellules muqueuses et les cellules épithéliales.

Tableau II: Gènes et gènes partenaires du système ABO et leurs produits

Systemes	Gènes	Enzymes	Substrats	Types de cellules
H	<i>FUT1</i> ou <i>H</i>	α_2 L-fucosyltransférase H	Type 2	Érythroblastes Cellules muqueuses
SE	<i>FUT2</i> ou <i>SE</i>	α_2 L-fucosyltransférase SE	Type 1	Cellules muqueuses Cellules épithéliales
ABO	<i>A</i> <i>B</i> <i>O</i>	α_3 N-acetylglucosaminyl- transférase β_3 D-galactyl-transférase Enzyme amorphe O	Type 1 et Type 2	Cellules épithéliales Érythroblastes Cellules muqueuses

□ Situation chromosomique :

Ces deux gènes sont situés sur le chromosome 19q13.3, indépendants du locus *ABO*.

□ **Polymorphisme des systèmes H et SE :**

- 4 Allèles
 - * Allèles actifs : H et SE
 - * Allèles silencieux : h et se
- 4 haplotypes
 - * 2 haplotypes fréquents : H.SE et H.se
 - * 2 haplotypes rares : h.SE et h.se

2.2. Étude biochimique du système ABO :

2.2.1. Les enzymes :

□ **Les glycosyltransférases :**

- Le gène *ABO*1* code pour l' α_3 N-acétyl-galactosaminyl-transférase A.
- Le gène *ABO*2* code pour la β_3 D-galactosyl-transférase B.
- Le gène *ABO*0* code pour une enzyme :
 - * Tronquée
 - * Mutée (au niveau de site catalytique)
 - * Hybride où les nucléotides insérés déplacent le cadre de lecture et produisent une enzyme à action catalytique nulle

□ **Les fucosyltransférases :**

Ce sont des enzymes produites par les gènes partenaires *H* (*FUT1*) et *SE* (*FUT2*) et dont l'action conduit à la production de la substance H, substrat des enzymes A et B, identifiable sur les globules rouges et les sécrétions.

- *FUT 1* code pour l' α_2 L-fucosyltransférase qui donne la substance H.
- *FUT 2* code pour l' α_2 L-fucosyltransférase qui donne la substance SE.

2.2.2. Les substrats :

□ **Différentes structures :**

Les deux α_2 L- fucosyltransférases produites par les gènes *H* et *SE* se différencient par leur affinité pour leur substrat. Les études biochimiques ont montré l'existence de six types de chaînes précurseurs dont deux seulement (type1 et type2) sont importants pour l'étude du système ABO :

Type 1 : Gal β 1-3GlcNac β 1-R

Type 2 : Gal β 1-4GlcNac β 1-R

Type 3 : Gal β 1-3GalNac α 1-R

Type 4 : Gal β 1-3GalNac β 1-R

Type 5 : Gal β 1-3Gal β 1-R

Type 6 : Gal β 1-4Glc β 1-R

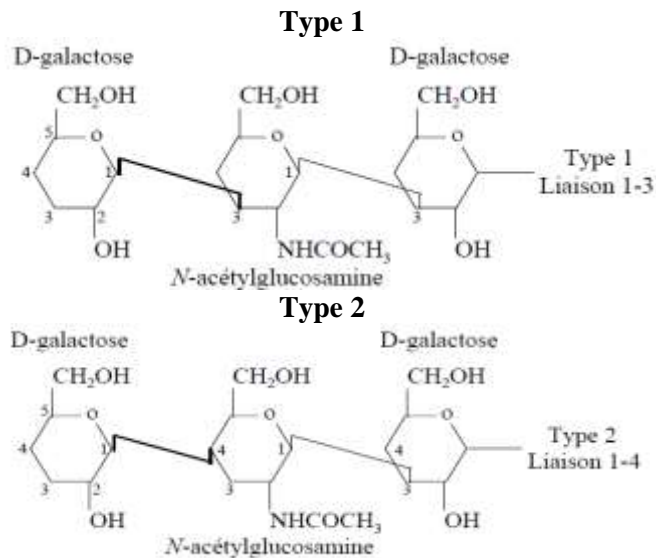


Figure 2 : Structure des substrats des enzymes pour les synthèses des antigènes ABO

□ **Cellules productrices :**

▪ **Les fucosyltransférases :**

- ✓ Dans les cellules érythroblastiques et la cellule muqueuse : l' α_2 L-fucosyltransférase H :
 - ✗ Utilise un précurseur de type 2.
 - ✗ Donne la substance H de type 2.
- ✓ Dans les cellules muqueuses et les cellules épithéliales l' α_2 L-fucosyltransférase SE :
 - ✗ Utilise un précurseur de type 1.
 - ✗ Donne la substance H de type 1.

▪ **Les glycosyltransférases :**

- ✓ Dans les érythroblastes et la cellule muqueuse : l' α_3 N-acétyl-galactosaminyl-transférase et la β_3 D-galactyl-transférase B :
 - ✗ Utilise un précurseur de type 2.
 - ✗ Donne l'antigène A, B ou AB de type 2.
- ✓ Dans les cellules muqueuses et les cellules épithéliales l' α_3 N-acétyl-galactosaminyl-transférase et la β_3 D-galactyl-transférase B :
 - ✗ Utilise un précurseur de type 1
 - ✗ Donne l'antigène A, B ou AB de type 1

□ **Nature biochimique :**

- Dans la cellule muqueuse de nature glycoprotéique.
- Dans l'érythroblaste de nature glycoprotéique et glycolipidique.
- Dans la cellule épithéliale de nature glycolipidique.

3. Étude des antigènes et des phénotypes du système ABO :**3.1. Ontogénèse et distribution :****3.1.1. Ontogénèse :**

Les antigènes du système ABO sont présents avant même la différenciation du tissu hématopoïétique :

- Dès les premières semaines de la vie fœtale: les antigènes A, B et H sont développés dans de nombreux tissus à savoir le tissu endothélial et épithélial.
- A la 5^{ème} semaine: les antigènes A, B et H sont développés sur l'endothélium cardiovasculaire.
- A la 8^{ème} semaine: les antigènes A, B et H sont retrouvés sur les cellules épithéliales du tube digestif, le tractus respiratoire, la vessie, sauf le foie et le système nerveux central.
- Vers le troisième mois: les antigènes A, B, H des cellules épithéliales atteignent leur maximum d'expression.
- À la fin du troisième mois au sixième mois: l'involution des antigènes A, B et H de la plupart des organes au moment où ceux-ci terminent leur différenciation et commencent à prendre leurs fonctions spécifiques.
- Plus tard (vers le 10^{ème} jour) après la naissance: apparition des antigènes A, B, H et Lewis dans le plasma et toutes les sécrétions exocrines des sujets sécréteurs.

3.1.2. Distribution :

Les antigènes ABH ne sont pas restreints aux globules rouges. En effet, ils sont aussi présents sur les autres cellules sanguines (leucocytes et plaquettes), ainsi que sur les autres cellules de l'organisme:

- Muqueuse des glandes salivaires des sujets sécréteurs,
- Endothélium vasculaire,
- Épithélium du tractus digestif,
- Muqueuses de l'appareil respiratoire et génital,
- La peau,
- Le glomérule rénal,
- Les liquides biologiques contenant les antigènes ABH autres que le plasma et la salive sont : le sperme, kystes d'ovaires, les larmes, le lait.

3.2. Principaux antigènes et phénotypes :

Les 5 antigènes principaux antigènes du système ABO sont :

- L'antigène A (ABO001 ou ABO1),
- B (ABO002 ou ABO2),
- AB (ABO003 ou ABO3)
- A₁ (ABO004 ou ABO4),
- A₂ (ABO005 ou ABO5).

La présence ou l'absence de ces antigènes à la surface des globules rouges est sous la dépendance de trois gènes allèles : deux codominants A et B, et un allèle amorphe O qui s'excluent lors de la méiose.

Cela a permis de distinguer 4 phénotypes principaux :

Tableau III: Principaux antigènes et phénotypes du système ABO

Phénotypes	Antigènes globulaires	Anticorps plasmatiques	Génotypes possibles	% en Algérie	% en France	% en Australie	% en Japon
A	A	Anti-ABO2 (anti-B)	<i>ABO*1/ABO*1</i> (A/A) <i>ABO*1/ABO*0</i> (A/O)	33	45	61,3	37,3
B	B	Anti-ABO1 (anti-A)	<i>ABO*2/ABO*2</i> (B/B) <i>ABO*2/ABO*0</i> (B/O)	18	9	0	22,1
AB	A et B	Ni anti-ABO1 ni anti-ABO2	<i>ABO*1/ABO*2</i> (A/B)	5	3	0	9,1
O	Ni A ni B	Anti-ABO1 et anti-ABO2	<i>ABO*0/ABO*0</i> (O/O)	44	43	38,7	31,5

3.3. Phénotypes courants :

Dans le système ABO, le groupe A est subdivisé en 2 sous groupes A₁ et A₂.

3.3.1. Phénotype A1 :

- 80 % des sujets A sont de phénotype A1, caractérisé par une forte densité en déterminants antigéniques (environ 1 million de sites) à la surface de GR.
- Présence possible des anticorps anti-H naturels et irréguliers chez les sujets A₁ et A₁B.

3.3.2. Phénotype A2 :

- 20 % des sujets A sont de phénotype A2, caractérisé par une densité plus modérée en déterminants antigéniques (environ 200.000 à 400.000 sites) à la surface du GR.
- Présence possible des anticorps anti-A1 naturels et irréguliers chez 5% des sujets A₂ et 25% des sujets A₂B.

3.3.3. Différence entre A1 et A2 :

Les différences entre les phénotypes A1 et A2 sont quantitatives et qualitatives, les bases moléculaires différentes mais sont sans aucun intérêt transfusionnel ou obstétrical.

Tableau IV: Différences entre les phénotypes A1 et A2

Phénotypes	Anti-A1	Anti-H
A ₁	+++	-
A ²	-	+++
A intermédiaire	++	++

3.4. Variants génétiques rares :**3.4.1. Phénotypes A et B faibles :**

On distingue deux catégories de phénotype faible :

- Les variants génétiques reconnus par une agglutination faible :
 - ✗ A₃ et B₃,
 - ✗ A_x et B_x,
 - ✗ A_{end}
- Les variants reconnus par élution, étude des sécrétions (car la quantité d'antigène est normalement représentée dans les sécrétions) et l'étude génétique familiale sont :
 - ✗ A_m et B_m,
 - ✗ A_y,
 - ✗ A_{el} et B_{el}

Tableau V: Principaux phénotypes A et B faibles

Phénotypes	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-H	GR A ₁	GR A ₂	GR B
A ₃	± ±	-	± ±	+++	+ ou -	-	+++
A _x	(+)	-	+	+++	+	-	+++
A _{end}	±	-	±	+++	+ ou -	-	+++
B ₃	-	± ±	± ±	+++	+++	++	-
B _x	-	+	+	+++	+++	++	+
A _m	-	-	-	+++	-	-	+++
A _y	-	-	-	+++	-	-	+++
A _{el}	-	-	-	+++	++	+ ou -	+++
B _{el}	-	-	-	+++	+++	++	+ ou -
B _m	-	-	-	+++	+++	++	-

3.4.2. Phénotype Cis AB :

- Le phénotype cis-AB est issu de la présence en cis de deux gènes *A* et *B* sur un même chromosome. Les allèles *A* et *B* ne s'excluent pas lors de la méiose mais se transmettent en un seul bloc en position cis.
- Le gène cis-AB code pour une enzyme hybride qui possède l'activité enzymatique de *A* et de *B* conduisant à la fixation de l'antigène *A* et de l'antigène *B* sur les GR.
- Ce phénotype est caractérisé par un déséquilibre entre la réactivité des antigènes *A* (réactivité normale) et des antigènes *B* (réactivité faible), et un excès de substance *H*. Ainsi, trois phénotypes principaux ont été décrits : cis- A_1B_3 , cis- A_2B_3 et le cis- A_2B .
- Le phénotype cis-AB le plus fréquent est le cis A_2B_3 qui est caractérisé par :
 - ✗ Un antigène *A* dont la réactivité est égale à celle d'un A_2B classique,
 - ✗ Un antigène *B* très affaibli,
 - ✗ Un excès important d'antigène *H*,
 - ✗ Un anti-*B* faible dans le plasma,
 - ✗ La présence dans la salive des sujets sécréteurs de substance *A* et *H* en quantité normale et de substance *B* mise en évidence seulement en utilisant les propres hématies du sujet.
- L'incidence du phénotype cis-AB est très faible.

3.5. Modifications antigéniques :**3.5.1. Anomalies congénitales :**

- Chimère chez des jumeaux dizygotes s'échangeant des cellules hématopoïétiques :
- Lors de la grossesse, les globules rouges des jumeaux peuvent s'échanger.
 - ✗ Les jumeaux présenteront donc une double population de globules rouges.
 - ✗ Cette double population va donc disparaître au cours de la vie, mais l'immunité de l'enfant aura produit une tolérance vis-à-vis des antigènes des globules rouges de son jumeau. Si l'un des jumeaux est *A* et l'autre est *B*, le plasma des jumeaux ne présentera pas d'anticorps du système ABO.

3.5.2. Phénotypes acquis :**3.5.2.1. Phénotypes acquis suite à une infection :****☐ Phénotype B acquis :**

- Ce phénotype acquis s'observe chez des sujets de phénotype A_1 , le plus souvent dans :
 - ✗ Un contexte d'infection digestive.
 - ✗ Dans le cadre d'un cancer colique.

- Lors du groupage sanguin, on met en évidence une faible agglutination (image de double population) des hématies avec les réactifs anti-B :
 - ✗ Ce phénomène était classiquement observé avec les réactifs anti-B polyclonaux.
 - ✗ Il n'est aujourd'hui pratiquement plus mis en évidence du fait de l'utilisation des anticorps monoclonaux.
- Sur le plan biochimique, il est dû à l'action d'une désacétylase produite par le germe responsable de l'infection qui transforme la N-acétyl-galactosamine (épitope A) en galactosamine, très proche du galactose (épitope B).
- Ce phénomène est transitoire et ne dure que le temps de la vie des globules rouges ayant subi l'action de la désacétylase.
- Dans des cas plus rares, un autre mécanisme pourrait expliquer le phénotype B acquis
 - ✗ Certaines bactéries produisent des lipopolysaccharides qui présentent des structures B-like.
 - ✗ L'adsorption passive de telles structures sur la membrane des hématies entraînerait un phénotype B acquis.
 - ✗ Ce phénomène démontré in vitro, n'a jamais été prouvé in vivo.

□ **Phénotype A acquis :**

Berman a montré en 1992, que des hématies polyagglutinables de type Tn se comportent comme ayant un antigène A. En effet, le sucre immunodominant du phénomène Tn est une N-acétyl-galactosamine.

3.5.2.2. Phénotypes acquis au cours d'une pathologie maligne :

- Les cellules de nombreux tissus qui expriment normalement les antigènes ABH, peuvent perdre partiellement cette expression quand un processus malin se développe dans ces tissus. On observe fréquemment ce phénomène chez des patients atteints de pathologies hématologiques.
- Inversement et plus rarement, certains sujets de groupe B ou O peuvent présenter au niveau de leurs cellules malignes un antigène A like.

3.5.2.3. Phénotypes acquis suite à une allogreffe de CSH :

- Le receveur acquiert le groupe du donneur (chimérisme complet). Pour un patient de groupe A greffé en groupe B, le corps humain va produire des antigènes B sur les globules rouges : le patient va donc devenir B et dans le même temps, le système immunitaire va tolérer cet antigène B car devenu un antigène du soi, il ne va donc plus produire des anticorps contre le groupe B comme initialement, il n'aura donc plus d'anticorps du système ABO.
- Peut aussi porter son groupe sanguin et celui du donneur (chimérisme mixte).

4. Étude des anticorps du système ABO:

4.1. Anticorps naturels (hétéro-anticorps) :

Tableau VI: Caractéristiques des anticorps du système ABO

Origine	Réponse primaire de l'organisme dirigé contre des antigènes A ou B portés par : <ul style="list-style-type: none"> ▪ Les bactéries saprophytes de la flore intestinale, ▪ Diverses substances de l'environnement.
Type	Essentiellement des IgM, mais aussi des IgG voir des IgA.
Propriétés	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Spontanément agglutinants en milieu salin, ▪ Optimum thermique est à 4°C, ▪ Neutralisés par des substances de groupes A ou B solubles (substances de Witebsky), ▪ Sans pouvoir hémolysant in vitro, ▪ Thermolabiles (10 min à 70 °C.), ▪ Apparaissent habituellement entre le 3^{ème} et 6^{ème} mois de vie, ▪ Concentration : <ul style="list-style-type: none"> ▫ Maximum vers l'âge de 10 ans. ▫ Diminués dans certaines pathologies (Waldenström, LLC,...) ▫ Augmentés dans certaines anémies hémolytiques auto-immunes, les cirrhoses éthyliques, ou certaines hépatites chroniques actives.
Spécificités	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Anticorps réguliers : anti-A, anti-B, anti-AB ainsi que l' anti-H chez les sujets Bombay. ▪ Anticorps irréguliers : anti-H chez les A1 et les A1B, anti-A1 chez les A2 et A2B.

4.2. Anticorps immuns (allo anticorps) :

Tableau VII: Caractéristiques des anticorps immuns du système ABO

Origine	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Allo-immunisation fœto-maternelle ou exceptionnellement transfusionnelle par accident.
Type	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Essentiellement des IgG
Propriétés	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ne sont pas spontanément agglutinants en milieu salin, ▪ Leur activité est conservée à 37 °C, ▪ Difficilement neutralisables par des substances solubles, ▪ Sont hémolysants, ▪ Thermostable (10 min à 70 °C), ▪ Capables de franchir la barrière placentaire. ▪ Détectés par la technique de recherche des hémolysines anti-A et anti-B.
Spécificités	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Irréguliers : anti-A et anti-B

4.3. Auto anticorps :

Rarement observés dans le système ABO. Quelques cas d'auto-anticorps anti-A et anti-B de nature IgM ont été décrits, ces anticorps apparaissent lors de :

- Déficits immunitaires,
- Maladies de système,
- Cancers,
- Hémopathies malignes,
- Maladies infectieuses,

5. Applications :

5.1. Transfusion sanguine :

Toute transfusion sanguine est précédée d'un groupage sanguin ABO dans le but de respecter les règles de compatibilité transfusionnelle, du fait de la présence des anticorps naturels anti-A et anti-B, ceci pour :

- Transfusion de sang total.
- Transfusion de concentrés de globules rouges.
- Transfusion de concentrés de plaquettes.
- Les sous-groupes A1 et A2 sont sans intérêt transfusionnel.
- Les sujets A faible avec hémolysine anti A1, préférer les CGR O au A.

5.1.1. Transfusion identique :

- Dans la transfusion identique ou isogroupes le donneur et le receveur sont de même groupe.
- Elle est souhaitable mais pas toujours possible d'où,

5.1.2. Transfusions compatibles : Schéma d'OTTENBERG :

- Les concentrés globulaires O peuvent être transfusés indifféremment à des sujets A, B ou AB puisque les hématies O sont dépourvues des antigènes A et B. Les sujets du groupe O sont dits donneurs universels.
- Dans cette règle de compatibilité transfusionnelle, on ne tient pas compte de l'anticorps du donneur qui, apporté en très faible quantité par le concentré globulaire, est dilué dans la masse sanguine du receveur.
- Cette règle souffre cependant d'exceptions :
 - * Lors de transfusions massives et non isogroupes (ex. sang O à un sujet A): il est possible que l'anticorps du donneur alors apporté en quantité très importante vienne détruire les hématies du receveur.
 - * Le donneur universel dangereux. : le sujet O, appelé donneur universel, peut posséder dans certains cas, un anticorps immun, anti-A le plus souvent, qui est dangereux pour le receveur A ou AB. Le sang de ces sujets, ne peut donc être transfusé qu'à des receveurs isogroupes, c'est-à-dire des sujets de groupe O.

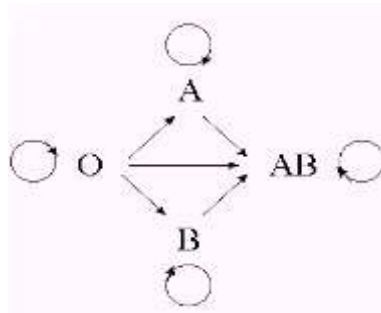


Figure 3: Schéma d'OTTENBERG

5.1.3. Transfusion néo-natale :

Le sang choisi doit être compatible avec les anticorps de la mère et ceux de l'enfant

Tableau VIII: Règles de compatibilité en transfusion néo-natale

Enfant	Mère	Sang compatible
A	A B AB O	O A
B	A B AB O	O B
AB	A B AB	O ou A O ou B AB
O	A B O	O

5.1.4. Transfusion de plasma :

Les règles de compatibilité ABO dans le cadre de la transfusion de plasma sont l'inverse de celles de la transfusion de concentrés globulaires:

- Le plasma AB, dépourvu d'anticorps ABO convient à tous les groupes, il est donneur universel.
- Le plasma O, ayant les anticorps anti A + B, ne convient qu'au groupe O, il est receveur universel.
- Le plasma A convient aux groupes A et O et le plasma B convient aux groupes B et O.

5.1.5. Transfusion de plaquettes :

Pour la transfusion de concentrés plaquettaires, il faut qu'il y ait une compatibilité ABO entre le plasma du donneur et les globules rouges du receveur, mais il n'est pas impératif que les groupes sanguins soient identiques. Cette compatibilité est cruciale dans le cas de nouveau-nés, car leur volume sanguin est réduit.

5.2. Transplantation et allogreffe :

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques n'impose pas une compatibilité ABO. Les antigènes A et B sont faiblement exprimés par les précurseurs érythroïdes et l'immunosuppression du receveur contribue à cette tolérance. Cependant, cette technique peut exposer le patient à des complications particulières et, en cas de chimérisme, rendre l'interprétation des groupes sanguins impossible. La prise en charge transfusionnelle qui en découle est parfois complexe.

Il existe 3 types d'incompatibilités :

- Majeure (ex : A→O) : risque de retard de reconstitution érythropiétique et d'érythroblastopénie.
- Mineure (ex : O→A) : risque de réaction hémolytique aigüe dans les premiers mois post-greffe (lymphocyte passager).
- Mixte (ex : A→B) : incompatibilité majeure et mineure.

6. Méthodes d'étude :

6.1. Méthodes immunologiques :

6.1.1. Techniques classiques :

L'avènement des anticorps monoclonaux a complètement modifié l'exploration immunologique du système ABO, ces anticorps sont de type Ig M donc agglutinants, actifs à la température du laboratoire.

6.1.1.1. Groupage ABO classique:

Le groupage ABO classique repose sur l'utilisation de deux techniques complémentaires qui sont :

□ Épreuve globulaire de Beth-Vincent:

Le principe du groupage sanguin ABO est basé sur la recherche des antigènes A et B sur les hématies testés par agglutination grâce à l'utilisation des sérums tests anti-A, anti-B et anti-AB selon la technique de Beth-Vincent.

□ Épreuve plasmatique de Simonin et Michon :

Le principe du groupage sérique ABO est basé sur la recherche des anticorps anti-A et anti-B dans le sérum testé par agglutination grâce à l'utilisation des hématies-tests de groupe A et B selon la technique de Simonin et Michon.

- Ces deux techniques peuvent être réalisées par différentes méthodes :
 - × Sur Plaques,
 - × En tube,
 - × Sur Microplaques,
 - × Sur gel,
 - × Par méthodes automatiques.

6.1.1.2. Fixation-élution :

- Cette technique ne constitue pas une analyse de routine, elle est utilisée afin de déterminer les variants antigéniques faibles de système ABO lorsque la détermination du groupage sanguin ABO n'a pu être effectuée.
- Le principe de la technique de fixation et/ou de l'élution repose sur la dissociation de l'anticorps fixé in-vitro, par modification des conditions physico-chimiques de la réaction antigène-anticorps, et le récupérer pour étudier sa spécificité.
- Permet autant de mettre en évidence une faible quantité d'anticorps anti-A ou/et anti-B présents dans le plasma du patient, que de mettre en évidence la présence d'antigène A ou d'antigène B à la surface des globules rouges.

6.1.1.3. Recherche des substances ABH (et LEWIS) dans la salive :

Le principe de la recherche des substances solubles de groupes sanguins repose sur la mise en évidence dans la salive par inhibition de l'héماغglutination, après inactivation des enzymes salivaires, par chauffage.

6.1.1.4. Recherche d'hémolysine anti-A et anti-B immuns :

Le principe de la technique de recherche des hémolysines anti-A et anti-B immuns repose sur la réaction d'hémolyse en solution saline à 0.9%, en présence de complément, utilisant des :

- Hématie-tests A1 et B.
- Mélange de sérums AB frais.

6.1.2. Techniques modernes :**6.1.2.1. Technique automatique de groupage sanguin:**

- Le principe de la technique automatique de groupage sanguin repose sur la mise en évidence de l'agglutination par lecture photométrique ou magnétique en effectuant toutes les étapes automatiquement.
- Certains appareils permettent d'effectuer le groupage sanguin par cytométrie en flux, technique peu ou pas utilisée en routine.

6.1.2.2. Méthodes de biologie moléculaire :**Technique de PCR :**

- Le principe de la technique de PCR repose sur l'étude de l'ADN après extraction, amplification, séquençage puis analyse en électrophorèse sur gel de polyacrylamide.
- Ainsi 27 allèles A, 15 allèles B et au moins 26 allèles O sont aujourd'hui décrits, sans tenir compte de plusieurs allèles hybrides qui ont été également rapportés.
- La connaissance des bases moléculaires ont permis de projeter le système ABO parmi les systèmes de groupe sanguin les plus discriminants en termes de polymorphisme.

II. Hémolysines :**1. Définition :**

- Contrairement aux anticorps anti A et anti B naturels, les anticorps immuns sont fortement hémolysants car ils sont capables de déclencher la cascade complète du complément. Les hémolysines sont caractérisées par un maximum d'activité à 37°C et sont surtout de nature IgG. Elles sont difficilement absorbables par les antigènes A et B solubles et peuvent donc entraîner des hémolyses chez les receveurs de sang.
- Le cas le plus éloquent étant le donneur universel dangereux (sujet O avec hémolysines anti A et/ou anti B). Les hémolysines peuvent, enfin, traverser la barrière foetoplacentaire et être responsable de la maladie hémolytique du nouveau-né.

2. Conditions d'apparition :

- Allo immunisation : c'est le cas d'une grossesse ABO incompatible, ou d'une transfusion de produits sanguins contenant des hématies ABO incompatibles (PFC, CSP...) ou Après transplantation.
- Ou hétéro immunisation telle que par vaccination, sérothérapie, substances de Witebsky ou par certaines préparations pharmaceutiques contenant des substances de groupes sanguins.

3. Implication pathologique :

- **L'injection d'un sang O contenant des hémolysines à des receveurs A ou B :**
 - Peut provoquer des accidents hémolytiques sévères. Ceci était particulièrement vrai lors de la transfusion de sang total, situation devenue exceptionnelle de nos jours. La quantité de plasma résiduel est aujourd'hui très faible dans les concentrés érythrocytaires (< 25 mL). Le risque est donc très limité avec ce type de produit, mais la recherche d'hémolysines anti-A/B demeure obligatoire en France chez tous les donneurs de globules rouges.
 - La situation la plus à risque correspond à la transfusion de produits plaquettaires suspendus dans une quantité importante de plasma.
 - La transfusion de plaquettes non isogroupe est relativement fréquente, du fait de la forte demande de ce type de produit. Ceci est possible à la seule condition que le donneur soit dépourvu d'hémolysines reconnaissant les hématies du receveur.
 - Il est par ailleurs impératif d'identifier la présence d'hémolysines sur l'étiquette des produits sanguins érythrocytaires et plaquettaires.
- **Anémie hémolytique du nouveau né :**

Si la mère a développé des hémolysines et le fœtus est de groupe sanguin différent de celui de sa mère.

4. Méthodes de recherche :

- La détection des anticorps naturels se fait par l'épreuve indirecte de Simonin.
- Celle des anticorps immuns peut se faire, soit par la technique de Coombs indirect en utilisant des substances de groupe solubles permettant d'absorber les anticorps naturels, soit par destruction à la chaleur, ou par la recherche directe de l'effet hémolysant de ces anticorps.

PARTIE PRATIQUE

1. Objectifs :

1.1. Objectif principale :

Cette étude est mener dans un but d'estimer la prévalence des hémolysines anti-A et/ou anti-B chez des donneurs du groupe « O »bénévoles, occasionnels ou contrepartie du sang total ou par aphérèse au niveau du centre de wilaya de transfusion sanguine du CHU Tlemcen, par la recherche directe de l'effet hémolysant de ces anticorps.

1.2. Objectif secondaire :

L'objectif secondaire de cette étude est l'amélioration de la sécurité transfusionnelle par la prévention des accidents transfusionnels dus aux hémolysines présents chez les donneurs « O » dangereux.

2. Cadre d'étude :

2.1. Lieu d'étude :

Cette étude a été menée au niveau du centre d'Hémodiagnostic et banque du sang au sein du CHU Tlemcen.

2.2. Type et période d'étude :

Il s'agit d'une étude descriptive prospective qui s'étalant sur huit mois, du septembre 2014 à avril 2015.

2.3. Population d'étude :

- La population d'étude est constituée par des donneurs du groupe « O », bénévoles du sang allogénique venant au centre d'Hémodiagnostic et banque du sang de CHU Tlemcen; des donneurs réguliers ou des donneurs occasionnels.
- Cette étude a concernée 128 donneurs de sang issus des différents endroits de notre région et dont l'âge varie de 18 à 55 ans.
- Notre série d'étude a comporté 104 hommes (H) et 24 femmes (F) avec une nette prédominance masculine : sex ratio de 4,33.
- Tous ces donneurs ont été prélevés et groupés au sein de notre centre d'Hémodiagnostic et banque du sang et testé pour le système ABO et RH.

2.3.1. Critères d'inclusion :

- Être un donneur de sang régulier ou occasionnel.
- Remplir les critères du don de sang (annexe I).
- Tous les donneurs du sang « O ».

2.3.2. Critères de non inclusion :

- Répondre à un des critères de contre-indication du don sang (annexe I).
- Tous les donneurs du sang A,B et AB quelque soit le rhésus.

3. Matériel et méthodes :**3.1. Prélèvements, matériel, consommables et réactifs:****3.1.1. Prélèvement :**

Il s'agit de prélèvements du sang veineux effectué chez les donneurs du sang sur tube avec anticoagulant « citrate de sodium ».

3.1.2. Matériel :

- Centrifugeuse de paillasse avec nacelles pour tube à hémolyse.
- Étuve réglable à 37° C.
- Pipettes automatiques simple réglables à 100 µL.
- Pipettes pasteur
- Portoirs pour tubes à hémolyse de 5 mL.
- Tubes à hémolyse de 5 mL.

3.1.3. Consommables :

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

3.1.4. Réactifs :

- Sérums tests anti-A, anti-B, anti-AB et anti-D.
- Solution saline a 0,9 %.
- Suspension d'hématies : A et B frais, lavée trois fois et diluées au 1/10^{ème} en solution saline à 0,9 %.
- Complément: pool de 20 sérum humain de groupe AB frais.

3.2. Méthodes :**3.2.1. Étude sérologique :****3.2.1.1. Groupage sanguin ABO sur plaque :****☐ Épreuve globulaire de Beth-Vincent :**

1. Bien nettoyer la plaque à l'alcool.
2. Déposer cote a cote sur la plaque :
 - 1 goutte de sérum- test anti A.
 - 1 goutte de sérum -test anti B
 - 1 goutte de sérum- test anti A+B.
3. Déposer a cote de chacune de ces gouttes, une goutte de suspension d'hématies à tester.

☐ Épreuve plasmatique de Simonin :

1. Déposer cote a cote sur la plaque, 4 fois 2 gouttes de plasma a tester.
2. A cote de chaque goutte, déposer respectivement:
 - 1 goutte de suspension d'hématies - tests de groupe B.
 - 1 goutte de suspension d'hématies- tests de groupe A1.
 - 1 goutte de suspension d'hématies- tests de groupe A2.
 - 1 goutte de suspension d'hématies - tests de groupe 0.

☐ Lecture :

1. A l'aide d'un fond de tube, mélanger soigneusement hématies et plasmas ou sérum-tests en un disque de 3 cm de diamètre environ, en essuyant le tube entre chaque mélange, avec du coton ou de la gaze.
 2. Faire chalouper légèrement la plaque à la recherche d'agglutinations ou d'éventuelle hémolyse.
- ☐ Les 2 épreuves globulaire et plasmatique doivent :
- Être concordantes pour les 2 techniciens.
 - Présenter des résultats identiques avec des réactions d'agglutinations nettes sur un fond blanc.
- ☐ Lorsque les antigènes du système ABO sont présents sur les hématies à tester, les anticorps correspondants sont absents du plasma a tester.
- ☐ Lorsque les antigènes du système ABO sont absents des hématies à tester les anticorps correspondants sont présentes dans le plasma à tester.

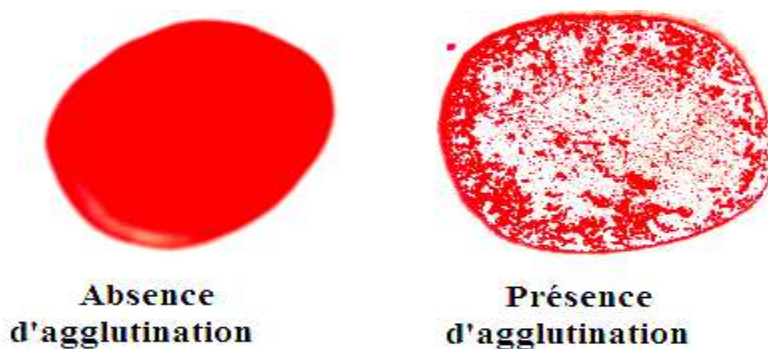


Figure 4 : Résultats d'agglutination

3.2.1.2. Groupage RHD sur plaque :

Le groupage RHD accompagne le groupage ABO ; il consiste à rechercher l'antigène RHD sur les hématies au moyen de sérum test anti-D

- 1 volume = 1 goutte = 50 uL.
- 2 Déposer cote à cote sur la plaque 2 fois 1 goutte de suspension d'hématies à 40% dans son propre plasma ou en sérum AB. Ajouter:
 - À la 1^{ère} goutte 2 gouttes de réactif anti D.
 - À la 2^{ème} goutte 2 gouttes de réactif témoin.
- 3 Mélanger soigneusement les hématies avec les réactifs en un disque de 3 cm de diamètre environ, à l'aide d'un tube, qui sera essuyé entre chaque mélange ,avec de la gaze.
- 4 Chalouper la plaque à la recherche d'agglutinations éventuelles.

3.2.1.3. Recherche et titrage des hémolysines :

3.2.1.3.1. Préparation des hématies-tests :

- 1 A partir d'hématies groupées dans le système ABO on sélectionne celles qui appartiennent aux groupes A et B.
- 2 Lavage des hématies sélectionnées trois fois en solution saline.
- 3 Mise en suspension à 10 % (disposer d'un tube et mettre un volume du culot globulaire lavé).
- 4 Ajouter 9 volumes de solution saline a 0,9%).
- 5 Répartir dans des flacons étiquetés portant les caractéristiques des suspensions préparées,
- 6 Conservation à 4 °C.

3.2.1.3.2. Recherche des hémolysines :**□ Principe :**

La réaction consiste à détecter l'hémolyse éventuelle des hématies A ou B connues par le sérum à examiner censé contenir une hémolysine anti-A et/ou anti-B en présence de complément.

□ Techniques :**✓ Test d'Hémolyse sur sérum frais :**

- Laver 3 fois les hématies A et B,
- Préparer des suspensions à 10 % en solution saline
- Disposer dans un portoir 4 tubes,
- Distribuer à la pipette pasteur les quantités, en gouttes, figurant sur le tableau suivant.
- Incuber 30 mn à 37°C. (Annexes II)
- Centrifuger (Annexes III)
- Observer une éventuelle hémolyse et noter l'intensité en croix (+, ++, +++).

Tableau IX : Test d'hémolyse sur sérum frais

Tube N°	Tubes échantillons		Tubes témoins	
	1	2	3	4
Sérum frais	4	4	-	-
Solution saline	-	-	4	4
Hématies A	2	-	2	-
Hématies B	-	2	-	2

✓ Test d'Hémolyse sur sérum conservé :

- Laver 3 fois les hématies A et B.
- Préparer des suspensions à 10 % en solution saline
- Décomplémenter le sérum à examiner par un chauffage au bain marie à 56°C pendant 30 mn.
- Disposer dans un portoir en 6 tubes.
- Distribuer à la pipette pasteur les quantités, en gouttes, figurant sur le tableau suivant.
- Incuber à 37°C pendant 30 mn. (Annexe II)
- Centrifuger (annexes III)
- Observer une éventuelle hémolyse et noter l'intensité en croix (+, ++, +++).

Tableau X : Test d'Hémolyse sur sérum conservé

Tube N°	Tubes échantillons		Tubes témoins			
	1	2	3	4	5	6
Sérum à tester	4	4	-	-	4	-
Sérum AB frais (complément)	4	4				4
Solution saline	-	-	8	8	4	4
Hématies A	2	-	2	-	2	2
Hématies B	-	2	-	2	-	-

□ **Lecture :**

1. Les tubes témoins n° 3, 4, 5 et 6 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.
2. Un des tubes témoins présente une hémolyse. La réaction est ininterprétable et doit être refaite.

□ **Causes d'erreur :**

1. Une hémolyse dans les tubes 3 ou 4, témoins hématies, indique que les hématies s'hémo lysent spontanément, hématies trop vieilles. Recommencer la réaction avec des hématies A et B frais.
2. Une hémolyse dans le tube 5, témoin sérum, indique une inactivation incomplète du complément.
3. Il faut recommencer l'inactivation 45 mn à 56°C sur un nouvel échantillon de sérum.
4. Une hémolyse dans le tube 6, témoin complément, indique la présence dans le mélange des sérums fournissant le complément, d'une hémolysine. Utiliser un autre mélange de sérums frais.

3.2.1.3.3. Titrage des hémolysines :**□ Principe :**

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

□ Technique :

1. Disposer d'une série de 10 tubes (ou plus selon la dilution désirée).
2. Déposer 1 volume de solution saline a 0.9% dans chaque tube.
3. Ajouter 1 volume du sérum dans le premier tube.
4. Mélanger et par brassage transférer 1 volume du premier tube vers le deuxième tube.
5. Répéter l'opération 4 pour le deuxième tube vers le troisième tube et ainsi de suite jusqu'au dixième tube (dilution finale).

Tableau XI : Distribution des dilutions pour le titrage des hémolysines

Tube	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Dilution	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024

6. Le titre est donne par l'inverse de la plus grande dilution donnant encore un résultat positif.

3.2.2. Étude statistique :

3.2.2.1. Recueil de données :

- Le recueil des données concernant :
 - Le nombre total de donneurs.
 - Le nombre de donneurs selon leur âge et leurs sex.
 - Le nombre de donneurs « O » qui possèdent les hémolysines
 - Les titres des hémolysines présentes
- Ce recueil à été effectué manuellement, et au même temps que la réalisation des tests sérologiques.
- Ceci à partir des deux registres de groupage ABO-RH, les fiches des donneurs et notre résultat.

3.2.2.2. Analyse de données :

- Les données obtenues ont été analysées par le logiciel Excel.

4. Résultats et interprétation :

4.1. Répartition globale des hémolysines anti-A et anti-B :

L'étude de la répartition globale des hémolysines anti-A et anti-B a montrée les résultats suivantes :

Tableau XII : Répartition globale des hémolysines anti-A et anti-B

	Anti-A seul	Anti-B seul	Anti-A + anti-B	Ni anti-A, ni anti-B	Total
Nombre	11	7	4	106	128
Taux (%)	8,59	5,47	3,13	82,81	100

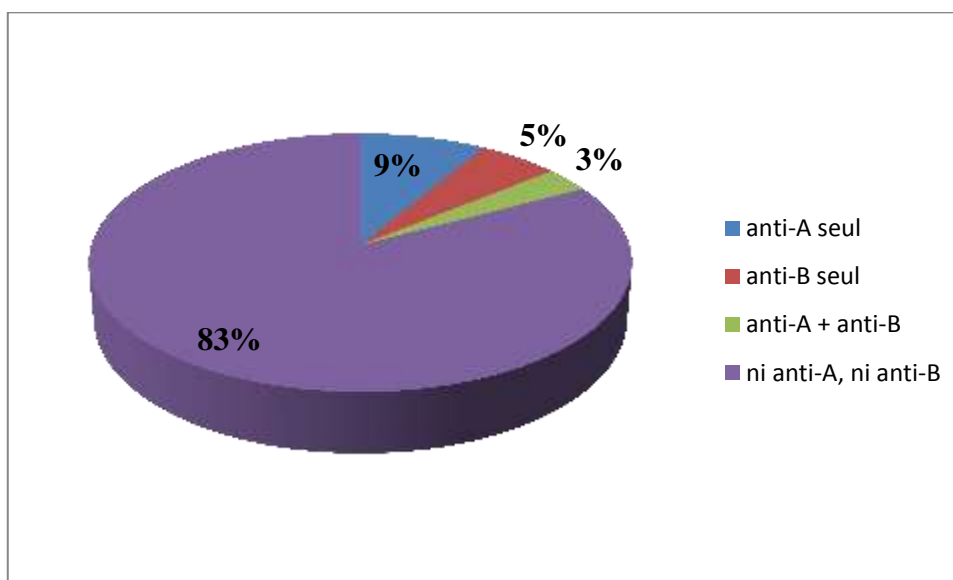


Figure 5 : Répartition globale des hémolysines anti-A et anti-B

L'étude a montrée que l'hémolysine anti-A est plus fréquente que l'anti-B.

4.2. Répartition des hémolysines anti-A et anti-B selon le sex :

L'étude de la répartition des hémolysines anti-A et anti-B selon le sex de donneurs a montrée les résultats suivantes :

Tableau XIII : Répartition des hémolysines anti-A et anti-B selon le sex

		Anti-A	Anti-B	Anti-A + Anti-B	Ni anti-A, ni anti-B	Total
Hommes	Nombre	9	4	3	88	104
	Taux (%)	8,65	3,85	2,88	84,62	100
Femmes	Nombre	1	3	1	19	24
	Taux (%)	4,17	12,5	4,17	79,16	100

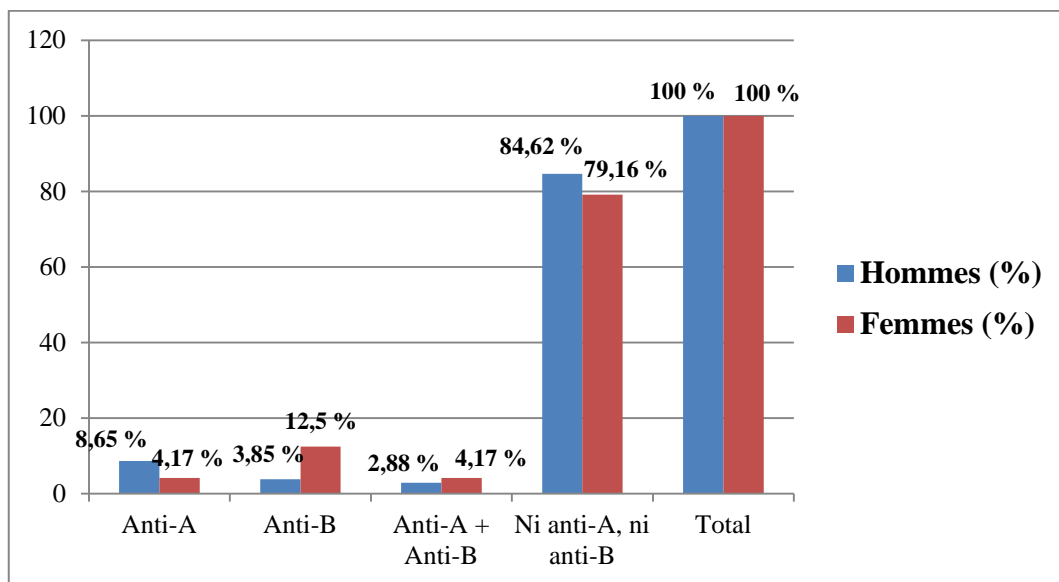


Figure 6 : Répartition des hémolysines anti-A et anti-B chez selon le sex

L'étude a montrée que l'hémolysine anti-A est plus fréquente chez les hommes alors que l'anti-B est plus fréquente chez les femmes.

4.3. Répartition des hémolysines anti-A et anti-B selon les tranches d'âge :

L'étude de la répartition des hémolysines anti-A et anti-B selon les tranches d'âge des donneurs a montrée les résultats suivantes :

Tableau XIV : Répartition des hémolysines anti-A et anti-B selon les tranches d'âge

		Anti-A	Anti-B	Anti-A + Anti-B	Ni anti-A, ni anti-B	Total
< 20 ans	Nombre	0	0	0	6	6
	Taux (%)	0	0	0	100	100
20 - 30 ans	Nombre	4	4	3	38	49
	Taux (%)	8,16	8,16	6,12	77,56	100
30 - 40 ans	Nombre	4	1	1	28	34
	Taux (%)	11,76	2,94	2,94	82,36	100
40 - 50 ans	Nombre	2	2	0	24	28
	Taux (%)	7,14	7,14	0	85,72	100
> 50 ans	Nombre	1	0	0	10	11
	Taux (%)	9,09	0	0	90,91	100

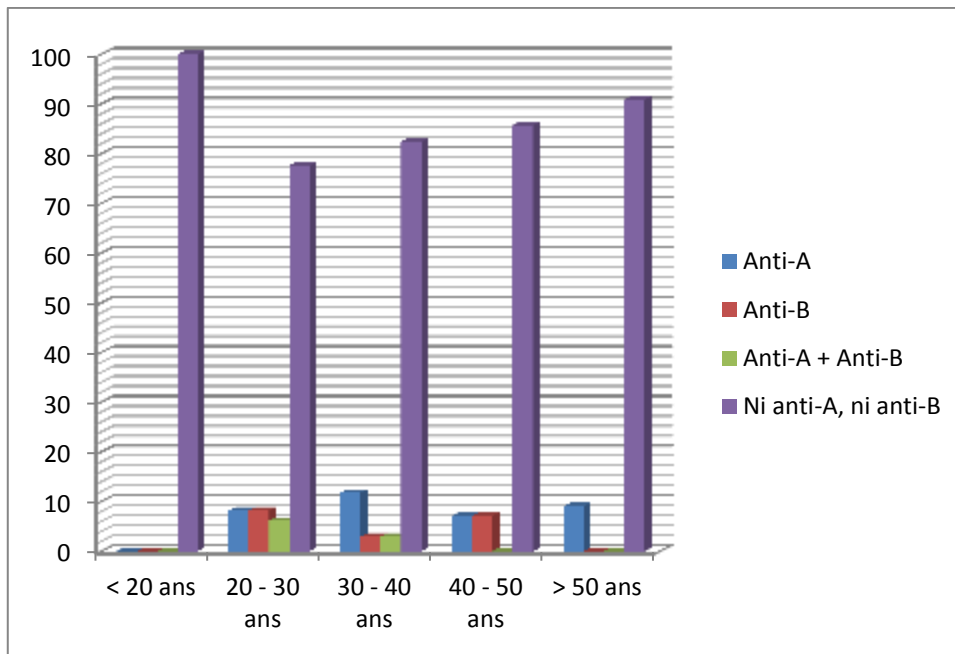


Figure 7 : Répartition des hémolysines anti-A et anti-B selon les tranches d'âge

L'étude a montrée que l'hémolysine anti-A est plus fréquente chez les donneurs ayant un âge de 30 à 40 ans alors que la présence concomitante des hémolysines anti-A et anti-B caractérise les donneurs de 20 à 30 ans.

4.4. Répartition des hémolysines anti-A selon leur taux:

L'étude de la répartition des hémolysines anti-A selon leur taux a montrée les résultats suivantes :

Tableau XV : Répartition des hémolysines anti-A selon leurs taux

Titre	≤ 4	5 à 8	9 à 16	17 à 32	> 32
Nombre	12	2	1	1	0
Taux (%)	75	12,5	6,25	6,25	0

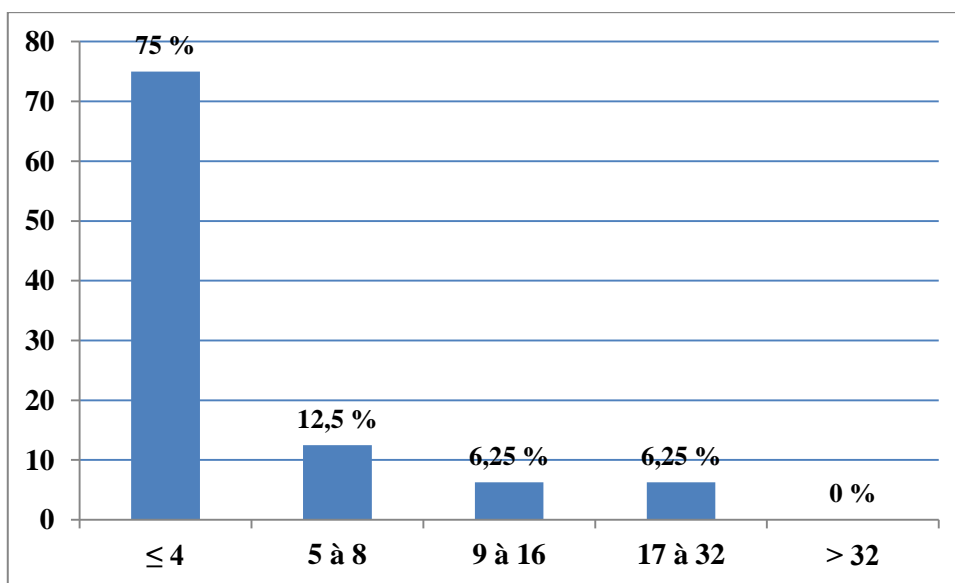


Figure 8 : Répartition des hémolysines anti-A selon leurs taux

L'étude a montrée que la majorité des donneurs présentant une hémolysine anti-A ont un taux ≤ 4.

4.5. Répartition des hémolysines anti-B selon leurs taux:

L'étude de la répartition des hémolysines anti-Bselon leur taux a montrée les réultats suivantes :

Tableau XVI : Répartition des hémolysines anti-B selon leurs taux

Titre	≤ 4	5 à 8	9 à 16	17 à 32	> 32
Nombre	6	2	1	1	0
Taux (%)	60	20	10	10	0

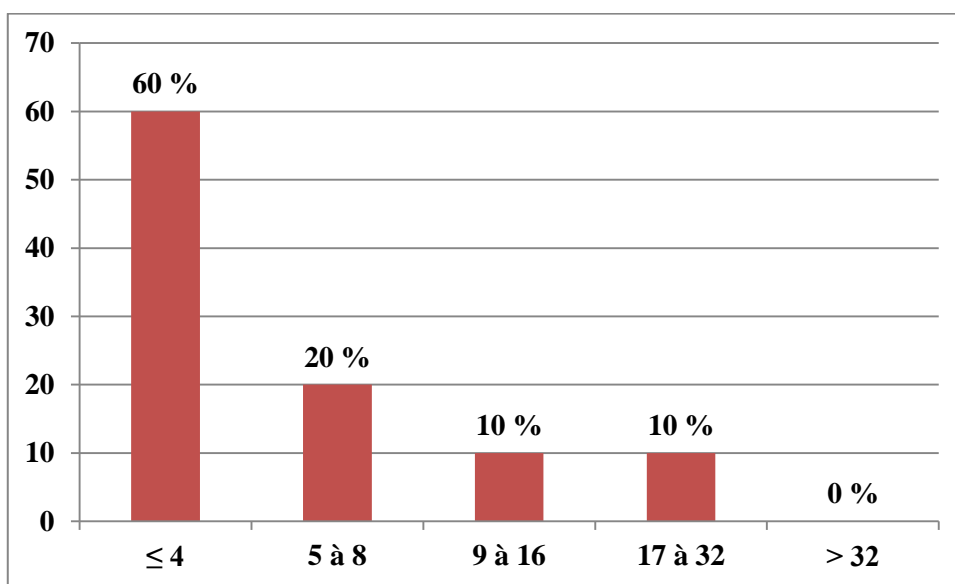


Figure 9 : Répartition des hémolysines anti-B selon leurs taux

L'étude a montrée que la majorité des donneurs présentant une hémolysine anti-Bont un taux ≤ 4.

4.6. Répartition des hémolysines anti-A selon le sexe et le titre :

L'étude de la répartition des hémolysines anti-A selon le sexe et le titre a montrée les résultats suivantes :

Tableau XVII : Répartition des hémolysines anti-A selon le sexe et le titre

(Hommes)					
Titre	≤ 4	5 à 8	9 à 16	17 à 32	> 32
Nombre	11	1	1	1	0
Taux (%)	78,58	7,14	7,14	7,14	0
(Femmes)					
Titre	≤ 4	5 à 8	9 à 16	17 à 32	> 32
Nombre	1	1	0	0	0
Taux (%)	50	50	0	0	0

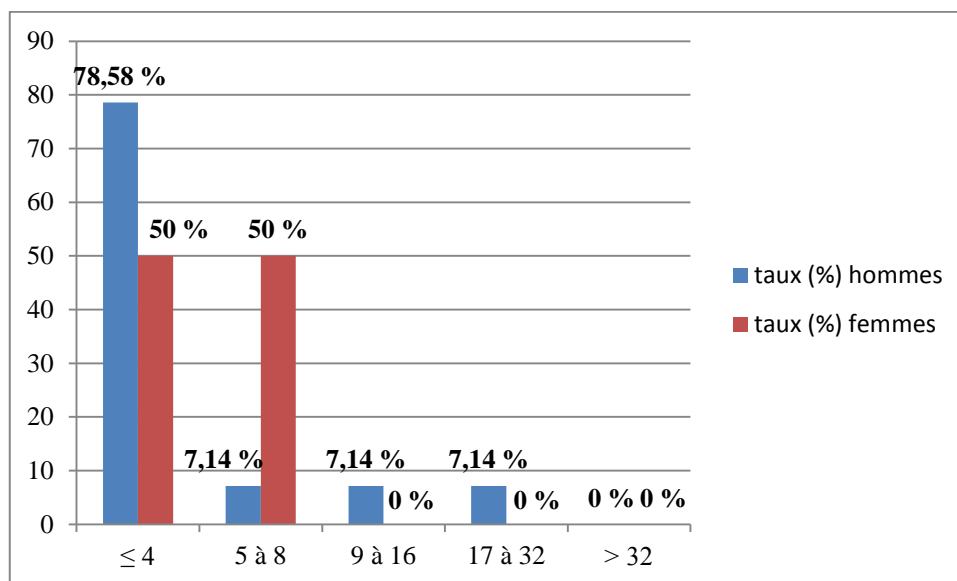


Figure 10 : Répartition des hémolysines anti-A selon le sexe et le titre

L'étude a montrée que la majorité des hommes ont un taux d'hémolysine anti-A ≤ 4 est que les femmes ont un taux ≤ 8.

4.7. Répartition des hémolysines anti-B selon le sexe et le titre :

L'étude de la répartition des hémolysines anti-B selon le sexe et le titre a montrée les résultats suivantes :

Tableau XVIII : Répartition des hémolysines anti-B selon le sexe et le titre

Anti-B hommes					
Titre	≤ 4	5 à 8	9 à 16	17 à 32	> 32
Nombre	6	2	0	0	0
Taux (%)	75	25	0	0	0
Anti-B (femmes)					
Titre	≤ 4	5 à 8	9 à 16	17 à 32	> 32
Nombre	1	0	0	0	0
Taux (%)	100	0	0	0	0

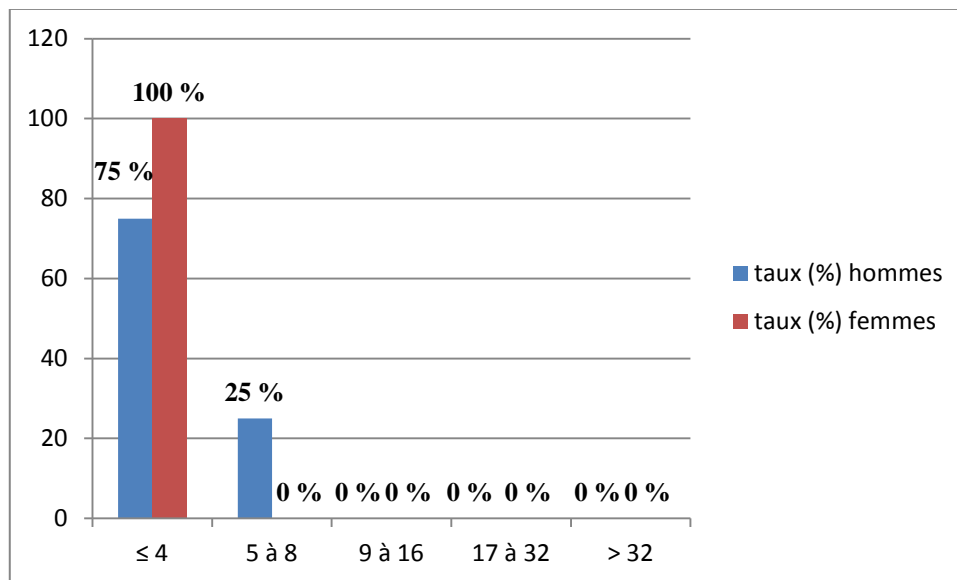


Figure 11 : Répartition des hémolysines anti-B selon le sexe et le titre

L'étude a montrée que la majorité des hommes est que la totalité des femmes ont un taux d'hémolysine anti-B ≤ 4.

4.8. Répartition du taux des hémolysines anti-A selon les tranches d'âges :

L'étude de la répartition du taux des hémolysines anti-A selon les tranches d'âge a montrée les résultats suivantes :

Tableau XIX : Répartition du taux d'hémolysines anti-A selon les tranches d'âge

Titre	≤ 4	5 à 8	9 à 16	17 à 32	> 32
< 20 ans	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
20 - 30 ans	77,78 %	0 %	11,11 %	11,11 %	0 %
30 - 40 ans	75 %	25 %	0 %	0 %	0 %
40 - 50 ans	50 %	50 %	0 %	0 %	0 %
> 50 ans	100 %	0 %	0 %	0 %	0 %

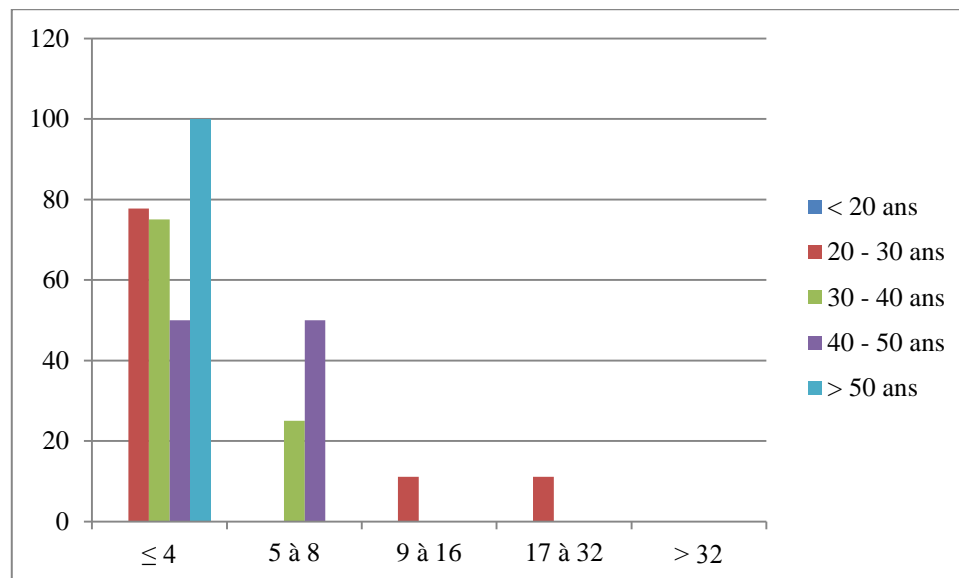


Figure 12 : Répartition du taux d'hémolysines anti-A selon les tranches d'âge

L'étude a montrée que la majorité des donneurs ont un taux d'hémolysine anti-A ≤ 4 et que les taux les plus élevés (5 à 16) ont été rencontrés chez les donneurs de 20 à 30 ans.

4.9. Répartition du taux des hémolysines anti-B selon les tranches d'âges :

L'étude de la répartition du taux des hémolysines anti-B selon les tranches d'âge a montrée les résultats suivantes :

Tableau XX : Répartition du taux d'hémolysines anti-B selon les tranches d'âge

Titre	≤ 4	5 à 8	9 à 16	17 à 32	> 32
< 20 ans	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
20 - 30 ans	80 %	0 %	20 %	0 %	0 %
30 - 40 ans	33,33 %	33,33 %	0 %	33,33 %	0 %
40 - 50 ans	50 %	50 %	0 %	0 %	0 %
> 50 ans	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %

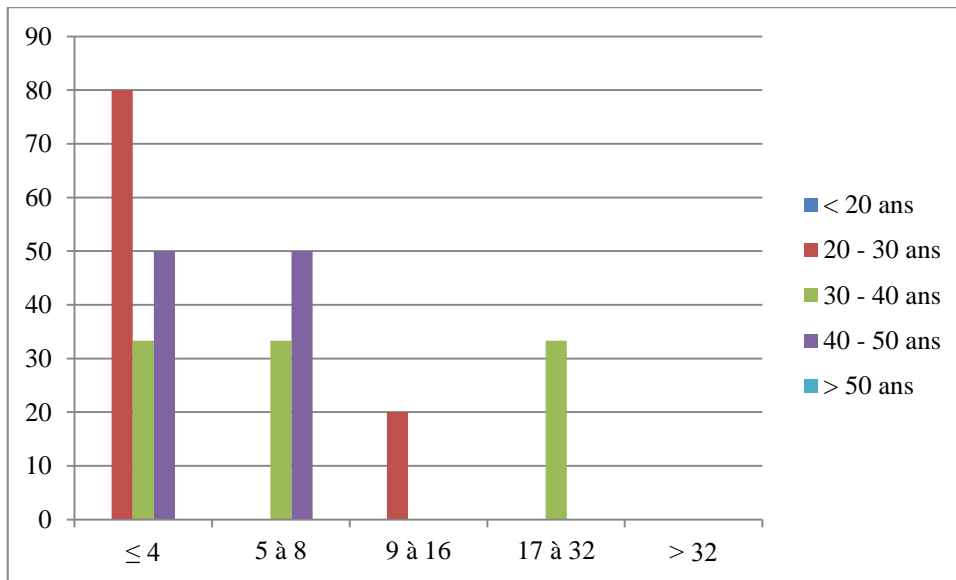


Figure 13 : Répartition du taux d'hémolysines anti-B selon les tranches d'âge

L'étude a montrée que la majorité des donneurs ont un taux d'hémolysine anti-B ≤ 4 et que les taux les plus élevés (9 à 32) ont été rencontrés chez les donneurs de 20 à 40 ans.

5. Discussion :

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, 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. En Algérie, cette recherche n'est pas obligatoire et nous n'avons pas remarqué d'hémolyse importante chez les patients transfusés en sang compatible non iso-groupe.

Dans notre étude, moins de 18 % des donneurs présente une hémolysine, avec une prédominance d'hémolysine anti-A chez les hommes alors que l'hémolysine anti-B est prédominante chez les femmes. Les tranches d'âge de 20 à 30 ans ainsi de 30 à 40 ans sont prédominantes par rapport aux autres. Malgré des taux qui sont ≤ 4 , les taux élevés d'hémolysines (9 à 32) ont été rencontrés chez les donneurs appartenant à cette tranche d'âge.

Les taux élevés rencontrés chez les hommes peuvent être expliqués par le nombre d'homme recruté qui est élevés par rapport aux femmes.

Enfin, le taux élevé d'hémolysines anti A et anti B chez les sujets de groupe O (17,29 %) nous rassure de l'éventualité d'accident par donneur universel dangereux.

D'autres études, toutes anciennes, ont été réalisées sur le sujet et ont montré des résultats variables. Dans une étude française portant sur 1000 donneurs de sang de groupe O, Garretta a trouvé un taux d'hémolysines anti-A à 7 %. La même étude a été faite par la technique d'inhibition de l'agglutination par les substances de groupe solubles A et B et a montré un taux d'hémolysines anti A à 3,8 %. Cette deuxième technique est plus intéressante car plus facile à adapter aux automates.

Plusieurs études nigérianes ont également été réalisées et ont montré des taux d'hémolysines élevés. Kulkarni, dans une étude sur 4380 donneurs de sang de groupe sanguin O (46,9 % des DDS) a trouvé un taux d'hémolysines à 32,3 %. 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 : GSA = 12,1% anti-B, GS B = 5 % anti A, GS O = 30,6% anti A et/ou anti B. Enfin, plus récemment, Olawumi a trouvé, dans son étude sur 250 donneurs de groupe O, 23,2% d'hémolysines avec une fréquence 2 fois plus élevée d'anti-B et une absence de corrélation avec le sexe et avec l'âge.

CONCLUSION

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 incompatible.

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

Cette étude avait comme objectif la détermination de la prévalence des hémolysines anti-A et anti-B chez une population de 128 donneurs de sang de groupe O, en utilisant la technique d'hémolyse en présence de complément. Ainsi, la prévalence été de 8,59 % pour l'anti-A, de 5,47 % pour l'anti-B, la présence concomitante de l'anti-A et de l'anti-B été de 3,13 %

Ce travail montre que les hémolysines anti-A et anti-B ne sont pas rares chez les donneurs O. Cependant sa recherche chez les donneurs de sang doit être une préoccupation constante vue sa forte dangerosité. Toutefois, ces résultats ne peuvent être comparés avec ceux des autres études, en raison des conditions expérimentales différentes, de l'importance de l'échantillon et de la durée de l'étude.

Ce qui fait de cette étude une initiation pour la détermination de la fréquence réelle de ces anticorps. Leur dépistage doit constituer une pierre angulaire de la prévention des accidents hémolytiques lors de la transfusion ABO compatible non isogroupe pour assurer une sécurité transfusionnelle optimale.

La présente étude peut servir comme une ébauche de travail afin d'élargir les prochaines recherches notamment l'augmentation de l'échantillon testé, voir la systématisation de leurs recherche pour garantir des résultats fiables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- **N. LOUATI et al** ; RECHERCHE DES HEMOLYSINES CHEZ LES DONNEURS DE SANG ;2008
- 2- **Agence national du sang** ; les bonnes pratiques transfusionnelles ;2005
- 3- **Christian Janot et Al** ;Immuno-hématologie et groupes sanguins ; cahier de formation biologie médicale bioforma ;2002
- 4- **TISSOT J.D. et al** ; immunohématologie bases de médecine transfusionnelle; quatrième édition ;2005
- 5- **H. Gouëzec et al** ; Transfusion Clinique et Biologique 12 ;2005
- 6- **Padaro E et al**; Prévalence des hémolysines chez les donneurs de groupes O au centre national de transfusion sanguine de Lomé,2010
- 7- **UGAH UCHENNA et al** ;Rate of Haemolysins among Blood Donors in Abakaliki, Ebonyi State, Nigeria;Global Journal of Medicine Researches and Studies; 2014
- 8- **DONALD M. ERVIN et al**; DANGEROUS UNIVERSAL DONORS ;blood journal.org;2015
- 9- **Jaisy Mathai et al** ; Haemolysin test for characterization of immune ABO antibodies ; Indian J Med Res 118 ; September 2003
- 10- **Sagir G. Ahmed et al**; Anti-A and Anti-B Haemolysins amongst Group “O” Voluntary Blood Donors in Northeastern Nigeria; Journal of Transfusion Volume 2011,
- 11- **Kamontip Khampanon e al** ;The Characteristics of ABO Antibodies in Group O Thai Blood Donors ; Journal of Clinical Laboratory Analysis 26: 223–226 (2012)
- 12- Manuel de resident;hématologie ;2009
- 13- Immunohématology ;JOURNAL OF BLOOD GROUP SEROLOGY AND EDUCATION;2007
- 14- **Mahdi TAZEROUT et al** ; MANUEL D’AIDE A LA FORMATION EN TRANSFUSION SANGUINE ;2007
- 15- **J-J.Lefrère et al**;pratique nouvelle de la transfusion sanguine ;masson ;2009
- 16- **Hadi AIRECHE et al** ; Procédures Operatoiresen Immuno-Hématologie ; AGENCE NATIONALE DU SANG ;2002
- 17- **P.Rouger et al** ;transfusion sanguine ;masson ;2011

Annexe (I)

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

La ministre de la santé et des sports,

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

Arrête:

Art1^{er} – Les critères de sélection des donneurs de sang sont les suivants:

I – Limite d'âge des donneurs:

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

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

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

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

II – Intervalle entre les dons:

L'intervalle minimum entre deux dons est de :

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

III – Fréquence des prélèvements :

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

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

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

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

IV – Volume de prélèvement :

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

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

Annexe (I suite)

toutefois dépasser 650 ml.

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

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

V – Caractéristiques cliniques et biologiques du donneur :

1. Caractéristiques cliniques:

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

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

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

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

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

2. Caractéristiques biologiques:

Le taux d'hémoglobine est au minimum de :

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

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

Annexe (II)



Annexe III



centrifugation