

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB - BLIDA 1-



FACULTE DE MEDECINE

DEPARTEMENT DE PHARMACIE



**FREQUENCES PHENOTYPIQUES ET GENOTYPIQUES
DES SYSTEMES ABO RHESUS ET KELL CHEZ LES
DONNEURS DE SANG DE LA WILAYA DE BLIDA**

Thèse d'exercice de fin d'études

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie

Session : Juillet 2017

Présentée par :

- **NECHE Heyem**
- **BOULKHIOUT Nadjat**

Devant le jury :

- **Président : CHAIB.M - Chef de service du Centre de transfusion sanguine de Blida.**
- **Examinatrice : HAMEL.H –Maitre assistante en hématologie.**
- **Examinatrice : BENNOUAR.S - Maitre assistante en biochimie.**
- **Promotrice : AMMOUR. N – Assistante en hématologie.**

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE SAAD DAHLEB - BLIDA 1-

FACULTE DE MEDECINE

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

**Thèse d'exercice de fin d'études présentée en vue de l'obtention du
diplôme de docteur en pharmacie- Session : Juillet 2017**

**FREQUENCES PHENOTYPIQUES ET GENOTYPIQUES
DES SYSTEMES ABO RHESUS ET KELL CHEZ LES
DONNEURS DE SANG DE LA WILAYA DE BLIDA**

Présentée par :

NECHE Heyem

BOULKHIOUT Nadjat

Devant le jury :

- **Président : CHAIB.M - Chef de service du Centre de transfusion sanguine de Blida.**
- **Examinatrice : HAMEL.H –Maitre assistante en hémodiagnostic.**
- **Examinatrice : BENNOUAR.S - Maitre assistante en biochimie.**
- **Promotrice : AMMOUR. N – Assistante en hémodiagnostic.**

Remerciements

Au terme de la rédaction de ce travail, nous remercions ALLAH qui nous a guidé et donné la force, le courage et la volonté pour réaliser ce travail.

A notre promotrice Dr .AMMOUR.N, de nous avoir encadré et orienté tout au long de l'année pour voir la naissance de ce modeste travail.

Au chef de service du Centre de Transfusion Sanguine de Blida Dr CHAIB.M, d'avoir accepté de nous ouvrir les portes du CTS pour effectuer notre stage pratique.

Aux membres de jury : Dr HAMEL.H, Dr BENNOUARS, Dr CHAIB.M d'avoir accepté de corriger notre manuscrit.

A tout le staff du CTS sans exception ,et spécialement, un grand Merci à l'équipe de l'unité d'Immunohématologie, de nous avoir très bien encadré ,et de nous avoir conféré les meilleurs conditions pour réussir notre stage pratique... Vous étiez un meilleur exemple de conscience professionnelle , mais aussi de sympathie et de générosité.

A Dr .HADDAD.N qui nous a enseigné le module d 'Hémodiologie, que ce travail soit une occasion de vous exprimer notre gratitude, notre respect et notre admiration les plus sincères.

A toute personne ayant participé, de loin ou de près, à l'accomplissement de ce mémoire de fin d'études.



Dédicaces



*Louange à Dieu
Que la prière et le salut soit sur le prophète
Je dédie ce travail...
A mes chers parents:*

BENSACI Kamla et BOULKHIOU'T Zidane

*Il y a tant de choses à en sécher tout l'encre de ce monde mais aucune dédicace
ne saurait exprimer mon respect et mon profond amour.*

Je ne vais jamais oublier vos sacrifices pour moi...

Que Dieu vous garde et vous procure santé, longue vie et bonheur éternel.

A mes frères et mes soeurs :

***Mohamed, Mustapha, Noureddine, Saida, Hocine, Abdelfattah,
Azzedine***

*Et une spéciale dédicace à ma petite soeur **Fatiha**, qui partage avec moi toujours
les moments les plus importants de ma vie....*

*Aux anges de la famille...mon adorable nièce **Bouchra**, et mes neveux: **Abdessamia,
Ghanou et Ishak***

A tous les professeurs qui m'ont enseigné pendant tout mon modeste cursus..Merci

*A ma très chère amie et mon binôme qui m'est très proche : **Heyem***

*A mes chères amies : **Ichrak** et **Radia** ...je vous aime*

*A **Ibtissem, Karima** et **Meryem***

*A une personne que je ne connais pas, mais qu'elle aura le plaisir de lire ça
un jour Inch 'Allah*

A toutes les personnes que j'aime, je dédie ce travail.



Nadjet

Dédicaces



*A celle que sans elle, je ne serais celle que je suis A la plus belle
créature que Dieu a créée sur terre ,, A cet source de tendresse, de patience
et de générosité,,*

A la mémoire de ma mère

*Tu me manque terriblement maman Que Dieu t'accueille en son vaste
paradis.*

*A mon cher papa que j'aime du fond de mon cœur pour son infini amour, son
soutien et son affectueuse attention... Qu'il reçoit ici en retour, l'expression de
toute ma reconnaissance et ma gratitude.*

*A ma sœur **Dounia** ... Merci d'avoir toujours été présente pour moi, aussi bien
dans les bons que dans les mauvais moments. Je te souhaite toute la réussite, une
carrière brillante et beaucoup de succès durant toute ta vie*

A mon petit frère Amine je te souhaite le bonheur, la santé et la prospérité.

*A mes sœurs **Nesrine** , **Hanane** et **Nadjet***

*A ma nièce **Anfel** et mon neveu **Hossem***

*A mes amies **Nadjet** , **Ichrek** et **Radia** qui m'ont soutenue, encouragée et aidée à
surmonter les moments les plus difficiles de ma vie*

*A l'homme de ma vie **Billel** Merci énormément pour ton soutien plus que
précieux, merci pour ton grand cœur et toutes tes qualités qui seraient trop
longues à énumérer. Ma vie ne serait pas magique sans ta présence et ton amour
... je t'aime de tout mon cœur.*

A tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer



Hiyem

TABLE DES MATIERES :

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures.....	III
Liste des tableaux.....	V
Partie I : Synthèse bibliographique	
INTRODUCTION	02
I-LE SYSTEME ABO.....	03
1-Introduction.....	03
2-Etude immunologique.....	04
2-1-Etude des antigènes ABO érythrocytaires.....	04
2-1-A-Les groupes sanguins courants : A, B, AB et O.....	04
2-1-B-Les sous-groupes A : Phénotypes A ₁ et A ₂	04
2-1-C-Phénotypes rares.....	05
2-2-Etude des anticorps.....	09
2-2-A-Les hétéro-anticorps.....	09
2-2-B-Les allo-anticorps.....	09
2-2-C-Les auto-anticorps.....	09
2-2-D-Les anticorps monoclonaux.....	09
3-Etude génétique.....	10
3-1-Locus ABO.....	10
3-2-Génotypes courants.....	10
3-3-Bases moléculaires du polymorphisme du système ABO.....	11
3-3-A-Groupes ABO courants.....	11
3-3-B-Sous groupes A ₁ et A ₂	12
3-3-C-Groupes ABO rares.....	13
3-4-Etude du gène H et sécréteur.....	14
4-Etude biochimique.....	16
4-1-Embryogenèse.....	16
4-2-Distribution des antigènes ABH dans l'organisme.....	16

4-3-Nature des antigènes A et B.....	16
4-4-Structure des précurseurs oligosaccharidiques.....	16
4-5-Biosynthèse des antigènes ABH.....	18
4-5-A-Enzymes intervenantes.....	18
4-5-B-Synthèse des antigènes ABH membranaires.....	19
4-5-C-Biosynthèse des antigènes ABH solubles.....	19
4-5-D-Schéma de la biosynthèse.....	19
5-Méthodes d'étude.....	21
5-1-Techniques immunologiques.....	21
5-1-A-Recherche des antigènes.....	21
5-2-B-Recherche des anticorps.....	23
5-2-Groupage par biologie moléculaire.....	24
6-Implications du système ABO.....	24
6-1-En transfusion sanguine.....	24
6-2-Dans la MHFNN.....	26
6-3-En greffe d'organes.....	26
II-SYSTEME RHESUS.....	27
1-Introduction.....	27
2-Etude immunologique.....	28
2-1-Etude des antigènes.....	28
2-1-A-Les antigènes Rhésus.....	29
2-1-B-Protéine RHAG.....	30
2-2-Les anticorps du système Rhésus.....	30
3-Etude génétique.....	31
3-1-Gène RHD.....	31
3-1-A-Variants du gène D.....	32
3-2-Gène RHCD.....	33
4-Etude biochimique.....	34

4-1-Antigènes RHD et RHCE.....	34
4-1-A-Variant D.....	35
4-1-B-Variant C.....	36
4-2-Fonctions du complexe Rhésus.....	36
5-Méthodes d'étude.....	37
5-1-Méthodes immunologique.....	37
5-1-A-Recherche des antigènes.....	37
5-1-B-Recherche des anticorps.....	38
5-2-Méthodes de biologie moléculaire.....	39
6-Implications du système Rhésus.....	39
III-SYSTEME KELL.....	40
1-Introduction.....	40
2-Etude immunologique.....	40
2-1-Etude des antigens.....	40
2-1-A-Les antigens du système Kell.....	40
2-1-B-Système Kx.....	42
2-2-Les anticorps du système Kell.....	42
3-Etude génétique.....	42
4-Etude biochimique.....	43
4-1-Les antigens du système Kell.....	43
4-2-Fonctions du système Kell et du système Kx.....	44
5-Méthode d'étude.....	45
5-1-Méthode immunologique.....	45
5-1-A-Recherche des antigens.....	45
5-1-B-Recherche des anticorps.....	45
6-Implications du système Kell.....	46
6-1-En transfusion sanguine.....	46

6-2-Dans la MHNN.....	46
Partie II : Etude pratique	
I-L 'étude.....	48
II-Matériels et méthodes.....	48
1-Echantillons biologiques.....	48
2-Méthodologie.....	49
2-1-Méthodes immuno-hématologiques.....	49
2-1-A-Groupage sanguin ABO.....	49
2-1-B-Groupage Rhésus standard.....	55
2-1-C-Phénotype RH et Kell.....	59
3-Formules de calcul des fréquences géniques ABO, RH et Kell.....	62
III-Résultats.....	64
1-Echantillonnage.....	64
2-Résultats analytiques.....	65
2-1-Répartition des donneurs de sang selon le sexe.....	65
2-2-Fréquences phénotypiques	66
2-2-A-Système ABO.....	66
2-2-B-L'antigène D.....	67
2-2-C-Phénotype RH étendu.....	68
2-2-D-Système Kell.....	70
2-3-Fréquences génotypiques.....	71
2-3-A-Système ABO.....	71
2-3-B-Le gene D.....	72
2-3-C-Le gene K.....	73
IV-Discussion.....	74
1-Fréquences phénotypiques	74
1-1-Groupes sanguins ABO.....	74

1-2-L'antigène D.....	76
1-3-Phénotype RH étendu.....	77
1-4-Système Kell.....	79
2-Fréquences génotypiques.....	79
2-1-Système ABO.....	79
2-2-Le gène D.....	80
2-3-Le gène K.....	81
CONCLUSION.....	82
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	83
ANNEXES.....	86
RESUME.....	87
ABSTRACT.....	88

Liste des abréviations :

Abréviation	signification
A	Adénine
aa	Acide aminé
Ac	Anti-corps
Ag	Anti-gène
AgH	Anti-globuline humaine
Ala	Alanine
Arg	Arginine
Asn	Asparagine
Asp	Acide aspartique
C	Cytosine
Cys	Cystéine
DVR	Donneur volontaire régulier
EDTA	Ethylène Diamine Tétra- acétique
G	Guanine
GalNAc	N-acetyl-galactosamine.
GlcNAc	N-acetyl-galactosamine.
Glu	Acide glutamique
Gly	Glycine
GR	Globule rouge
H	L-fucose
Ig	Immunoglobuline

II

IgG	Immunoglobuline G
IgM	Immunoglobuline M
Ile	Isoleucine
ISBT	International society of blood transfusion
KDa	Kilo-dalton
LB	Lymphocyte B
Leu	Leucine
Lys	Lysine
Met	Methionine
MHNN	Maladie hémolytique du nouveau-né
MHFNN	Maladie hémolytique fœtale et du nouveau-né
Nné	Nouveau-né
p	Bras long du chromosome.
pb	Paire de bases
PCR	Polymerase chain reaction
Phen	Phénylalanine
q	Bras court du chromosome
RT	Réaction transfusionnelle
S	Sérine
SNP	single-nucleotide polymorphism
T	Thymine
Thr	Thréonine
Trp	Tryptophane

III

Liste des figures :

Numéro de Figure	Titres des figures
1	Représentation schématique des antigènes A1 et A2.
2	Images d'agglutination de globules rouges A faible : A3, Ax, Aend.
3	Distribution des antigènes H et A à la surface des hématies
4	Organisation du gène <i>ABO</i> humain.
5	Schéma illustrant la différence entre l'allèle A1 et A2.
6	Structure de l'allèle A101 codant pour une transférase A1.
7	Structure de l'allèle B101 codant pour la transférase B.
8	Structure d'un allèle <i>O01</i> .
9	Schéma illustrant la différence entre l'allèle O et les allèles A, B.
10	Les gènes FUT1 (H), FUT2 (Se) et ABO (région codante en vert, bleu et rouge).
11	Différents allèles du gène FUT2.
12	Les six types de précurseurs disaccharidiques.
13	Chaîne précurseur de type 1
14	Chaîne précurseur de type 2
15	Schéma illustrant les structures d'oligosaccharides des Ag H, A et B
16	Schéma général de la biosynthèse des groupes sanguins <i>ABO</i> .
17	Représentation schématique d'une réaction d'agglutination directe.
18	Schéma de compatibilité érythrocytaire.
19	Schéma de compatibilité plasmatique.
20	Représentation schématique de deux modèles hypothétiques du complexe membranaire impliquant les polypeptides RHD et RHCE du système RH.

IV

- 21 Structure des haplotypes humains RHD positif et RHD négatif.
- 22 Les allèles D, C, E, c, e
- 23 La protéine Rh
- 24 Glycoprotéines Kell et Kx
- 25 Schéma illustrant le test de Coombs indirect à la recherche de l'Ag D^u
- 26 Interprétation des résultats du test d'agglutination direct sur plaque.
- 27 Répartition des donneurs de sang de notre échantillon selon le sexe.
- 28 Répartition des donneurs de sang selon les phénotypes dans le système ABO.
- 29 Fréquence de l'antigène D chez la population étudiée
- 30 Répartition des donneurs de sang selon les phénotypes RH étendus
- 31 Prévalence des antigènes du système RH chez les donneurs de sang
- 32 Prévalence de l'antigène K chez les donneurs de sang
- 33 Les fréquences des gènes du système ABO dans la population étudiée
- 34 La fréquence du gène RHD dans la population étudiée
- 35 Fréquence des gènes du système Kell dans la population étudiée.

Liste des tableaux :

Numéro du Tableau	Titre du tableau.
1	Les quatre phénotypes érythrocytaires principaux
2	Les groupes A faibles
3	Les groupes B faibles
4	Différence génétique entre le groupe A et le groupe B.
5	Interprétation des résultats du groupage ABO.
6	Tableau récapitulatif des résultats de groupage des sous-groupes A
7	Les variants de C et E
8	Les combinaisons alléliques du RHD.
9	Variations moléculaires à la base des différents types de phénotype RHD.
10	Position des acides aminés critiques des antigènes principaux du système RH.
11	Différentes bases moléculaires de quelques antigènes du système Kell
12	Position des acides aminés critiques des antigènes principaux du système Kell.
13	Résultats des épreuves sérique et globulaire dans le système ABO
14	Répartition des donneurs de sang de notre échantillon selon le sexe
15	Répartition des donneurs de sang selon les phénotypes dans le système ABO.
16	Fréquence de l'antigène D chez la population étudiée
17	Répartition des donneurs de sang selon les phénotypes Rhésus étendu

VI

- 18 Prévalence des antigènes du système RH chez les donneurs de sang
- 19 Prévalence de l'antigène K chez les donneurs de sang
- 20 Les fréquences des gènes du système ABO dans la population étudiée
- 21 La fréquence du gène RHD dans la population étudiée
- 22 La fréquence des gènes du système Kell dans la population étudiée.
- 23 Comparaison des prévalences des groupes du système ABO de notre étude avec celles des autres Wilayas
- 24 Comparaison des prévalences des groupes du système ABO de notre étude avec celles des autres pays
- 25 Comparaison des fréquences de l'Ag D de notre étude avec celles des autres Wilayas
- 26 Comparaison des fréquences de l'Ag D de notre étude avec celles des autres pays
- 27 Comparaison des fréquences phénotypiques du système RH étendu de notre échantillon par rapport aux autres Wilayas
- 28 Comparaison des fréquences phénotypiques du phénotype RH étendu de notre échantillon par rapport aux autres pays du monde
- 29 Comparaison des fréquences de l'Ag K de notre étude avec celles des autres pays.
- 30 Tableau comparatif des prévalences des allèles du système ABO dans différentes études algériennes.
- 31 Prévalences des allèles A, B et O dans notre échantillon et les autres peuples du monde.
- 32 Prévalences des allèles D et d dans notre échantillon et les autres peuples du monde.
- 33 Prévalences de l'allèle K dans notre échantillon et les autres peuples du monde.

Partie I :
Synthèse
bibliographique

INTRODUCTION :

Les groupes sanguins érythrocytaires peuvent être définis comme l'ensemble des variations allotypiques, acides aminés et sucres, génétiquement transmises, détectées par des anticorps à la surface de la membrane érythrocytaire.

Le système de groupe sanguin ABO a été le premier découvert en 1900 par Karl Landsteiner. Vinrent ensuite les systèmes MNS et P1. Enfin, après le développement du test à l'antiglobuline permettant la détection des anticorps « non agglutinants », les découvertes des autres antigènes vont s'enchaîner pour aboutir aujourd'hui à près de 270 antigènes regroupés en 29 systèmes. Toutefois, seuls ont une réelle importance en pratique transfusionnelle les groupes : ABO, Rhésus, Kell, Duffy, Kidd et MNS. La détermination des autres antigènes est surtout utile pour l'étude des liaisons génétiques avec un locus morbide, les techniques d'identification criminologique ou d'exclusion de paternité.[1]

Toute personne n'exprimant pas un antigène donné et recevant une transfusion d'hématies portant cet antigène est susceptible de développer un allo-anticorps d'immunisation contre cet Ag, déclenchant une hémolyse des hématies transfusées. [7]

Le pouvoir immunogène des antigènes érythrocytaires varie d'un système de groupe sanguin à un autre, et d'un antigène à un autre au sein d'un même système de groupe sanguin. [15]

Au cours de notre stage pratique au niveau du CTS de Blida, durant plus de six mois, nous avons établi le groupage sanguin phénotypé par les différentes techniques disponibles, sur un échantillon de plus de 120 donneurs.

L'objectif de notre travail est de présenter de nouvelles statistiques de prévalences phénotypiques et génotypiques des systèmes ABO, Rhésus et Kell chez les donneurs du CTS de Blida et d'évaluer les variations de ces fréquences.

Nos résultats sont comparés avec ceux des études antérieures d'autres wilayas d'Algérie d'une part et avec ceux des pays étrangers d'autre part.

I- LE SYSTEME ABO :

1- INTRODUCTION :

Les Antigènes du système ABO : système 001 selon la Société Internationale de Transfusion Sanguine (ISBT), sont dits: « antigènes allotypiques » ; c'est-à-dire variables d'un individu à l'autre au sein d'une même espèce .Les groupes de ce système se définissent par la présence ou l'absence d'Ag A ou B à la surface du GR, et par la présence ou l'absence d'AC sériques correspondants.

Ils sont de nature glucidique ; caractérisés par deux sucres possibles à la surface de l'érythrocyte : un Galactose (AgB) ; ou un N-Acétyl-Galactosamine (AgA) ; ces sucres sont fixés sur une substance de base appelée : Substance H ; elle-même osidique : la présence de chacun de ces sucres est due à une enzyme spécifique codée par un gène lui-même spécifique, porté sur le Chromosome 9.

Les antigènes érythrocytaires du système ABO localisés sur la membrane des hématies sont aussi ubiquitaires, retrouvés dans de nombreux autres tissus et cellules en dehors des GR : thrombocytes, leucocytes, cellules endothéliales et épithéliales, jouant ainsi un rôle fondamental dans la transplantation. En outre ils sont trouvés sous forme soluble dans différents fluides corporels (salive, intestin,...). [2]

Historique :

1900= découverte du système ABO par Karl Landsteiner, ses travaux étaient basés sur les phénomènes d'héماغglutination des globules rouges humaines par les sérums d'autres individus, en 1901 il montre 3 variétés de groupes sanguins : A, B, O.

1902 : Descastello et Sturli décrivent le groupe sanguin AB et naissance de la compatibilité transfusionnelle.

1910 : Chultz et Ottenberg démontrent l'importance des groupes sanguins en transfusion

1924 : Bernstein décrit le caractère héréditaire à transmission mendélienne des groupes sanguins.

1970 : la structure biochimique des antigènes ABO a été élucidée.

1980 : introduction de la terminologie numérique des Ag érythrocytaires par l'ISBT

1990 : les gènes du système ABO ont été clonés. [1]

2- ETUDE IMMUNOLOGIQUE :

2-1- ETUDE DES ANTIGENES ABO ERYTHROCYTAIRES :

2-1-A-Les groupes sanguins courants : A, B, AB, et O :

Le système ABO comprend quatre antigènes : A (001), B (002), AB (003) et A₁ (004). Le système H comprend un antigène de grande fréquence : H, 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.

Les quatre phénotypes érythrocytaires ABO principaux se déduisent selon ces règles (Tableau1). La cohérence des résultats des deux étapes est impérative.

Tableau 1 : Les quatre phénotypes érythrocytaires principaux. [1][2]

Phénotypes	Génotypes	Nomenclature selon ISBT	Antigène(s) présent(s) sur le GR	Anticorps présent dans le plasma
A	A/A ou A/O	ABO : 1,-2,3	A	Anti B
B	B/B ou B/O	ABO :-1, 2,3	B	Anti A
AB	AB	ABO : 1, 2,3	A et B	ni Anti B ni Anti A
O	O	ABO : -1,-2,-3	ni A ni B	Anti A et Anti B

2-1-B-Les sous-groupes A : phénotypes A₁ et A₂ :

Von Dungern mettant en évidence des 1911 des différences individuelles de l'antigène A, a subdivisé le groupe A en deux sous-groupes A₁ et A₂ (et par conséquence le groupe AB en A₁B et A₂B) .ces hématies sont agglutinées par les réactifs anti-A mais seules les hématies A₁ et A₁B sont agglutinées par l'anticorps anti-A₁ polyclonal.

Chez les personnes porteurs de l'antigène A, environ 80% des sujets sont A₁et 20% sont A₂. Les différences caractérisant ces hématies sont de deux ordres : la première est d'ordre quantitatif puisque les hématies de sujet A₁expriment environ 1 à 2 millions de copies de l'antigène A, alors que celles de groupe A₂ n'en portent que 500.000 copies. (Figure 1)

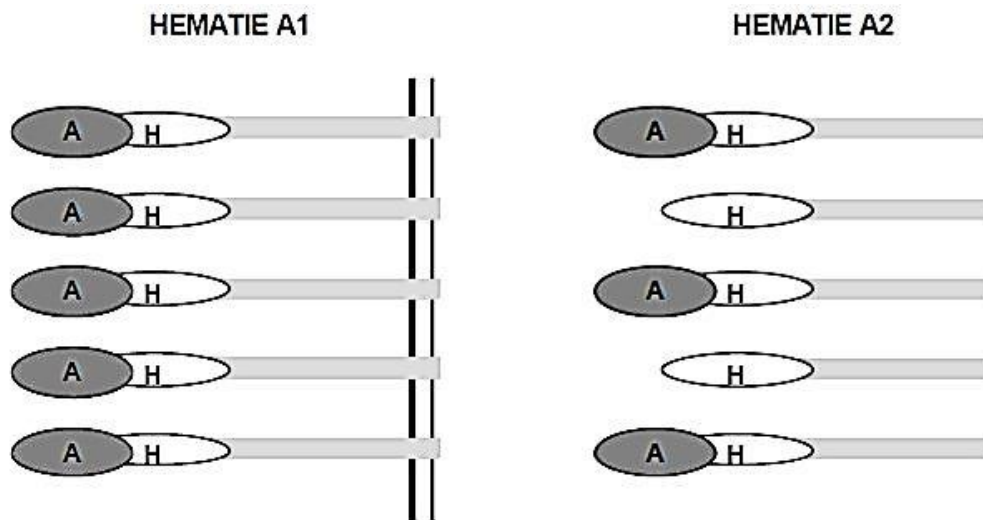


Figure1:Représentation schématique des antigènes A₁et A₂.

La distinction est également d'ordre qualitatif puisque les glycosyl-transférases **A1** et **A2** produits de deux allèles distincts, différent par leurs propriétés biochimiques, par la nature de leur produit. Par cette distinction on arrive aux six phénotypes, dont l'intensité des réactions observées avec les réactifs anti-**H** décroît dans l'ordre suivant : **O>A2>B>A2B>A1>A1B**. Enfin 2% des sujets de phénotype **A** et 25% des sujets de phénotype **AB** possèdent un anti-**A₁** « naturel irrégulier » qui n'a, en général, aucune conséquence transfusionnelle. Inversement, les sujets de phénotype **A₁** ou **A₁B** peuvent présenter dans leur plasma un anti-**H** « naturel irrégulier » qui est également sans conséquence transfusionnelle. [3]

2-1-C-Phénotypes rares :

2-1-C-1-Phénotypes A-faibles :

L'accumulation, depuis un siècle, de nombreuses données sérologiques a permis d'identifier différents variants 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, -AB, -H.
- La présence éventuelle d'une image de double population.
- La présence éventuelle d'un anti-A₁ 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.
- La discordance entre l'épreuve globulaire et sérique demeure un élément d'orientation pour la révélation des phénotypes faibles.

Les différences entre le sous-groupe **A₁** et les autres sous-groupes de **A** sont d'ordres quantitatif et qualitatif :

- ❖ **Aint** : **A** intermédiaire possède certaines propriétés de **A₁** et **A₂**.
- ❖ **A3, Ax, Aend**: agglutination détectable avec anti-**A** .
- ❖ **Am, Ay, Ael**: pas d'agglutination détectable. [2]

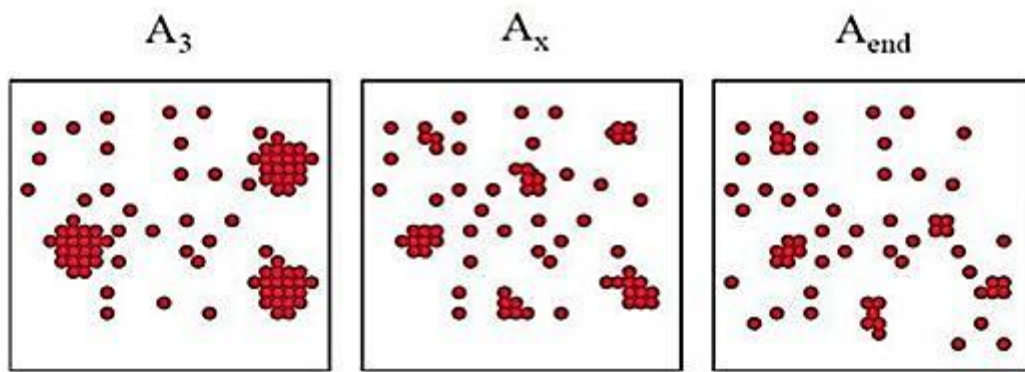


Figure2 : Images d'agglutination de globules rouges A faible : A₃, A_x, A_{end}. Les agglutinats sont de très petites taille, avec des images de champs mixtes (hématies libres entourant les agglutinats). En utilisant la technique en gel ces trois phénotypes sont identifiables et ceux de A₃ et A_{end} ont la particularité de présenter des doubles populations. L'épreuve sérique est discriminante selon le phénotype (quantité variable d'anti-A)

D'autres phénotypes A faibles liés à des allèles spécifiques ne correspondent pas à cette classification sont définis par le terme Aw (Aw-1, Aw-2, Aw-3, Aw-4, Aw-5). [2]

Tableau 2 : Les groupes A faibles. [20]

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

+++ : Forte agglutination

++ : agglutination moyenne

(+) : faible agglutination

±± : image de double population

- : Absence d'agglutination

2-1-C-2- Phénotypes B-faibles:

Ils sont moins fréquents (allèle B plus rare que l'allèle A) et leur classification sérologique est également délicate du fait de leur extrême hétérogénéité.

Une classification des groupes B faibles analogue à la classification des groupes A-faibles semble la plus pratique et est certainement encore la plus utilisée. Des équivalents des groupes

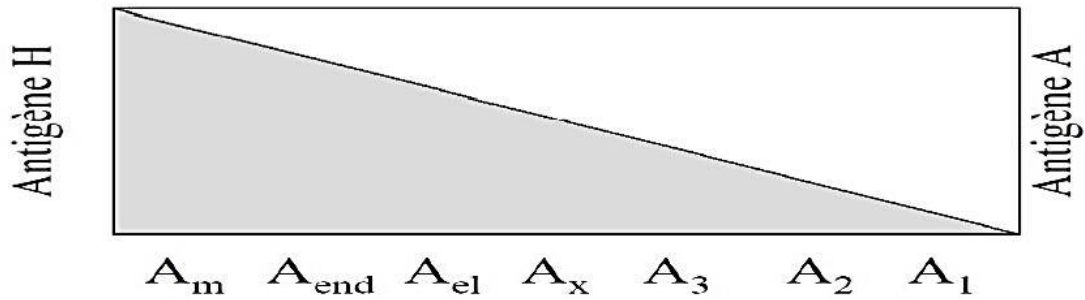


Figure3 : Distribution des antigènes H et A à la surface des hématies

La quantité d'antigène H, déterminée à l'aide de la lectine *Ulex Europaeus* (activité anti-H), est maximale avec les hématies de groupe O et décroît en fonction de l'augmentation de l'activité des transférases qui transforment le substrat H en substances A et/ou B.) [2]

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**. [1]

2-1-C-6-Phénotypes acquis :

✓ **Phénotype A acquis :**

Berman a montré en 1972, que des hématies « poly agglutinables » de type Tn dont le sucre immunodominant est une N-acétylgalactosamine peuvent exprimer une antigénicité **A**. 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 (modifications antigéniques au cours de pathologies malignes). 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. Il est aujourd'hui démontré que le déficit en antigène **A** ou **B** est lié au déficit de l'enzyme et donc du gène correspondant.

✓ **Phénotype B acquis :**

Il s'observe chez des sujets de groupe **A₁**, 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.

Il n'est, aujourd'hui, pratiquement plus détecté en France puisque, réglementairement, les clones d'anti-**B** monoclonaux sélectionnés pour le groupage sanguin **ABO** ne doivent pas reconnaître ce phénotype. [4] [5] [6]

2-2- ETUDE DES ANTICORPS :

2-2-A- Les hétéro-anticorps :

Les groupes sanguins, sont caractérisés par la présence dans le sérum de chaque individu d'un anticorps dirigé contre l'Ag absent sur les GR. Ces AC sont acquis à la naissance, naturels, réguliers de type IgM, agglutinants et ayant un optimum thermique à +4°C. Les patients de groupe O ont naturellement dans leur plasma des Anticorps Anti-A et Anti-B et ne peuvent donc recevoir que du sang de groupe O. Les patients de groupe B ont un anticorps Anti-A, ceux de groupe A un anticorps Anti-B. Seuls les patients de groupe AB peuvent recevoir sans risque des hématies d'un des trois autres groupes. [7]

La présence de ces anticorps est liée à l'ubiquitarité des substances **A** et **B** dans la nature et notamment sur les bactéries de la flore intestinale qui stimulent leur apparition. À côté des anticorps « naturels » peut apparaître, à la suite d'une hétéro-immunisation (vaccinations, sérothérapie, infections), une nouvelle population d'anticorps dits « anti-**A** et/ou anti-**B** immuns ». Ces anticorps sont **irréguliers**, hémolytiques, de type IgG et IgA ainsi que leur optimum thermique se rapproche de 37 °C. [3] [8]

2-2-B- Les allo-anticorps :

Ac dirigés contre les Ag de groupes sanguins que ne possèdent pas un individu donné, apparaissent à la suite d'une transfusion sanguine, par allo-immunisation fœto-maternelle, et très exceptionnellement dans les suites d'une greffe lorsque le greffon contient des érythrocytes.

2-2-C- Les auto-anticorps :

Ac dirigés contre un constituant propre de l'organisme (organes, tissus, constituants cellulaires) ; pouvant être responsables de maladies appelées : Maladies Auto-Immunes (MAI).

Au laboratoire de biologie médicale, leur recherche et leur dosage associé à divers marqueurs immunologiques, permet de poser le diagnostic de ces maladies et de suivre leur évolution.

2-2-D- Les Ac monoclonaux :

Ac produits par un clone particulier de LB et présentant des caractéristiques physicochimiques et fonctionnelles rigoureusement définies.

Ils ne reconnaissent qu'un seul type d'épitopes (déterminants antigéniques) sur un Ag donné.

Utilisés en biologie dans les domaines de recherche et/ou diagnostic, et en thérapeutique. [9]

3- ETUDE GENETIQUE :

3-1- LOCUS ABO :

Dès 1925, Bernstein a démontré que la présence ou l'absence des antigènes A ou B à la surface des hématies est sous la dépendance de trois allèles (A, B et O). Les gènes A et B sont codominants, ils s'expriment au niveau du phénotype. L'allèle O est « récessif » par rapport aux allèles A et B.

Aux phénotypes O et AB, correspond un seul génotype. Pour les groupes A et B, le phénotype peut être le fait de différents génotypes (soit AA soit AO ; soit BB, soit BO).

Le locus ABO a été localisé en 1976 sur le bras long du chromosome 9 (9q34.1-q34.2). En 1990, « Yama moto » a cloné le gène ABO qui comprend sept exons et six introns. Les exons 6 et 7 codent 91 % du site catalytique des glycosyl-transférases.

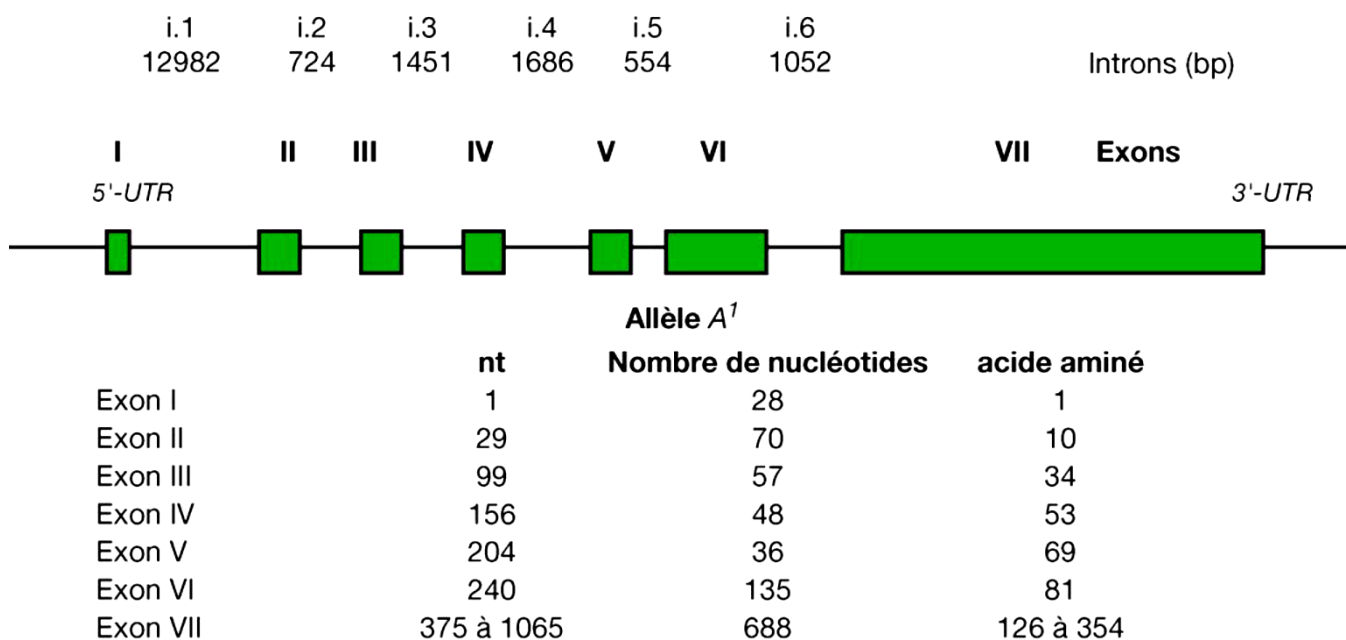


Figure 4 : Organisation du gène ABO humain. [24]

3-2-GENOTYPES COURANTS :

Les allèles A₁ et A₂ codent pour une N-acétyl-galactosamine-transférase. Chez les sujets de phénotype A₂, l'antigène H persiste à la surface cellulaire.

Les sujets de phénotype A₁ ont au contraire une enzyme très active et l'antigène H, totalement masqué, ne peut plus être détecté. La distinction A₁/A₂ n'a pas d'intérêt clinique majeur.

L'allèle B produit une galactose-transférase qui ajoute un résidu galactose et forme l'antigène B, toujours sous la condition que H soit présent.

L'allèle O est non fonctionnel du fait d'une délétion importante de la séquence codante, et aucune enzyme active n'est produite. A l'état homozygote, il conduit à l'absence d'antigène A ou B sur les hématies, correspondant au phénotype O. Les individus de groupe O possèdent une grande quantité d'antigène H sur leurs hématies. [13]

3-3- BASES MOLECULAIRES DU POLYMORPHISME DU SYSTEME ABO :

3-3-A- Groupes ABO courants :

L'analyse moléculaire comparative des allèles **A1** et **B**, a montré que les deux séquences ne diffèrent que par 7 nucléotides au niveau des exons liés à des SNP (297, 526, 657, 703, 796, 803 et 930) conduisant aux quatre substitutions d'aa.

Tableau 4 : Différence génétique entre le groupe **A** et le groupe **B**.

Système	Gene	Polymorphisme	SNP	Acide aminé
ABO	ABO	A/B	526C>G, 703G>A 796C>A, 803G>C	R176G, G235S L266M, G268A

*SNP :(single-nucléotid polymorphism) **polymorphisme d'un seul nucléotide.** [14]

3-3-B-Sous-groupes **A₁** et **A₂** :

Les délétions (par rapport à l'allèle **A₁O₂**) d'une base en 1059 aboutissent à l'abolition d'un codon stop dans le cadre de lecture. Cela explique la synthèse d'une enzyme **A₂** comportant 21 aa supplémentaires.

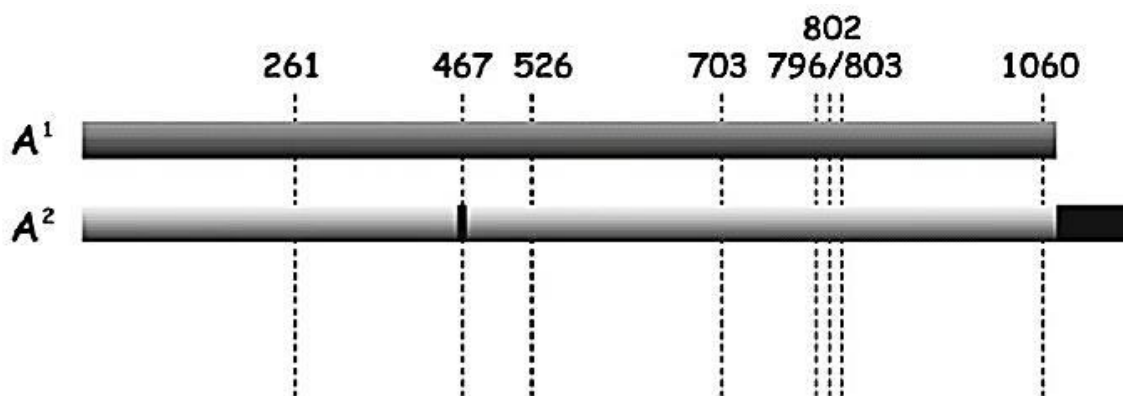


Figure 5 :Schéma illustrant la différence entre l'allèle **A₁** et **A₂**.

Le phénotype A_2 est dû à une délétion d'une seule cytosine entre 1059 au 1061, ce qui introduit un nouvel domaine à la protéine au niveau C-terminal. [15]

L'allèle A_1O_1 est utilisé comme séquence consensus, à laquelle sont comparés les autres allèles du système ABO.

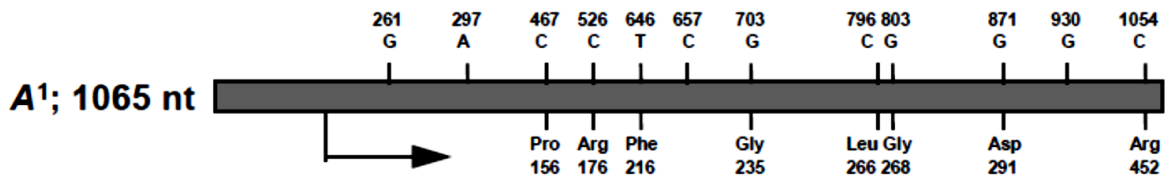


Figure 6 : Structure de l'allèle A_{101} codant pour une transférase A_1 .

Les allèles de référence humains A_1 (A_1O_1) et B (B_1O_1) ne diffèrent, au niveau des exons, que par sept nucléotides sur 1065 (297, 526, 657, 703, 796, 803, et 930), conduisant à quatre substitutions d'aa.

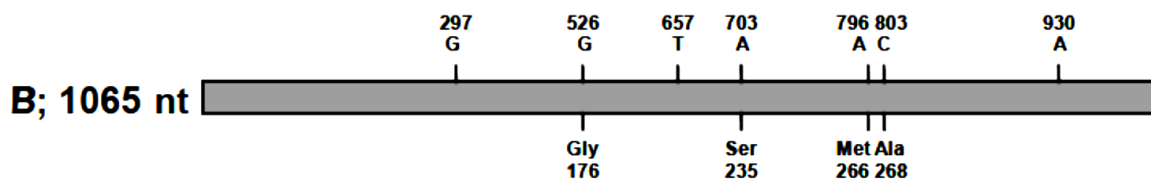


Figure 7 : Structure de l'allèle B_{101} codant pour la transférase B .

L'allèle O_1 est identique à l'allèle A_1O_1 , si ce n'est une délétion du nucléotide en position 261 aboutissant à l'apparition d'un codon stop prématuré et la production d'une protéine tronquée de 117 aa, dépourvue du site catalytique.

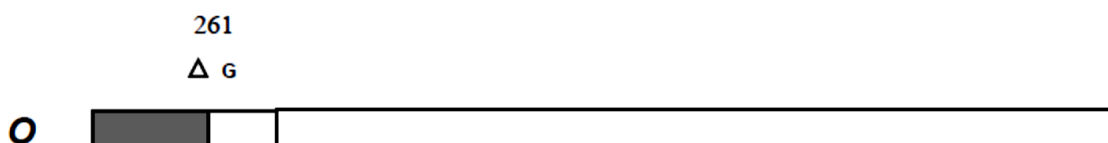


Figure 8 : Structure d'un allèle O_1 . [2]

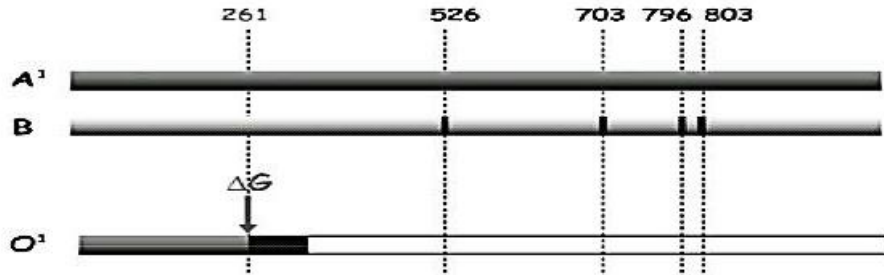


Figure 9 : Schéma illustrant la différence entre l'allèle O et les allèles A,B .

Le groupe **O** est dû à une délétion d'une guanine en 261. [21]

3-3-C- Groupes ABO rares :

3-3-C-1- Les A faibles :

Ils sont les résultats des mutations ponctuelles qui conduisent à des substitutions d'aa :

- **A3** : Asp 291 Asn
- **Aend** : Phen 261 Ile
- **Ax** : Trp 332 Stop
- **Ael** : Fraine shift [33]

3-3-C-2- Les B faibles :

Mutations ponctuelles qui conduisent à des substitutions d'aa :

- **B3** : Arg 352 Trp
- **Bcl** : Met 214 Arg
- **Bx** : Asp 291 Asn
- **Bw** : Asp 291 Glu [33]

3-3-C-3- Cis AB :

Le modèle de transmission des groupes sanguins ABO par trois gènes alléliques (deux codominants **A** et **B** et un allèle récessif **O**) a été proposé pour la première fois par Bernstein en 1924. Aucune exception à ce mode de transmission n'a été rapportée jusqu'à la description du phénotype **cis-AB** en 1964 par Seyfried et l'année suivante par Yamaguchi.

Les sujets présentant un phénotype **cis-AB** sont caractérisés par un mode de transmission non habituel des caractères **A** et **B** exprimés sur la membrane des globules rouges. En effet, ceux-ci ne sont pas transmis comme deux allèles indépendants mais comme un seul allèle appelé « **cis-AB** ».

L'absence de séparation de deux activités transférases lors des expériences d'adsorption différentielle, évoque l'existence d'une seule enzyme hybride (substitution d'un aa de l'enzyme **A** par un aa de l'enzyme **B** : Gly268Ala ou substitution d'un aa de l'enzyme **B** par un aa de l'enzyme **A** : Met266Leu) codée par un seul gène. [1]

3-4- ETUDE DU GENE H ET SECRETEUR :

La compréhension de la diversité des antigènes des systèmes ABO, Hh, Lewis a été grandement facilitée par la caractérisation génétique et moléculaire des α -fucosyl-transférases.

Six gènes codant pour ces enzymes ont été mis en évidence, classés par ordre chronologique de leur description. En immunohématologie, les gènes FUT1, FUT2 sont importants ; ils sont codés par le chromosome 19.

-FUT1 :

Ce gène, code pour la fucosyl-transférase FUT1 qui transforme préférentiellement les chaînes précurseurs **h** de type 2 en substance **H** de type 2. Cette enzyme fonctionne dans le compartiment mésodermique et est à l'origine de la présence de la substance exprimée sur les érythrocytes.

Deux allèles sont possibles ; l'allèle **H** et **h**, l'allèle **H** est dominant.

-L'allèle **H** de grande fréquence, code pour une protéine de 365 aa la « 2α fucosyl-transférase FUT1 »

-L'allèle **h** amorphe ne produisant pas l'enzyme, sa présence en double dose rend compte du phénotype Bombay.

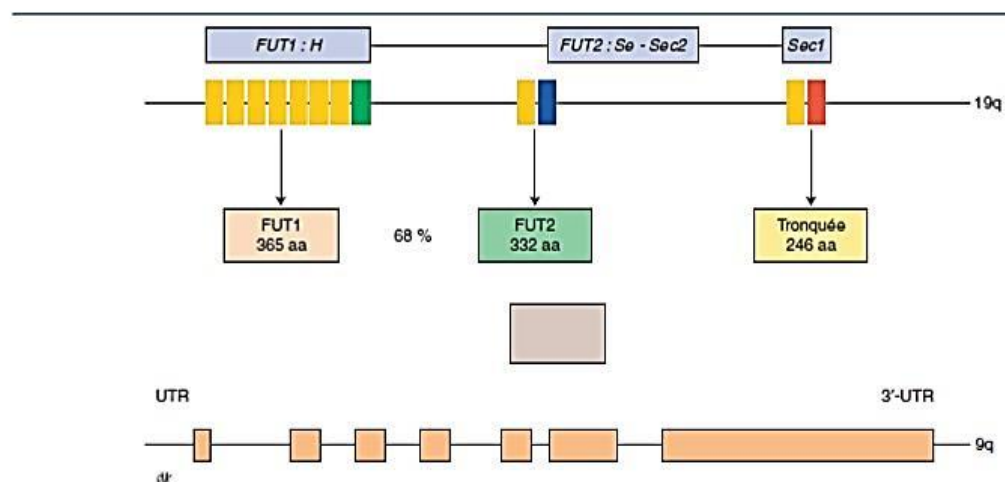


Figure 10 : Les gènes FUT1 (H), FUT2 (Se) et ABO (région codante en vert, bleu et rouge).

[24]

-FUT2 :

Ce gène FUT2 correspond au gène Sécréteur. Il code pour une fucosyl-transférase qui transforme préférentiellement les chaînes précurseurs **h** de type 1 en substance **H** de type 1. Cette enzyme fonctionne dans les tissus épithéliaux permettant ainsi d'expliquer la présence de substances **A**, **B** et **H** solubles dans les "humeurs". En effet, les antigènes hydrosolubles de groupes **A**, **B**, **H** sont retrouvés dans les liquides corporels de 80% des individus. Ceux-ci étaient appelés "Sécréteurs" car possèdent le gène SE tandis que 20 % possèdent en double dose le gène amorphe se et sont donc non sécréteurs.

Allèle <i>Se</i>	Synthèse d'une $\alpha(1,2)$ fucosyl-transférase normale	secréteur
Allèle <i>se</i> ⁵⁷¹	Mutation ponctuelle en position 191 (Arg191stop)	non-secréteur
Allèle <i>se</i> ⁴²⁸	Mutation ponctuelle en position 143 (Trp143stop)	non-secréteur
Allèle <i>Se</i> ^w	Mutation ponctuelle en position 129 (Ile129Phe)	secréteur « faible »

Figure 11 : Différents allèles du gène FUT2. [2]

5- BASES MOLECULAIRES DES PHENOTYPES DEFICIENTS EN AG H :

Le phénotype **H** faible résulte, quant à lui :

- Soit d'un gène FUT1 silencieux avec un gène FUT2 actif qui permet la synthèse de **H** de type 1, et donc d'antigène **A** ou **B** qui peuvent ensuite être adsorbés sur les globules rouges à partir du plasma.
- Soit d'un gène FUT1 muté qui code une enzyme dont l'activité est fortement diminuée, ne produisant que de faibles quantités de l'antigène **H** et donc de **A** ou **B**. Ce gène muté peut être présent avec ou sans gène *FUT2* actif.

Dans les deux cas, l'antigène **H** et donc les antigènes **A** ou **B** sont faiblement exprimés sur les globules rouges.

Dans le phénotype Bombay (**Oh**), le gène FUT1 et le gène FUT2 sont silencieux, bloquant toute synthèse d'antigène **A** ou **B**, quelle que soit la cellule ou le tissu, indépendamment du génotype ABO.

Ce phénotype Bombay est rare puisque rencontré dans un individu indien sur 1000 et un sujet sur un million chez les européens. [1]

4 - ETUDE BIOCHIMIQUE :

4-1- EMBRYOGENESE :

Les Ag **A** et **B** apparaissent très tôt au cours de la vie embryonnaire, et leur développement se poursuit après la naissance :

- Dès les premières semaines de la vie fœtale, les Ag **A**, **B** et **H** sont exprimés dans de nombreux tissus endothéliaux et épithéliaux.
- 5^{ème} semaine : Ag ABH sont développés sur l'endothélium cardio-vasculaire.
- 8^{ème} semaine : Ag ABH sont retrouvés au niveau des cellules épithéliales du tractus digestif, thyroïde.
- Chez le Nné d'environ 10 jours : ils sont retrouvés dans le plasma et dans toute sécrétion exocrine, leur quantité est 2 fois moindre que celle de l'adulte puis elle augmente ensuite pour égaler celle de l'adulte vers deux à trois ans. [2]

4-2-DISTRIBUTION DES AG ABH DANS L'ORGANISME :

Les Ag **H**, **A** et **B** ne sont pas seulement présent sur les hématies, mais sont également largement réparti dans l'organisme. On les trouve sur les thrombocytes, les leucocytes ainsi que les cellules endothéliales et épithéliales. La présence de ces Ags est dépendante des gènes FUT1 (allèle H), ABO, mais indépendante du gène FUT2 (Sécréteur).

De plus, les antigènes **H**, **A** et **B** peuvent être trouvés dans les sécrétions de nombreuses cellules glandulaires (glandes salivaires, muqueuses de l'estomac, intestin, ovaires). Leur présence est contrôlée par l'allèle Se du gène FUT2 (Sécréteur). [2]

4-3-NATURE DES AG A ET B :

Sur le plan biochimique, Morgan et Watkins ont montré en 1952 et 1953 que les déterminants antigéniques **A**, **B**, et **H** sont de nature glucidique. Ils représentent :

Les antigènes **A**, **B** sont des oligosaccharides portés par des glycolipides membranaires.

C'est la partie terminale de ces structures glucidiques qui est responsable de la spécificité antigénique :

- Pour la substance **H** : c'est le L-fucose.
- Pour l'Ag **B** : c'est le D-galactose.
- Pour l'Ag **A** : c'est le N-acetyl-galactosamine. [2]

4-4-STRUCTURE DES PRECURSEURS OLIGOSACCHARIDIQUES :

Les chaînes précurseur sont de deux types qui diffèrent l'une de l'autre par la liaison carbone-carbone entre le galactose terminal et la N-acétyl-glucosamine sub-terminale. Les chaînes faisant partie intégrante de la membrane érythrocytaire sont principalement de type 2, alors que celles présentes dans les liquides biologiques sont de type 1.

La chaîne **H** est obtenue par addition d'un fucose sur la chaîne h précurseur, sous l'action d'une fucosyl transférase FUT1 ou FUT2 indépendante du système ABO.

Type 1 :	Gal β 1-3GlcNac β 1-R	Type 4 :	Gal β 1-3GalNac β 1-R
Type 2 :	Gal β 1-4GlcNac β 1-R	Type 5 :	Gal β 1-3Gal β 1-R*
Type 3 :	Gal β 1-3GalNac α 1-R	Type 6 :	Gal β 1-4Glc β 1-R

**N'existe pas dans la nature*

Figure 12 : Les six types de précurseurs disaccharidiques.

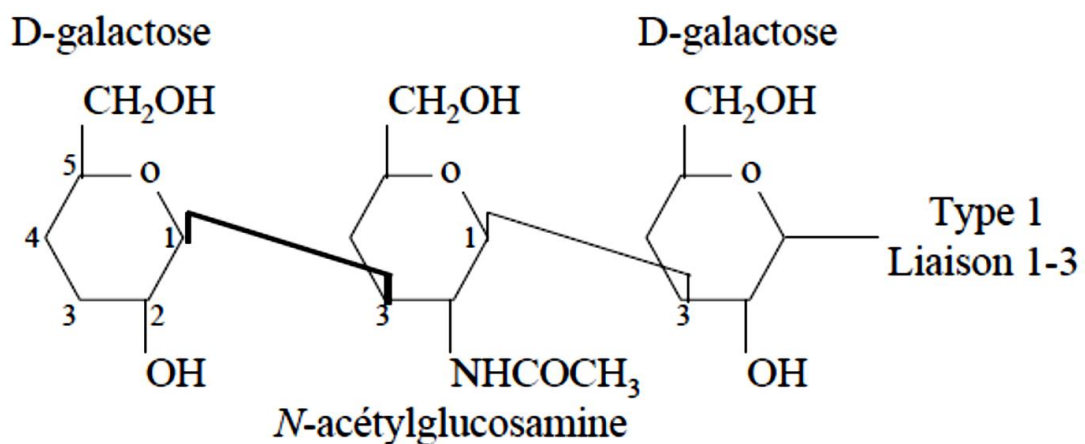


Figure13 :Chaîne précurseur de type 1.La liaison carbone entre le D-galactose et la N-acétylglucosamine est en position 1-3. [2]

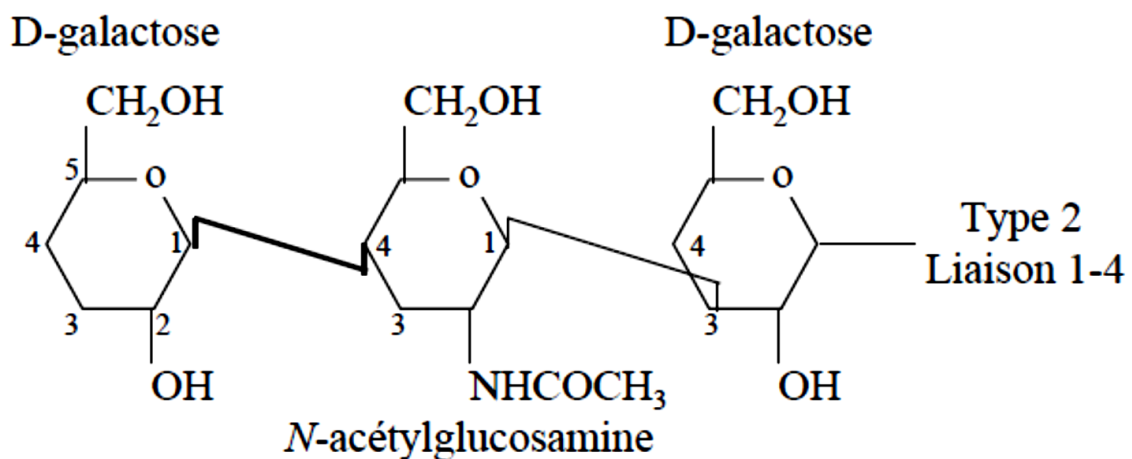
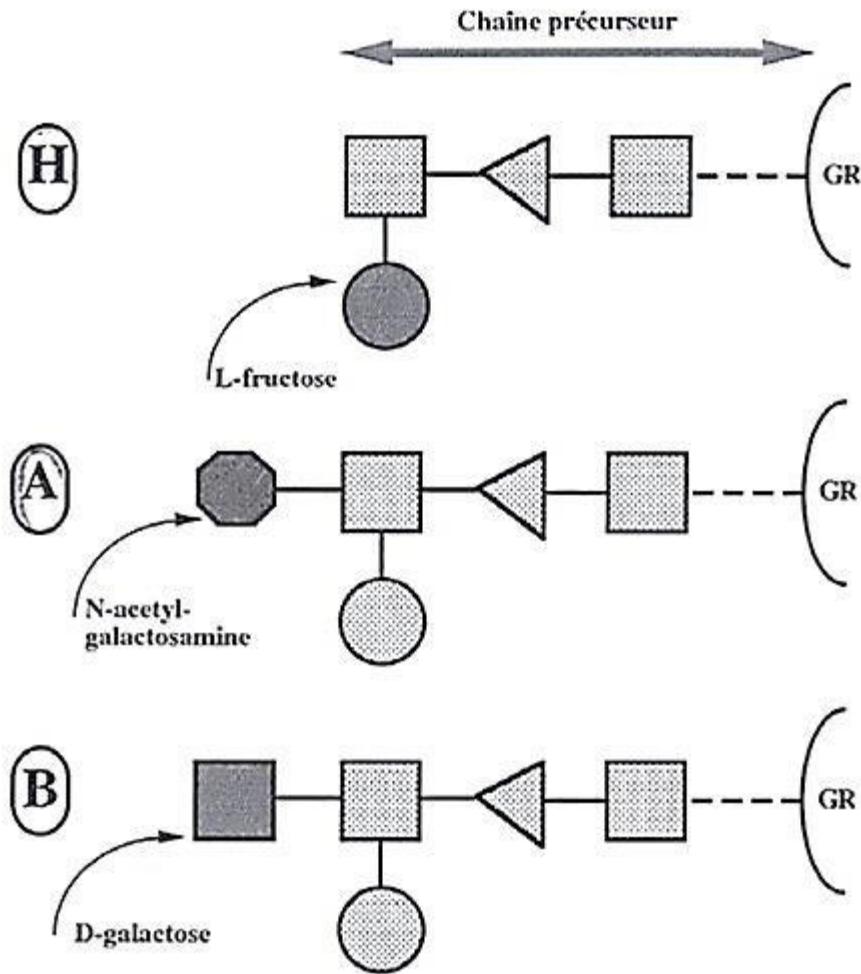


Figure 14 :Chaîne précurseur de type 2.La liaison carbone entre le D-galactose et la N-acétylglucosamine est en position 1-4. [2]



: Schéma illustrant les structures d'oligosaccharides des antigènes H, A et B. La chaîne précurseur est le substrat pour la fucosyl transférase du gène H. La chaîne H est le substrat pour les transférases des gènes A et B qui ajoutent respectivement la N-acétyl-galactosamine et le D-Galactose à la chaîne H. Pour le groupe AB, la N-acétyl-galactosamine et le D-Galactose sont ajoutés aux différentes chaînes d'une même hématie. Les symboles représentent les sucres suivants : Hexagone = N-acétyl-galactosamine ; Carré = D-Galactose ; Triangle = N-acétyl-glucosamine ; Cercle = L-Fucose. Les lignes pointillées représentent les sucres constituant la chaîne.

Figure 15 : Schéma illustrant les structures d'oligosaccharides des antigènes H, A et B.

4-5-BIOSYNTHESE DES ANTIGENES ABH :

La synthèse des groupes sanguins, se déroule dans le réticulum endoplasmique et dans l'appareil de Golgi.

4-5-A- Enzymes intervenantes :

- 1) Alpha 1-2 fucosyl transférase (FUT1) : codée par le gène **H**
 - a. Elle catalyse la synthèse de la chaîne substance **H** type 2 à partir de la chaîne précurseur h type 2 en ajoutant un fucose sur le galactose terminal du précurseur.

- 2) Alpha 1-2 fucosyl transférase (FUT2) : codée par le gène **secreteur**, elle catalyse la synthèse de la substance **H** type 1 à partir de la chaîne précurseur **h** type 1 en ajoutant un fucose sur le galactose terminal du précurseur
- 3) Alpha 1-3 N acetylgalactosaminyl transférase= glycosyltransferase A :
 - a) Codé par le gène **A**
 - b) Elle catalyse le transfert d'une Nacetyl D galactosamine à partir d'UDP Gal Nac (donneur) sur le carbone 3 du galactose fucosylé (accepteur) de l'Ag H et aboutit à la formation de l'Ag A.
- 4) Alpha 1-3 galactosyl transférase (glycosyl transférase B)
 - a. Codée par le gène **B**
 - b. Cette enzyme catalyse le transfert d'un D galactose à partir d'UDP Gal (donneur) sur le **C3** du galactose fucosylé accepteur de l'Ag **H** et aboutit à la formation de l'Ag **B**.

4-5-B- Synthèse des Antigènes ABH membranaires :

Les Ags membranaires sont produits par les érythroblastes sous la dépendance des systèmes Hh (FUT1) et ABO mais indépendamment du gène FUT2 sécréteur

4-5-C- Biosynthèse des Antigènes ABH solubles :

Ils sont produits par les cellules muqueuses sous l'action du gène FUT2 sécréteur et ABO.

4-5-D- Schéma de la biosynthèse :

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

- 1) L'étape d'initiation est représentée par la fixation du premier motif monosaccharidique sur la molécule protéique ou lipidique.
- 2) L'étape d'élongation est caractérisée par l'adjonction successive et répétée du motif [Galb 1→4 GlcNAcb 1→3] h type 2 ou [Galb 1→3 GlcNAcb 1→3] h type 1 principalement.
- 3) Enfin, l'étape de terminaison représente l'adjonction des sucres terminaux spécifiques sur la partie périphérique de ces chaînes : Elle est caractérisée par l'addition d'un fucose sucres précurseurs qui aboutit à la formation de l'antigène **H** dit de type 2, 3 ou 4 en fonction du disaccharide de base. Cette synthèse est liée à l'action d'une a(1,2) fucosyltransférase.

Enfin, la poursuite de la biosynthèse est fonction du génotype **ABO** du sujet. Si l'individu possède un allèle **O** en double dose, tout s'arrête là et l'hématie n'exprime que de l'antigène **H** à sa surface. Si l'individu possède au moins un gène **A** et/ou **B** les glycosyltransférases correspondantes interviennent pour aboutir à la biosynthèse des antigènes **A** et **B**. 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) ou par présence d'une enzyme pathologique déficiente comme dans certaines hémopathies malignes.

Les glycosyl transférases **A1** et **B** sont des protéines de 353 acides aminés qui diffèrent par quatre résidus : Arg176>Gly, Gly235>Ser, Leu266>Met et Gly268>Ala.

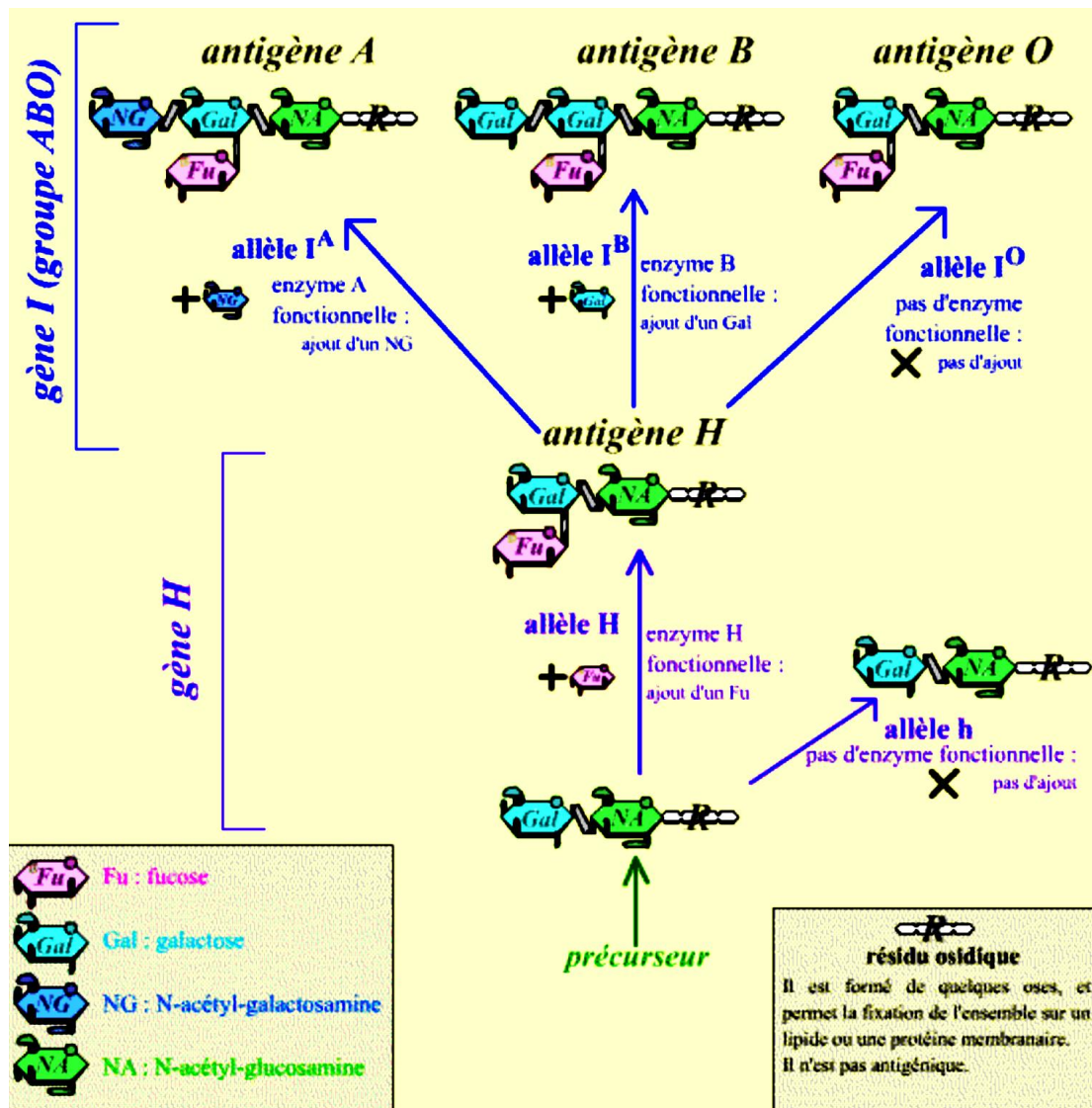


Figure 16 : Schéma général de la biosynthèse des groupes sanguins ABO. [2]

5- METHODES D'ETUDE :

5-1-TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES :

5-1-A-Etude des antigènes :

5-1-A-1- Détermination des groupes ABO courants :

- *Agglutination directe :*

Principe :

La détermination des groupes ABO est basée sur le principe général de la réaction d'agglutination directe active.

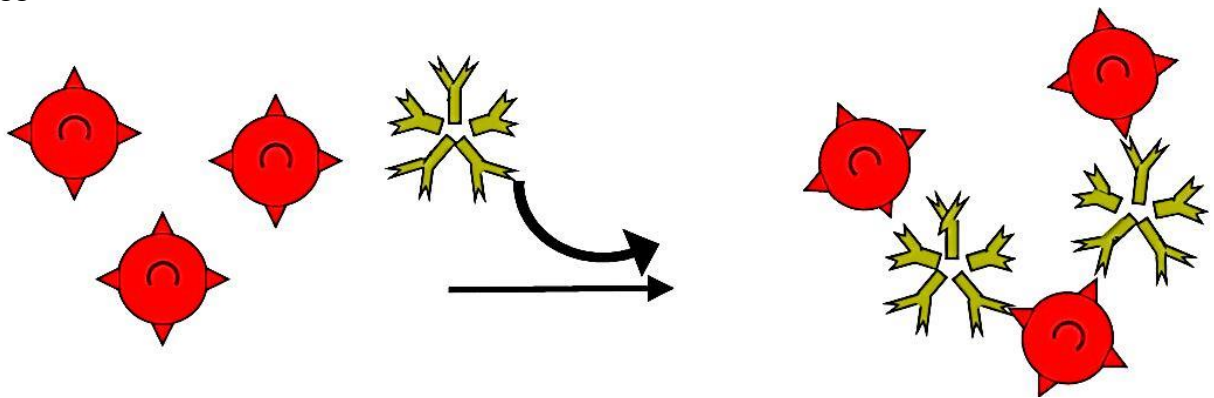


Figure 17 : Représentation schématique d'une réaction d'agglutination directe.

Cette détermination fait appel à deux épreuves :

- ✚ Une **épreuve globulaire (de BETH-VINCENT)** : correspondant à l'identification des Ag globulaires à l'aide d'anticorps connus (sérums tests).
- ✚ Une **épreuve sérique (de SIMONIN)** : correspondant à l'identification des Ac naturels à l'aide d'Ag connus (globules rouges tests).

Les résultats des deux épreuves doivent être concordants pour valider un groupe sanguin ABO.

Témoins :

Par mesure de sécurité, les 3 témoins seront réalisés systématiquement au cours des groupages ABO.

→**Témoin « auto »** : L'absence d'agglutination témoigne de l'absence d'auto- anticorps (agglutinines froides).

→**Témoin « allo »** : L'absence d'agglutination garantit l'**épreuve sérique**.

S'il y a agglutination, il peut démontrer la présence **d'allo anticorps irréguliers**. L'emploi systématique de ce témoin a été préconisé ci-dessus. Ce témoin, permet de vérifier que le sérum du sujet ne contient pas d'Ac capables de reconnaître les Ag autres que les Ag **A** et les Ag **B**.

→**Témoin « AB »**: L'absence d'agglutination garantit l'absence de polyagglutinabilité et **garantit l'épreuve globulaire**. Il n'est pas nécessaire lors de l'emploi d'anticorps monoclonaux. Ce témoin permet de vérifier que les GR du sujet ne sont pas reconnus par des Ac autres que les Ac anti-**A** et Anti-**B**.

Tableau 5 : Interprétation des résultats du groupage ABO. [16]

Groupe	Epreuve globulaire			Epreuve globulaire		Témoins	
	Hématies du sujet auxquelles on ajoute du sérum			Sérum du sujet auquel on ajoute des		Sérum du sujet auquel on ajoute des	
	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Hématies-tests A1	Hématies-tests B	Hématies-tests O	Hématies du sujet
A	+	-	+	-	+	-	-
B	-	+	+	+	-	-	-
AB	+	+	+	-	-	-	-
O	-	-	-	+	+	-	-

5-1-A-2- Détermination de sous-groupes A_1 et A_2 :

L'Ag **A** existe sous différentes formes antigéniques, soit : **A₁, A₂, A₃, A₄.....Ax**. Les types **A₁** et **A₂** peuvent être différenciés à l'aide d'un sérum de spécificité anti-**A₁**. La présence d'une agglutination indique que les hématies possèdent l'Ag **A₁**, le sujet est alors de groupe **A₁** ou **A₁B**.

Les GR qui possèdent des Ag faibles type **A₂** ne s'agglutinent pas, elles sont révélées par l'Anti-**H**.

Tableau 6 : Tableau récapitulatif des résultats de groupage des sous-groupes **A**. [20]

Anti A_1	Anti H	Résultat
+	-	A_1
-	+	A_2

Les hématies **A** intermédiaires agglutinent avec les deux réactifs.

La détermination des sous- groupes de **A** est très importante car 1 à 2% des sujet **A₂** et 25 % des sujets **A₂B** possèdent une agglutinine irrégulière anti-**A₁** dans leur sérum. [16]

5-1-B- Etude des anticorps :

5-1-B-1- Recherche des hémolysines Anti-A et Anti-B :

Chez un certain nombre de donneurs de sang de groupe **O**, il existe des anticorps anti-A et /ou B de nature immune. L'injection d'un tel sang **O** à des receveurs **A** ou **B** peut provoquer des accidents hémolytiques, parfois sévères. Ce sont des donneurs **O** universels dangereux dont il faut dépister les hémolysines sériques à chaque fois que l'on est amené à utiliser leurs sangs et leurs plasmas. Le dépistage des hémolysines anti **A** et anti **B** est également nécessaire dans le cas de la maladie hémolytique du nouveau-né, secondaire à une allo immunisation fœto-maternelle aux antigènes **A** ou **B**. Le titrage dans ce cas est inutile.

Principe :

La réaction consiste à détecter l'hémolyse éventuelle des hématies **A** et **B** connus par le sérum du groupe **O** à examiner censé contenir une hémolysine anti **A** ou anti **B**.

Les Ac immuns du système ABO étant hémolysant en présence de complément, si le sérum à examiner est frais, d'un prélèvement de moins de 24h, le complément n'est pas dénaturé.

Dans le cas contraire, la source du complément doit provenir d'un mélange de sérums frais.

5-1-B-2- Recherche des auto-Ac :

✓ **Par le test de Coombs direct ou test direct à l'anti globuline (TDA):**

Principe

Des anticorps (IgG) ou des fractions du complément (C3d) fixés sur les érythrocytes in vivo sont directement mis en évidence par le réactif de Coombs à anti globulines poly spécifiques, en cas de positivité, on réalise le même test avec des antiglobulines monospécifiques :

- 1ère étape : lavages des hématies sensibilisées en solutions salines (élimination des immunoglobulines non spécifiquement fixés à l'Ag érythrocytaire).
- 2ème étape : agglutination des GR sensibilisés par des AGH. [20]

✓ **Par technique de Fixation -élution :**

On récupère les hématies du patient, on élue les anticorps fixés à leur surface, on les met en contact avec des globules rouges de phénotype connu. On détermine ainsi la spécificité des anticorps dirigés contre les hématies.

5-2-GROUPAGE PAR BIOLOGIE MOLECULAIRE :

La détermination de la structure et de l'organisation des gènes de groupes sanguins ABO, et des bases moléculaires de leurs polymorphismes, a permis de mettre au point des techniques de génotypage basées sur des méthodes d'amplification enzymatique de séquences géniques (PCR) ouvrant des perspectives nouvelles dans le domaine du diagnostic. [18]

La PCR-RFLP (polymorphisme de longueur des fragments de restriction) représente le premier test de génotypage décrit pour les groupes sanguins. Ce test repose sur l'amplification d'un fragment d'ADN contenant le polymorphisme (SNP) spécifique d'un antigène de groupe sanguin suivi de l'action d'enzymes de restriction.

Par la suite, la technique de PCR-SSP (Single Specific Primer) fut développée, d'une part, pour pallier l'absence de site de restriction liée à un polymorphisme et, d'autre part, pour réaliser un génotypage plus rapide que la PCR-RFLP. [19]

❖ Indications clinique du génotypage :

- Phénotypage impossible : contexte post-transfusionnel, Coombs direct positif, agglutination spontanée, réactifs non disponibles.
- Phénotypage incertain : Ag faiblement exprimé.
- Phénotype partiel : absence de certains épitopes.
- Génotypage fœtal : directement dans le plasma maternel (ADN fœtal libre) ou dans le liquide amniotique. [2]

6-IMPLICATIONS DU SYSTEME ABO :

6-1-EN TRANSFUSION SANGUINE :

La transfusion de produits sanguins labiles (concentrés érythrocytaires, concentrés plaquettaires et plasma frais congelé) a trouvé son essor dans la seconde moitié du 20ème siècle. Elle joue un rôle important en tant que traitement en chirurgie qu'en médecine, en particulier en oncohématologie. [2]

Le système ABO est le système majeur de l'immunologie transfusionnelle. Il est le plus important de tous les systèmes de groupes sanguins sur le plan clinique.

La présence d'anticorps naturels et immuns du système ABO constitue un obstacle pour la thérapeutique transfusionnelle et explique l'implication de ce système en transfusion sanguine. Ils sont associés à l'apparition des réactions hémolytiques post-transfusionnelles. [17]

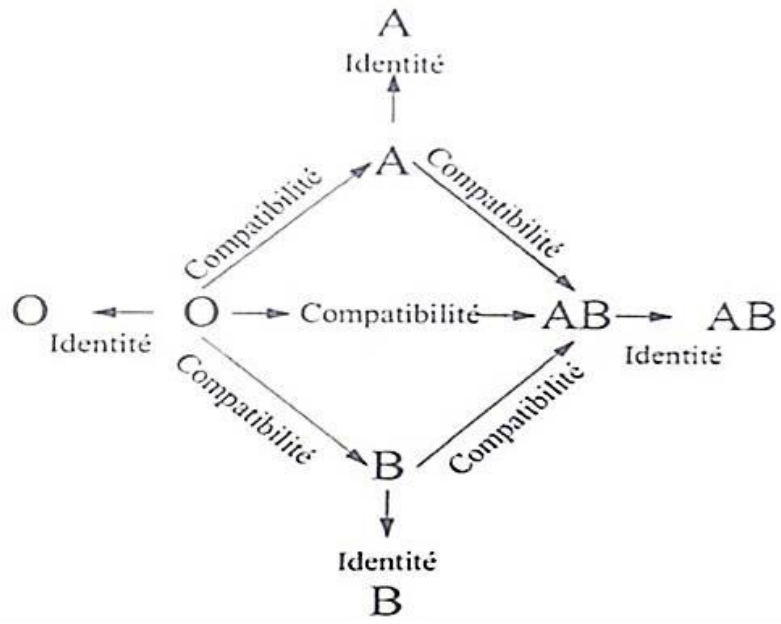


Figure 18 : Schéma de compatibilité érythrocytaire .Ce schéma est d'utilisation simple lors de transfusion de concentrés érythrocytaire dépourvu de plasma. [2]

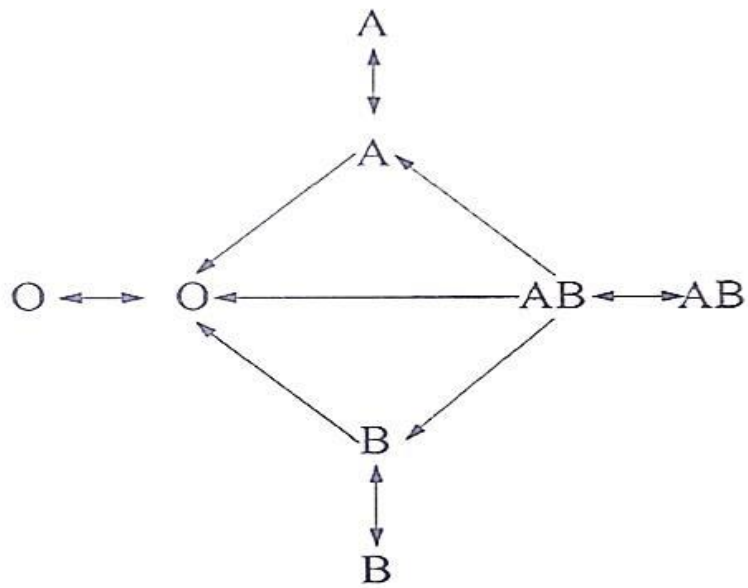


Figure 19 : Schéma de compatibilité plasmatique.[2]

Malgré l'apparition d'alternatives thérapeutiques et les avancées technologiques, la transfusion de produits sanguins labiles reste incontournable et permet de corriger les défauts de transport d'oxygène associés aux anémies, d'éviter les hémorragies chez les patients thrombopéniques, ou de corriger les troubles symptomatiques de la coagulation.[2]

6-2- DANS LA MHFNN :

L'incompatibilité fœto-maternelle correspond à un conflit immunologique entre un anticorps d'origine maternelle et un antigène érythrocytaire dans l'organisme du fœtus ou du nouveau-né. La sensibilisation des hématies fœtales par l'anticorps conduit à une hémolyse périnatale accrue et à une anémie responsable des symptômes de la maladie.

L'allo-immunisation érythrocytaire fœto-maternelle dans le système ABO reste la principale cause des maladies hémolytiques du fœtus et du nouveau-né. Environ 5 % des nouveau-nés ont des tests de Coombs direct positifs .Elle est rarement génératrice d'anémie néonatale grave, sa gravité est généralement moindre que l'allo-immunisation RHD (Rhésus). [34]

Elles s'observent surtout chez des femmes de groupe **O** possédant des anticorps naturels de type IgG, capables de traverser le placenta et de se fixer sur les hématies fœtales de groupe **A** ou plus rarement **B**.

Du fait de l'existence de ces anticorps à l'état naturel, les incompatibilités ABO peuvent être découvertes lors de la première grossesse, contrairement aux incompatibilités dans les autres systèmes. [32]

6-3- EN GREFFE D'ORGANES :

Les antigènes de groupes sanguins semblent étroitement impliqués dans les mécanismes de prise de greffes ou de transplantations. Les antigènes ABO ubiquitaires, se développent très tôt aux différents stades embryo-fœtaux et jouent un rôle fondamental en matière de greffe et de transplantation. Si l'incompatibilité ABO est fondamentale pour le pronostic d'une transplantation rénale, hépatique et cardiaque, elle n'a qu'un rôle mineur pour les greffes de moelle osseuse, d'os ou de cornée. [1]



I-LE SYSTEME RHESUS :

1-INTRODUCTION :

Le système Rhésus, portant le symbole RH et le numéro 004 selon l'ISBT , constitue le système le plus complexe, le plus immunogène et le plus polymorphe de tous les systèmes de groupes sanguins érythrocytaires connus chez l'homme .

En 1939, P.LEVINE ET R.E.STETSON suspectent la présence d'un anticorps dans le plasma d'une femme venant d'accoucher d'un enfant mort-né présentant une anémie et ictère. Cette femme, transfusée en urgence avec du sang pourtant ABO compatible, a présenté un accident hémolytique grave, presque mortel.

En 1940, LANDSTEINER ET WIENNER obtiennent un hétéro-anticorps de lapin immunisé par des hématies de singe (MACCACUS RHESUS). Le sérum du lapin ainsi obtenu est testé vis-à-vis des globules rouges humains qui donnaient une réaction positive avec 85 % de la population. On a ainsi identifié l'antigène D, et les sujets qui possèdent l'antigène D sont dits Rh positif, ceux qui ne le possèdent pas sont dits Rh négatif

En 1941, WIENER découvre l'antigène C et LEVINE découvre l'antigène c.

En 1943, WIENER découvre l'antigène E.

En 1945, MOURANT, COOMBS et RACE mettent en évidence le test de Coombs indirect, et de ce fait ils découvrent l'antigène e.

En 1946, SRATTON découvre l'antigène D faible. [22]

A ce jour, près de 50 antigènes du système rhésus ont été décrits, dont le plus important en transfusion est l'antigène D qui est responsable de la majorité des accidents d'allo-immunisations transfusionnelles ou fœto-maternelles.

Les antigènes du système Rh sont définis par une famille de polypeptides non glycosylés, codés par deux gènes localisés sur le chromosome 1(p34-q31), et sont fixés sur la protéine RhAG codée par le chromosome 6.

C'est un système allo typique de groupe sanguin érythrocytaire. C'est l'un des plus importants systèmes de groupes sanguins après le système ABO. Il est d'un intérêt considérable en transfusion sanguine et en obstétrique. Contrairement aux anticorps du système ABO, les anticorps du système RH sont toujours des anticorps irréguliers. Il peut s'agir d'allo-anticorps, chez le sujet sain, ou d'auto-anticorps dans les maladies et anémies auto-immunes. [24]

2-ETUDE IMMUNOLOGIQUE :

2-1-ETUDE DES ANTIGENES :

Trois couples d'antigènes définissent le système Rh : D(RH1) et sa négation D-(RH-1), C (RH2)/c (RH4), E (RH3)/e (RH5), Ils sont antithétiques, et ils permettent de définir 8 haplotypes, 18 phénotypes et 32 génotypes.

Les 8 haplotypes notés sont :DcE, DcE, dce, Dce, dCe, dcE, DCE et dCE où d représente l'allèle RHD en délétion ou inactif. La fréquence des haplotypes est variable en fonction des populations. L'haplotype porteur de la délétion d est relativement fréquent en Europe de l'Ouest et très rare en Extrême-Orient. Dans les populations originaires d'Afrique subsaharienne, c'est l'haplotype Dce qui est le plus répandu. [24]

Le complexe RH est un assemblage trimérique de protéine RHD, RHCE, RHAG (RH-associated glycoprotein, initialement appelée RH50) dans la membrane du globule rouge, auquel le CD47, l'antigène LW, et la glycophorine B (GPB) sont reliés de façon non covalente. [2]

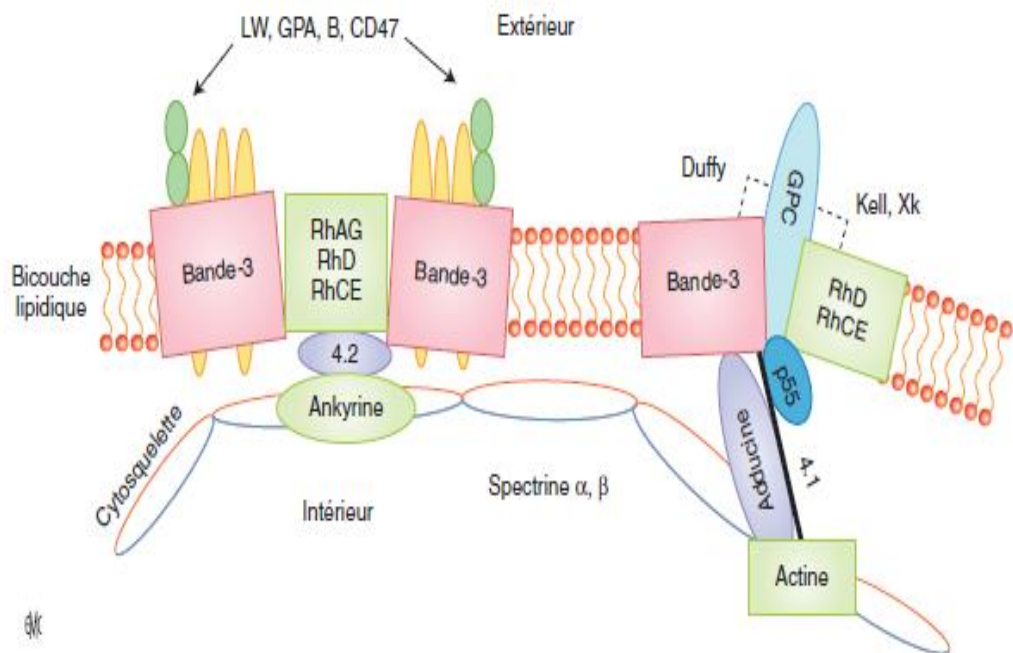


Figure 20 : Représentation schématique de deux modèles hypothétiques du complexe membranaire impliquant les polypeptides RHD et RHCE du système RH. [24]

2-1-A-Les antigènes Rhésus :

Les antigènes RH sont bien développés à la naissance et dès la 8e semaine de gestation. Ils présentent une distribution strictement érythroïde.

Les antigènes RH apparaissent à des stades de maturation plus avancés avec une véritable maturation conformationnelle qui aboutit à la mise en place progressive des différents épitopes. [1]

Leurs détermination se fait selon des nomenclatures officielles (Wiener, Fisher et Race , Rosenfield) . celle de Fisher et Race est la plus utilisé .Habituellement 5Ags sont mis en évidence sur le GR (D,C,c,E,e) .Ils sont abondants , codominants et antithétiques :tout GR C négatif est systématiquement c positif et inversement ; tout GR E négatif est systématiquement e positif , et l'absence de l'un implique la présence de l'autre en double dose .

Ce sont des Ags immunogènes surtout l'Ag D, leurs immunogénétique par ordre croissant est :

$$D > E > c > e > C$$

2-1-A-1-Variations phénotypiques :

Les variations phénotypiques sont dues au polymorphisme génétique, elles ont été caractérisées sur le plan immunologique par une réactivité diminuée avec les sérums-tests et/ou par la présence d'allo-anticorps dirigés contre des antigènes particuliers du système Rh. Ces variantes sont de deux types : quantitatif ou qualitatif.

2-1-A-1-a-Les variants D :

✓ Ag D faible ou D^u :

Aujourd'hui, pas moins de 76 variants RHD faibles sont répertoriés, avec une expression antigénique généralement inférieure à 5000 sites antigéniques par érythrocyte, contre 20 000 à 30 000 sites pour un allèle *RHD* commun. Ce type de changement induit classiquement une réduction quantitative de l'expression de l'antigène RHD en l'absence de tout changement qualitatif des épitopes. [24]

✓ Ag D partiel :

L'antigène D a normalement une structure dite en mosaïque, comprenant un grand nombre d'épitopes antigéniques. Lorsqu'un ou plusieurs de ces épitopes manque (nt) , les individus

peuvent s'allo-immuniser contre la (es) partie(s) manquante(s) et sont considérés comme receveur RH négatif et donneur RH positif .

✓ **Phénotype DEL :**

Les sujets RHD négatif sont rares en Orient et le développement d'anti-D est exceptionnel chez eux. En fait il a été montré que ceux-ci, apparemment RHD négatif, possédaient à la surface de leurs hématies de très faibles quantités d'antigènes D qui ne peut être démontré que par des techniques d'éluion. Ces phénotypes ont été regroupés sous la dénomination de DEL et sont présent chez 30% des sujets apparemment RH négatif en Asie du Sud Est. [2]

2-1-A-1-b--Les variants de C et E :

Tableau 7: Les variants de C et E.

Variant C/c	Variant E/e
Ag C ^w , Ag C ^x , Ag C ^G	Ag faible E ^u , Ag E ^w , Ag E ^T Ag e ^s , Ag e ^l

2-1-B-Proteine RH AG :

La protéine RHAG est constitué de 4 antigènes ; 2 de haute fréquence : Duclos, DSLK et 2 de faible fréquence : O1^a, RHAG4, ils sont codés par le gène **RHAG** situé sur le chromosomes 6(6p12-p21) .Il a une structure secondaire similaire aux protéines RH . Le système RHAG est le 30^e système décrit en 2009 .La protéine RHAG doit être présente dans la membrane érythrocytaire pour permettre l'expression des antigènes Rh. Sa liaison à la protéine CD47 est indispensable à la reconnaissance des hématies par le système immun. L'absence du CD47 entraine leur destruction. Il est possible que les autoanticorps anti-Rh agissent en partie par ce mécanisme, en cachant l'antigène CD 47. [2] ; [25]

2-2-LES ANTICORPS DU SYSTEME RHESUS :

Les anticorps du système RH sont pratiquement toujours des anticorps irréguliers immuns . Cependant, pour une raison inconnue, il n'est pas rare de détecter des anticorps "naturels "anti-E par exemple, chez des sujets E négatifs qui n'ont jamais été en contact avec l'antigène E. Comme il peut s'agir d'allo-anticorps, chez le sujet sain, ou d'auto-anticorps de nature IgG de spécificité RH actifs sur les propres GR du sujet dans les maladies et anémies auto-immunes.

Une éventuelle allo-immunisation contre les antigènes du système RH peut se produire lors de grossesse ou de transfusion sanguine. La production d'anticorps dépend entre autres de la dose d'antigène injectée, la fréquence des stimulations et de l'immunogénicité de l'antigène.

Les anticorps du système RH sont le plus souvent des IgG (en particulier IgG1 et IgG3). Classiquement, ils n'activent pas le complément. Ces anticorps dits « chauds », ont un optimum thermique situé autour de 37 - 40°C. Leur importance est majeure en pathologie

humaine en raison de leur implication dans des MH fœtales et néonatales sévères et du risque de réaction hémolytique immédiate et intense en cas de non-respect de leur compatibilité en contexte transfusionnel. [1] ; [2] ; [26].

3-ETUDE GENETIQUE :

Le locus rhésus est localisé sur le 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 *RH CE*) 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 [27][28].

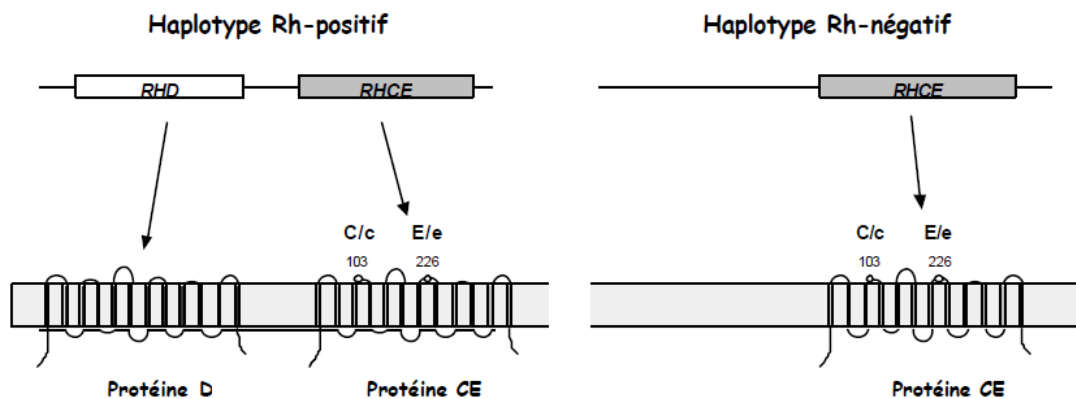


Figure 21: Structure des haplotypes humains *RHD* positif et *RHD* négatif.

Les gènes *RHD* et *RHCE* sont constitués de 10 exons. Ils ont une organisation semblable et dérivent vraisemblablement d'un gène ancestral commun par duplication. Ils sont orientés de manière opposés, les deux parties terminales 3' se faisant face. [2]

La différence la plus significative entre les gènes *RHD* et *RHCE* est portée par l'intron 4 qui présente une délétion de 600 pb dans le gène *RHD*. [1]

Des mutations et conversions géniques créant des gènes hybrides *RHD/CE*, génèrent de nombreux allèles *RH*. On décrit, ainsi, plus de 150 allèles *RHD* et de nombreux allèles *RHCE* qui sont classés en fonction de leurs caractéristiques phénotypiques et moléculaires. [24]

3-1-GENE *RHD* :

Responsable de la synthèse de l'antigène D qui est présent chez les individus RH positif et absent chez les individus RH négatif (il existe une délétion complète du locus *RHD*, à l'état homozygote qui conduit à l'absence de protéine *RHD* sur la membrane érythrocytaire et donc

à l'absence d'antigène D, ceci veut dire qu'il n'existe pas d'allèle RH d, ni d'antigène d). Il existe donc 3 combinaisons alléliques possibles, conduisant à 2 phénotypes : D+ ou D- . [1]

Tableau 8 : Les combinaisons alléliques du phénotype RHD.

Phénotype	Génotype	
	Allèle 1	Allèle 2
D+ (ou RH positif)	D	D
	D	-
D- (ou RH négatif)	-	-

3-1-A-Variants du gène D :

Le mécanisme du crossing-over ou de conversion génique représente la base moléculaire essentielle du polymorphisme des variant « D^u » et autres variantes génétiques du locus RHD [23] :

3-1-A-1 -Phénotype D partiel :

Il y a deux grands types de D variant : ceux qui sont secondaire à des mutations du gène RHD avec changement d'acides aminés sur la partie exo-faciale de la protéine, et ceux qui sont secondaire à la formation de protéine hybride, due à un échange de matériel génétique entre les gènes RHD et RHCE. Les gènes hybrides sont notés :

RHD-CE(2-9)-D, indiquant que les exons 2 à 9 du gène RHD ont été remplacé par ceux du gène RHCE. Ces mutations génèrent parfois de nouveaux antigènes RH de base fréquence (ex. DAK, GOA, Evans, ect.)

3-1-A -2-Phénotype DEL :

Les analyses moléculaires ont montré la présence de différentes mutations du gène RHD comme la mutation RHD (G1227A) conduisant au phénotype DEL.

Tableau 9: Variations moléculaires à la base des différents types de phénotype RHD. [24]

Classification RHD	Mécanisme moléculaire	Allèle
D partiel	SNP faux-sens	RHD(Gly355Ser)
	Conversion génique	RHD-CE(3-6)-D
D faible	SNP faux-sens	RHD(Val270Gly)
DEL	SNP faux-sens	RHD(Met295Ileu)
	SNP à la jonction exon/intron	RHD(Lys409Lys)
D négatif	Délétion génétique	RHDdél
	SNP non-sens	RHD(Tyr 330stop)
	Déplication	RHDψ(+37pb intron3/exon4)
	Conversion génique	RHIIIa-CE(4-7)-D
	Altération d'un gène associé	Altération du gene RHAG

3-2-GENE RHCE :

Code pour les antigènes antithétiques E/e et C/c. Les spécificités C/c sont codés au niveau de l'exon 2 alors que les spécificités E/e sont au niveau de l'exon 5. Les allèles potentiels du gène RHCE sont : RHCE, RHCe, RHcE et RHce. [2]

Le polymorphisme E/e résulte d'une mutation C-G du nucléotide 676 (exon 5) du gène CE.

Le polymorphisme C/c résulte d'une mutation T-C du nucléotide 307 du gène CE (exon 2) [26] ; [30].

Les autres polymorphismes résultent essentiellement d'évènement de conversion entre les gènes Rh ou bien de mutations ponctuelles.

Ces remaniements du gène CE conduisent chez certains variants à des gènes hybrides (codant pour des protéines hybrides ayant perdu tout ou une partie des antigènes CE).

Pour l'allèle C :

- L'antigène C^w (C Willis) : est l'antigène dont la fréquence est d'environ 2%(4% en Finlande), cet antigène est produit par un allèle du gène RHCE, caractérisé par une mutation d'un nucléotide (A122G) .
- L'antigène C^x (RH9) : est un antigène de faible fréquence, présent chez 0.1% des individus (4% en Finlande). Cet antigène est produit par un allèle du gène RHCE caractérisé par une mutation d'un nucléotide (G106A) . [2]

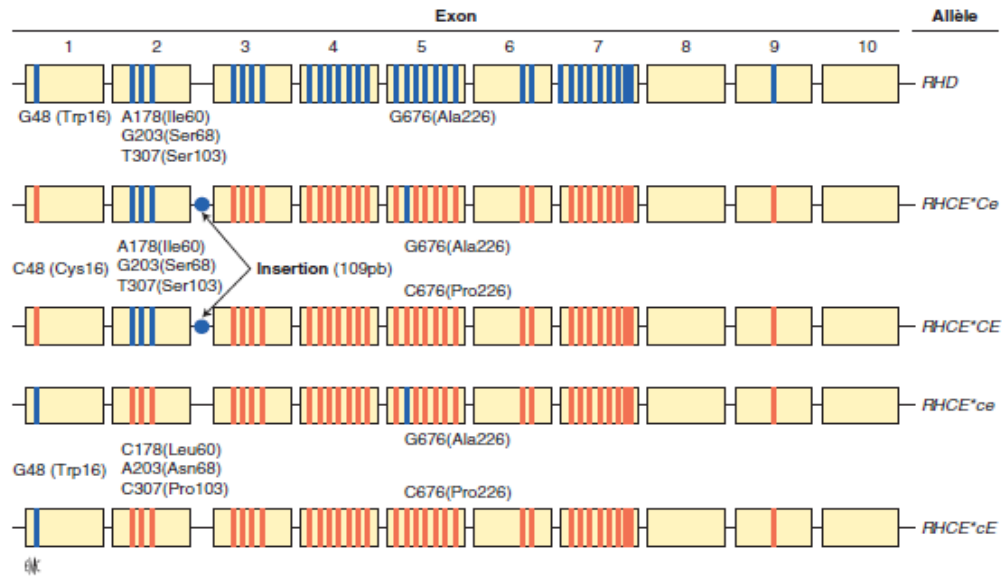


Figure 7. Les antigènes D, C, E, c et e sont les produits de cinq allèles communs, un du gène *RHD* et quatre du gène *RHCE* (*RHCE*ce* ou *RHCE*01*, *RHCE*Ce* ou *RHCE*02*, *RHCE*cE* ou *RHCE*03* et *RHCE*CE* ou *RHCE*04*). Les différents polymorphismes nucléotidiques associés sont localisés ainsi que les changements d'acides aminés. L'insertion de 109 paires de bases caractéristiques des allèles *RHCE*C* est localisée dans l'intron 2. Les polymorphismes *RHD* et *RHCE* spécifiques sont respectivement en bleu et en rouge.

Figure 22: Les allèles D, C, E, c, e [24]

4-ETUDE BIOCHIMIQUE :

Les antigènes RH sont localisés sur 2 protéines Rhésus RH D et RH CE, qui se trouvent dans la membrane érythrocytaire. Ces protéines hautement hydrophobes et non glycosylées sont caractérisées par un poids moléculaire de 30-33 kDa et sont constituées de 417 acides aminés.

4-1-ANTIGENES *RHD* ET *RHCE* :

On retrouve ainsi une forte identité entre les polypeptides RHD et RHCE qui comportent six boucles extracellulaires, douze segments transmembranaires et cinq boucles intracytoplasmiques. Les extrémités N et C-terminales sont localisées dans le cytosol, ce qui est caractéristique des transporteurs membranaires. Au niveau de la membrane du globule rouge, les polypeptides RH forment un complexe avec une glycoprotéine strictement érythroïde nommée RHAG de 409 résidus avec laquelle ils partagent une conformation identique à la membrane et 33 % d'identité de séquence. [24]

La protéine RHAG doit être présente dans la membrane érythrocytaire pour permettre l'expression des antigènes RH.

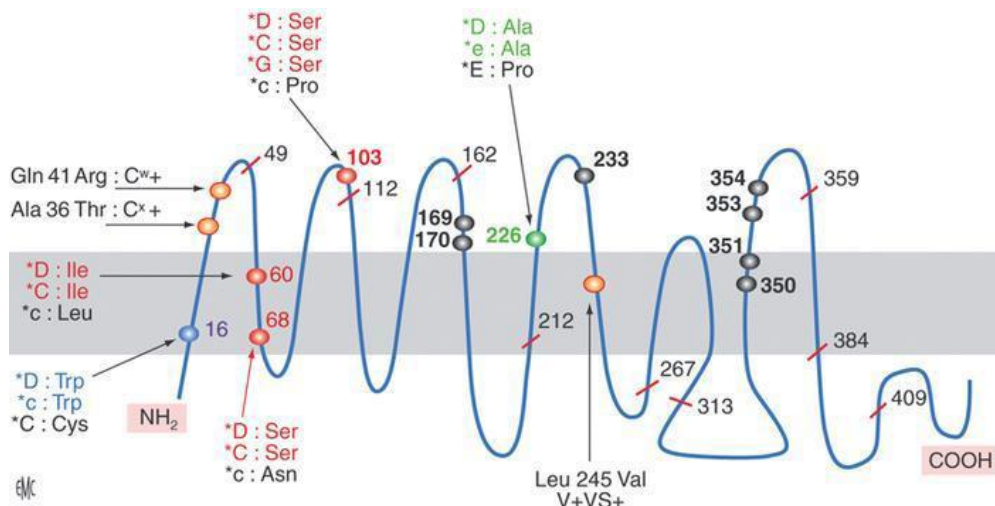


Figure 23 : La protéine RH.

En fonction des allèles, 34 (*Ce*) à 38 (*cE*) aa peuvent différer entre les protéines RHD et RHCE. Seul un nombre limité de ces différences est en position extracellulaire. En cas d'allèle *C* ces différences sont limitées aux boucles 3, 4 et 6 qui portent l'antigénicité D (dont certains sont représentés sous forme de cercles noirs). En cas d'allèle *c* la boucle 2 est aussi concernée. Les acides aminés considérés comme critiques pour les spécificités C/c et E/e sont respectivement en position 103 et 226. Les 10 segments identifiés par un trait gris correspondent aux différents exons. Le résidu Cys16 est habituellement, mais pas exclusivement associé à l'antigène C et le résidu Trp16 est habituellement, mais pas exclusivement associé à l'antigène c (74 % des sujets africains C+, c- possèdent un résidu Cys16). [1]

4-1-A-VARIANTS D :

4-1-A-1- Antigène D faible :

Un phénotype RHD faible (anciennement D^u) résulte d'un variant de la protéine RHD qui présente généralement un seul changement d'acide aminé localisé dans les domaines transmembranaires ou intracellulaires du polypeptide RHD. Ces substitutions peuvent impacter la configuration du polypeptide à la membrane.

4-1-A-2- Antigène D partiel :

Les variants RHD partiels résultent principalement de substitutions d'acides aminés localisées dans les boucles extracellulaires, affectant les conformations tridimensionnelles de ces dernières. Des substitutions dans les domaines transmembranaires et intracellulaires peuvent également induire ces effets à distance et modifier la conformation de ces boucles.

4-1-B- VARIANT C :

4-1-B-1-L'antigène C^w :

La mutation est plus souvent observés en association avec un acide aminé Ser en position 103, correspondant à l'antigène C, qu'avec un acide aminé Pro en position 103, correspondant à l'antigène c.

4-1-B-2-L'antigène C^x :

Une modification d'un acide aminé (Ala 36Thr), situé sur la première boucle extracellulaire de la protéine .

Tableau 10 : Position des acides aminés critiques des antigènes principaux du système Rh. [2]

Ag	position des acides aminés						
	16	36	41	60	68	103	226
Ce	Cys	Ala	Gln	Ile	Ser	Ser	Ala
CE	Cys	Ala	Gln	Ile	Ser	Ser	Pro
ce	Trp	Ala	Gln	Leu	Asn	Pro	Ala
cE	Trp	Ala	Gln	Leu	Asn	Pro	Pro
C ^w Ce	Cys	Ala	Arg	Ile	Ser	Ser	Ala
C ^w ce	Trp	Ala	Arg	Leu	Asn	Pro	Ala

4-2-FONCTIONS DU COMPLEXE RHESUS :

Les antigènes RH s'associent à la protéine bande 3 dans les complexes macromoléculaires de la membrane érythrocytaire. Les antigènes RH ainsi reliés au cytosquelette, jouent un rôle important dans le maintien des propriétés mécaniques de la membrane du globule rouge.

Le complexe Rh est un canal permettant le transport d'ammonium et de gaz tel que le CO₂ et possiblement l'O₂ et le NO. [2]

5-METHODES D'ETUDES :

5-1-METHODES IMMUNOLOGIQUES,TECHNIQUE D'AGGLUTINATION :

5-1-A-Recherche des antigènes :

5-1-A -1-Détermination de l'antigène D :

Principe :

Un sérum a la capacité d'agglutiner des hématies seulement si l'antigène spécifique est présent à la surface de ces dernières. Ainsi la présence d'un antigène D est démontrée par l'analyse des hématies avec un sérum anti-D.

Même principe pour la détermination des antigènes C, c, E, e.

La technique est validée par un témoin positif avec des hématies connues RH positif et un témoin négatif avec des hématies connues RH négatif.

Résultats et interprétation :

L'agglutination indique la présence de l'antigène D sur les hématies, elles sont classifiées comme étant Rhésus positif. Lorsqu'il n'y a pas d'agglutination avec l'antiD, les hématies sont Rhésus négatif, mais avant de confirmer l'absence de l'antigène D, on doit d'abord procéder à une analyse complémentaire : la recherche du facteur D^u.

5-1-A -2-Détermination de l'antigène D^u:

Les tests directs d'agglutinations ne permettent pas toujours de classer toutes les hématies en Rhésus positif ou Rhésus négatif. Certains antigènes D réagissent peu ou pas du tout avec un anti D salin ; d'autre réagissent faiblement ou tardivement avec un anti D albumineux. La recherche du D^u doit être effectuée comme analyse complémentaire pour tout sang qui semble RH négatif et plus particulièrement chez les donneurs de sang, la femme enceinte et le nouveau-né. [16]

✓ **Par TCI : (test de coombs indirect) :**

Une technique sensible de détection de l'Ag D ; la réaction de Coombs indirecte ou test indirect à l'antiglobuline (TIA), est utilisée.

Elle consiste à rechercher l'Ag D à la surface des hématies par agglutination active indirecte à l'aide d'Ac spécifiques anti-D en milieu salin.

Les hématies sensibilisées par les Ac sont lavées pour éliminer les Ac non fixés sur les hématies, puis sont agglutinées en présence d'anti-globulines humaines (AGH).

✓ **Par fixation-élution :**

Elle consiste de mettre les antigènes D faibles en évidence à la surface des hématies, la fixation de l'anticorps anti D sur son antigène D se fait par incubation à la température optimale d'activité d'un anti-sérum contenant l'anticorps anti D et d'hématies portant l'antigène D.

Se faisant in vitro, cette fixation va permettre dans un deuxième temps de dissocier ou d'éluer l'anticorps anti D, prouvant que l'antigène D existe bien.

La fixation de l'anticorps pouvant avoir lieu in vivo, si on se place dans conditions de réversibilité par le changement de PH ou de température par exemple, on peut dissocier l'anticorps de son antigène, le récupérer pour étudier sa spécificité : c'est l'élution.

5-1-B -Recherche des anticorps :

5-1-B-1- Recherche des agglutinines irrégulières (RAI) :

Les anticorps du système rhésus sont toujours immuns irréguliers, leur recherche se fait par une procédure ayant pour but la détection et l'identification des allo anticorps anti érythrocytaires, dans le sérum de différents patients tels les femmes enceintes, les polytransfusés et les candidats à une transfusion.

Ne sont pas concernés les anticorps anti A et anti B.

Leur recherche se fait par:

✓ **TCI ou TIA :** (Test de Coombs Indirect) ou (Test indirect à l'antiglobuline) :

Le TCI est utilisé pour mettre en évidence la sensibilisation in vitro des hématies par des immunoglobulines ou des fractions du complément après incubation des hématies avec le sérum et lavage pour éliminer les globulines non fixées.

On ajoute ensuite le réactif anti globuline humaines.

Une réaction d'agglutination indique que le sérum contient des anticorps spécifique des antigènes des hématies utilisés.

✓ **Le Test aux enzymes :** nécessitant un traitement préalable des hématies par une enzyme protéolytique

5-1-B-2 -TCD (Test de Coombs Direct) :

Le test direct à l'antiglobuline est à la base du diagnostic des affections immunologiques en relation avec l'anti D suivantes :

- 1-La maladie hémolytique du nouveau-né.
- 2-Les accidents transfusionnels.

Il est utilisé pour mettre en évidence la sensibilisation in vivo des hématies avec l'anti D par des globulines : des IgG ou des fractions CR₂ (C₃d) du complément.

Les hématies à tester sont lavés et mis en contact avec les réactifs antiglobulines humaines polyvalentes anti IgG (IgG anti anti D) et CR₂ ou mono spécifique anti IgG ou anti CR₂ seulement. [20]

5-2-METHODES DE BIOLOGIE MOLECULAIRE :

- Méthodes PCR (polymerase chain reaction) :

La PCR consiste à amplifier de manière spécifique la séquence d'ADN codante pour le gène RH1 en utilisant une polymérase résistante aux températures élevées.

- Séquençage
- Puces à ADN
- Technologie Luminex [2]

VI-IMPLICATIONS DU SYSTEME RHESUS :

Les allo-anticorps immuns du système Rh sont impliqués 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'antigéno-compatibilité D n'a pas été observée : La transfusion d'un sujet D- avec des hématies D+ aboutit à la synthèse d'un anti-D dans 80 % des cas).

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 Rh se produit avec une fréquence décroissante selon leur immunogénicité $D > E > c > e > C$.

Le plus souvent les anticorps anti-Rh apparaissent seulement lors de la seconde grossesse dans le cas particulier de l'allo-immunisation fœto-maternelle.

Il est donc important de respecter la compatibilité pour les 5 antigènes Rh dans les transfusions de globules rouges, spécialement chez les patients de sexe féminin avant la ménopause et dans les pathologies impliquant des transfusions répétitives et/ou chroniques. [1]



III-SYSTEME KELL :

1-INTRODUCTION :

Le système Kell portant le symbole KEL et le numéro 006 selon l'ISBT, constitue un système important en transfusion sanguine en raison du pouvoir immunogène de l'antigène K1 le premier décrit dans ce système.

En 1946, Coombs, Mourant et Race ont décrit un anticorps dans le sérum d'une femme ayant mis au monde un enfant ictérique, anticorps révélé par le test à l'antiglobuline mis au point par eux; l'anticorps fut nommé anti-Kell du nom de la femme chez qui, il avait été décrit et l'antigène correspondant est dit l'antigène K (K1)

En 1949, Levine, Baker – Wigod, et Ponder avaient décrit un anticorps immun dans le sérum de madame Cellano dénommé anti-cellano dont l'antigène correspondant est l'antigène k (K2).

Aujourd'hui, Le système Kell comporte plus de 31 Ags, portés par une glycoprotéine membranaire Kx seul antigène du système Kx. codés par un locus localisé sur le chromosome 7(7 q 32 – q 36), ils sont transmis héréditairement et indépendamment des autres antigènes de système de groupes sanguins.

Le système Kell est le système le plus immunogène après le système Rhésus, les anticorps dirigés contre ses antigènes sont toujours d'origine immune.

La détermination de phénotype Kell se fait par une technique d'agglutination, l'antigène K1 est fréquemment déterminé.

2-ETUDE IMMUNOLOGIQUE :

2-1-ETUDE DES ANTIGENES :

2-1-A-Les antigènes du système Kell :

Les antigènes Kell dont l'expression se trouve restreinte à la lignée érythrocytaire ; apparaissent dès la 10^e semaine de gestation et sont bien développés à la naissance. Leur expression apparaît à des stades précoces de l'érythropoïèse. Sur une cellule mature, le nombre de copies par hématie est estimé de 3 500 à 17 000.

Le système Kell comporte cinq groupes d'antigènes antithétiques et des antigènes associés. Au sein de chaque groupe, certains sont considérés comme des antigènes de grande fréquence (AGF) et d'autres de faible fréquence : K1 et K2 (AGF) ; Kpa, Kpb (AGF) et Kpc ; Jsa et Jsb (AGF) ; K11 (AGF) et K17 ; K14 (AGF) et K24.

Parmi les antigènes associés, on décrit cinq antigènes de faible fréquence (Ula, K23, VLAN, VONG, KYO) et 19 antigènes de grande fréquence (Ku, Km, K12, K13, K16, K18, K19, K22, TOU, RAZ, KALT, KTIM, KUCI, KANT, KASH, KERP, KETI, KUH, KYOR). Parmi ceux-ci, l'antigène Km (K20) est le fait de l'association de la protéine Kell à la protéine Kx par le biais d'un pont disulfure. [24]

2-1-A-1 -Antigènes K1 et K2 :

L'antigène K1 est présent sur les hématies d'environ 9% des sujets de race blanche ; son immunogénicité est importante. L'antigène K2 est son antigène antithétique, il est de grande fréquence dans toutes les populations.

2-1-A-2 -Les autres antigènes antithétiques du système KELL :

Ils sont représentés par au moins 3 couples d'Ag antithétiques, les uns rares : Kpa , Jsa et Wka et les autres fréquents : Kpb , Jsb , et Coté .

✓ Antigènes Kpa et Kpb et Kpc :

Les antigènes Kpa (KEL3), Kpb (KEL4) et Kpc (KEL21), produits de trois allèles codominants liés aux allèles K/k, définissent en Europe trois phénotypes : Kp(a-b+), Kp(a+b+) et Kp(a+b-), et un quatrième phénotype en jupon : Kp(a-b-c+). L'antigène Kpa est présent chez 2 à 3 % de la population européenne et l'antigène Kpb est un antigène public dans toutes les populations. [2] [24]

✓ Antigènes Jsa ,Jsb, ka et coté :

Les antigènes Jsa (KEL6) et Jsb (KEL7), produits de deux allèles codominants liés aux allèles K/k, définissent trois phénotypes : Js(a-b+), Js(a+b+) et Js(a+b-). L'antigène Jsa est pratiquement trouvé exclusivement dans des populations originaires d'Afrique subsaharienne, où sa fréquence peut atteindre 16 à 20 %, alors que l'antigène Jsb est un antigène public dans toutes les populations. [24]

Les antigènes antithétiques Wka et Coté sont respectivement rares (0.3%) et fréquents (> 99.9%). [2]

2-1-A-3 -Le phénotype K₀ (K null) :

Les hématies de phénotype K₀ sont dépourvus de tous les antigènes du système Kell , notamment K , k , Kpa , Kpb ,Jsa ,et Jsb .

2-1-A-4 -Le phénotype Kmod :

Ou il ya une forte diminution de l'expression des antigènes Kell à la surface des hématies.

2-1-B-Système Kx (XK, ISBT no 019):

L'antigène Kx, initialement inclus dans le système Kell, est devenu un système à part entière le jour où a été rapporté que cet antigène était exprimé sur une protéine (XK) codée par un gène localisé sur le chromosome X, la protéine Kx est composée de 444 acides aminés et un poids moléculaire de 37kDa. C'est un antigène de grande fréquence et le seul antigène de ce système. Son absence, qui définit le phénotype McLeod, est associée à une réduction de tous les antigènes du système Kell et à des anomalies membranaires du fait que sur cette protéine que viennent se fixer les antigènes du système Kell. La protéine Kx, contrairement aux antigènes du système Kell, est présente sur les granulocytes. [2] [24]

2-2-LES ANTICORPS DU SYSTEME KELL :

Les antigènes du système Kell sont très immunogènes, les anticorps résultent généralement d'une allo immunisation (il existe de très rares anti-K, anti-Kpa et anti-Kpb d'origine naturelle)

La majorité des anticorps du système Kell sont des IgG actifs à 37°C. [2]

L'anti-K est un anticorps courant qui peut être responsable de réactions transfusionnelles sévères alors que les anticorps anti-k (KEL2) sont très rares (0,2 % seulement de la population sont KK).

Les anti-Kpa, Kpb, Jsa, Jsb sont rares, les anti-Jsa et Jsb peuvent causer des réactions transfusionnelles et des MHFN dont certaines sont sévères.

En cas de stimulation par voie obstétrico-transfusionnelle, les individus de phénotype K₀ fabriquent un anticorps anti-KEL5 (Ku) réagissant avec toutes les hématies autres que K₀, qui a été impliqué dans des RT sévères et des MHFN, même si un certain nombre de cas d'anti-Ku de haut titre sans MHFN graves ont été décrits.

Les anticorps d'autres spécificités du système Kell sont exceptionnels. [2] [24]

3-ETUDE GENETIQUE :

Le gène *KEL* est localisé sur le chromosome 7 en région q32-q36, il comporte 19 exons. Le polymorphisme des antigènes KEL résulte le plus souvent de la substitution d'un nucléotide qui aboutit à la substitution d'un acide aminé. Le polymorphisme entre KEL1 et KEL2 est dû à une substitution de C-T au niveau de l'exon 6. [2]

Le phénotype K₀, est le fait de divers mécanismes, incluant des délétions nucléotidiques, des altérations de sites d'épissage, l'introduction prématurée de codons stop ainsi que des mutations ponctuelles aboutissant à la substitution d'aa.

Le phénotype Kmod est lié à diverses mutations faux-sens ou à un déficit en Kx. [24]

Tableau 11: Différentes bases moléculaires de quelques antigènes du système Kell. [2]

Antigène	Exon	Nucléotide
Kell(KEL1) - Cellano(KEL2)	6	C578T
Kp ^b (KEL4) - Kp ^a (KEL3)	8	C961T
Kp ^b (KEL4) - Kp ^c (KEL21)	8	G962A
Côté (KEL11) - Wk ^a (KEL17)	8	T1025C
Js ^a (KEL6) - Js ^b (KEL7)	17	T1911C

4-ETUDE BIOCHIMIQUE :

4-1-LES ANTIGENES DU SYSTEME KELL :

La protéine Kell est une glycoprotéine de 732 aa dont le poids moléculaire est de 93 kDa et tous les sucres sont des N glycanes, branchée sur le cytosquelette de la membrane et traversant cette dernière.

Elle possède un large domaine extracellulaire de 665 aa, un domaine transmembranaire de 20 aa et un domaine intracellulaire de 47 aa, et compte 5 sites de N-glycosylation , sur les aa Asp en position 94, 115,191, 345 et 627 .

Dans la membrane, la molécule Kell est associée à la protéine Kx par un pont disulfure entre la Cys72 de Kell et la Cys347 de Kx.

La diversité antigénique de la protéine K est secondaire à des modifications d'acides aminés entraînant dans certains cas une modification de sites de glycosylation. [2]

Les antigènes antithétiques K (KEL1) et k (KEL2) ne diffèrent que par la substitution d'un seul aa, une thréonine par une méthionine en position 193. Compte tenu de la disparition d'un site de glycosylation (Asn-Arg-Thr193 présent pour k), l'antigène K possède un motif N-glycosylé de moins que l'antigène k.

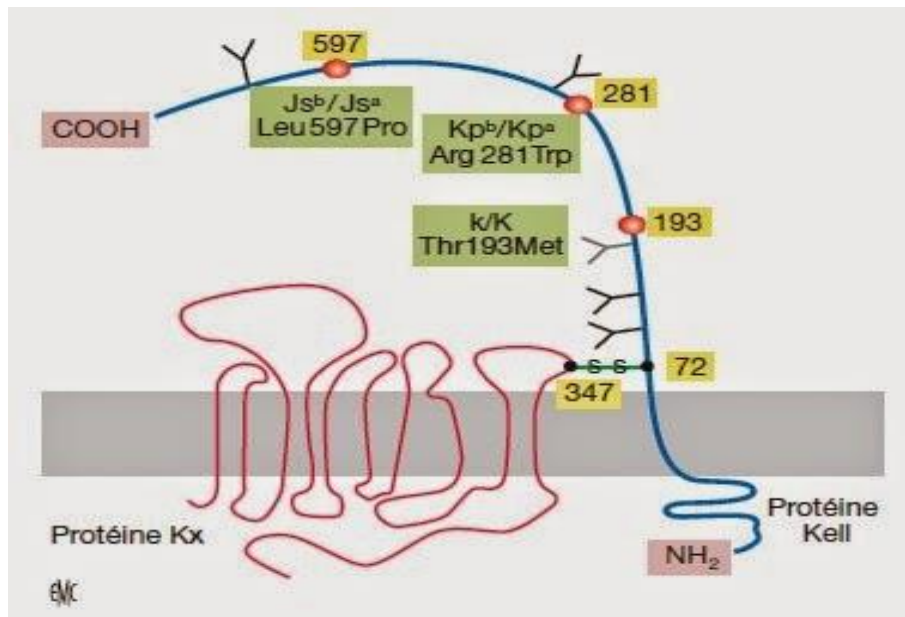


Figure 24: Glycoprotéines Kell et Kx. [24]

Tableau 12: Position des acides aminés critiques des antigènes principaux du système Kell. [2]

Antigène	acide aminé
Kell(KEL1) - Cellano(KEL2)	Thr193Met
Kp ^b (KEL4) - Kp ^a (KEL3)	Arg281Trp
Kp ^b (KEL4) - Kp ^c (KEL21)	Arg281Gln
Côté (KEL11) - Wk ^a (KEL17)	Val302Ala
Js ^a (KEL6) - Js ^b (KEL7)	Pro597Leu

4-2-FONCTIONS DU SYSTEME KELL ET DU SYSTEME KX :

La glycoprotéine Kell appartient à la famille des endopeptidases zinc-dépendantes. Cette molécule possède une activité enzymatique de conversion, Par clivage d'un précurseur inactif (big-endothéline-3), elle crée l'endothéline-3 actif, qui est un puissant vasoconstricteur

L'antigène Kx est impliqué dans des phénomènes de transport transmembranaire. [2]

5-METHODE D'ETUDE :

5-1-METHODE IMMUNOLOGIQUE :

5--1-A-Recherche des antigènes :

- Réaction d'agglutination :

La technique d'agglutination directe sur plaque utilisée pour la recherche des antigènes K est basée sur le principe de l'agglutination. Les hématies normales pourvues de l'antigène K agglutineront en présence du réactif contenant l'anticorps spécifique (Ac anti K), en revanche les hématies dépourvues de l'antigène n'agglutineront pas.

- Fixation –élution à l'anti K.
- TIA (Test Indirect à l'Antiglobuline).

5-1-B-Recherche des anticorps :

- TCD (Test de Coombs Direct).
- RAI (Recherche des Agglutinines irrégulières).

Autres méthodes :

Méthodes biochimique , Immunoprécipitation, ELp – SDS, Electrofocalisation.

Méthode génétique : par biologie moléculaires.

6-IMPLICATIONS DU SYSTEME KELL :

6-1-EN TRANSFUSION SANGUINE :

Les antigènes du système Kell sont très immunogènes et l'anti-K est un anticorps courant qui peut être responsable de réactions transfusionnelles sévères. Ceci justifie de respecter aussi souvent que possible le phénotype K en particulier chez les femmes avant la ménopause et chez les sujets polytransfusés.

Cependant, compte tenu de la fréquence élevée de donneurs de sang de phénotype K-, il n'est pas difficile d'obtenir du sang compatible pour les sujets présentant un anticorps anti-K. Les anticorps anti-k (KEL2) sont très rare, ils sont cependant aussi dangereux que les anti-K et peuvent conduire à des situations d'impasse transfusionnelle, la fréquence des donneurs compatibles étant très faible.

6-2-DANS LA MHFNN :

En cas de MHFNN liée à des anticorps du système Kell, l'anémie foetale semble liée plus à une inhibition de l'érythropoïèse qu'à une destruction immunitaire périphérique des hématies de l'enfant. Cet aspect est lié au fait que la glycoprotéine Kell apparaît sur les progéniteurs érythroïdes à un stade précoce. Les anti-K facilitent probablement la phagocytose des hématies sensibilisées dans le foie foetal avant qu'ils ne synthétisent l'hémoglobine. Enfin, ces anticorps ont été aussi impliqués dans l'inhibition de la myélopoïèse et de la thrombopoïèse pouvant aboutir à des thrombopénies foetales. [24]



Partie II :

Etude pratique

I- L'ETUDE :

Il s'agit d'une étude épidémiologique descriptive rétrospective, effectuée au centre de transfusion sanguine du CHU FRANTZ FANON de Blida (CTS Blida) portant sur des donneurs de sang qui ont été prélevés durant la période du 01 janvier 2016 au 30 mars 2017, chez qui on a déterminé la prévalence phénotypique et génotypique des groupes sanguins ABO, RH et Kell en collectant les données archivées.

L'objectif de notre travail est de présenter de nouvelles statistiques de prévalence phénotypiques et génotypiques des systèmes ABO, Rhésus et Kell chez les donneurs du CTS de Blida et d'évaluer les variations de ces fréquences.

II- MATERIELS ET METHODES :

1-ECHANTILLONS BIOLOGIQUES :

Les prélèvements sont effectués au niveau du Centre de Transfusion Sanguine (CTS) par des infirmiers et un personnel qualifié.

Ils sont réalisés par phlébotomie correcte de la veine du pli du coude dans un tube EDTA et /ou un tube citraté .

Tube EDTA : tube à bouchon violet contenant l'anticoagulant Ethylène Diamine Tétracétate, puissant chélateur, il capte les ions Ca^{2+} qui sont un facteur important de la coagulation. Il existe sous deux formes K_2EDTA ou K_3EDTA .

Tube citraté : tube à bouchon bleu contenant l'anticoagulant citrate trisodique dihydrate qui existe sous deux concentrations : 0,109M (3,2%) et 0,129 M (3,8%). Il exerce son activité anticoagulante en formant un complexe ionisé avec le calcium.



Les échantillons sont testés le même jour du prélèvement ou conservés à +4°C et traités dans les 24 à 48 heures afin d'avoir un résultat de phénotypage fiable.

2-METHODOLOGIE :

2-1-- METHODES IMMUNO-HEMATOLOGIQUES :

Les techniques utilisées sont basées sur 2 principes différents : le **test d'agglutination directe** et le **test indirect à l'anti-globuline**.

2-1-A-Groupage sanguin ABO :

La détermination des groupes ABO est basée sur la technique d'agglutination directe. Elle repose sur l'évaluation de l'intensité et de la cinétique de l'agglutination entre les antigènes des globules rouges et les anticorps spécifiques de ces antigènes.

La réalisation du groupage sanguin selon l'arrêté ministériel du 26 Avril 2002 relatif aux bonnes pratiques de groupage, repose sur deux épreuves complémentaires :

-Une épreuve globulaire de Beth vincent : qui consiste à rechercher les Ag-A (ABO1) et B (ABO2) avec les réactifs monoclonaux suivant : Anti-A (Anti-ABO1), Anti-B (Anti-ABO2) et anti AB (Anti-ABO3).

-Une épreuve sérique de Simonin : qui consiste à rechercher les Ac anti-A et anti-B avec les hématies test A1 et B. Au moins une de ces deux hématies doit être de phénotype RH(-).

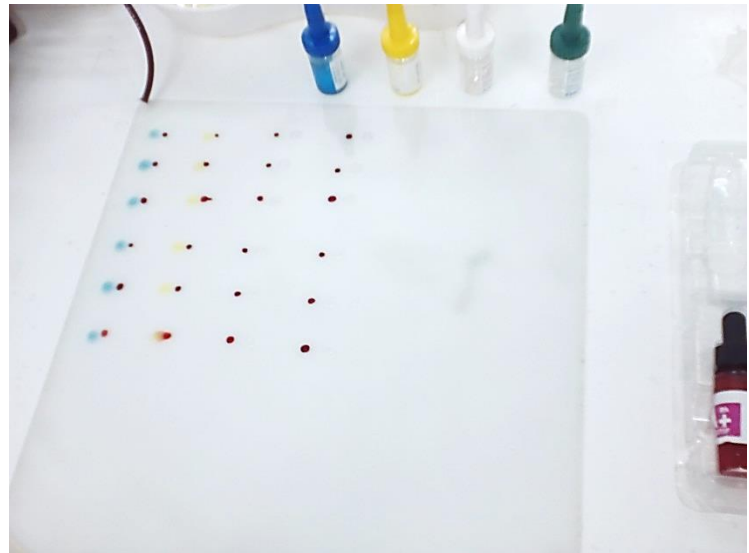
Ces deux épreuves sont validées par des témoins :

- Témoin allo qui garantit l'épreuve sérique
- Témoin AB qui garantit l'épreuve globulaire (abandonné car on utilise que des sérums tests contenant des anticorps monoclonaux spécifiques)
- témoin auto pour vérifier l'absence d'auto-anticorps

Le groupage ABO obéit à la règle 3X2 qui repose sur deux réalisations exécutées par deux techniciens différents avec deux lots de réactifs différents. La saisie manuelle des résultats doit aussi passer par une double saisie effectuée par deux personnes différentes.

Au niveau du CTS de Blida, le premier technicien utilise la méthode sur plaque d'opaline et le deuxième la méthode sur microplaque.

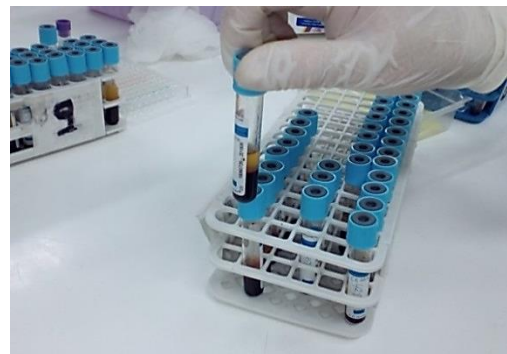
Un 3^{ème} groupage sanguin est effectué sur les poches du sang avant l'enregistrement, en réalisant juste l'épreuve globulaire afin de voir la concordance entre les résultats obtenus à partir des tubes échantillons et des poches de sang.



Matériels et réactifs :

1-Sang à tester :

Sérum + culot globulaire séparés par centrifugation ou sédimentation.



2- Réactifs :

✓ *Sérums tests :*

Antisérums préparés commercialement conservés entre 2 et 8°C et contenant un agent bactériostatique. Ces sérums sont soit des anticorps d'origine humaine soit des anticorps monoclonaux murins. Pour faciliter leur identification, le réactif anti A contient un colorant Bleu, le réactif anti B un colorant jaune. Deux lots de réactifs sont nécessaires et un 3ème est souhaitable en cas de résultats discordants.



Ces antisérums ne doivent pas être utilisés si l'on observe une turbidité indiquant une contamination ou bien si la date de péremption a été dépassée

Les 3 types d'anti-serum utilisés dans le groupage ABO sont :

- Sérum-test Anti-A agglutinant (IgM monoclonal murin).
- Sérum-test Anti-B agglutinant (IgM monoclonal murin).
- Sérum-test Anti-AB agglutinant (IgM monoclonal murin).

✓ **Hématies-tests** (hématies étalons lavées et prêtes à l'emploi) :

- Hématies test A (préparées à partir du sang de sujet de groupe A).
- Hématies test B (préparées à partir du sang de sujet de groupe B).
- Hématies test O (hématies du panel).

Ce sont des hématies humaines préparées à partir d'un sang prélevé sur anticoagulant. Elles sont lavées 3 fois en eau physiologique puis remises en suspension dans une solution conservatrice (isoton) avec une dilution de 5 %. [20]

- Ces hématies doivent être bien homogénéisées avant utilisation en inversant la bouteille à plusieurs reprises. Deux lots d'hématies comportant chacun 2 échantillons correspondant au groupe A et B sont nécessaires et un 3ème est souhaitable en cas de résultats discordants
- Une Hématie-test O est nécessaire pour la recherche de l'anticorps anti H et des allo-anticorps actifs à 22°C (anti M, N, P1, Lea, Leb)



3- Matériels :

- Echantillons de sang à tester, prélevés sur anticoagulant.
- Plaque d'opaline en verre ou en plastique dur blanc.
- Micro plaques en polystyrène de 96 cupules, en forme U (12 x 8).
- Tubes de 5 ml et portoirs.
- Pipettes automatiques réglables :
 - Micro pipette de 5 à 100 µl.
 - Micro pipette de 1000 µl.
- Solution saline isotonique (avec 0,85 à 0,9 % de chlorure de sodium).
- Centrifugeuse de paillasse avec nacelles pour tube et pour micro plaque.
- Alcool
- Agitateur en verre (ou tube à hémolyse)
- Agitateur pour micro plaque (vortex)

Mode opératoire :

1)- Technique sur plaque d'opaline :

1 volume=1 goutte=50µl

- Centrifuger l'échantillon à tester de manière à séparer les hématies du plasma.
- Préparer en tube, une suspension d'hématies 5 à 10% en solution saline à 0,9%.
- Bien nettoyer la plaque à l'alcool.

Épreuve globulaire de Beth Vincent :

- Déposer une goutte de chaque sérum tests anti-A, anti-B, anti-A+ anti-B.
- Déposer à côté de chaque une de ces gouttes, une goutte de la suspension du culot globulaire à tester.

Épreuve de Simonin : sérique ou plasmatique :

- Déposer une goutte de chaque suspension d'hématies test.
- Déposer une goutte du sérum à tester.

Épreuve complémentaire : à effectuer si le test révèle une discordance entre les deux épreuves liée aux sous-groupes de A (A₁ et A₂).

- Déposer une goutte des sérums tests anti-A1 et anti-H (ou anti-A1 uniquement si l'anti-H est utilisé systématiquement)
- Déposer une goutte de la suspension du culot globulaire à tester.

Témoins :

→**Témoin « auto »** = une goutte de sérum à tester et une goutte de la suspension des GR à tester.

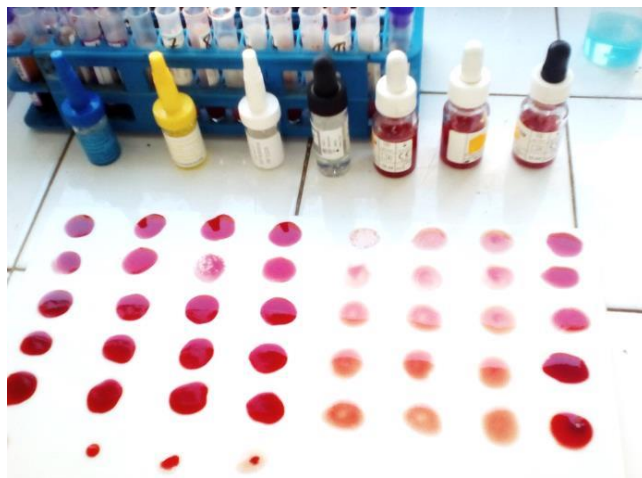
→**Témoin « allo »** = une goutte de sérum à tester et une goutte de GR test (O).

A l'aide d'un fond du tube ou un agitateur en verre, mélanger soigneusement hématies et plasmas en un disque de 3 cm de diamètre environ, en essuyant le tube entre chaque mélange avec du coton ou de la gaze.

Animer la plaque d'un mouvement de va et vient afin de faciliter l'agglutination. Laisser reposer 30 secondes. Lire en imprimant un mouvement de « roulis » à la plaque et compléter par une seconde lecture au bout de 3 minutes.

Lecture :

La présence d'agglutination nette sur fond blanc indique une réaction positive. L'absence d'agglutination indique une réaction négative



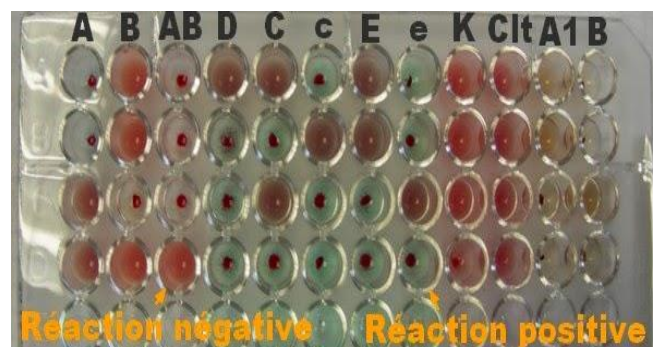
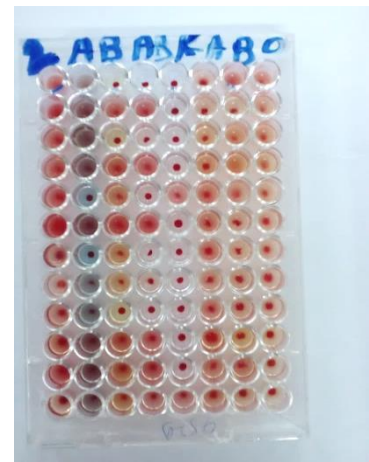
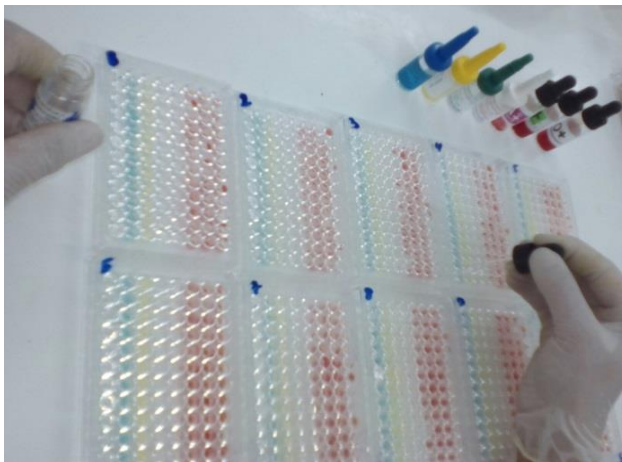
2)-Technique sur microplaque :

- Effectuer une dilution du culot globulaire de 2 à 5 % avec de l'eau physiologique.
- Mélanger un volume de suspension globulaire et un volume de sérum test pour l'épreuve globulaire. [20]
- Pour l'épreuve sérique un volume d'hématies test pour un volume du sérum à grouper.
- déposer une goutte de sérum à tester et une goutte de la suspension globulaire à tester pour le témoin auto.
- déposer une goutte de sérum à tester et une goutte de GR test (O) pour le témoin allo.
- Agiter les plaques à l'aide d'un agitateur électrique (mouvements circulaires)
- Faire une centrifugation : 3000 tours pendant une minute.
- La lecture se fait après agitation.

Lecture :

La réaction est positive en présence d'agglutination visualisée par des agglutinats qui ne se dissolvent pas après agitation manuelle.

La réaction négative se traduit par des hématies qui sédimentent au fond du puit de la microplaque et qui redeviennent en suspension après agitation manuelle.



Interprétation du groupage sanguin :

Les résultats des 2 épreuves globulaire et plasmatique doivent être concordants pour les 2 techniciens:

- Lorsque les antigènes du système ABO sont présents sur les hématies à tester, les anticorps correspondants sont absents du plasma à tester.
- Lorsque les antigènes du système ABO sont absents des hématies à tester les anticorps correspondants sont présents dans le plasma à tester.
- Si les résultats sont discordants, il faut refaire le groupage avec un 3^{ème} lot de réactif
- Le groupage sanguin est validé si les témoins sont négatifs

Tableau 13 : Résultats des épreuves sérique et globulaire dans le système ABO.

Sang du patient (globules)	Beth-Vincent (groupage globulaire)			Simonin (groupage sérique)		
	Anti-A	Anti-B	Anti- AB	A	B	O
A (AgA)	+	-	+	-	+	-
B (Ag B)	-	+	+	+	-	-
AB	+	+	+	-	-	-
O	-	-	-	+	+	-

+ : présence d'agglutination

- : absence d'agglutination

2-1-B-Groupage Rhésus standard (Antigène D) :

Matériels et méthodes :

Matériels :

- Echantillons à tester prélevé sur anticoagulants.
- Plaque d'opaline en verre ou en plastique dur blanc.
- Micro plaques en polystyrène de 96 cupules, en forme U (12 x 8).
- Tubes de 5 ml et portoirs.
- Pipettes automatiques réglables :
 - Micro pipette de 5 à 100 µl.
 - Micro pipette de 1000 µl.
- Solution saline isotonique (avec 0,85 à 0,9 % de chlorure de sodium).
- Centrifugeuse de paillasse avec nacelles pour tube et pour micro plaque.
- Alcool

- Agitateur en verre (ou tube à hémolyse)
- Agitateur pour micro plaque (vortex)

Réactifs :

- Anti RH1 de type IgM + IgG (d'origine humaine « Blend »)
- Témoin Rh négatif.
- Témoin Rh positif.



Technique :

Elle consiste à rechercher l'Ag D (RH1) 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 (ABO1), B (ABO2) et des Ac anti-A (anti-ABO1) et anti-B (anti-ABO2) lors du groupage ABO-RH1 (sur plaque d'opaline et micro plaque) et se fait selon le même protocole :

On dépose :

* sur plaque d'opaline : une goutte de sérum test anti-D avec une goutte de la suspension du culot globulaire du donneur.

* sur microplaque : une goutte de sérum test anti-D avec une goutte de la suspension globulaire du donneur.

Un témoin positif hématies RH1 et un témoin négatif hématies RH-1 sont effectués en parallèle pour valider les deux techniques.(indisponible au niveau du CTS).

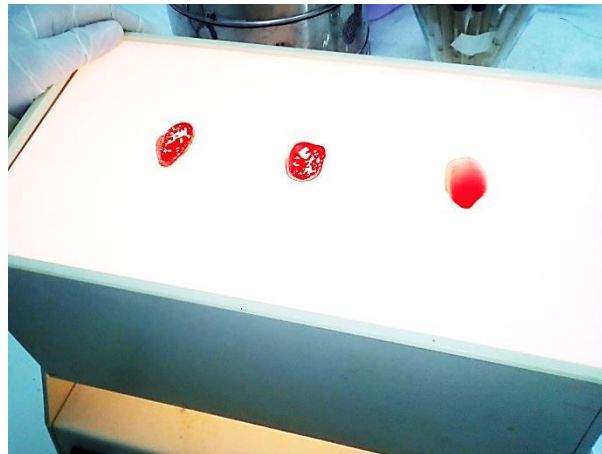
Interprétation :

- Le témoin négatif doit être négatif.
- Résultats des deux techniques concordants = Groupage RH correct.
- La présence d'agglutinat indique une réaction positive et signifie que le sujet est porteur de l'antigène D, il est dit sujet RH1 positif. En revanche leur absence traduit une réaction négative qui doit être complétée obligatoirement par la recherche de l'antigène D faible chez les donneurs de sang, les femmes enceintes et les nouveau-né de mère RH1 négatif. Seule l'absence du D faible, permet d'étiqueter ces catégories de RH1 négatif.

Remarque :

La présence d'une agglutination douteuse avec l'anti-D, doit être confirmée par la technique sur plaque chauffante (40°C) : (Rhésuscope)

- Sur une plaque chauffante à 40°C, on dépose une goutte de réactif anti-D avec une goutte d'hématie à tester.
- On mélange à l'aide d'une baguette de verre rodé de manière à obtenir un cercle de 2 cm de diamètre.
- On agite doucement la plaque par des mouvements d'oscillations et on lit l'agglutination ou l'absence d'agglutination à 3 minutes.



Interprétation :

La présence d'agglutination indique que l'échantillon testé possède l'antigène D. L'absence d'agglutination avec le réactif constitue un résultat négatif et indique que l'échantillon testé est dépourvu de l'antigène D. La recherche du D^u s'impose.

2-1-B-1-Recherche de l'Ag D faible : D^u

Au niveau du CTS, la recherche de l'Ag D faible se fait systématiquement chez les donneurs ayant un phénotype Rh1 négatif, par une technique sensible : Le test du Coombs indirect ou test indirect à l'antiglobuline (TIA).

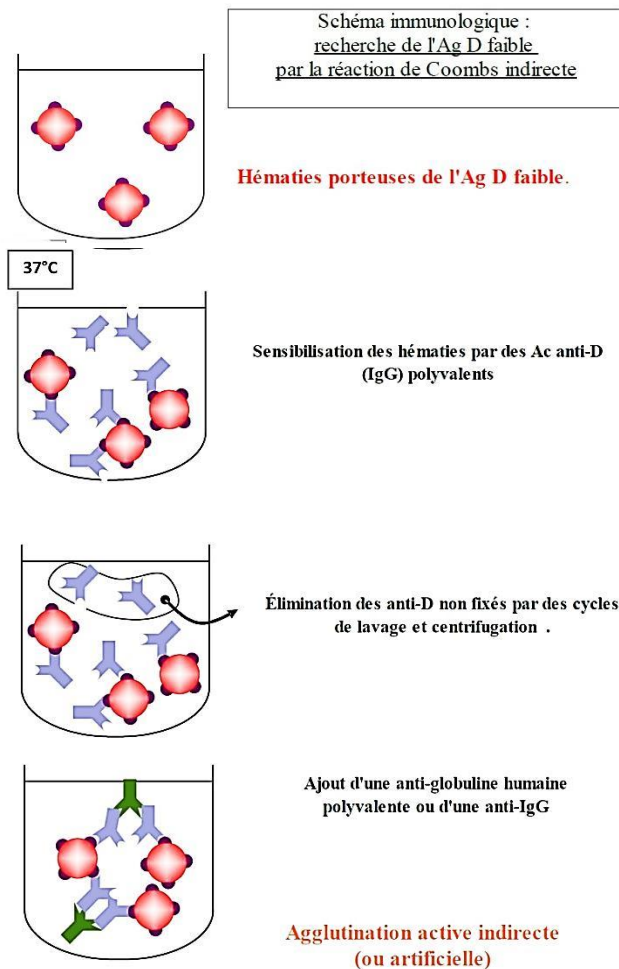
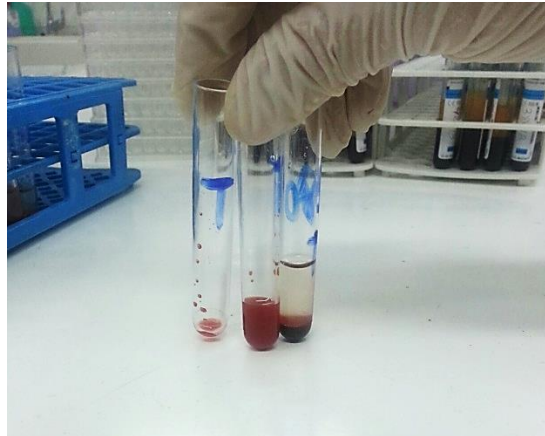


Figure 25 : Schéma illustrant le test du Coombs indirect à la recherche de l'Ag D faible.

Mode opératoire : recherche du D^u sur tube

- Faire 3 lavages du culot globulaire avec de l'eau physiologique (centrifugation : 3000 tours pendant 1 min).
- Préparer une suspension d'hématies à 5% en eau physiologique.
- Prélever 50µl de la dilution d'hématies, et mélanger avec 50 µl l'anti-D (type IgG).
- procéder de la même manière pour le témoin positif (Rh+).
- Agiter doucement puis incubé à 37°C d'une durée dépendante du réactif.
- Laver les hématies 3 fois en eau physiologique et jeter l'eau du dernier lavage.
- Ajouter au culot d'hématies, 1 ou 2 volumes d'anti-globulines humaines (AgH) polyvalente.
- Homogénéiser puis centrifuger 1 min à 1000 tours/min

Effectuer la lecture en remettant doucement en suspension le culot d'hématies. [20]



Interprétation :

La présence d'agglutination indique la présence de l'AgD faible et le donneur de sang est dit RH1 négatif avec D^u positif. Il est inclus dans les RH1 positifs

L'absence d'agglutination confirme le phénotype RH1 négatif du donneur.

2-1-3-Phénotype RH et Kell:

Il consiste à rechercher par deux personnes différentes, les Ag C, c, E, e, K à la surface des hématies par technique d'agglutination directe entre ces antigènes porté sur les hématies à tester et les sérum test spécifiques.

Matériels et réactifs :

On utilise le même matériel cité auparavant pour faire le phénotype sur plaque d'opaline ou sur microplaque.

Réactifs :

- Sérum-test Anti-C agglutinant (IgM monoclonal).
- Sérum-test Anti-E agglutinant (IgM monoclonal).
- Sérum-test Anti-c agglutinant (IgM monoclonal).
- Sérum-test Anti-e agglutinant (IgM monoclonal).
- Sérum-test Anti-Kell agglutinant (IgM monoclonal).

Mode opératoire :

Technique d'agglutination sur plaque pour la recherche des antigènes (C, E, c, e, K) :

- préparer la suspension du culot globulaire à 5%.
- À l'aide d'une micropipette, disposer une goutte de la suspension érythrocytaire (environ 50 μ l) sur la plaque d'opaline.
- Ajoutez une goutte (environ 50 μ l) du réactif approprié à côté de la goutte du sang sur la plaque d'opaline.
- Mélangez bien les érythrocytes avec le réactif à l'aide d'une baguette de verre rodé et étalez la préparation sur un cercle de 2 à 3 cm de diamètre.
- Agiter doucement la plaque par des mouvements d'oscillations.

Lecture :

En faisant pivoter légèrement la plaque d'opaline, on contrôle l'apparition d'une agglutination dans un délai de 1 minute (la réaction démarre en quelques secondes).

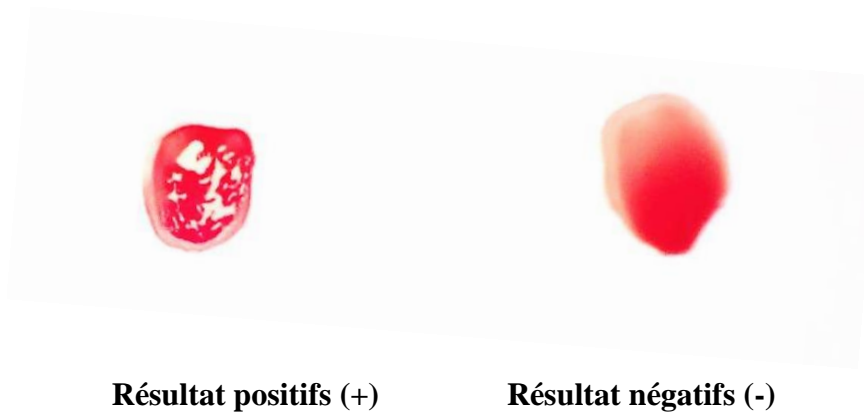


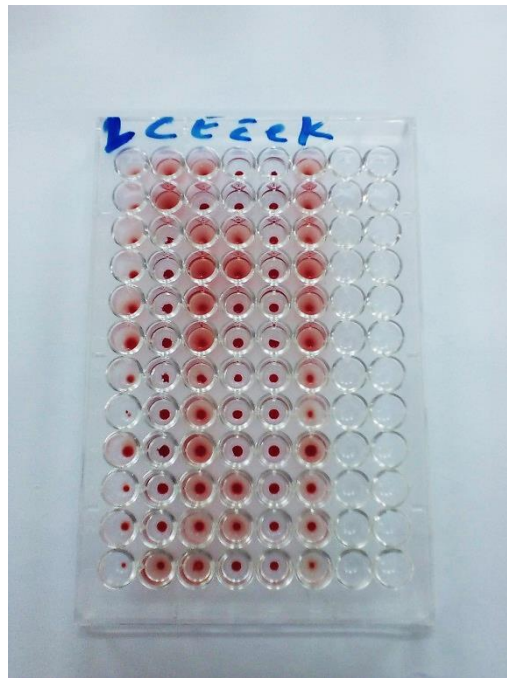
Figure 26 : Interprétation des résultats du test d'agglutination direct sur plaque.

Technique d'agglutination sur microplaques pour la recherche des antigènes (C, E, c, e, K) :

- Le culot globulaire est dilué avec de l'eau physiologique à 2-3 %.
- Mélanger un volume de suspension d'hématies pour un volume de la dilution des réactifs.
- Agiter les microplaques sur agitateur électrique.
- Centrifuger 1min à 3000 tours /min.
- Agiter une seconde fois pour faciliter la lecture.

Lecture :

L'agglutination indique la présence de l'Ag recherché.



Interprétation :

La présence d'agglutination indique que l'échantillon testé possède l'antigène correspondant. L'absence d'agglutination avec le réactif constitue un résultat négatif et indique que l'échantillon testé est dépourvu de l'antigène correspondant.

Le résultat des deux méthodes doit être concordant. [20]

3- FORMULES DE CALCUL DES FREQUENCES GENIQUES ABO, RH ET KELL :

Les fréquences géniques ont été calculées en utilisant deux méthodes statistiques. La formule de [Bernstein](#) pour le système ABO et la méthode de [Landsteiner et Wiener](#) pour les systèmes RH et Kell.

• *La formule de Bernstein*, soit :

p : la fréquence du gène A

$$p = 1 - (O + B)^{1/2}$$

avec :

O : la fréquence du phénotype O

B : la fréquence du phénotype B

q : la fréquence du gène B

$$q = 1 - (O + A)^{1/2}$$

avec :

O : la fréquence du phénotype O

A : la fréquence du phénotype A

r : la fréquence de l'allele O

$$r = (O)^{1/2}$$

avec :

O : la fréquence du phénotype O

• *La méthode de Landsteiner et Wiener :*

d : fréquence de l'allèle correspondant au RH négatif.

D : fréquence de l'allèle correspondant au RH positif.

$$d = (rh)^{1/2}$$

$$D = 1 - (rh)^{1/2}$$

avec :

rh : la fréquence du phénotype RH négatif.

k : la fréquence de l'allèle \hat{k}

K : la fréquence de l'allèle K.

$$k = (\hat{k})^{1/2}$$

$$K = 1 - (\hat{k})^{1/2}$$

avec :

\hat{k} : fréquence du phénotype K négatif .

4-RESULTATS :

1- Echantillonnage :

11929 donneurs de sang âgés de 18 à 62 ans, prélevés au niveau du Centre de Transfusion Sanguine (CTS) du Centre Hospitalo-universitaire de Blida ont constitué l'échantillon sur lequel nous avons effectué cette étude.

A partir des données répertoriées dans les registres du CTS, on a collecté les résultats des examens immuno-hématologiques pratiqués chez les donneurs inclus dans cette étude.

Ces données recueillis, nous ont permis d'organiser ces donneurs en différents groupes.

Afin d'explorer les résultats collectés, on a utilisé :

- Des outils informatiques : Microsoft office Excel et le Microsoft office Word qui facilitent la gestion des données et leur présentation sous forme graphique.
- Des méthodes statistiques épidémiologiques afin de regrouper les données dans un tableau d'effectifs et de pourcentage.

2-RESULTATS ANALYTIQUES:

2-1-REPARTITION DES DONNEURS DE SANG SELON LE SEXE :

Tableau 14 : Répartition des donneurs de sang de notre échantillon selon le sexe.

Sexe	Donneurs	Pourcentage
Homme	11145	93,43%
Femme	784	6,57%
Total	11929	100%

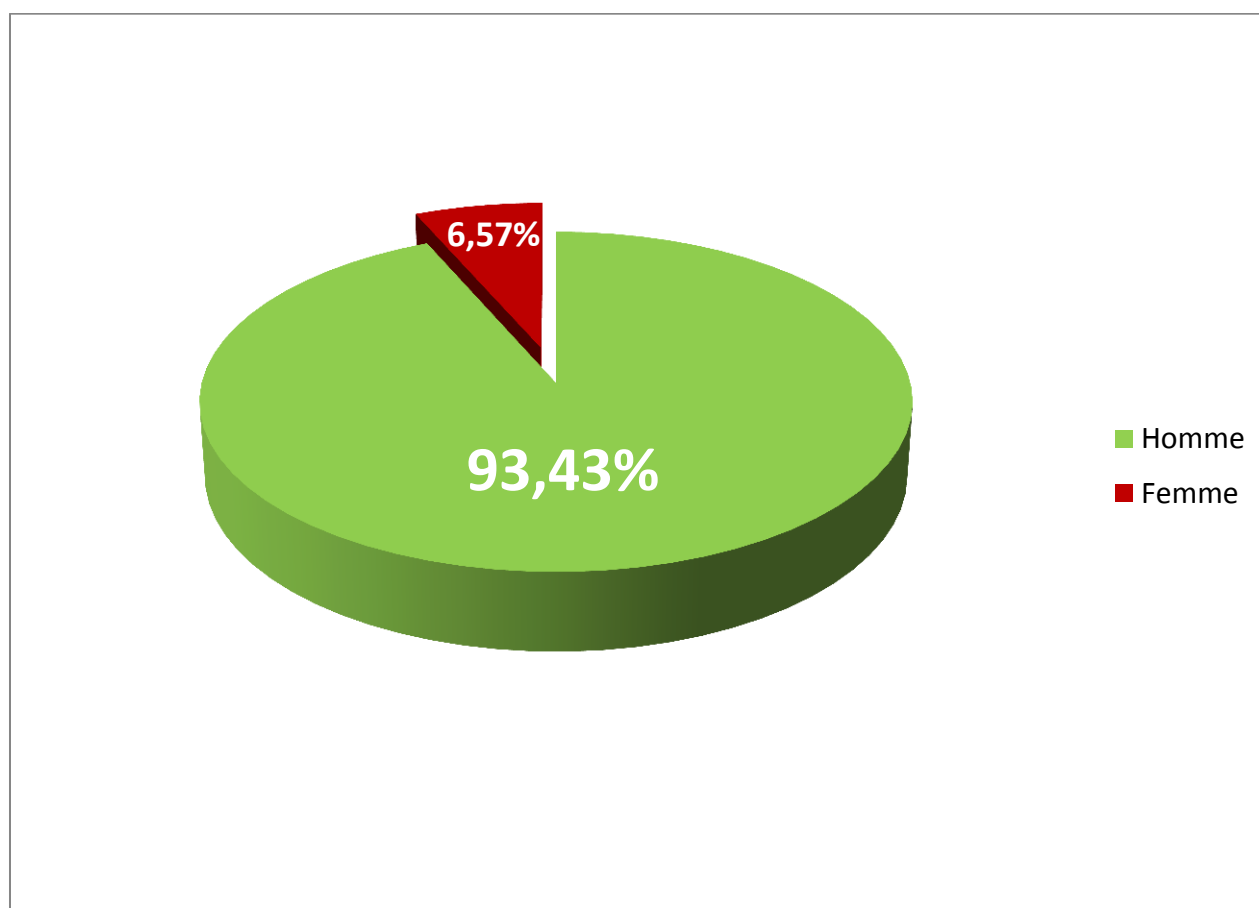


Figure 27 : Répartition des donneurs de sang de notre échantillon selon le sexe.

2-2-FREQUENCES PHENOTYPIQUES :

2-2-A-Système ABO :

Tableau 15 : Répartition des donneurs de sang selon les phénotypes dans le système ABO.

Phénotypes	Donneurs	Pourcentage (%)
A	3967	33,26
B	2161	18,12
AB	874	7,33
O	4927	41,30
Total	11929	100

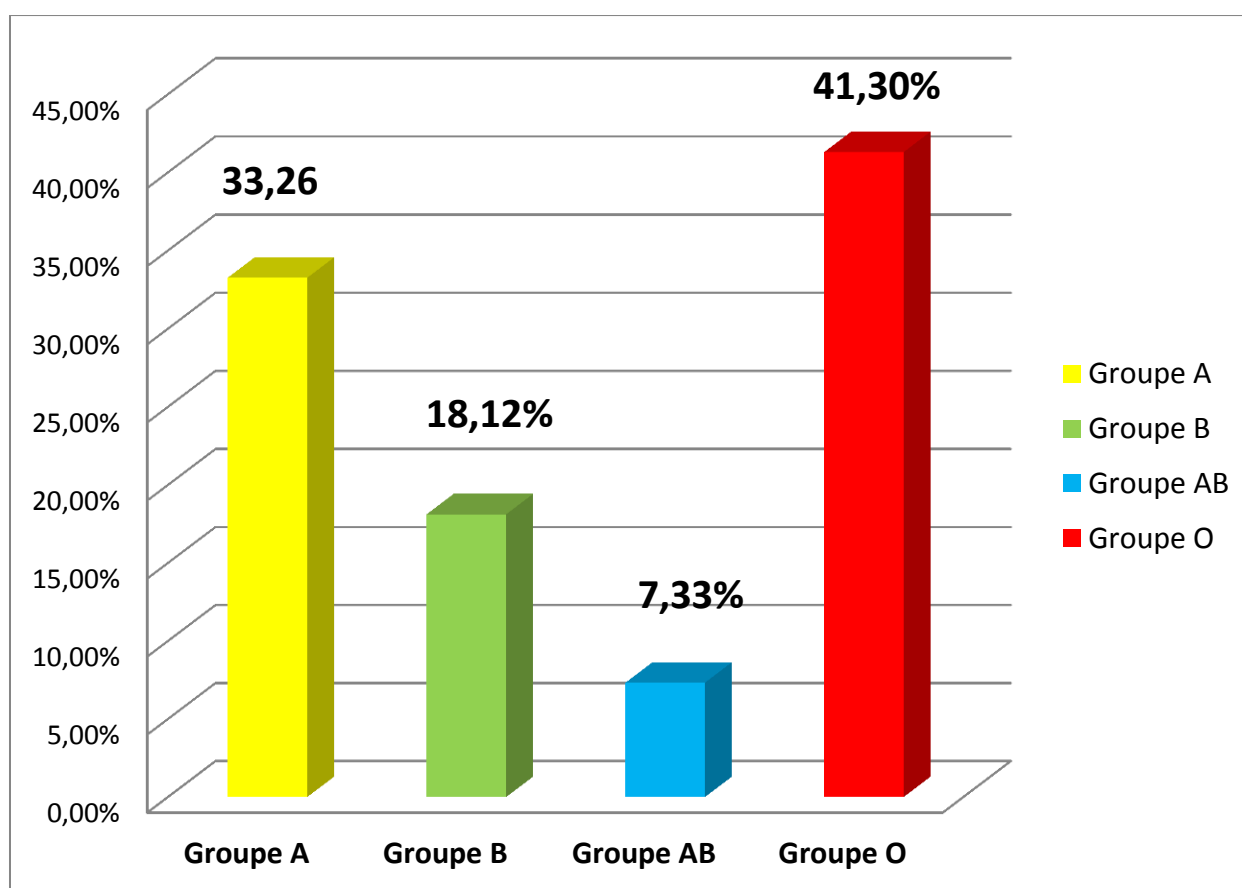


Figure 28: Répartition des donneurs de sang selon les phénotypes dans le système ABO.

2-2-B-L'antigène D :

Tableau 16 : Fréquence de l'antigène D chez la population étudiée.

RH1	Donneurs	Pourcentage
RH1 positif	10333	86,62%
RH1 négatif	1596	13,38%
Total	11929	100%

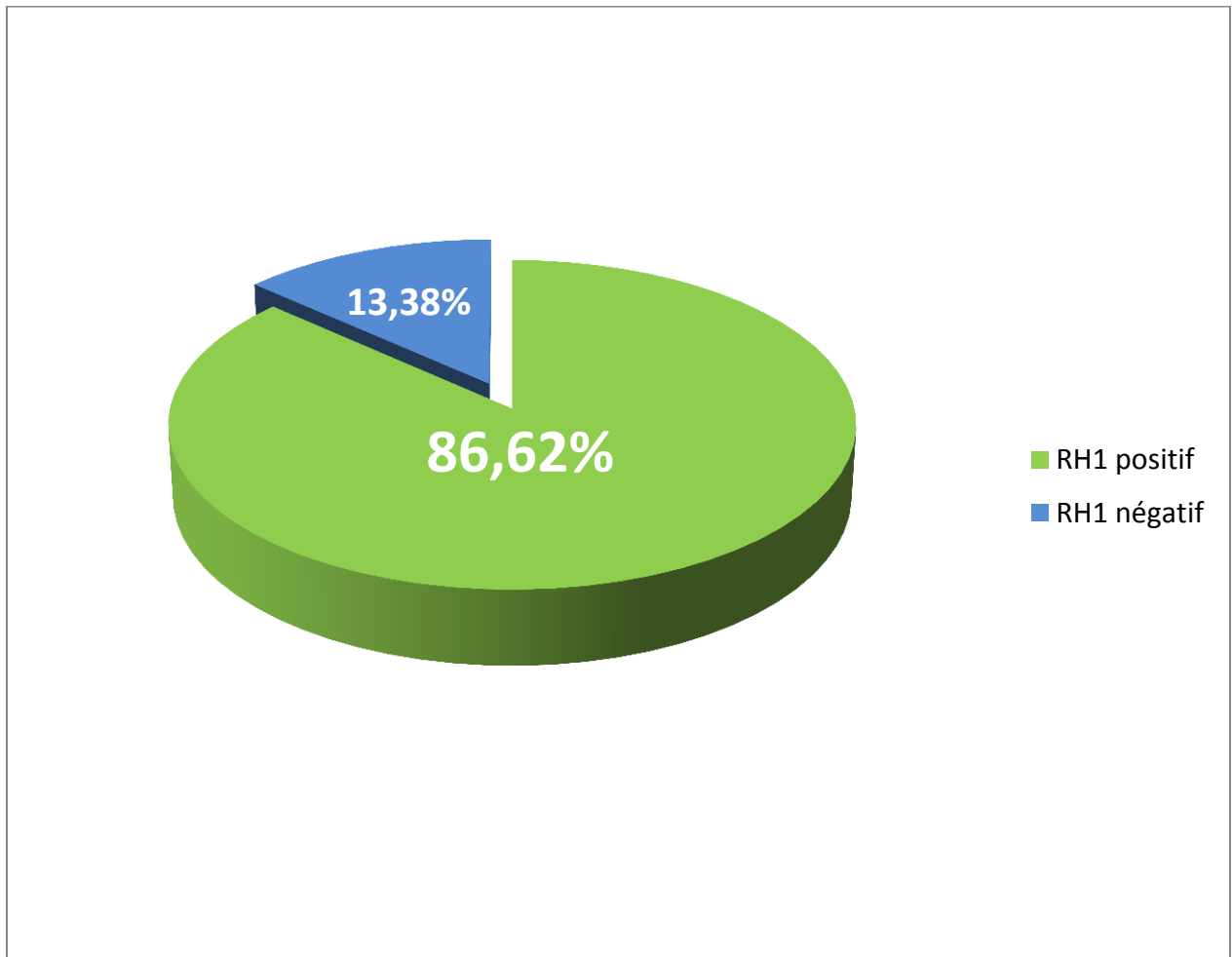


Figure 29 : Fréquence de l'antigène D chez la population étudiée.

2-2-C-Phénotype RH étendu:

Tableau 17 : Répartition des donneurs de sang selon les phénotypes RH étendu.

Phénotype RH étendu	Donneurs	Pourcentage
CcDee	4482	37,57%
CCDee	1937	16,24%
ccDee	1857	15,57%
ccdee	1452	12,17%
ccDEe	979	8,21%
CcDEe	951	7,97%
Ccdee	115	0,96%
ccDEE	113	0,95%
ccdEe	18	0,15%
CCDEe	13	0,11%
CCdee	05	0,041%
CcdEe	04	0,03%
CcDEE	01	0,008%
CcdEE	01	0,008%
ccdEE	01	0,008%
Total	11929	100%

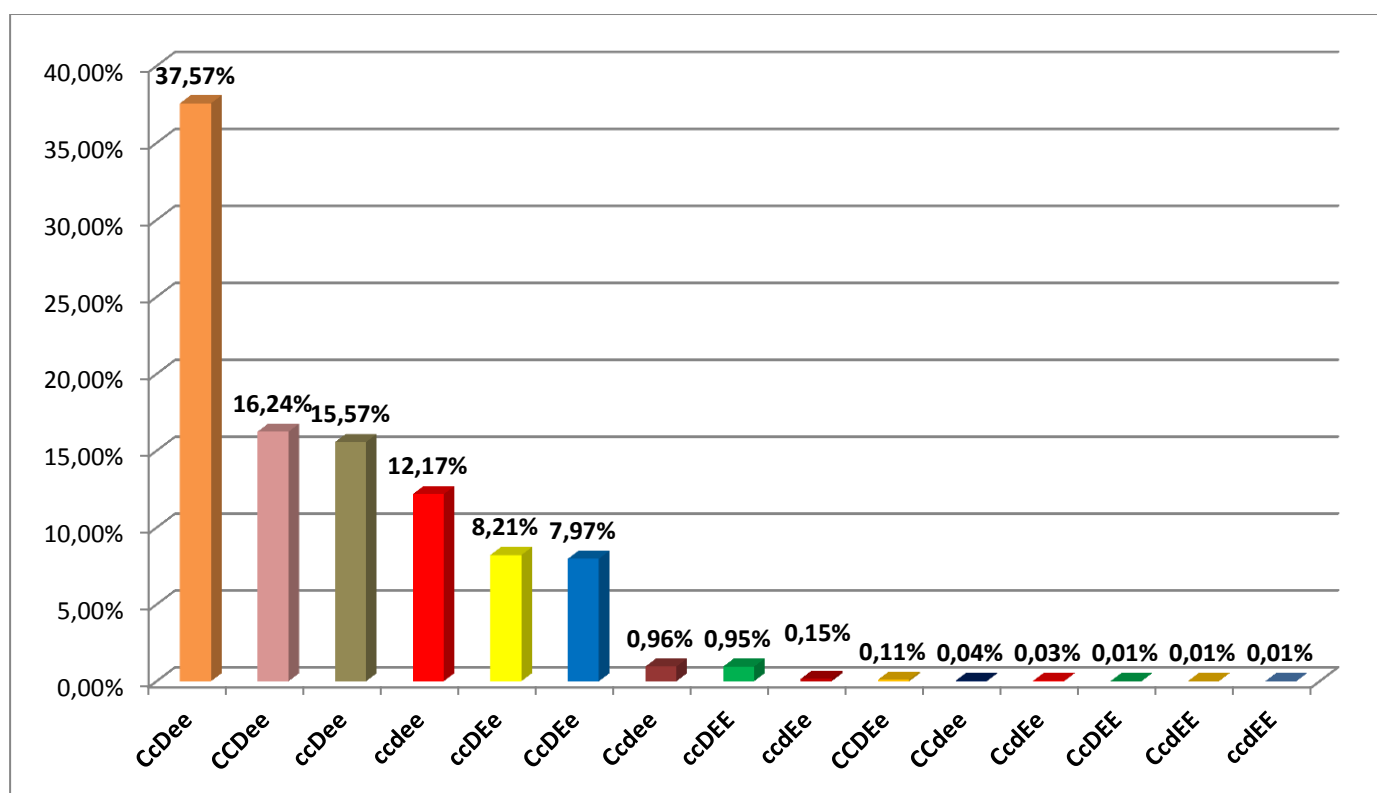


Figure 30 : Répartition des donneurs de sang selon les phénotypes RH étendus.

Tableau 18 : Prévalence des antigènes du système RH chez les donneurs de sang.

	C	c	E	e
Donneurs	7509	9974	2081	11813
Prévalence	62,95%	83,61%	17,44%	99,03%

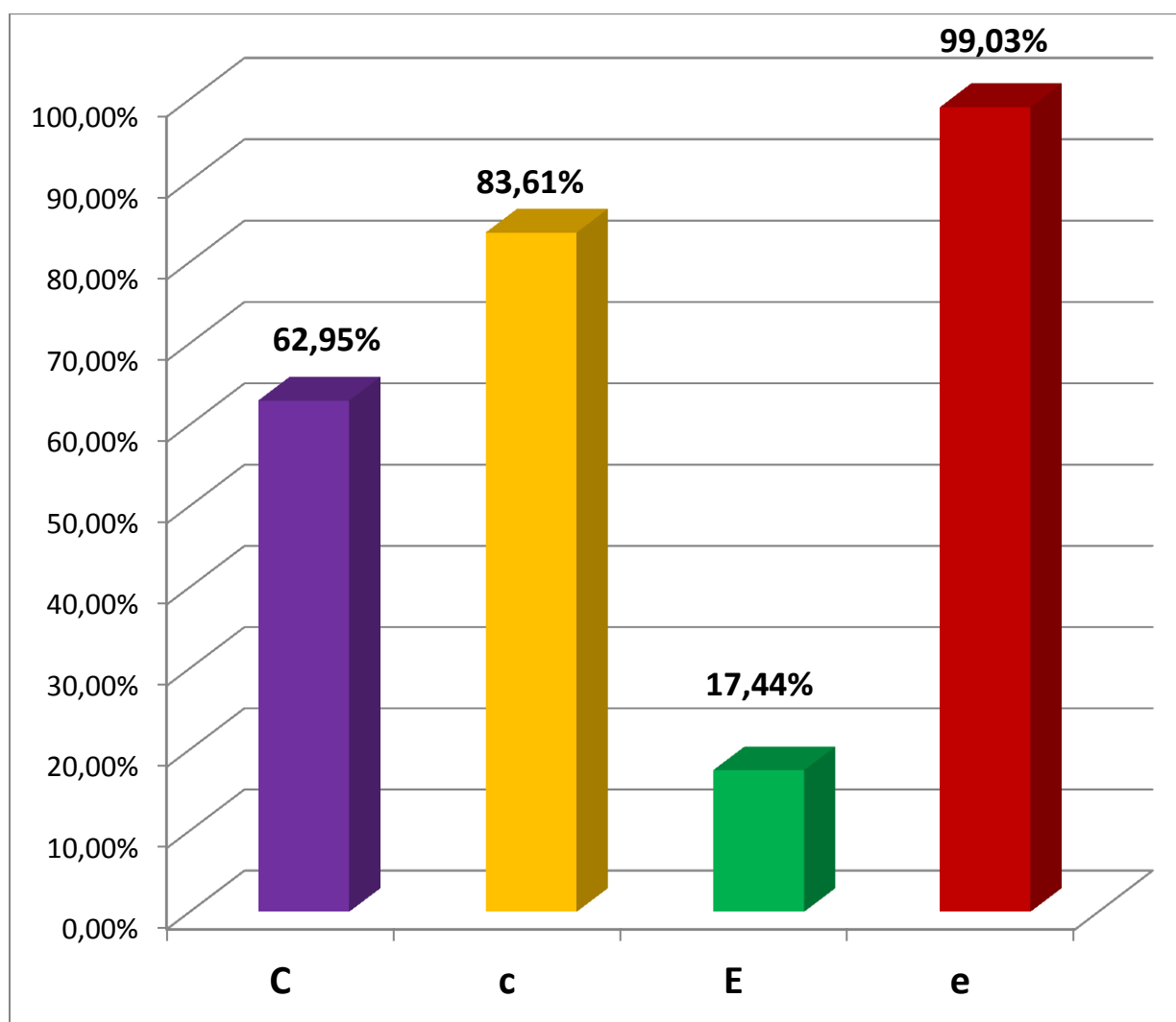


Figure 31 : Prévalence des antigènes du système Rh chez les donneurs de sang.

4- Système Kell :

Tableau 19 : Prévalence de l'antigène K chez les donneurs de sang.

Ag K	Donneurs	Pourcentage
K positif (KK, Kk)	1276	10,70%
K négatif (kk)	10653	89,30%
Total	11929	100%

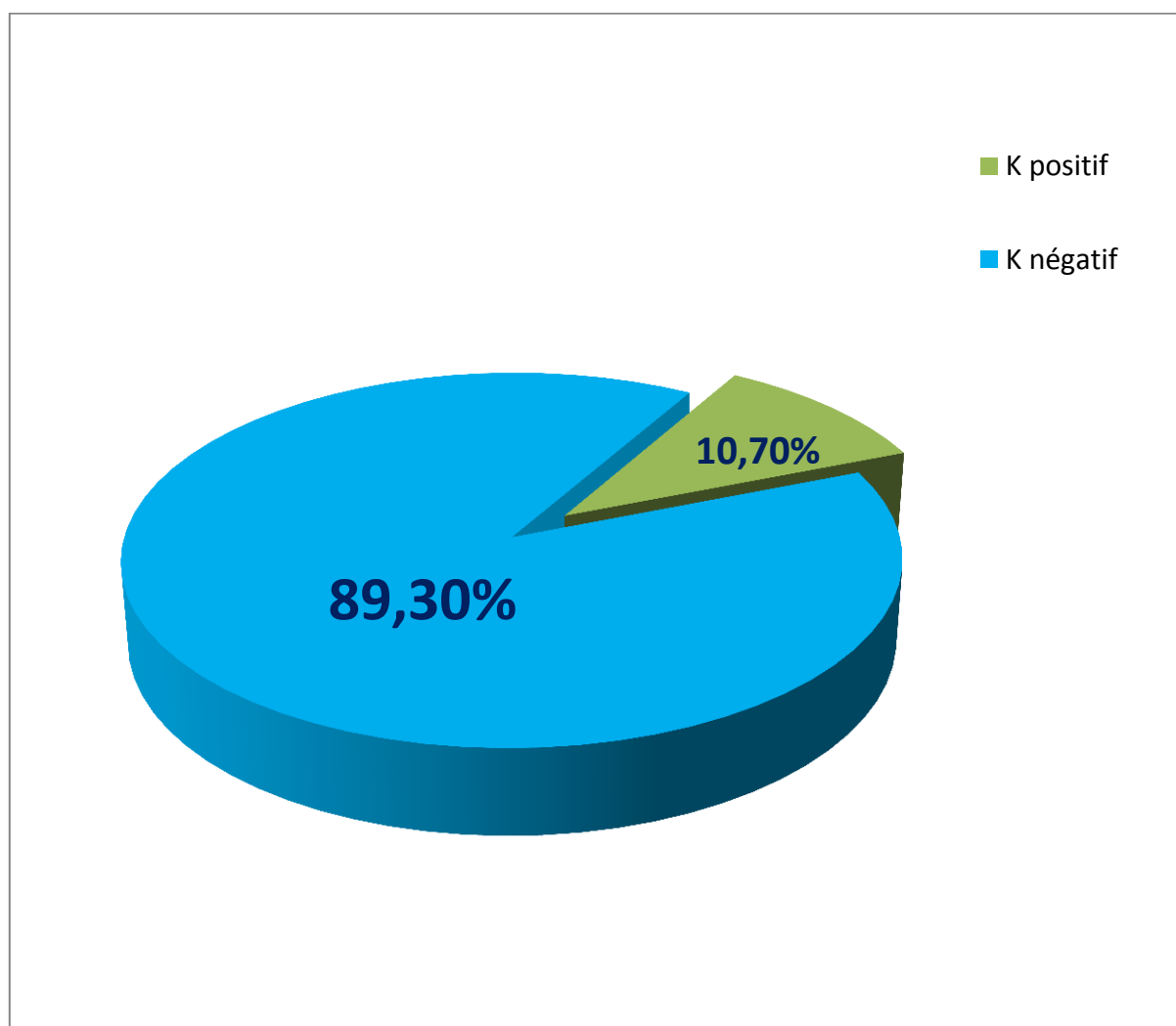


Figure 32 : Prévalence de l'antigène K chez les donneurs de sang.

2-3-FREQUENCES GENOTYPIQUES :

2-3-A-Système ABO :

Tableau 20: Les fréquences des gènes du système ABO dans la population étudiée.

Gène du système ABO	Fréquence génotypique
Allèle A	22,92%
Allèle B	13,65%
Allèle O	64,27%

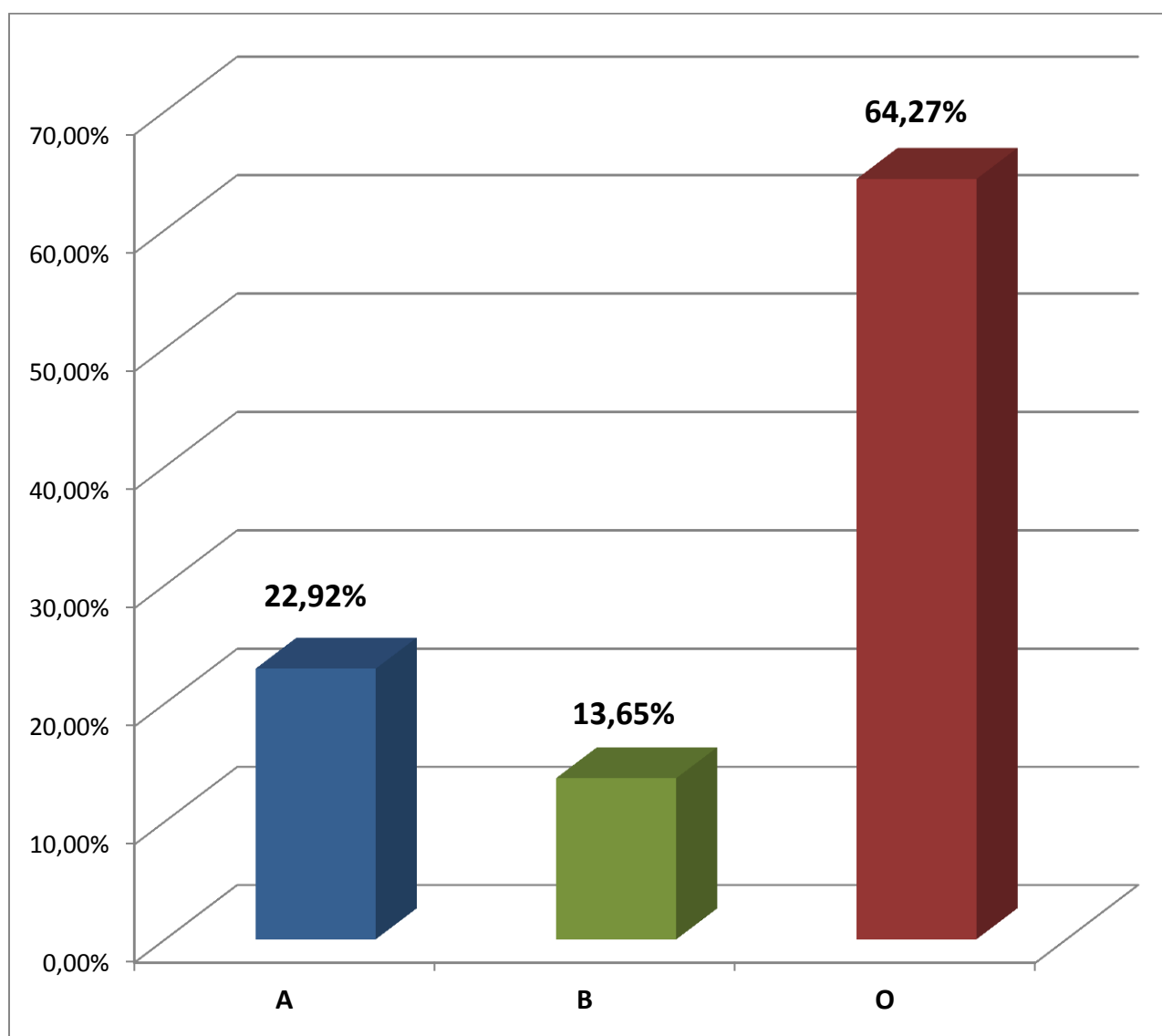


Figure 33 : Les fréquences des gènes du système ABO dans la population étudiée.

2-3-B- Le gène D :

Tableau 21:La fréquence du gène RHD dans la population étudiée.

Gène D	Fréquence génotypique
Allèle D	63,42%
Allèle d	36,57%

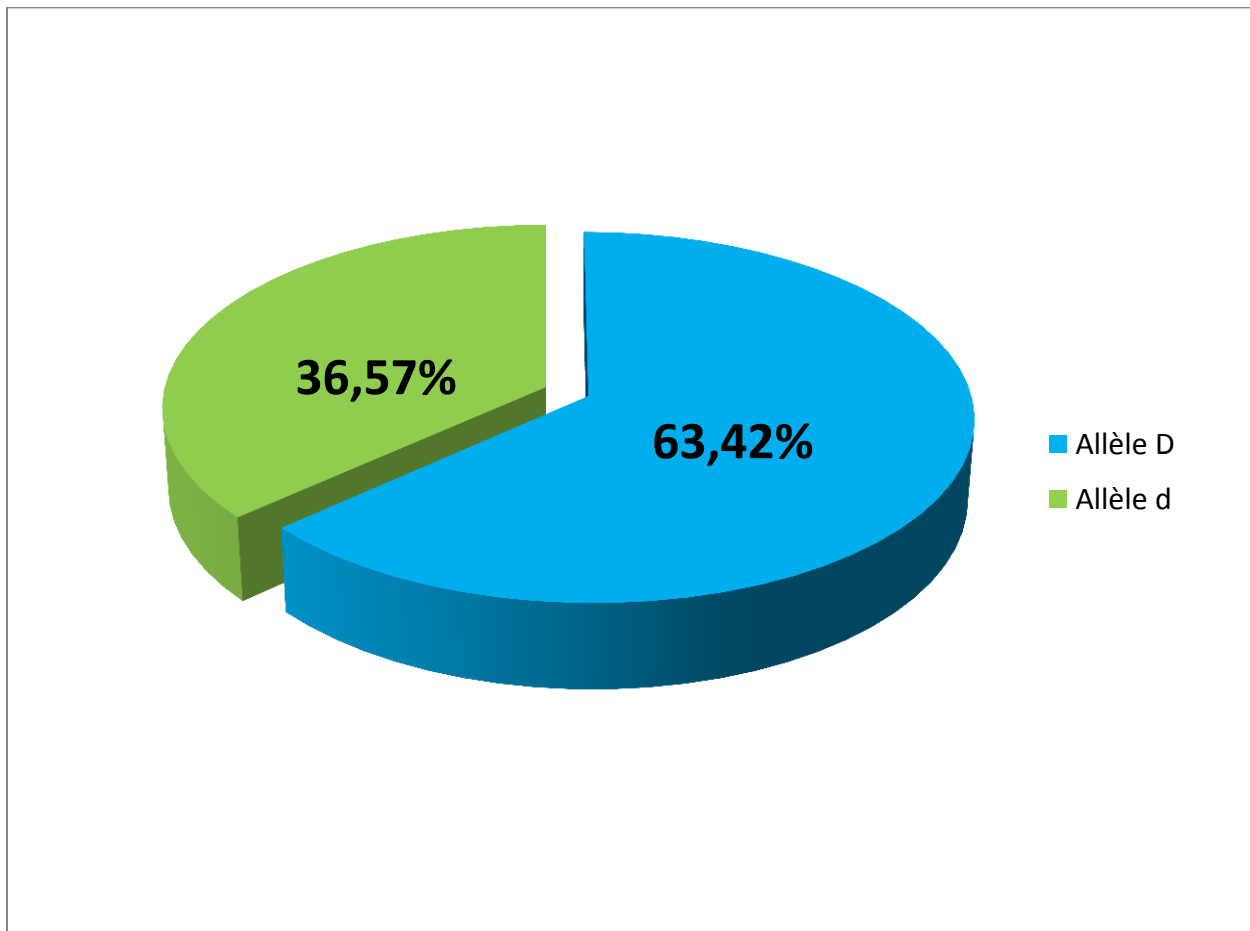


Figure 34 : La fréquence du gène RHD dans la population étudiée.

2-3-C-Le gène K :

Tableau 22 : La fréquence des gènes du système Kell dans la population étudiée.

Gène	Fréquence génotypique
Allèle k	94,5%
Allèle K	05,5%

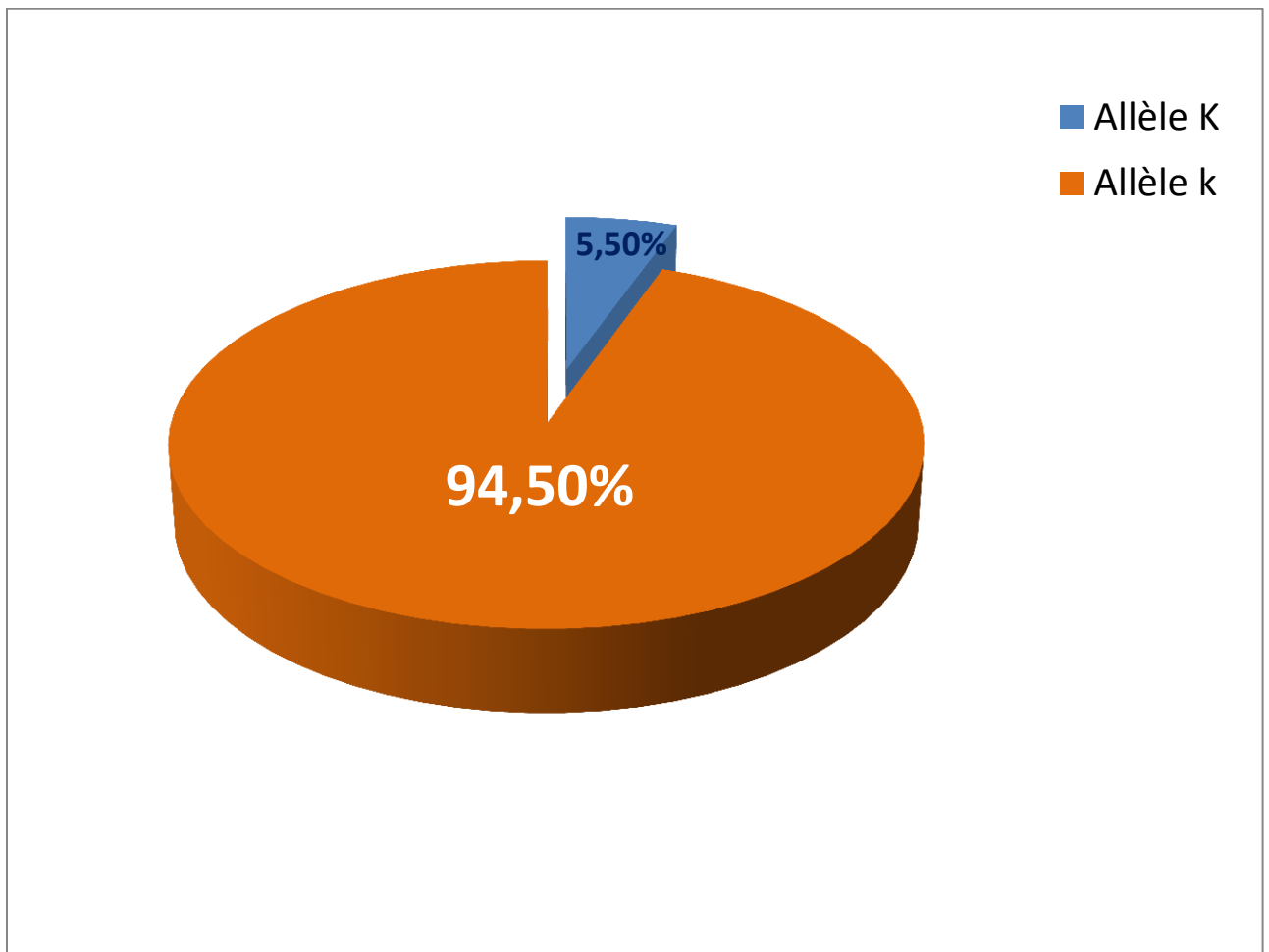


Figure 35 : La fréquence des gènes du système Kell dans la population étudiée.

IV-DISCUSSION :

L'échantillon :

Cette étude a été effectuée au niveau du CTS de Blida sur une population de 11929 donneurs de sang originaire de la wilaya de Blida et de ses environs.

Cet échantillon est constitué de 93,43% d'hommes et de 6,57% de femmes. Cette répartition des donneurs fait apparaître que les hommes donnent plus leur sang que les femmes

Cependant on déplore quelques biais :

-Parmi cette population de donneurs, il pourrait y avoir des donneurs réguliers qui se sont présentés plusieurs fois durant cette période et donc la fréquence de leur groupage a été comptabilisé diverses fois ce qui pourrait donner des résultats erronés. Ce biais pourrait être évité par le recensement des numéros de ces donneurs réguliers et leur comptabilisation une seule fois mais cela nécessite un travail énorme et laborieux.

-Il faut aussi signaler que la majorité des dons de sang actuels sont des contres partis surtout pour les groupes rares et les rhésus négatifs, ce qui entraîne une surestimation des fréquences de ces groupes.

1-FREQUENCES PHENOTYPIQUES :

1-1-GROUPES SANGUINS ABO :

On constate que les groupes du système ABO prédominent dans l'ordre décroissant suivant groupe O, groupe A, groupe B et groupe AB.

Le groupe O se trouve chez environ la moitié des personnes phénotypées (41,3%) ; le groupe A est presque deux fois supérieur (33,26%) au groupe B (18,12%); Le groupe AB a la fréquence la plus faible (7,33%).

Tableau 23 : Comparaison des prévalences des groupes du système ABO de notre étude avec celles des autres Wilayas. [29]

Wilaya	O(%)	A(%)	B(%)	AB(%)
Blida	41,30	33,26	18,12	7,33
Alger	43,52	34,00	19,31	3,17
Tizi ouzo	40,84	36,63	16,42	6,11
Tlemcen	46,5	43	06,5	4
Sétif	44,84	29,50	20,94	4,72
Guelma	49,62	29,17	17,05	4,17

Nos résultats indiquent une fréquence nationale des groupes A, B, AB et O confirmant les fréquences trouvées dans les études antérieures des autres Wilaya à l'exception de la wilaya de Tlemcen où on note une différence concernant le groupe sanguin A et B. ceci peut être en relation avec la taille de l'échantillon de la population de Tlemcen étudiée.

Cependant on a retrouvé la fréquence la plus élevée concernant le groupe sanguin AB, ceci peut être dû aux nombres de donneurs contre partis inclus dans l'échantillon étudiée.

Tableau 24 : Comparaison des prévalences des groupes du système ABO de notre étude avec celles des autres pays. [34] [35]

Pays	O(%)	A(%)	B(%)	AB(%)
Notre étude	41,30	33,26	18,12	7,33
Maroc	47,13	32,20	15,79	4,70
Tunisie	46,18	30,94	17,83	5,00
Sud Italie	49,97	33,65	15,27	4,00
France	43,00	45,00	9,00	3,00
Allemagne	41,21	43,26	10,71	4,82
Canada	46,00	42,00	9,00	3,00
Inde	38,75	18,85	32,69	5,27
Thaïlande	42,60	20,20	30,80	6,40
Népal	32,50	34,00	29,00	4,00
Congo	52,31	23,18	21,05	3,50
Ethiopie	60,00	20,00	15,00	5,00
Ukainiens	34,04	37,70	19,30	8,96

Ces fréquences sont comparables à celle des pays maghrébins avec une prédominance du groupe O suivi par les groupes A, B et AB, contrairement aux pays de l'Europe où le groupe A prédomine. Elles sont aussi semblables à celle des pays du pourtour méditerranéen (Tunisie et sud Italie).

En Asie, l'ordre décroissant des groupes sanguins est le suivant : groupe O, groupe B, groupe A puis le groupe AB avec une nette augmentation de la fréquence du groupe B par rapport au reste du monde.

La prévalence des phénotypes du système ABO (Tableau 18) chez la population de la région de Blida est intermédiaire entre celle de l'Afrique noire et celle de l'Europe.

1-2-L'ANTIGENE D :

Nous constatons une nette prédominance des sujets RH positif (86,62%) par rapport aux sujets RH négatif (13,38%) dans la population étudiée.

Tableau 25 : Comparaison des fréquences de l'antigène D de notre étude avec celles des autres wilayas. [29]

Wilaya	Fréquence RH positif (%)
Blida	86,62
Alger	91,53
Tlemcen	91
Tizi ouzo	69,80
Annaba	89,76

Nos résultats sont superposables aux résultats des autres wilayas d'Algérie ou l'antigène D est prédominant par rapport au phénotype d.

Tableau 26 : Comparaison des fréquences de l'antigène D de notre étude avec celles des autres pays. [34] [35]

Pays	Fréquence RH positif (%)
Notre étude	86,62
Maroc	88,68
Tunisie	90,81
Allemagne	82,71
Canada	85,00
Turquie	89,61
Sud Italie	82,71
Basques	65
Ouganda	> à 80,94
Népal	96,66
Inde	94,53
Bangladesh	97,44

Il apparaît d'après le tableau que cette fréquence est comparable à celle des pays maghrébins (Maroc et Tunisie) proche de celle de l'Afrique noire et nettement augmentée par rapport à celle des pays de l'Europe occidentale (Basques).

Dans les pays de l'Asie, la prévalence de l'antigène D est supérieure par rapport à la Wilaya de Blida.

L'Algérie est plus proche de point de vue antigène D de la race noire que de la race blanche.

1-3-PHENOTYPE RH ETENDU :

Les résultats montrent la prédominance du phénotype CcDee avec plus du tiers (37,57%), vient ensuite CCDee avec une prévalence de (16,24 %), puis vient dans l'ordre décroissant : ccDee, ccdee, ccDEE, CcDEe, les autres phénotypes (Ccdee, ccDEE ,ccdEe, CCDEe, CCdee, CcdEe, CcDEE, CcdEE, ccdEE) sont minoritaires ou très rares.

Tableau 27 : Comparaison des fréquences phénotypiques du système Rh étendu de notre échantillon par rapport aux autres wilayas. [29]

Phénotype	Blida(%)	Alger(%)
CcDee	37,57	41,37
CCDee	16,24	18,93
ccDee	15,57	16,37
ccdee	12,17	8,23
ccDEE	8,21	8,31
CcDEe	7,97	5,91
Ccdee	0,96	0,16
ccDEE	0,95	0,64
ccdEe	0,15	0,08

Les résultats de notre étude se rapprochent des résultats d'Alger où le phénotype CcDee est majoritaire et l'ordre décroissant des fréquences phénotypiques est respecté.

Tableau 28 : Comparaison des fréquences phénotypiques du phénotype RH étendu de notre échantillon par rapport aux autres pays du monde. [34] [35]

Phénotype RH	Notre étude (%)	Maroc(%)	France(%)	Allemagne(%)
CcDee	37,57	37,19	35,00	42,86
CCDee	16,24	12,11	20,00	23,67
ccDee	15,57	24,72	2,00	2,01
ccdee	12,17	9,16	15,00	15,81
ccDEe	8,21	7,62	12,00	13,62
CcDEe	7,97	6,47	13,00	15,17
Ccdee	0,96	1,51	-	0,83
ccDEE	0,95	0,76	0,95	2,45
ccdEe	0,15	0,40	0,42	0,43
CCDEe	0,11	0,06	-	0,18

Le phénotype CcDee représente le phénotype le plus répondeur dans la population étudiée ainsi que chez les marocains et les européens.

Le phénotype ccDee qui est en 3eme position (15,57%) dans la wilaya de Blida ; a une grande fréquence (24,72%) et occupe la 2eme position au Maroc alors qu'il est minoritaire en France et en Allemagne.

L'estimation des prévalences des Phénotypes C, c, E, e dans la population étudiée (Tableau 18), a permis de remarquer que l'antigène c présent à 83,61% est plus fréquent que l'antigène C (62,95%), de même pour l'antigène e présent majoritairement à 99,03% par rapport à l'antigène E (17,44%).

1-4-SYSTEME KELL :

Les résultats indiquent la faible prévalence des sujets Kell positifs (10,3%) et la prédominance des sujets Kell négatifs dans la population étudiée.

Tableau29 : comparaison des fréquences de l'Ag K de notre étude avec celles des autres pays. [34] [35]

Pays	Prévalence (%)
Notre étude	10,3
Maroc	7,10
France	9,00
Comités norvégiens	8,28
Syrie	17,80
Bangladesh	0,80

Comme l'indique le tableau, le résultat de cette étude se rapproche des résultats retrouvés au Maroc et en Europe et il est inférieur à celui de la Syrie. Cependant, on note une très faible fréquence de l'antigène K au Bangladesh.

2-FREQUENCES GENOTYPIQUES :

2-1-SYSTEME ABO :

L'allèle O est le plus fréquent, sa prévalence est de 64,27 %, l'allèle A vient en seconde position avec une fréquence de 22,92%, l'allèle B est le moins fréquent 13,26%

Tableau30 : Tableau comparatif des prévalences des allèles du système ABO dans différentes études algériennes. [29]

Wilaya	O(%)	A(%)	B(%)
Blida	64,27	22,92	13,26
Alger	67,09	20,88	12,03
Tizi ouzo	63,73	24,30	11,97
Tlemcen	73,88	15,94	10,18
Sétif	67,26	18,93	13,81
Guelma	70,41	18,35	11,24

Les résultats de cette étude, sont identiques à ceux retrouvés dans les autres régions d'Algérie.

Tableau31 : Prévalences des allèles A, B et O dans notre échantillon et les autres peuples du monde.
[34] [35]

Pays	O(%)	A(%)	B(%)
Notre étude	64,27	22,92	13,26
Algérie	66,77	20,93	12,30
Maroc	68,65	20,68	10,94
Tunisie	68,6	19,2	12,2
France	66	27	7
Allemagne	64	27,9	8,1
Espagne	61,8	30,5	7,6
Italie	64,2	25,7	10,5
Mali	64,03	17,01	18,76
Nigeria	70,68	14,90	14,43
Cameroun	72,52	13,02	13,46
Zaire	74,59	14,19	11,22

Comme l'indique les tableaux ci-dessous, la région de Blida comme toute les populations étudiées présente une fréquence allélique du groupe O nettement supérieure par rapport aux allèles A et B.

La prévalence de l'allèle A augmente du sud vers le nord. La prévalence de l'allèle B se répartit de façon inverse et augmente du nord vers le sud.

L'Algérie et les pays du Maghreb arabe ont une prévalence des groupes A et B intermédiaire entre l'Afrique noire (Sud) et l'Europe occidentale (Nord).

2-2-LE GENE D

L'allèle D est prédominant avec une fréquence de 63,42 % par rapport à l'allèle d (36,57%) ce qui est en accord avec le phénotype D fréquent dans la population.

Tableau32 : Prévalences des allèles D et d dans notre échantillon et les autres peuples du monde. [34]

Pays	Allèle D	Allèle d
Notre étude	63,42%	36,57%
Maroc	68,00%	32,00%
Nigéria	81,5%	19,5%

La prévalence de l'allèle D est superposable dans les pays du Maghreb. Cependant les Africains noirs, portent le gène D plus souvent.

2-3-GENE K :

En ce qui concerne le système Kell, l'allèle K est minoritaire avec une prévalence de 5,5% contrairement à l'allèle k majoritaire à 94,5%.

Tableau33 : Prévalences de l'allèle K dans notre échantillon et les autres peuples du monde.
[34] [35]

Pays	Allèle K	Allèle k
Notre étude	5,5%	94,5%
Maroc	3,98%	96,02%
Allemagne	4,00%	96%

L'allèle K a une fréquence comparable à celle des pays du Maghreb arabe et des pays de l'Europe.

Les résultats de l'étude des fréquences phénotypiques et alléliques des systèmes ABO, RH et Kell concernant la wilaya de Blida, sont identiques à ceux retrouvés à l'échelle nationale et dans les pays méditerranéens et montrent que l'Algérie est en situation intermédiaire entre les pays d'Europe et ceux de l'Afrique noire.

CONCLUSION :

Nous avons étudié le polymorphisme phénotypique et génotypique dans les systèmes ABO, RH et Kell chez des donneurs volontaires de sang au Centre de transfusion sanguine du CHU Blida, nous avons également estimé la prévalence des antigènes et des phénotypes du système RH (CcEe).

Nos résultats ont été comparés avec d'autres travaux antérieurs des autres Wilaya et D'autres pays, ceci nous a permis de situer hémotypologiquement la région de Blida dans le monde.

Au terme de cette étude qui a concerné les donneurs de sang prélevés entre Janvier 2016 à Mars 2017, la fréquence des antigènes des systèmes de groupes sanguins érythrocytaires chez les donneurs volontaires de sang a été :

Système ABO : A (33,26%), B (18,12%), AB (7,33%), O (41,30%).

Systèmes RH : D (86,62%), C (62,95%), c (83,61%), E (17,44%), e (99,03%).

Avec une prédominance du phénotype CcDee (37,57%)

Système Kell : K (10,3%).

En ce qui concerne les fréquences géniques, l'allèle O est le plus fréquent pour le système ABO, de même que l'allèle D pour le rhésus standard et l'allèle k pour le système Kell.

L'étude de l'expression des antigènes érythrocytaires des groupes sanguins par la technique sérologique du phénotypage est basée sur l'hémagglutination. La double détermination s'impose pour éviter les risques d'erreur de groupage. Cette technique est simple et peu coûteuse, et reste aujourd'hui un gold standard de l'immunohématologie. Cependant, cette méthode est consommatrice de temps et de main-d'œuvre, et les limites de son utilisation sont atteintes en cas de réactifs indisponibles, de positivité du test direct à l'antiglobuline ou d'antécédents transfusionnels (transfusion de globules rouges dans les quatre mois ayant précédé le prélèvement). Ainsi, La détermination des antigènes érythrocytaires déduite de l'analyse des systèmes de groupe sanguin par des techniques de biologie moléculaire (génotypage) montre alors tout son intérêt

Les possibilités de différences antigéniques entre le sang du donneur et celui du receveur sont en partie à l'origine d'accidents transfusionnels. La meilleure action est bien sûr la prévention des allo-immunisations par la prescription de sang phéno-compatible, basée sur le principe de ne pas apporter au receveur un antigène qui lui est déficitaire.

En ce qui concerne la stratégie de collecte et de conservation du sang de phénotypes rares parmi les DVR de sang nous avons proposé de :

- sensibiliser les DVR de sang,
- fidéliser les DVR de sang,
- conserver du sang par congélation (cryoconservation).

Ces différents points essentiels pris en compte permettront de donner du sang compatible aux polytransfusés, aux patients de groupes rares et de préparer les hématies tests pour un panel RAI.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- [1] :J.Chiaroni, V.Ferrare, V .Dattoriet F. Roubinet : EMC Hématologie (Encyclopédie médico-chirurgicale) 2005. / 2014.
- [2] : J.-D. Tissot, Dr. G.Canellini, Dr. J. Conne, et Dr.S.Waldvogel: Immunohématologie, Bases de médecine transfusionnelle. Cinquième édition : Mise à jour aout 2010.
- [3] : Le Manuel du résident Hématologie II. (2009.)
- [5] :Koichi Suzuki, B .Dupont : ABO blood group allels and genetic recombination: Legal Medicine. (2005).
- [6] :Ranyard R, Charlton JP, Williamson J : Transfusion: Annales francais d'anesthesie et de reanimation, (2009).
- [7] :Hematologie en pratique clinique – guide de diagnostic et de traitement- auteurs :Robert S Hillman,KennethA.Ault,Henry M Rinder).
- [8] :Daniels G, Poole J, De Silva M, Callaghan T, MacLennan S : The clinicalsignificance of blood groups antibodies: Transfusion Medecine, . (2002).
- [9] :Acadpharm : dictionnaire.acadpharm.org/w/Allo-anticorps)
- [10] :Laura.Dea : Blood groups and redcellantigens: MD. (2010).
- [11] :Altern. E, Courbil R, Fabrigli P, Odent-Malaure H, Carrières J, Chartier M : Metabolic and immunologicconsequences of ABHsecretor and Lewis subtypestatus Med Rev. p: 90-94. (2001).
- [12] :Ronchetti F, Villa MP, Ronchetti R, Bonci E, Latini L : ABO/Secretorgeneticcomplexand susceptibility to asthma in childhood, EurRespir, (2001).
- [13] :TP d'immunohematologie : Faculté de Médecine Montpellier – Nîmes . J. F. Schved , Janvier 2007)
- [14] :Gregory A. Denomme, F. Dall'Olio, G. Di Stefano, F. Minni: Molecular basis of blood group expression: Transfusion and Apheresis Science. (2011.)
- [15] :Neil D. Avent : Large scaleblood group genotyping Transfusion Clinique et Biologique.. (2007.)
- [16] : Marielle Lafontaine,SylviaLubrun :Immunohématologie (édition provisoire) .
- [17] :ALISSON DOS SANTOS. Cours immuno-hématologie du 11 au 15 Oct 1999 , Cressier, Suisse.)

[18] : BIOLOGIE MOLECULAIRE DES GROUPES SANGUINS ET IMPACT EN MEDECINE TRANSFUSIONNELLE , Jean-Pierre Cartron a.* : 49^{ème} journée de biologieclinique)

[19] :Les technologies de biologie moléculaire en immunohématologie
Molecularbiologymethods in immunohematology C. Tournamille Laboratoire d'immuno-hématologie moléculaire, site de Mondor, EFS Île-de-France, 5, rue Gustave-Eiffel, 94000 Créteil, France)

[20] : Procédures opératoires en immuno-hématologie –Agence Nationale Algérienne du Sang-

Pr .H. AIRECHE , Pr.OUELLAA ,Dr F.MERAD ,Dr. A.GHAFOUR, ,Dr.RAHAL, ,Dr.FERNANE.

[21] :Molecular genetic analysis for the B(3) allele: Blood, p: 53 (2002) :Yu LC, Twu YC, Chou ML, Chang CY, Wu CY)

[22] : J J. Lefrère, P. Berche, Karl Landsteiner découvre les groupes sanguins. Transfusion Clinique et Biologique 17 (2010) : 1–8 .

[23] :J.-P. CARTRON, Vers une approche moléculaire de la structure,du polymorphisme et de la fonction des groupes sanguins. The Conference Board (1996) 3 : 181-210 .

[24] :Chiaroni J., Roubinet F., Bailly P. Groupes sanguins de nature glucidique.
EMC hématologie 2014

[25]: *site web : toutsorlatransfusion.com*

[26]: Transfusion sanguine J.Lefrère et P.Rouger

[27] : OKUDA H, KWANO M, IWAMOTO S, TANAKA M, SENO T, OKUBO Y, *et al.* The RH D gene is highly detectable in Rh D- negative Japanese donors. Journal of clinical investigation 1997 ; 100 (2) : 373-9.

[28] :AVENT et REID. Rh blood group system : common alleles of RH loci.
Blood 2000 ; 95 : 375 (http://www.bioc.aecom.yu.edu/bgmut/rh_common.htm)

[29] AIRCHE H., GUEGUEN A., GOLMARD J.-L.et BENABADJI M.«Détermination des fréquences génique dansle système Rhésus en Algérie.»Revue française de transfusion et immunohématologie,tome XXV, n° 4, p. 384, 1982.

AIRECHE H., BENABADJI M.“kell and xg gene frequencies in Algeria.”Gene. Geogr., vol. 9, no. 3, 177-184, December 1995.

H. AIRECHE, M. BENABADJI Les frdquences gdniques dans les systèmes ABO P et Luthdran en Algdrrie Centre National de Transfusion Sanguine, C.H.U. Mustapha, Alger TCB 1994 3 : 279-289.

[30] : IRSHAID N.M., 2001. Correlation between phenotype and genotype in some clinically important blood groups systems. Lund University, 8-20.

[31] : SALMON CH. et GOUDEMANT M., 1980. Immuno hématologie et immuno génétique. Flammarion Eds., Paris (France).

[32] : Les allo-immunisations foeto-maternelles anti-erythrocytaires : état de l'art en 2008
Dominique Rigala,*, Francis Meyera, Elisabeth Mayranda, Françoise Dupraza

[33] : Ogasawara K, Yabe R, Uchi kawa M, et al. Molecular genetic analysis of variant phenotypes of the A B O blood group system. Blood 1996;88:2732-7.

[34] : M. Sbiti, M. Bahji, H. Zahid, M. Rafi et M. Benkirane. Les fréquences phénotypiques et génotypiques des systèmes ABO, Rh et Kell dans la population marocaine , La Gazette de la Transfusion, no 175, p 1-7 JUILLET-AOÛT 2002.

[35] : WAGNER F.-F., KASULKE D., KEROWGAN M. "Frequencies of the blood groups ABO, Rhesus, D category VI, Kell, and of clinically 34 relevant high-frequency antigens in south-western Germany." Infusionstransfusionsmed, no. 22, 285-290, 1995.

ANNEXES

Arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale

II. - Règles de réalisation des analyses

Tous les réactifs nécessaires aux examens d'immuno-hématologie érythrocytaire doivent être conformes à la législation et à la réglementation relative aux conditions particulières de mise sur le marché en vigueur à la date de lancement.

1. Le groupage ABO-RH1 (RhD)

1.1. Définition de l'analyse

Cette analyse consiste à déterminer de manière indissociable les phénotypes ABO et RH1 (RhD) du système RH.

1.2. Modalités de mise en oeuvre

1.2.1. Le principe

Une réalisation du groupage sanguin ABO-RH1 :

Une réalisation du groupage sanguin ABO repose sur deux épreuves complémentaires :

- une épreuve globulaire qui consiste à rechercher les antigènes A (ABO1) et B (ABO2) avec les réactifs monoclonaux suivants : anti-A (anti-ABO1), anti-B (anti-ABO2) et anti-AB (anti-ABO3) ;
- une épreuve plasmatique qui consiste à rechercher les anticorps anti-A et anti-B avec les hématies-tests A1 et B. Au moins une de ces hématies doit être de phénotype RH :-1.

Une réalisation du groupage sanguin RH1 comporte obligatoirement l'utilisation d'un réactif anti-RH1 d'origine monoclonale et du réactif témoin dépourvu de toute activité anticorps mais dont la capacité d'agglutination d'hématies sensibilisées est strictement identique au réactif anti-RH1.

Une détermination du groupage sanguin ABO-RH1 :

Sa définition est fonction des conditions techniques :

- si les opérations du groupage sanguin, incluant les modalités de vérification et d'enregistrement des échantillons et des prescriptions, sont strictement réalisées dans les conditions d'automatisation et d'informatisation décrites à l'article IV Automatisation et informatisation, une détermination repose sur une seule réalisation exécutée à l'aide d'un lot de réactifs, d'un lot d'hématies-tests et par un technicien ;
- dans tous les autres cas, une détermination repose sur deux réalisations exécutées par deux techniciens différents. La saisie manuelle des résultats doit aussi passer par une double saisie effectuée par deux personnes différentes.

Un groupage sanguin ABO-RH1 valide :

Un groupage sanguin ABO-RH1 valide est réalisé sur deux prélèvements différents à raison d'une détermination par prélèvement.

1.2.2. Les contrôles qualité internes

En ce qui concerne la détermination ABO, le système analytique doit être contrôlé en utilisant une série d'échantillons de contrôle de phénotypes garantis (typage obtenu par un processus technique différent de celui qui doit être contrôlé par ces échantillons) comprenant au minimum :

- un échantillon de groupe A ;
- un échantillon de groupe B ;
- un échantillon de groupe O.

En ce qui concerne la détermination du groupe RH1, le système analytique doit être contrôlé en utilisant une série d'échantillons de contrôle de phénotypes garantis (typage obtenu par un processus technique différent de celui qui doit être contrôlé par ces échantillons) comprenant au minimum :

- un échantillon de groupe RH : 1 ;
- un échantillon de groupe RH : -1.



أرجع للمنتج الأصلي
AraGen Biotech - Jordan

Tests Monoclonaux Anti-A, Anti-B et Anti AB

Réactifs monoclonaux ABO de groupage
aqueux pour le test rapide sur lame et en tube
basé sur la méthode de l'agglutination

Pour un diagnostic In-Vitro uniquement
Conserver entre 2° et 8° C

RUNTIME
Les réactifs AraGen ABO sont préparés in vitro à
partir de lignées de cellules de souris, grâce aux
avancements de cultures cellulaires secretsant des
système d'immunoglobulines. Les réactifs sont dilués
avec un tampon de phosphate contenant du chlorure de
sodium, de l'EGTA et de l'albumine bovine pour
l'utilisation en tube et sur lame. L'Anti-A est coloré
avec une teinte bleue (bleu horizontal), l'Anti-B est coloré
avec une teinte jaune (verticale), et l'Anti-AB n'est
pas coloré. La procédure du test se base sur le principe
de l'agglutination, où les globules rouges possèdent des
antigènes agglutinés aux anticorps correspondants
présents dans le réactif indiquant que le résultat est
positif.

Le test est considéré comme négatif en absence
d'agglutination.

PRÉCAUTIONS

1. Ce réactif est réservé au diagnostic in vitro.
2. Les réactifs doivent être portés à température ambiante et bien mélangés pour obtenir une suspension uniforme.
3. Ne pas utiliser après la date d'expiration.
4. L'agent conservateur azule de sodium peut causer avec les toxicités en contact pour former des oxydes métalliques explosifs. Pour l'élimination, faire couler un grand volume d'eau pour éviter l'accumulation de bisulfite d'azote.

CONSERVATION ET STABILITÉ

1. Ne pas congeler.
2. Les fioles de réactifs doivent être conservées entre 2 et 8°C à la réception.
3. Une exposition prolongée à des températures en dehors de cette marge peut entraîner une perte accélérée de la réactivité du réactif.

PRÉLEVEMENT DES ÉCHANTILLONS ET CONSERVATION

1. Les échantillons de sang utilisés peuvent être prélevés avec ou sans anticoagulants.

2. Si le test est retardé, conserver les échantillons entre 2 et 8°C.

3. Les échantillons prélevés dans de l'EDTA ou le citrate doivent être conservés au frigo pendant 48 heures.

4. Les échantillons prélevés en AC/D, C/PT ou C/PT/VI peuvent être testés jusqu'à 35 jours après la date de prélèvement.

5. Tous les échantillons de sang doivent être lavés au moins deux fois au sérum physiologique tamponné au phosphate avant d'être testés.

6. Les échantillons qui présentent des signes de lyse peuvent donner des résultats non fiables.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

1. Tube à essai en verre ou lame.
2. Sérum physiologique tamponné (pH 6.9).
3. Historiens applicateurs.
4. Centrifugeuse (900-1000 RPM) pour test en tube.
5. Pipettes volumétriques.
6. Chronomètre.

PROCÉDURE DU TUBE À ESSAI

1. Préparer une suspension de 2 à 3% de globules rouges dans un sérum physiologique tamponné (pH 6.9).
2. Ajouter un volume de réactif de groupage AraGen ABO à un tube à essai en verre.
3. Ajouter au tube un volume d'une suspension de 3% de globules.
4. Bien mélanger le tube et faire incuber pendant 1 minute à température ambiante.

5. Centrifuger tous les tubes à 1000 RPM pendant 10 secondes ou avec un temps et une force équivalents convenables.
6. Examiner directement les cellules en suspension et observer immédiatement l'agglutination.
7. Tout tube qui montre un résultat négatif ou douteux, doit être ré-testé pendant 15 minutes à température ambiante.
8. Après l'observation, remplir les étapes 5 et 6.

PROCÉDURE DE LAME

1. Préparer une suspension de 35 à 45% de cellules suspendues dans leur propre plasma ou le plasma d'un groupe compatible, d'un sérum ou d'un sérum physiologique tamponné.
2. Placer sur une lame de verre un volume de réactif de groupage AraGen ABO à température ambiante (18-25°C) et un volume d'une suspension test de globules rouges.
3. Mélanger le réactif et les cellules en utilisant un bâton applicateur propre sur une surface d'environ 20x40mm.
4. Pencher lentement les lames en avant et en arrière et observer l'agglutination pendant une période inférieure à deux minutes.
5. Lire macroscopiquement au bout de deux minutes sous une lumière diffusée et ne pas confondre les rangées de fibres avec l'agglutination. Toute réaction faible doit être répétée par la technique du tube.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

POSITIVE: Si l'agglutination apparaît.

NEGATIVE: Si aucune agglutination n'est observée.

Groupe donneur	Groupe Récepteur				Urgence
	A	B	AB	O	
A	+	-	+	0	ABO
B	-	+	-	0	A
AB	+	+	+	0	B
O	-	-	-	+	O
+	-	-	0	0	NS

Les tests en tube doivent être lus immédiatement après la centrifugation. Les tests sur lame doivent être interprétés dans les deux minutes pour éviter la possibilité qu'un résultat négatif ne soit incorrectement interprété comme positif à cause des réactifs qui séchent.

LIMITES

1. De faux résultats positifs/négatifs peuvent avoir lieu à cause de la contamination du matériel de test, ou d'une mauvaise concentration de cellules, d'un temps d'incubation ou d'une température impropres, ou de tout état vis-à-vis des recommandations sur les procédures de test.

2. Une centrifugation improprie peut aussi causer de faux résultats.

Les temps de centrifugation mentionnés doivent être considérés comme de simples suggestions. Un temps de centrifugation approprié doit être déterminé par celui qui produit la plus forte réaction à anticorps avec les antigènes présents des cellules, et qui permet une lecture en suspension facile des antigènes/négatifs des globules rouges.

3. Des réactions plus faibles peuvent être observées avec du sang conservé par congélation au sang frais.
4. Les antigènes ABO ne sont pas totalement développés à la naissance; on peut donc observer des réactions plus faibles avec des globules rouges échangés ou de nouveau-nés. Des échantillons de cordons ou de nouveau-nés. Dans échantillons de cordons d'origine avec de la gelée de Wharton peuvent donner de faux résultats positifs.
5. Les échantillons de sang de sous-groupes A ou faibles peuvent donner lieu à de faux résultats négatifs ou à des réactions faibles.
6. Pour confirmer la réactivité et la spécificité du réactif de groupage ARAGEN ABO, il est conseillé de tester les cellules antigènes-positives et antigène négatives avec le réactif à chaque jour d'utilisation.

SENSIBILITÉ

Les tests AraGen ABO sont contrôlés pour leur réactivité avant d'être livrés, et ceci en utilisant les procédures de test recommandées sur une grande variété de cellules. La spécificité des anticorps monoclonaux sources désignées sont données, ces réactifs ont démontré en utilisant un panel de cellules antigène-négatives.

REFERENCES

1. BETHI. Criteria de travail pour la Transfusion Sanguine. Directeur pour les recherches de manipulation en transfusion sanguine en France (1961) et le dévouement des auteurs. Clin Lab (1961), 12: 437-440.
2. Bauer P. D. Sérologie sanguine des groupes sanguins. Le cod. Med. Monography Scientific, 1982.
3. Koehler G., Mollner C. Culture continue des cellules HeLa dans un sérum de médiane prélevée. 259: 675-687, 1975.
4. Mowbray J. et al. Anticorps monoclonaux de sources animales. Immunology (1980), Van Nostrand Co., 1981.
5. Race R. R. and Sanger R. Foreword. Serology. 4th Edition. Oxford: Blackwell Scientific, 1975.

AraGen Biotech Co.
Antigenes Biotech
P.O. Box 2000, Amman, Jordan
Tel: +962 5 212 1111
Fax: +962 5 212 1111



الأرجن للصحة العالمية
AraGen Biotech - Jordan

Anti-D Blend (IgG/IgM)

in test sur lame, en tube et sur micro plaque
né sur la méthode de l'agglutination pour la
détection du facteur Rhésus dans le sérum
en utilisant un réactif monoclonal mélangé

Pour un diagnostic in vitro uniquement
Conservé entre 2°C et 8°C

PRINCIPE
AraGen Anti-D Blend est un réactif à faible teneur en protéines préparé à partir d'IgM et IgG anti-D. Normalement, on trouve des autoanticorps anti-D (comme les globulines de tout ou partie, en tube et sur micro plaque).
Le réactif est dilué dans une solution tamponnée de phosphate, contenant de l'albumine bovine (3 g/l), du sérum de veau (0,9 g/l) et des potentialisateurs monoclonaux. Les procédures ont basées sur la présence de l'agglutination, au moment du test les échantillons des patients, ce réactif va directement agglutiner les cellules Rh.D positives, comportant une moyenne de 200 à 400 cellules D⁺, et une grande prépondérance de globules rouges D⁺. Le réactif forme une croûte, au moment d'agglutination, on additione l'eau de son utilisation sur les échantillons.

PRÉCAUTIONS

1. Ce réactif est réservé au diagnostic in vitro uniquement.
2. Les réactifs doivent être portés à température ambiante et bien mélangés afin d'éviter toute suspension en forme.
3. Ne pas utiliser après la date d'expiration.
4. L'agent conservateur azote de sodium peut réagir avec les oxydants en métal pour former des oxydes métalliques oxydants. Pour l'élimination, faire couler un grand volume d'eau pour éviter l'accumulation de liquide d'azote.

CONSERVATION ET STABILITÉ

1. Ne pas congeler.
2. Les boîtes de réactifs doivent être conservées entre 2 et 8°C à la réception.
3. Une exposition prolongée à des températures en dehors de cette marge peut entrainer une perte accélérée de la réactivité du réactif.

PRÉLEVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

1. Toute technique de phlébotomie acceptable peut être utilisée pour prélever un échantillon avec ou sans anticoagulant.
2. Les échantillons doivent être testés le plus tôt possible, et si le test est retardé, ils doivent être conservés à 2 et 8°C.
3. S'ils sont prélevés dans l'EDTA ou le citrate, les échantillons peuvent être conservés au frigo pendant 24h.
4. Les échantillons prélevés dans l'ACD, le EDTA ou le CPDA, peuvent être testés dans un délai de 15 jours à compter de la date du prélèvement.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Tube à essai en verre, micro plaque ou lame, sérum physiologique tamponné de phosphate (pH 7,0 à 0,2), lésions applicateurs, centrifugeuse (900-1000 RCF), incubateur et chronomètre.

PROCÉDURE SUR LAME

1. Préparer un volume d'AraGen Anti-D Blend sur une lame de verre étiquetée.
2. Ajouter à la lame un volume d'une suspension de 1 à 4 x 10⁶ de cellules, préparée dans le sérum physiologique tamponné au phosphate.
3. Laisser sécher le plasma de l'échantillon contenant les globules rouges.
4. Rechercher lentement les lésions en avant et en arrière et observer l'agglutination. Faire la lecture microscopique dans les 2 minutes qui suivent le test. Ne pas confondre les réactions de Rhésus avec l'agglutination.
4. Toute réaction faible doit être répétée par les techniques du tube.

PROCÉDURE DU TUBE À ESSAI

1. Préparer un volume de réactif AraGen Anti-D Blend dans un tube étiqueté.
2. Ajouter un volume d'une suspension de 2 à 3 % de cellules préparées dans du sérum physiologique tamponné au phosphate.
3. Bien mélanger et centrifuger à 1000 RCF pendant 20 secondes.
4. Retenir doucement le col de globules rouges en suspension et examiner immédiatement l'agglutination.
5. Tout tube qui montre un résultat positif ou négatif (ce qui peut être le cas des échantillons 1^{er} ou 1^{er} faibles), doit être incube pendant 15 minutes à température ambiante.
6. Après l'incubation, répéter les étapes 1 et 4.

PROCÉDURE SUR MICRO-PLAQUE. EN UTILISANT DES PLUITS EN « U »

1. Préparer une suspension de 2 à 3 % de globules rouges testés en utilisant le sérum physiologique tamponné au phosphate.
2. Placer dans le puits approprié 1 volume d'AraGen Anti-D et 1 volume d'une suspension de globules rouges testés.
3. Bien mélanger, en utilisant de préférence un bâton de microplaque, en prenant soin d'éviter la contamination croisée par puits.
4. Laisser à température ambiante pendant 15 minutes.
5. Continuer la microplaque pendant 1 minute à 140 RCF ou avec un temps et une force équivalents convenables.
6. Retenir le col de cellules en suspension en utilisant une agitation très contrôlée sur un châssis de microplaque.
7. Faire une lecture microscopique ou avec un lecteur automatique valide.
8. Toute réaction faible doit être répétée par la technique du tube.

PROCÉDURE INDIRECTE D'ANTI-GLOBULAIRE

1. Préparer une suspension de 2 à 3 % de globules rouges testés dans du sérum physiologique tamponné au phosphate.
2. Placer dans le tube à essai étiqueté 1 volume d'AraGen Anti-D et 1 volume de suspension de globules rouges testés.
3. Bien mélanger le tube et incuber à 17°C pendant 15 minutes.
4. Laver les globules testés avec du sérum physiologique tamponné 4 fois après l'incubation.
5. Ajouter le sérum physiologique complétement après chaque lavage.
6. Ajouter deux volumes de glutathione AraGen Anti-D dans le tube à essai.
7. Bien mélanger pour détacher les cellules en suspension et centrifuger à 1000 RCF pendant 20 secondes ou avec un temps et une force équivalents convenables.

7. Retenir doucement les cellules en suspension et observer immédiatement l'agglutination.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

POSITIF Si l'agglutination apparaît.
NÉGATIF Si aucune agglutination n'est observée. Le résultat du test des tubes à essai doit être lu immédiatement après la centrifugation.
Un retard de lecture et d'interprétation des résultats peut entrainer une réaction fautive, positive ou faussement négative.
Le test de la lame doit être interprété à la fin des deux minutes.

LIMITES

1. De faibles résultats positifs négatifs peuvent avoir lieu à cause de la contamination du matériel de base, d'une concentration de cellules inadéquate, d'un temps d'incubation ou d'une température inappropriée, ou de tout état vis-à-vis des recommandations sur les gros volumes de test.
2. Une centrifugation inappropriée peut aussi causer de faibles résultats. Les temps de centrifugation recommandés dans les procédures doivent être considérés comme des simples suggestions. Le temps de centrifugation approprié doit être déterminé par celui qui produit la plus forte réaction d'anticorps avec les antigènes positifs des globules rouges, et qui permet une lecture et une inspection facile des antigènes négatifs des globules rouges.
3. Les globules rouges qui ont réagi au test positif doivent être centrifugés ou peuvent être utilisés pour le test.
4. Des caractères plus faibles peuvent être observés avec un sang conservé par quelques semaines.
5. Pour contrôler la réactivité et la spécificité des réactifs AraGen, il est recommandé que les cellules négatives et les cellules qui réagissent avec le réactif à chaque utilisation.
6. L'AraGen-D ne convient pas à une utilisation avec des cellules traitées aux enzymes ou des cellules suspendues dans une solution à faible force ionique.

RÉFÉRENCES

1. Race R.R. et Sargent R. Les groupes sanguins chez l'homme, 6th édition. (Mead, Blackwell Scientific Publications, 1975).
2. Normes pour les banques de sang et les services de transfusion, 11th Ed. Washington D.C., AABB 1984-23.
3. Wechsler F.K. et Maurer Jochaque, 9th Ed., Washington D.C., AABB 1984-9.

AraGen Biotech S.A.
Nomos, Jordan
e-mail: info@aragen-biotech.com
Website: www.aragen-biotech.com
9618 Amn, 46123
05202027

RESUME :

Les systèmes Rhésus et Kell représentent les systèmes les plus immunogènes et les plus recherchés en transfusion sanguine. Peu des travaux récents ont été consacrés à l'étude des groupes sanguins dans notre population.

L'objectif de ce travail est de présenter de nouvelles statistiques des prévalences phénotypiques et génotypiques des systèmes ABO, Rhésus et Kell dans la wilaya de Blida (wilaya d'Algérie).

Cette étude a été réalisée dans le centre de transfusion sanguine du CHU de Blida sur un échantillon de 11929 donneurs de la wilaya de Blida chez lesquels on a effectué un groupage ABO, Rhésus et Kell.

Résultats : Le groupe O se trouve chez environ (41,30 %) des personnes phénotypées ; le groupe A est deux fois supérieur (33,26%) au groupe B (18,12%); Le groupe AB a la fréquence la plus faible (7,33%). Nous constatons une nette prédominance des sujets RH positif (86,62 %) par rapport aux sujets RH négatif (13,38 %) dans notre population d'étude. Pour le phénotype RH étendu, les résultats montrent la prédominance du phénotype CcDee avec plus du tiers (37,57%). Pour le système Kell, une prédominance des sujets Kell négatifs est nettement observée avec une fréquence de 89,30%.

En ce qui concerne la fréquence des génotypes de notre population nous avons trouvé les résultats suivant : L'allèle O est le plus fréquent, sa prévalence est de 64,27 %, l'allèle A vient en seconde position avec une fréquence de 22,92%, l'allèle B est le moins fréquent 13,65 %. L'allèle du RH positif (63,42%) et celui du Kell négatif (94,4%) sont dominants.

Nos résultats sont comparés à des études similaires antérieures réalisées en Algérie et d'autres pays. Ces résultats sont trouvés en situation intermédiaire entre ceux de l'Europe du Sud et ceux de l'Afrique subsaharienne.

Abstract:

Rhesus and Kell systems represent the most immunogenic and most sought after systems in blood transfusion. Little recent work has been devoted to the study of blood groups in our population.

The objective of this work is to present new statistics on the phenotypic and genotypic prevalences of the ABO, Rhesus and Kell systems in the wilaya of Blida (wilaya of Algeria).

This study was carried out in the blood transfusion center of Blida University Hospital in a sample of 11929 donors from the state of Blida in which ABO, Rhesus and Kell groups were performed.

Results: The O group is found in approximately (41.30%) of the phenotyped individuals; Group A is twice as high (33.26%) as Group B (18.12%); The AB group had the lowest frequency (7.33%). We found a clear predominance of the positive HR subjects (86.62%) compared to the negative RH subjects (13.38%) in our study population. For the extended RH phenotype, the results show the predominance of the CcDee phenotype with more than one third (37.57%). For the Kell system, a predominance of negative Kell subjects is clearly observed with a frequency of 89.30%.

As regards the frequency of the genotypes of our population, we have found the following results: The O allele is the most frequent, its prevalence is 64.27%, the allele A comes in second position with a frequency of 22.92%, the allele B is the least frequent 13, 65%. The positive RH allele (63.42%) and the negative Kell allele (94.4%) are dominant.

Our results are compared with previous similar studies carried out in Algeria and other countries. These results are found intermediate between those of Southern Europe and those of sub-Saharan Africa.

RESUME :

Les systèmes Rhésus et Kell représentent les systèmes les plus immunogènes et les plus recherchés en transfusion sanguine. Peu des travaux récents ont été consacrés à l'étude des groupes sanguins dans notre population.

L'objectif de ce travail est de présenter de nouvelles statistiques des prévalences phénotypiques et génotypiques des systèmes ABO, Rhésus et Kell dans la wilaya de Blida (wilaya d'Algérie).

Cette étude a été réalisée dans le centre de transfusion sanguine du CHU de Blida sur un échantillon de 11929 donneurs de la wilaya de Blida chez lesquels on a effectué un groupage ABO, Rhésus et Kell.

Résultats : Le groupe O se trouve chez environ (41,30 %) des personnes phénotypées ; le groupe A est deux fois supérieur (33,26%) au groupe B (18,12%); Le groupe AB a la fréquence la plus faible (7,33%). Nous constatons une nette prédominance des sujets RH positif (86,62 %) par rapport aux sujets RH négatif (13,38 %) dans notre population d'étude. Pour le phénotype RH étendu, les résultats montrent la prédominance du phénotype CcDee avec plus du tiers (37,57%). Pour le système Kell, une prédominance des sujets Kell négatifs est nettement observée avec une fréquence de 89,30%.

En ce qui concerne la fréquence des génotypes de notre population nous avons trouvé les résultats suivant : L'allèle O est le plus fréquent, sa prévalence est de 64,27 %, l'allèle A vient en seconde position avec une fréquence de 22,92%, l'allèle B est le moins fréquent 13,65 %. L'allèle du RH positif (63,42%) et celui du Kell négatif (94,4%) sont dominants.

Nos résultats sont comparés à des études similaires antérieures réalisées en Algérie et d'autres pays. Ces résultats sont trouvés en situation intermédiaire entre ceux de l'Europe du Sud et ceux de l'Afrique subsaharienne.

Mots clés :

Fréquence phénotypique, fréquence génotypique, groupage sanguin, ABO, Rhésus, Kell, Wilaya de Blida (wilaya d'Algérie).

<ul style="list-style-type: none">- Nom et Prénom 1. BOULKHIOUT Nadjjet- Adresse mail : nad_pharm2013@hotmail.fr	<ul style="list-style-type: none">- Nom et Prénom 2. NECHE Heyem- Adresse mail : Hiyem2009@live.fr
---	---

