

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1 -



FACULTE DE MEDECINE  
DEPARTEMENT DE PHARMACIE

LES DIFFICULTÉS DE GROUPE SANGUIN ABO RHESUS  
ET RECHERCHE D'HÉMOLYSINES ANTI-A ET/OU ANTI-B CHEZ  
LES DONNEURS O AU CENTRE DE TRANSFUSION SANGUINE DE  
BLIDA

Thèse d'exercice de fin d'études  
Présentée en vue de l'obtention du Diplôme  
De Docteur en Pharmacie  
Session Septembre 2017

**Présentée par :**

- GOUDGIL Samia
- SIF Zahia

**Devant le jury :**

- |   |             |
|---|-------------|
| - Pr .S.ABDI : Professeur en Biochimie Médicale C.H.U Blida         | Présidente  |
| - Dr.MAHFOUD : Maitre Assistant en Microbiologie C.H.U Blida        | Examinateur |
| - Dr.A.BENHELAL : Pharmacien spécialiste en Bio-Clinique            | Examinateur |
| - Dr.S.OUNAS : Praticien Spécialiste Chef en Bio-Clinique CHU Blida | Promotrice  |

## REMERCIEMENTS

Nous rendons grâce a Dieu de nous avoir fait découvrir la science et le savoir deux éléments indissociables, indispensables qui nous ont permis de réaliser ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à notre promotrice :

**Dr.S.OUNAS,**

Pour ses orientations, ses observations et sa patience.

Une mention particulière est réservée aux membres de jury :

**Au Pr.S.ABDI,**

Qui demeure un exemple de respectabilité et de professionnalisme et qui a trouvé le temps d'examiner notre travail

**Au Dr.M.MAHFOUD,**

Notre maitre, qui grâce a ses encouragements a largement contribué a notre formation et qui trouve le temps de juger notre travail

**Au Dr.A.BENHELAL,**

Qui a su, grâce à sa rigueur et son sérieux, accorder de l'importance à notre travail, en acceptant d'être notre examinateur.

Nous présentons également nos remerciements au **Dr .CHAIB** chef de service, qui a bien voulu nous accepter au Centre de Transfusion Sanguine de Blida (CTS) et a tout son personnel pour son accueil, sa gentillesse et son amabilité.

Merci à toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à la réalisation de notre travail.

## DEDICACES

J'ai l'immense plaisir de dédier ce modeste travail à :

**Ma mère** pour son dévouement, son éducation ses encouragements et qui a su nous diriger et nous orienter vers le bien .Que Dieu lui accorde santé et longue vie.

**Mon père** qui m'a aidé à devenir ce que je suis aujourd'hui, qui a su être mon guide dans la vie, que Dieu nous le garde le protège lui accorde santé et longue vie.

**Mon très cher frère** : Tahar Ali et mes chères sœurs : Asmaa et Sanaa, pour leur affection et leur soutien.

**Toute ma famille** : Ma grand- mère, mon grand -père, Zohra, Khadîdja, ma grande famille.

Tous ceux qui portent le nom **GOUDGIL** et **MELLAL**.

**A Mon binôme Zahia** et toutes mes amies pour toutes nos années de cursus, des années inoubliables que je garderai a jamais en mémoire.

**SAMIA**

## DEDICACES

Je dédie, ce travail :

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

**A mes sœurs** : Ghania, Asmaa, Meriem, Amina pour leurs encouragements et leur soutien tout au long de mes études et également pour les bons moments passés et à venir.

**A ma collègue Samia et sa famille** pour leurs encouragements incessants et leur soutien moral, que Dieu les protège et leur donne une vie pleine de réussite et de bonheur.

**A ma chère amie Soumia** pour les bons moments partagés que je ne pourrais oublier, je lui souhaite une vie pleine de réussite.

**A toute ma famille** : la grande famille : je vous remercie pour tous les moments de joie et de partage : Ma grand- mère, mon grand père, Ghanya, Om-elkhir, les petites Roeya, Malak Lodjaine Tasnim.

Tous les membres de ma famille.

**ZAHIA**

# SOMMAIRE

- INTRODUCTION .....	01
- PARTIE THÉORIQUE OU BIBLIOGRAPHIQUE	

## CHAPITRE I

### LES SYSTEMES ABO RHESUS ET LE DON DU SANG

<b>I-1-Historique</b> .....	04
<b>I-2-Le système ABO</b> .....	06
I-2-1-Etude génétique des antigènes du système ABO-H .....	06
I-2-2-Etude biochimique du système ABO .....	07
I-2-3-Les phénotypes du système ABO .....	10
I-2-4-Autres phénotypes rares du système ABO .....	13
I-2-5-Phénotypes du système H .....	14
I-2-6-Les anticorps du système ABO .....	15
I-2-7-Hérédité des groupes ABO .....	16
<b>I-3-Le système Rhésus</b> .....	17
I-3-1-Les antigènes du système Rhésus .....	18
I-3-2-Les phénotypes du système Rhésus .....	19
I-3-3-Les anticorps du système Rhésus .....	20
<b>I-4-Autres systèmes de groupe sanguin</b> .....	21
<b>I-5-Détermination du groupe sanguin ABO/RH</b> .....	22
<b>I-6-Validation analytique du groupe sanguin standard</b> .....	26
<b>I-7-Don du sang et transfusion sanguine</b> .....	27

## CHAPITRE II

### DIFFICULTÉS DU GROUPAGE SANGUIN

<b>II-1-Difficultés de groupage ABO</b> .....	32
II-1-1-Incohérence par défaut réactionnel .....	32
II-1-2-Image de double population observée lors de l'épreuve globulaire .....	33
II-1-3-Incohérence par excès réactionnel .....	33
II-1-4-Divergence entre deux réalisations du groupe lorsque celui-ci est réalisé en technique manuelle avec deux séries de réactifs différents .....	34
II-1-5-Discordance de groupe observée entre deux déterminations .....	34
<b>II-2-Difficultés de la détermination du phénotype RH1</b> .....	34

## CHAPITRE III

### LES HÉMOLYSINES ANTI-A ET ANTI-B

III-1-Conditions d'apparition .....	36
III-2-Implication pathologique .....	36
III-3-Méthodes de recherche .....	37

- <b>PARTIE PARTIQUE</b>	
I-Matériel et Méthodes . . . . .	39
II-Résultats . . . . .	52
III-Discussion . . . . .	69
- <b>CONCLUSION</b> . . . . .	76
- <b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 01</b>	Quelques systèmes de groupes sanguins érythrocytaires	P 05
<b>Tableau 02</b>	Les quatre phénotypes érythrocytaires ABO principaux	P 11
<b>Tableau 03</b>	Réactivité des sous-groupes A1, A2 et A Int	P 11
<b>Tableau 04</b>	Caractéristiques sérologiques principales des phénotypes A faible	P 12
<b>Tableau 05</b>	Caractéristiques sérologiques principales des phénotypes B faible	P 13
<b>Tableau 06</b>	Hérédité des groupes ABO	P 17
<b>Tableau 07</b>	Nomenclature des antigènes Rh selon ISBT et FISHER/RACE	P 18
<b>Tableau 08</b>	Les fréquences phénotypiques dans le système RH	P 18
<b>Tableau 09</b>	Les fréquences antigéniques dans le système RH	P 19
<b>Tableau 10</b>	Test d'hémolyse sur sérum conservé	P 50
<b>Tableau 11</b>	Répartition des donneurs de sang de notre échantillon selon le sexe	P 53
<b>Tableau 12</b>	Répartition des donneurs de sang selon la tranche d'âge	P 54
<b>Tableau 13</b>	La fréquence des phénotypes ABO chez la population étudiée	P 55
<b>Tableau 14</b>	Répartition mensuelle des donneurs de sang	P 56
<b>Tableau 15</b>	La fréquence des phénotypes ABO chez les donneurs selon le sexe	P 57
<b>Tableau 16</b>	La fréquence des phénotypes Rh chez la population étudiée	P 58
<b>Tableau 17</b>	La fréquence des phénotypes ABO-Rh chez les donneurs selon le sexe	P 59
<b>Tableau 18</b>	La fréquence des phénotypes ABO-Rh chez les donneurs selon la tranche d'âge	P 61
<b>Tableau 19</b>	La fréquence des phénotypes RH1 chez les donneurs	P 65
<b>Tableau 20</b>	Répartition des donneurs O du mois d'Avril selon le sexe	P 66
<b>Tableau 21</b>	Répartition des donneurs O du mois d'Avril selon la tranche d'âge	P 67
<b>Tableau 22</b>	Répartition globale des hémolysines anti-A et anti-B	P 68

## LISTE DES FIGURES

<b>Fig N°01</b>	Les antigènes des groupes sanguins ABO et Rhésus	P06
<b>Fig N°02</b>	Schématisation des transcrits des principaux allèles ABO	P 07
<b>Fig N°03</b>	Représentation schématique de l'antigène B érythrocytaire	P 09
<b>Fig N°04</b>	Modélisation tridimensionnelle de l'enzyme B	P 09
<b>Fig N°05</b>	Schéma général de la biosynthèse des groupes sanguins ABO	P 10
<b>Fig N°06</b>	Images d'agglutination de globules rouges A faible	P 12
<b>Fig N°07</b>	Structure de base d'une IgG	P 15
<b>Fig N°08</b>	Structure pentamérique de l'IgM humain	P 15
<b>Fig N°09</b>	La protein Rh	P 19
<b>Fig N°10</b>	Les antigènes des groupes sanguins	P 22
<b>Fig N°11</b>	Test de Coombs	P 26
<b>Fig N°12</b>	Schéma de compatibilité	P 30
<b>Fig N°13</b>	Prélèvements de sang sur tube avec anticoagulant « citrate de sodium »	P 41
<b>Fig N°14</b>	Prélèvement de sang/Don	P 42
<b>Fig N°15</b>	Centrifugeuse	P 43
<b>Fig N°16</b>	Microplaques	P 43
<b>Fig N°17</b>	Groupage sanguin sur plaque	P 44
<b>Fig N°18</b>	Résultats d'agglutination	P 45
<b>Fig N°19</b>	Antiglobuline anti-IgG	P 46
<b>Fig N°20</b>	Test de coombs indirect	P 46
<b>Fig N°21</b>	Répartition des donneurs de sang de notre échantillon selon le sexe	P 53
<b>Fig N°22</b>	Répartition des donneurs de sang selon la tranche d'âge	P 54
<b>Fig N°23</b>	La fréquence des phénotypes ABO	P 55
<b>Fig N°24</b>	Répartition mensuelle des donneurs de sang	P 56
<b>Fig N°25</b>	La fréquence des phénotypes ABO chez les donneurs selon le sexe	P 57
<b>Fig N°26</b>	La fréquence des phénotypes Rh chez la population étudiée en %	P 58
<b>Fig N°27</b>	La fréquence des phénotypes ABO-Rh chez les donneurs selon le sexe	P 60
<b>Fig N°28</b>	La fréquence des phénotypes ABO-Rh chez les donneurs selon la tranche d'âge	P 61
<b>Fig N°29</b>	La fréquence des phénotypes Rhésus chez les donneurs	P 65
<b>Fig N°30</b>	Répartition des donneurs O du mois d'Avril selon le sexe	P 66
<b>Fig N°31</b>	Répartition des donneurs O du mois d'Avril selon la tranche d'âge	P 67
<b>Fig N°32</b>	Répartition globale des hémolysines anti-A et anti-B	P 68

## ABBREVIATIONS

<b>Ac</b>	Anticorps
<b>ADN</b>	Acide DésoxyriboNucléique
<b>AF</b>	Agglutinines Froides
<b>Ag</b>	Antigène
<b>ANSM</b>	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>CAC</b>	Centre Anti Cancer
<b>CGR</b>	Concentré de Globules Rouges
<b>CIVD</b>	Coagulation Intra Vasculaire Disséminée
<b>CIQ</b>	Contrôle de Qualité Interne
<b>CRTS</b>	Centre Régional de Transfusion Sanguine
<b>CSP</b>	Concentrés Standard de Plaquettes
<b>DDS</b>	Donneur De Sang
<b>DP</b>	Double Population
<b>DTT</b>	Dithiotreitol
<b>Fc</b>	Fragment
<b>Fuc</b>	Fucose
<b>Gal</b>	Galatose
<b>GR</b>	Globule rouge
<b>GTA</b>	GalactosylTransférase A
<b>GTB</b>	GalactosylTransférase B
<b>Ig</b>	Immunoglobuline
<b>ISBT</b>	International Society of Blood Transfusion
<b>MCAF</b>	Maladie Chronique des Agglutinines Froides
<b>µl</b>	Microlitre
<b>ml</b>	Millilitre
<b>mn</b>	Minute
<b>PFC</b>	Plasmas Frais Congelés
<b>RAI</b>	Recherche Anticorps Irréguliers
<b>Rh</b>	Rhésus
<b>TDA</b>	Test Direct à l'Anti-globuline

## GLOSSAIRE

**-Antigène** : Est une substance capable de provoquer une réponse immune, puis de réagir de façon spécifique avec les produits de cette réponse (l'anticorps ou lymphocyte). On décrit ainsi :

**L'Hétéro-antigène** : antigène d'une autre espèce.

**L'Allo-antigène** : antigène d'un autre individu de la même espèce.

**L'Auto-antigène** : antigène appartenant au même individu.

**Le déterminant antigénique (épitope)** : Etant une structure de la surface de la molécule de l'Ag capable de se combiner à une molécule d'Ac unique et spécifique.

**- Anticorps** : Médiateurs humoraux de la réponse immune par opposition aux médiateurs cellulaires.

Le site de liaison de l'anticorps avec l'épitope est le paratope. La liaison Antigène/Anticorps obéit à la loi d'action de masse.  $Ag + Ac \rightleftharpoons AgAc$

La force de liaison entre un antigène et l'anticorps correspondant définit l'affinité. Cette réaction étant réversible.

**-Les réactions antigène-anticorps** : Toute réaction Ag-Ac est caractérisée par sa spécificité. En principe, les anticorps ne peuvent se combiner qu'aux antigènes qui ont provoqué leur synthèse. Cependant, certains anticorps sont capables de réagir d'une manière plus ou moins forte avec d'autres antigènes. C'est ce qui est qualifié de réaction croisée. Ceci provient du fait que deux antigènes peuvent avoir un ou plusieurs déterminants antigéniques identiques ou très semblables. Lorsqu'un anticorps se fixe spécifiquement à un antigène situé à la surface des globules rouges, il provoque leur agglutination ou même leur hémolyse. Cette agglutination peut être directe ou indirecte, exigeant un amplificateur tel que l'anti-globuline ou le réactif de Coombs. Ce dernier, après avoir produit et utilisé cette anti-globuline, a pu mettre en évidence et découvrir un grand nombre d'anticorps et de systèmes de groupes sanguins.

**-Les groupes sanguins érythrocytaires** : Ils se répartissent en systèmes constitués chacun d'ensemble d'antigènes allotypiques (variables d'un individu à l'autre au sein d'une même espèce) de la membrane du globule rouge. Ils sont génétiquement induits (les antigènes des systèmes de groupes sont des produits géniques, fabriqués directement par le matériel génétique lui-même ou indirectement par l'intermédiaire des enzymes qui produisent ce matériel. Ils traduisent donc le fonctionnement génétique. Ainsi les groupes sanguins relèvent de la génétique physiologique) et indépendants les uns des autres (puisque l'on constate, que lors de la méiose, les antigènes se transmettent indépendamment les uns des autres « ceci est la condition de leur individualisation en tant que système »).

**-Le génotype** : Ensemble des caractères génétiques d'un être vivant, qu'ils se traduisent ou non dans son phénotype.

**-Le phénotype** : Ensemble des caractères physiques et biologiques d'un individu. C'est l'expression morphologique de certains éléments du génotype.

# INTRODUCTION

L'immuno-hématologie est la discipline qui s'occupe de l'étude des antigènes portés par les éléments figurés du sang, de l'immunisation qu'ils peuvent induire, et des conflits antigène-anticorps qui en résultent.

Il existe un polymorphisme des divers éléments du sang entre les individus, ce qui rend impossible la transfusion entre certains groupes de personnes. On dit des personnes qui présentent une même caractéristique qu'elles appartiennent au même groupe sanguin.

Les groupes érythrocytaires sont des ensembles ou systèmes d'antigènes allotypiques de la membrane du globule rouge, génétiquement induits par une unité génétiquement monofactorielle, et génétiquement indépendants les uns des autres. On rassemble habituellement les groupes sanguins en deux familles selon leurs caractéristiques :

- Système ABO et Associés (Hh, Sese, Lewis, Ii, P, Luthéran, MN)
- Système Rhésus et Collègues (Kell, Duffy, Kidd, Ss)

Le système de groupes sanguins ABO est caractérisé par la présence constante, dans le sérum de l'individu, des anticorps correspondant aux antigènes absents de la surface du globule rouge, ce sont les **anticorps naturels**. Par ailleurs, sous l'influence de divers stimuli supplémentaires de l'environnement au cours d'immunisations allo antigéniques ou par immunisation fœto-maternelle, certains sujets peuvent développer des anticorps anti-érythrocytaires anti-A et/ou anti-B **irréguliers dits immuns**, sont fortement hémolysants car sont capables de déclencher la cascade complète du complément. On parle ainsi d'hémolysines.

La détermination du groupage sanguin ABO et Rhésus est indissociable chez tout donneur ou patient. Pour la détermination d'un groupage ou phénotypage d'un individu, le laboratoire utilise des techniques qui consistent à utiliser la réaction antigène-anticorps (agglutination) afin de déterminer la présence de l'antigène à la surface des globules rouges. La recherche des anticorps sériques est recherchée de manière simultanée.

Lors de la détermination du groupage sanguin beaucoup d'anomalies et/ou des difficultés d'interprétation peuvent survenir en rapport avec le génotype ou avec des pathologies particulières.

### **L'objectif de notre travail est triple**

- Relever les difficultés rencontrées au cours de la détermination d'un groupage ABO et Rhésus et voir les moyens de leur résolution
- Rechercher les hémolysines antiA/anti B chez les sujets donneurs de groupe O, pour voir la prévalence des hémolysines chez les donneurs de groupe sanguin O, ces poches de sang pouvant être utilisées à des fins de transfusion, par conséquent utiles en santé publique
- Par ailleurs une étude statistique a été réalisée pour les phénotypes ABO Rhésus au niveau du centre de transfusion sanguine de Blida.

# PARTIE THÉORIQUE

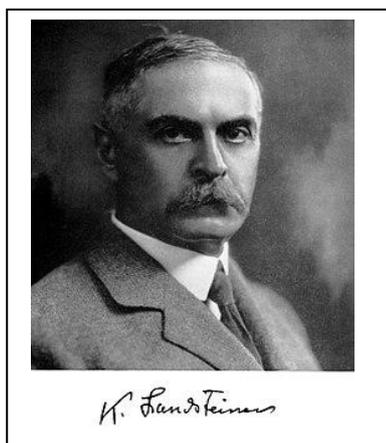
**CHAPITRE I**  
**LES SYSTEMES ABO RHESUS**  
**ET**  
**LE DON DU SANG**

## I-1-Historique

Une transfusion sanguine est une opération consistant à injecter, par perfusion intraveineuse, du sang ou des dérivés sanguins. Elle comprend la collecte et l'utilisation du sang collecté.

Jusqu'au XIX siècle, la transfusion du sang a gardé un caractère totalement empirique et provoquait des accidents transfusionnels à l'issue souvent fatale. En 1895, Bordet a étudié pour la première fois, à l'aide de techniques immunologiques, les phénomènes d'hémolyse et d'hétéro agglutination. <sup>(1)</sup>

Inspiré par ces travaux, **Landsteiner**, à l'âge de 32 ans, met en évidence, chez l'homme, l'existence d'anticorps naturels présents dans les plasmas de sujets et reconnaissant des globules rouges d'autres individus. Le 23 Mars 1900, il publie, dans le Central Blatt Fur Bakteriologie, une très courte communication dans laquelle il affirme que « le sérum des personnes saines agglutine, non seulement les globules rouges d'animaux mais également des globules rouges d'autres personnes » (isoagglutination) alors que, jusqu'à cette date l'isoagglutination était considérée comme un phénomène pathologique. <sup>(2)</sup>



En 1901, Landsteiner systématise ses premières observations et décrit les trois premiers groupes sanguins chez l'homme, il choisit les deux premières lettres de l'alphabet, A et B, pour désigner les agglutinogènes, les agglutinines étant anti-A et anti-B. <sup>(2)</sup>

Deux agglutinogènes pouvant former quatre combinaisons, il existe quatre sortes d'hématies -quatre groupes sanguins- : AB, A, B et O (ce dernier symbole pouvant être pris aussi bien pour le chiffre zéro que pour la première lettre du mot allemand « ohne »). <sup>(3)</sup>

Le système Rhésus fut découvert en 1940 par Karl Landsteiner et Alexander Wiener en immunisant des lapins avec des globules rouges d'un singe *Macacus Rhésus* et en identifiant dans leur sérum un anticorps actif sur les globules rouges de ce singe mais aussi sur les hématies de 85% des sujets humains testés. Ce nouveau groupe sanguin, indépendant du système ABO, se transmet comme un caractère mendélien dominant. <sup>(4)</sup>

On compte actuellement plus **36 systèmes** de groupes sanguins, parmi lesquels dans l'ordre chronologique de leur découvertes : ABO et Hh, MNSs, P, Rh et LW, Lutheran, Kell et Kx, Duffy, Kidd...<sup>(5)</sup>

**Tableau 1 : Quelques systèmes de groupes sanguins érythrocytaires**<sup>(5)</sup>

<b>N° ISBT*</b>	<b>Nom traductionnel du système</b>	<b>Symbole de système</b>	<b>Molécule produite par le gène</b>	<b>Locus</b>	<b>chromosome</b>
<b>001</b>	ABO	ABO	Glycosyl transférase	ABO	<b>9</b>
<b>002</b>	MNS	MNS	GPA/GPB/GPE	GYPA/GYPB/GYPE	<b>4</b>
<b>003</b>	P	P1PK	Glycosyl transférase	P1PK	<b>22</b>
<b>004</b>	Rh	RH	Protéine D et protéine CcEe	RHD/RHCE	<b>1</b>
<b>005</b>	Lutheran	LU	IgSF2	LU	<b>19</b>
<b>006</b>	Kell	KEL	Endopeptidase	KEL	<b>7</b>
<b>007</b>	Lewis	LE	Glycosyl transférase	FUT3	<b>19</b>
<b>008</b>	Duffy	FY	Récepteur de chimiokines	FY	<b>1</b>
<b>009</b>	Kidd	JK	Echangeur d'urée	SLC14A1	<b>18</b>
<b>010</b>	Diego	DI	Bande 3*/échangeur d'anion	SLC4A1	<b>17</b>

ISBT : International Society of Blood Transfusion

## I-2-Le système ABO

Le système ABO est le plus important et le mieux connu des systèmes de groupes sanguins. Il mérite de conserver cette primauté pour les raisons suivantes :

- Les antigènes ABO se rencontrent dans la plupart des tissus de l'organisme sous leurs diverses formes glycoprotéiques ou glycolipidiques. Il ne s'agit donc pas simplement de groupes sanguins mais de véritables antigènes d'histocompatibilité.
- Des anticorps naturels correspondant aux antigènes absents des globules rouges sont présents de façon constante, au niveau sérique d'où son importance essentielle en transfusion. <sup>(6)</sup>

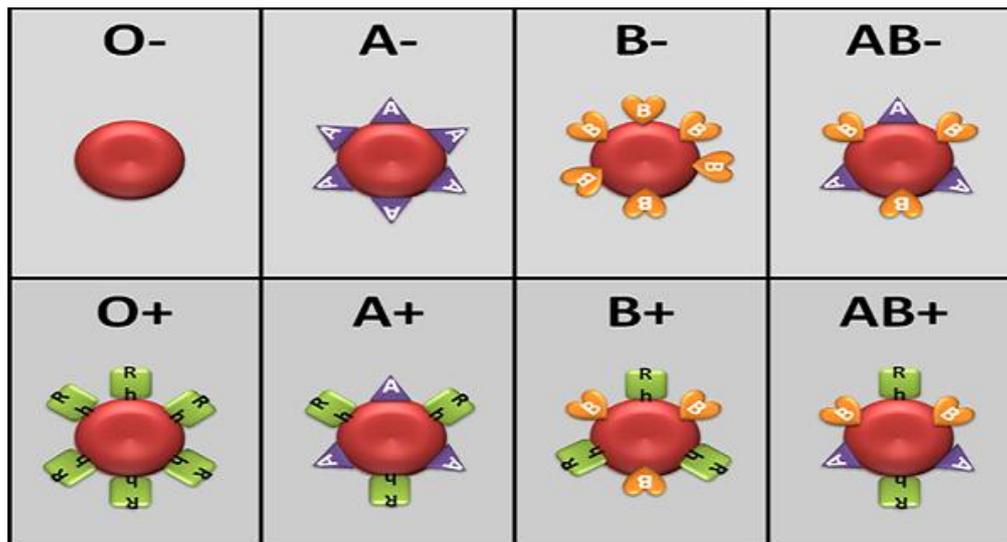


Fig N°1 : Les antigènes des groupes sanguins ABO et Rhésus <sup>(7)</sup>

### I-2-1-Etude génétique des antigènes du système ABO-H <sup>(8)</sup>

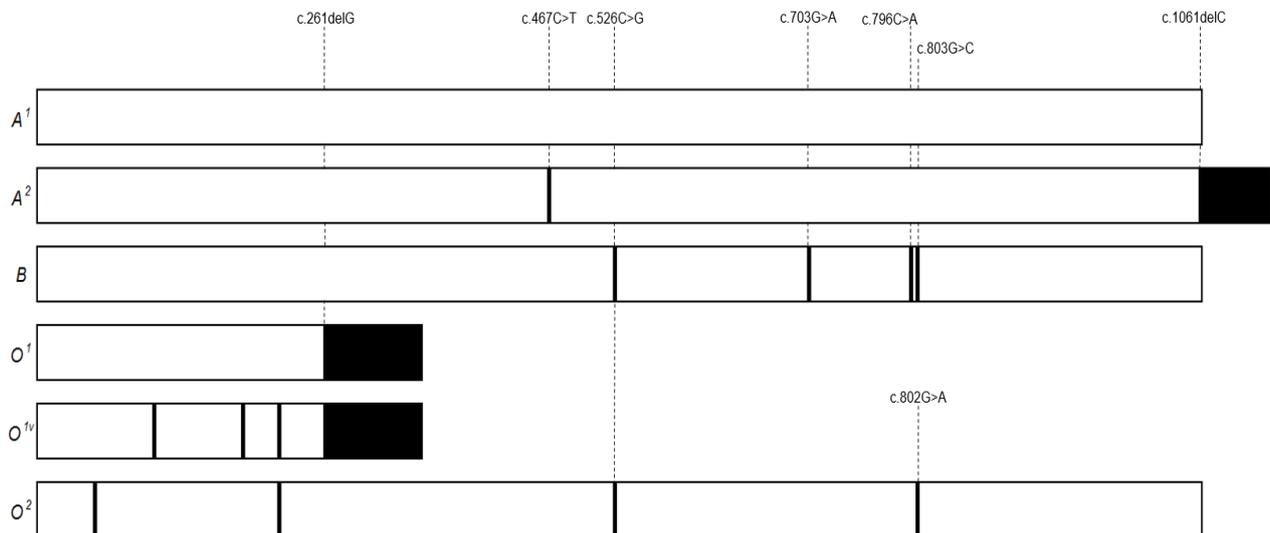
#### I-2-1-1-Gène du système ABO

La base moléculaire du système ABO, codant pour les enzymes A et B, a été mise en évidence par Yamamoto et al. en 1990. Le gène ABO est localisé sur le chromosome 9 (9q34) et comprend sept exons, dont les cinq premiers sont de très petite taille (respectivement 53 pb, 70 pb, 57 pb, 48 pb et 36 pb). La quasi-totalité de la séquence codant le site catalytique est contenu dans les exons 6 et 7, plus longs (134 pb et 1181 pb). Le gène s'étend sur 20 kb et code pour une glycoprotéine transmembranaire de 354 acides aminés.

La différence entre les allèles de référence A<sup>1</sup> et B, et donc entre les GTA et GTB, repose sur sept mutations nucléotidiques dont quatre entraînent une substitution d'acide aminé.

L'allèle O<sup>1</sup>, non fonctionnel, est caractérisé par la délétion d'un nucléotide en position 261 par rapport à l'allèle de référence A<sup>1</sup>, entraînant un décalage du cadre de lecture (frameshift) et une séquence d'acides aminés tronquée. Il existe d'autres allèles O non fonctionnels, soit sur une base de c.261 de l'IG avec des mutations supplémentaires comme l'allèle O<sup>1var</sup>, soit du fait d'autres

mécanismes comme l'allèle  $O^2$  résultant de quatre mutations faux-sens. Ces allèles « non délétionnels » sont néanmoins beaucoup plus rares que les allèles présentant la délétion. L'allèle  $A^2$  codant pour l'enzyme  $A_2$  a la particularité de présenter une délétion d'un nucléotide décalant le cadre de lecture à l'extrémité 3' du gène avec l'extension de 21 acides aminés supplémentaires (extra-domaine C-terminal). Cette extension de la protéine est à l'origine des propriétés catalytiques différentes de l'enzyme  $A_2$ .



**Fig N°2 :** Schématisation des transcrits des principaux allèles ABO

Les barres noires verticales indiquent les mutations entraînant des modifications d'acides aminés par rapport à l'allèle de référence  $A^1$ . Les motifs noirs indiquent un décalage du cadre de lecture jusqu'au codon stop généré.

### I-2-1-2-Gènes partenaires H et Se

**Le gène FUT<sub>1</sub> (H)** situé sur le bras long du chromosome 19 produit une enzyme la  $\alpha$ -1-2-L-fucosyltransférase. Cette enzyme transfère un  $\alpha$ -L-fucose sur le carbone 2 du galactose terminal du disaccharide précurseur. La substance H ainsi formée devient le substrat pour les antigènes A ou B. Le gène H ne produit donc pas l'antigène correspondant mais une enzyme produisant l'antigène H.

**Le gène FUT<sub>2</sub> (Se)** situé également sur le bras long du chromosome 19 code pour une enzyme  $\alpha$ -2-L-fucosyltransférase permettant la formation de l'antigène H sur des cellules différentes du globule rouge comme les cellules des glandes salivaires. Lorsqu'un individu présente ce gène, on dit qu'il est sécréteur. De ce fait, les cellules des glandes salivaires peuvent être de groupes différents des groupes sanguins selon s'il est ou non sécréteur.

### I-2-2-Etude biochimique du système ABO <sup>(8)</sup>

La structure biochimique des antigènes des systèmes de groupes sanguins ABO et H n'est connue que depuis une soixantaine d'années. Il s'agit de motifs glucidiques terminaux de chaînes

oligosaccharidiques reliées à des glycoprotéines membranaires du globule rouge (protéine de bande 2 majoritairement) ou à des glycosphingolipides (membranaires ou solubles), ou libres.

Ces chaînes oligosaccharidiques sont constituées d'une structure interne plus ou moins ramifiée et de structures périphériques également nommées « disaccharides précurseurs » qui seront les accepteurs de ces motifs glucidiques terminaux. Les travaux sur ces antigènes et ces précurseurs ont été à l'origine effectués à partir de mucines (protéines fortement glycosylées) issues notamment de kyste ovariens.

Il est d'intérêt d'évoquer les structures périphériques des chaînes oligosaccharidiques sur lesquelles sont fixés les antigènes ABO et H. Les disaccharides précurseurs majoritairement exprimés par les globules rouges sont de deux types :

- type 1 : Gal $\beta$ 1-3GlcNAc-R.
- type 2 : Gal $\beta$ 1-4GlcNAc-R.

Le précurseur de type 1 est exprimé dans les tissus dérivant de l'endoderme (épithéliums des voies digestives et respiratoires notamment), c'est le substrat accepteur pour la formation de l'antigène H de type 1 retrouvé dans les sécrétions et le plasma. Les antigènes LE1 (Lea) et LE2 (Leb) sont également synthétisés à partir de ce précurseur. Les dérivés de cette structure de type 1 sont exprimés par les hématies après adsorption passive depuis le plasma.

Le précurseur de type 2 est exprimé dans les tissus dérivant du mésoderme (lignée érythrocytaire, endothélium), c'est le substrat accepteur pour la formation de l'antigène H de type 2 exprimé constitutionnellement dans la lignée érythrocytaire et duquel dérivent les antigènes A et B érythrocytaires. Cet antigène H de type 2 est donc un antigène de haute fréquence présent chez la quasi-totalité de la population.

Les motifs glucidiques terminaux sont ajoutés de façon séquentielle par des enzymes de type glycosyltransférases (GT) catalysant leur transfert sur les disaccharides précurseurs. Les produits des allèles des gènes ABO, FUT<sub>1</sub> (ou H) et FUT<sub>2</sub> (ou Se) sont ainsi des glycosyltransférases catalysant les réactions de transfert de ces motifs sucrés.

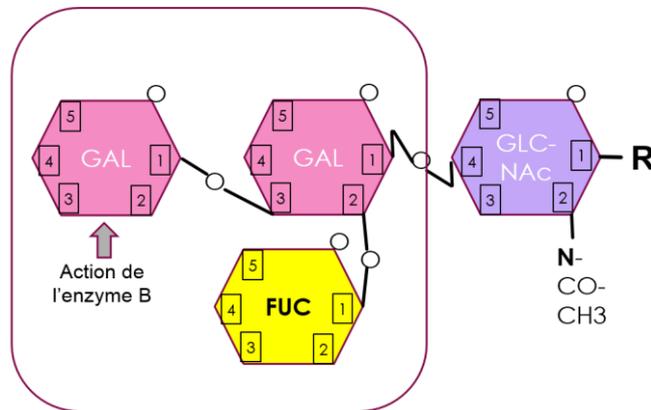
Les enzymes A et B utilisent respectivement l'UDP-GalNAc et l'UDP-Gal comme substrats donneurs. Ces sucres sont transférés en bout de chaîne oligosaccharidique sur un accepteur : le motif Fucose- $\alpha$  (1,2)-Galactose correspondant à l'antigène H, qui est indispensable à l'expression des antigènes A et B que ce soit au niveau érythrocytaire ou dans les tissus épithéliaux. L'antigène H est « consommé » par ces enzymes pour conversion en antigènes A et B.

L'expression de l'antigène H est donc minimale chez les sujets de phénotype (A<sub>1</sub>B) et maximale chez les sujets (O). Schématiquement, l'expression de l'antigène H selon les phénotypes ABO est : A<sub>1</sub>B < A<sub>1</sub> < B < A<sub>2</sub> < O.

- L'enzyme A est une  $\alpha$  (1,3) N-acétylgalactosaminyltransférase catalysant le transfert d'une molécule de N-acétylgalactosamine sur l'antigène H, au niveau du galactose terminal de la chaîne saccharidique. L'enzyme A peut utiliser comme accepteur des antigènes H de types 1 et 2.

- La différence entre les phénotypes A<sub>1</sub> et A<sub>2</sub> est quantitative par rapport au nombre de sites antigéniques A exprimés, respectivement de l'ordre de 1000000 et 200000. La différence entre phénotypes A<sub>1</sub> et A<sub>2</sub> n'a pas d'intérêt transfusionnel en pratique.

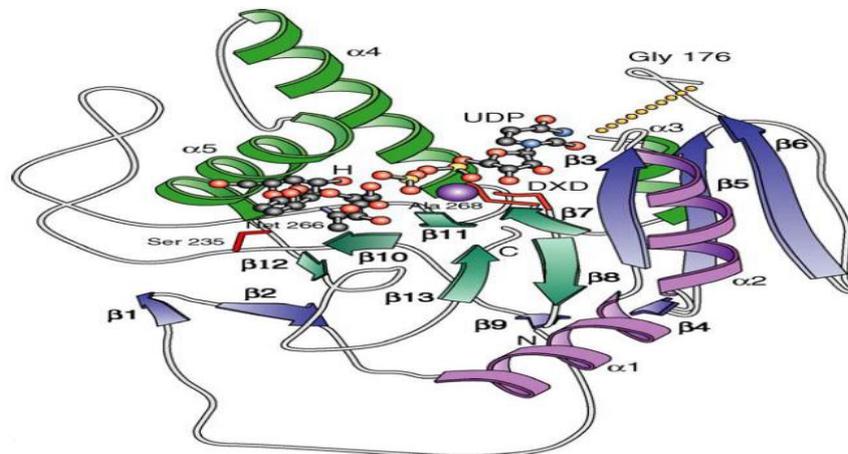
- L'enzyme B est une  $\alpha$  (1,3) galactosyltransférase catalysant le transfert d'une molécule de galactose également sur l'antigène H. L'enzyme B utilise les antigènes H de type 1 et 2 comme accepteurs.



**Fig N°3 :** Représentation schématique de l'antigène B érythrocytaire

Gal : Galactose ; GlcNAc : N-acétylglucosamine ; Fuc : Fucose ; R : Structure support. <sup>(8)</sup>

- Les enzymes A et B (ou galactosyltransférases [GT] A et B) ont été cristallographiées en 2002, leur relation structure–fonction est donc connue (figure 05).



**Fig N°4 :** Modélisation tridimensionnelle de l'enzyme B. <sup>(8)</sup>

Le substrat donneur (UDP-Galactose) et le substrat accepteur (antigène H) sont placés dans leurs poches catalytiques respectives

- Les enzymes A et B (GTA et GTB) sont classées dans les glycoprotéines transmembranaires de type II, elles sont localisées dans l'appareil de Golgi. Elles peuvent être clivées à leur base par des enzymes protéolytiques ce qui explique la présence des GTA et GTB solubles dans le plasma.

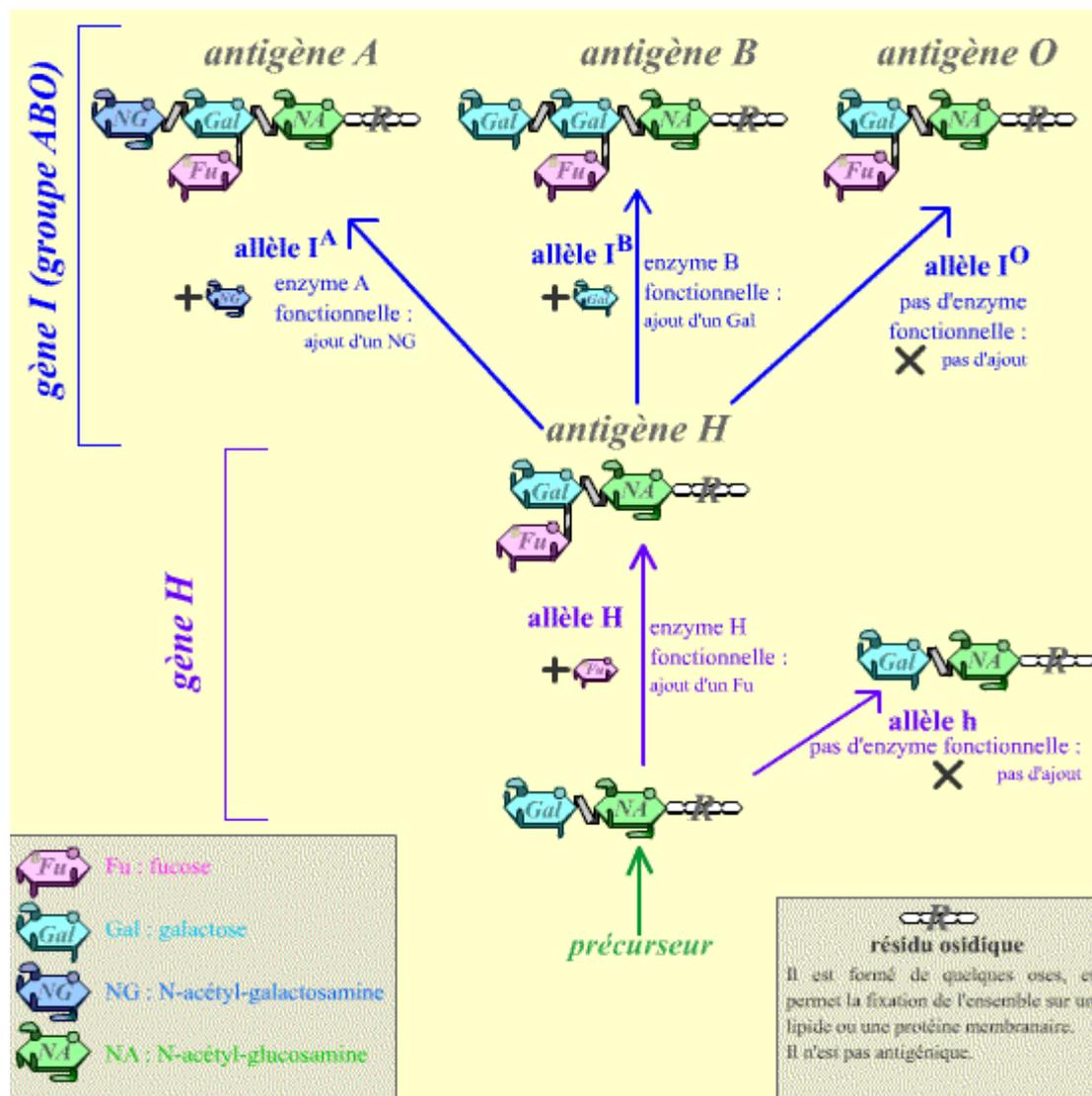


Fig N°5 : Schéma général de la biosynthèse des groupes sanguins ABO <sup>(9)</sup>

### I-2-3-Les phénotypes du système ABO

Il existe 6 phénotypes courants : A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B, O, A<sub>1</sub>B et A<sub>2</sub>B. <sup>(10)</sup>

#### I-2-3-1-Les phénotypes communs

Le système ABO comprend quatre antigènes A, B, AB et A<sub>1</sub>, en fonction de la réactivité avec les anticorps monoclonaux. Le système H, comprend un antigène de grande fréquence, précurseur biochimique des antigènes A et B. la détermination des groupes sanguins est basée sur la présence ou l'absence des antigènes A et/ou B à la surface des hématies et la présence « régulière » d'agglutinines naturelles, anti-A et anti-B correspondant aux antigènes absents des hématies. <sup>(11)</sup>

Phénotypes	Génotypes	Antigène sur le Globule rouge	Anticorps dans le plasma	Fréquence au sein de la population Algérienne <sup>(12)</sup>
<b>A</b>	A //A, O//A A//O	A	Anti-B	33%
<b>B</b>	B//B, O//B B//O	B	Anti-A	18%
<b>O</b>	O//O	Ni A, ni B	Anti-A et anti-B	44%
<b>AB</b>	A//B, B//A	A et B	Ni anti-A, ni anti-B	05%

### I-2-3-2-Phénotypes A<sub>1</sub>, et A<sub>2</sub> et substance H<sup>(11)</sup>

Lors de la détermination des groupes sanguins par l'épreuve directe, Von Dungern et Hirszfeld montrent que les sujets de groupe A testés avec une même agglutinine anti-A peuvent être divisés en deux groupes :

80% des individus ont des globules fortement agglutinés par cet anticorps, sujets de groupe A<sub>1</sub>.

20% ont des hématies plus faiblement agglutinées sujets de groupe A<sub>2</sub>.

Les allèles A<sub>1</sub> et A<sub>2</sub> codent pour une N-acétyl-galactosamine-transférase. Chez les sujets de phénotype A<sub>2</sub>, l'antigène H persiste à la surface cellulaire. Les sujets de phénotype A<sub>1</sub> possèdent, au contraire, une enzyme très active et l'antigène H, totalement masqué, ne peut plus être détecté. La distinction A<sub>1</sub>/A<sub>2</sub> ne présente pas d'intérêt clinique majeur.

### I-2-3-3-Sous groupe A intermédiaire (A<sub>Int</sub>)<sup>(11)</sup>

Les hématies de sujets A<sub>Int</sub> sont faiblement agglutinées par les réactifs anti-A<sub>1</sub> (à la différence des hématies A<sub>2</sub>) et les réactifs anti-H (à la différence des hématies A<sub>1</sub>). Le phénotype A<sub>Int</sub> est rare dans la population blanche et plus fréquent dans la population noire.

Phénotype	Anti-A <sub>1</sub>	Anti-H
<b>A<sub>1</sub></b>	+++	-
<b>A<sub>2</sub></b>	-	+++
<b>A<sub>Int</sub></b>	++	++

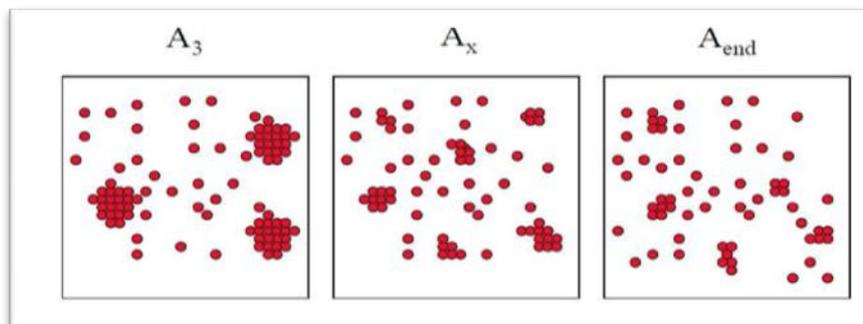
**I-2-3-4-Phénotypes A-faibles** <sup>(11)</sup>

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

- La réactivité des hématies avec les réactifs : Anti-A, -B, -A B, -H.
- La présence éventuelle d'une image de double population.
- La présence éventuelle d'un anti-A<sub>1</sub> 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.

Le dépistage de ces rares variétés relève le plus souvent de discordances entre les résultats de l'épreuve directe et de la contre épreuve ce qui constitue d'ailleurs une cause d'erreur dans la détermination du groupe sanguin.

On peut définir des groupes A dont la réactivité antigénique est inférieure à celle des hématies A<sub>2</sub> : ce sont les phénotypes A<sub>3</sub>, A<sub>end</sub>, A<sub>x</sub>, A<sub>m</sub>, A<sub>y</sub>, A<sub>el</sub> ... et la quantité d'Ag A est faible alors que la quantité d'Ag H est plus importante.



**Fig N°6** : Images d'agglutination de globules rouges A faible

**Tableau 04 : Caractéristiques sérologiques principales des phénotypes A faible** <sup>(11)</sup>

Phénotype	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-A1	Anti-H	Hématie B	Hématie A <sub>1</sub>	Hématie A <sub>2</sub>	Substance soluble A	Substance soluble H
A <sub>3</sub>	++/-	-	++/-	-	+++	+++	+ ou -	-	+	+
A <sub>x</sub>	(+)	-	+	-	+++	+++	+	-	-	+
A <sub>end</sub>	(+)/-	-	(+)/-	-	+++	+++	+ ou -	(+) ou -	-	+
A <sub>m</sub>	-	-	-	-	+++	+++	-	-	+	+
A <sub>el</sub>	-	-	-	-	+++	+++	+++	++ ou +	-	+
A <sub>y</sub>	-	-	-	-	+++	+++	-	-	(+)	+
A <sub>bantu</sub>	+	-	+	-	+++	+++	+	-	-	+
A <sub>lae</sub>	-	-	-	+	+++	+++	-	-	-	+
A <sub>finn</sub>	(+)	-	(+)	-	+++	+++	+	-	-	+

++/- ou +/- : double population. (+) : très faible agglutination.

**I-2-3-5-Phénotypes B-faibles** <sup>(11)</sup>

Ils sont moins fréquents, l'allèle B étant plus rare que l'allèle A et leur classification sérologique est également délicate du fait de leur extrême hétérogénéité et plusieurs classifications ont été proposées. Finalement, en l'absence de consensus, une classification des groupes B faibles par analogie à la classification des groupes A-faibles paraît la plus pratique et est certainement encore la plus utilisée. Toutefois, comme pour les groupes A-faibles, cette classification ne suppose pas une homogénéité sur le plan moléculaire. Des groupes B<sub>3</sub>, B<sub>x</sub>, B<sub>m</sub> et B<sub>el</sub> ont été décrits.

**Tableau 05 : Caractéristiques sérologiques principales des phénotypes B faible** <sup>(11)</sup>

phénotype	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-A1	Anti-H	Hématie B	Hématie A1	Hématie A2	Substance soluble B	Substance soluble H
B <sub>3</sub>	-	++/-	++/-	-	+++	-	+++	++	+	+
B <sub>x</sub>	(+) ou -	-	(+)	-	+++	+	+++	++	(+)	-
B <sub>m</sub>	-	-	-	-	+++	-	+++	++	+	+
B <sub>el</sub>	-	-	-	-	+++	(+) ou -	+++	++	+	-

++/- ou +/- : double population. (+) : très faible agglutination.

**I-2-4-Autres phénotypes rares du système ABO** <sup>(11)</sup>**1-2-4-1-Phénotype Cis-AB**

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 sont transmis par un seul allèle dénommé « Cis-AB ».

Dans le phénotype Cis-AB, l'Ag A est sensiblement normal, tandis que l'Ag B est plus ou moins affaibli (surtout dans les sécrétions), en même temps que partiel (comme l'atteste la présence d'un Ac anti-B sérique). Sur la base des réactions sérologiques, deux phénotypes principaux ont été rapportés : CisA<sub>1</sub>B<sub>3</sub> et Cis-A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>.

**I-2-4-2-Phénotypes B(A) et A(B)**

Entre 1986 et 1989, Beck a montré que les hématies d'environ 1 % des sujets B préalablement groupés à l'aide de réactifs polyclonaux, sont agglutinées par un anticorps monoclonal puissant anti-A. Ce phénotype est appelé B(A). Le phénomène est le fait d'une enzyme B puissante qui ajoute non seulement de grandes quantités de D-galactose (sucre de l'Ag B) au substrat H, mais également de petites quantités de N-acétyl-galactosamine (sucre de l'Ag A). Inversement, un phénotype A(B) a été mis en évidence par Voak à l'aide d'un anticorps monoclonal puissant anti-B.

### **I-2-4-3-Phénotype B acquis**

Il s'observe chez des sujets de groupe A<sub>1</sub>, 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 immuno-dominant de l'Ag A, la N-acétyl-galactosamine, en galactosamine, très proche du galactose, sucre immuno-dominant de l'Ag B. Ce phénomène est transitoire et ne dure que le temps de la vie des hématies ayant subi l'action de cette enzyme bactérienne.

### **I-2-4-4-Phénotype A acquis**

Berman a montré en 1972, que des hématies « polyagglutinables » de type Tn dont le sucre immuno-dominant est une N-acétylgalactosamine peuvent exprimer une antigénicité A. ce sont des modifications antigéniques au cours de pathologies malignes. De nombreuses études ont démontré que les cellules de tissus qui expriment normalement les antigènes ABH, peuvent perdre partiellement cette expression quand un processus malin se développe. On 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.

## **I-2-5-Phénotypes du système H <sup>(8)</sup>**

### **I-2-5-1-Phénotype H +**

L'antigène H est présent chez la quasi-totalité de la population. Néanmoins, sa réactivité avec les antisérums anti-H est très variable selon le groupe du patient O>A<sub>2</sub>>B>A<sub>2</sub>B>A<sub>1</sub>>A<sub>1</sub>B. Les groupes A<sub>1</sub> et A<sub>1</sub>B n'ont plus de réactivité avec les antisérums anti-H du fait que tous les antigènes H sont recouverts de l'antigène A.

### **I-2-5-2-Bombay H -**

En 1952, Bhende à Bombay découvre un sujet dont les globules rouges n'étaient agglutinés par aucun des sérums tests anti A, B, AB, H. Et pourtant dans son sérum un anticorps puissant actif à 37°C agglutinant les hématies O, A, B. Il s'agit donc d'individus qui ne sont pas de véritables O puisqu'ils sont totalement dépourvus de facteurs H.

Les Bombay ne possèdent pas le gène FUT<sub>1</sub> (H) et donc n'ont pas d'antigène H sur leurs globules rouge. Ce phénotype est dû à une mutation au niveau du gène qui conduit à la synthèse d'une enzyme H inactive. Ainsi la substance H devrait être considérée comme le précurseur immédiat des facteurs A ou B.

On voit que la présence du gène H est nécessaire pour qu'apparaissent les antigènes H, A, B.

### **I-2-5-3-H faible**

Ce phénotype est observé dans les populations européennes. Il est également présent sur l'île de la Réunion, où il coexiste avec le phénotype Bombay, compte tenu de l'existence d'une forte

population d'origine indienne. Cette faible production d'antigène H est due à une mutation génétique diminuant la capacité de synthèse de l'antigène H. La faible présence d'antigène H à la surface des globules rouges conduit à une faible présence des antigènes A et/ou B. Ce phénotype est noté : Oh, Ah, Bh.

## I-2-6-Les anticorps du système ABO

### I-2-6-1-Structure <sup>(6)</sup>

Les Ac sont des protéines du système immunitaire. Ce sont des glycoprotéines de la superfamille des immunoglobulines, formées de 4 chaînes polypeptidiques, dont 2 chaînes lourdes (CH) et 2 chaînes légères (CL), qui sont reliées entre elles par un nombre variable de ponts disulfures. Il existe une portion dite « constante » (fragment Fc) et une partie « Variable », responsable de la spécificité antigénique (très grand polymorphisme). Il existe 5 classes d'Immunoglobulines : IgG, IgM, IgA, IgD et IgE.

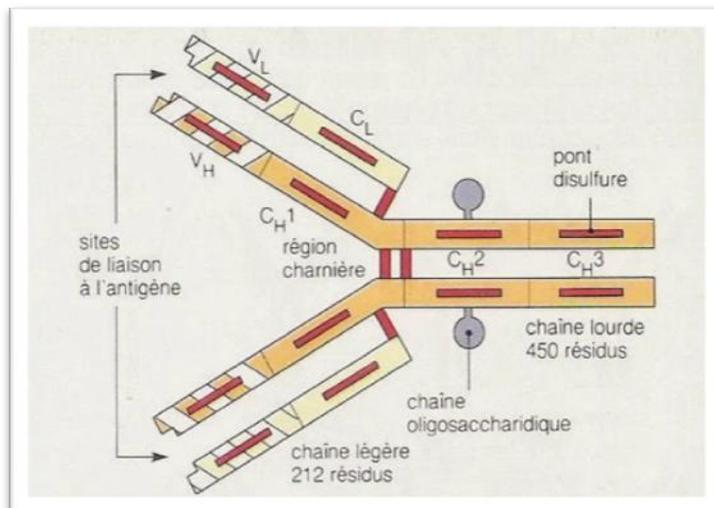


Fig N°7 : Structure de base d'une IgG

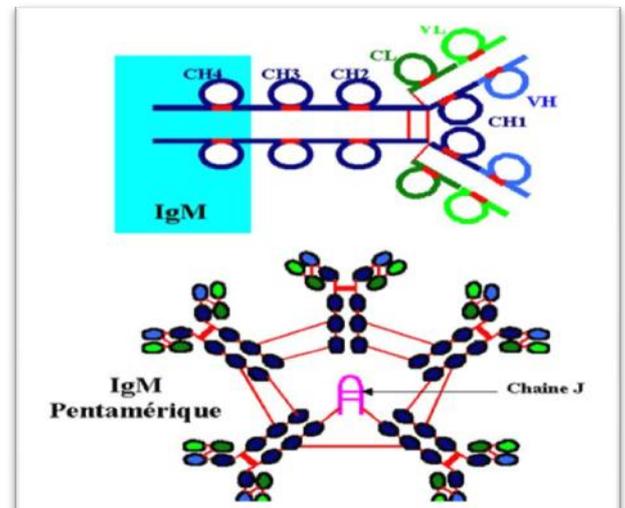


Fig N°8 : Structure pentamérique de l'IgM

### I-2-6-2-Nature des anticorps du système ABO <sup>(13)</sup>

#### 1-2-6-2-1-Anticorps naturels anti-A et anti-B

Ils sont constamment présents quand l'antigène correspondant est absent. Chez le nouveau-né il y a absence de toute agglutinine anti-A ou B qui lui soit propre et les agglutinines présentes sont celles de la mère.

Ces anticorps naturels ont les caractères sérologiques suivants :

- Ils sont capables d'agglutiner les hématies en suspension saline.
- Ils ont un faible pouvoir hémolysant in vitro.
- Ils sont toujours plus actifs à 4°C qu'à 37°C : on dit que leur optimum thermique est bas.
- Ils sont absorbés facilement par des substances hydrosolubles de caractères A et B.

- Ils sont thermolabiles : leur activité agglutinante disparaît après un chauffage de 10 mn à 70°C
- Ces anticorps sont habituellement des **IgM** sensibles à l'action d'agents réducteurs qui rompent les liaisons disulfures (2-Mercapto-Ethanol).

#### **I-2-6-2-2-Anticorps immuns du système ABO**

Ils sont inconstants et transitoires, ils surviennent à la suite d'hyper-immunisation :

- Par allo-immunisation, exceptionnellement d'origine transfusionnelle, en cas de transfusion incompatible (sang A injecté à un sujet O) ou par immunisation maternelle aux antigènes A ou B d'origine fœtale quand la mère est du groupe O et s'immunise le plus souvent contre l'antigène A.
- Par hétéro-immunisation, notamment par produits médicamenteux, en particulier vaccins, sérums tels l'anatoxine diphtérique ou tétanique.

Ils présentent un certain nombre de caractères les opposant aux anticorps naturels :

- Ce sont des anticorps chauds dont l'optimum thermique est de 37°C.
- Ils sont de nature incomplète ne provoquent pas d'agglutination en sérum physiologique et sont révélés par la réaction de Coombs.
- Ils possèdent un pouvoir hémolytique prononcé in vitro en présence de complément.
- Ils sont relativement thermostables et résistent à un chauffage à 70° C pendant 10 mn.
- Ces anticorps immuns sont des **IgG**, et traversent le placenta.

#### **I-2-6-2-3-Auto anticorps**

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

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

#### **1-2-7-Hérédité des groupes ABO <sup>(3)</sup>**

L'hérédité des groupes ABO ne fut précisée qu'en 1924, par Bernstein : sur une paire de chromosomes, un couple de loci homologues peut recevoir 2 gènes parmi la série polyallélique A, B et O :

- Le gène A fait apparaître l'Ag A
- Le gène B fait apparaître l'Ag B
- Le gène O est un gène amorphe : il ne fait apparaître aucun produit connu (ce n'est donc pas un gène récessif)

Le groupe sanguin d'un enfant est fonction de celui de ses parents. Il est en effet défini par rapport au groupe de ses parents, lequel se base sur deux allèles. Ci-dessous le tableau indiquant les différentes combinaisons possibles.

<b>Tableau 06 : Hérité des groupes ABO</b> <sup>(14)</sup>							
		<b>Parent 2</b>					
		<b>A/O (A)</b>	<b>A/A (A)</b>	<b>A/B (AB)</b>	<b>B/B (B)</b>	<b>B/O (B)</b>	<b>O/O (O)</b>
<b>Parent 1</b>	<b>A/O (A)</b>	A/A (A) A/O (A) O/O (O)	A/A (A) A/O (A)	A/A (A) A/O (A) A/B (AB) B/O (B)	A/B (AB) B/O (B)	A/B (AB) A/O (A) B/O (B) O/O (O)	A/O (A) O/O (O)
	<b>A/A (A)</b>	A/A (A) A/O (A)	A/A (A)	A/A (A) A/B (AB)	A/B (AB)	A/B (AB) A/O (A)	A/O (A)
	<b>A/B (AB)</b>	A/A (A) A/O (A) A/B (AB) B/O (B)	A/A (A) A/B (AB)	A/A (A) A/B (AB) B/B (B)	A/B (AB) B/B (B)	A/B (AB) A/O (A) B/B (B) B/O (B)	A/O (A) B/O (B)
	<b>B/B (B)</b>	A/B (AB) B/O (B)	A/B (AB)	A/B (AB) B/B (B)	B/B (B)	B/B (B) B/O (B)	B/O (B)
	<b>B/O (B)</b>	A/B (AB) A/O (A) B/O (B) O/O (O)	A/B (AB) A/O (A)	A/B (AB) A/O (A) B/B (B) B/O (B)	B/B (B) B/O (B)	B/B (B) B/O (B) O/O (O)	B/O (B) O/O (O)
	<b>O/O (O)</b>	A/O (A) O/O (O)	A/O (A)	A/O (A) B/O (B)	B/O (B)	B/O (B) O/O (O)	O/O (O)

### I-3-Le système Rhésus

La découverte du système Rhésus fut un très grand événement pour l'immuno-hématologie. Cependant, même après des années d'études intensives, ce système est encore mal compris et difficile à présenter. Ces difficultés tiennent à trois faits : une nomenclature imprécise, un grand nombre d'antigènes, l'absence de données biochimiques <sup>(6)</sup>. La difficulté de l'étude du système Rhésus est accrue par l'existence de plusieurs nomenclatures. Il y a deux nomenclatures classiques, celles de Fisher-Race (GB) et de Wiener (USA). Une troisième nomenclature, celle de Rosenfield, entièrement numérique, est extrêmement difficile à retenir et à manier. Ainsi le premier antigène découvert fut dénommé Rhésus ou Rhô (Wiener) ou Facteur D (Race). <sup>(15)</sup>

Nomenclature de FISHER/RACE	Nomenclature ISBT
D	RH1
C	RH2
E	RH3
C	RH4
E	RH5

### I-3-1-Les antigènes du système Rhésus <sup>(16)</sup>

Les antigènes du système Rh sont définis par une famille de polypeptides non glycosylés.

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.

Ces antigènes sont localisés sur deux protéines RhD et RhCE qui traversent la membrane du globule rouge. Ces deux protéines sont codées par deux gènes homologues localisés sur le chromosome 1p34-p36.

Des études ont postulé l'hypothèse que le rôle physiologique de la protéine est le transport de l'ammonium et le dioxyde de carbone via la membrane du globule rouge et le maintien de son intégrité.

**Gène 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 Rhd, ni d'antigène d). Il existe donc 3 combinaisons alléliques possibles, conduisant à 2 phénotypes : D+ ou D- .

Génotype		Phénotype	Fréquence Algériens <sup>(12)</sup>
Allèle 1	Allèle 2		
D	D	D +	93%
D	-		
-	-	D -	07%

**Gène RHCE :** Responsable de la synthèse des antigènes C, c, E et e.

C et c diffèrent d'un acide aminé critique en position 103, alors que les antigènes E et e, diffèrent d'un acide aminé en position 226.

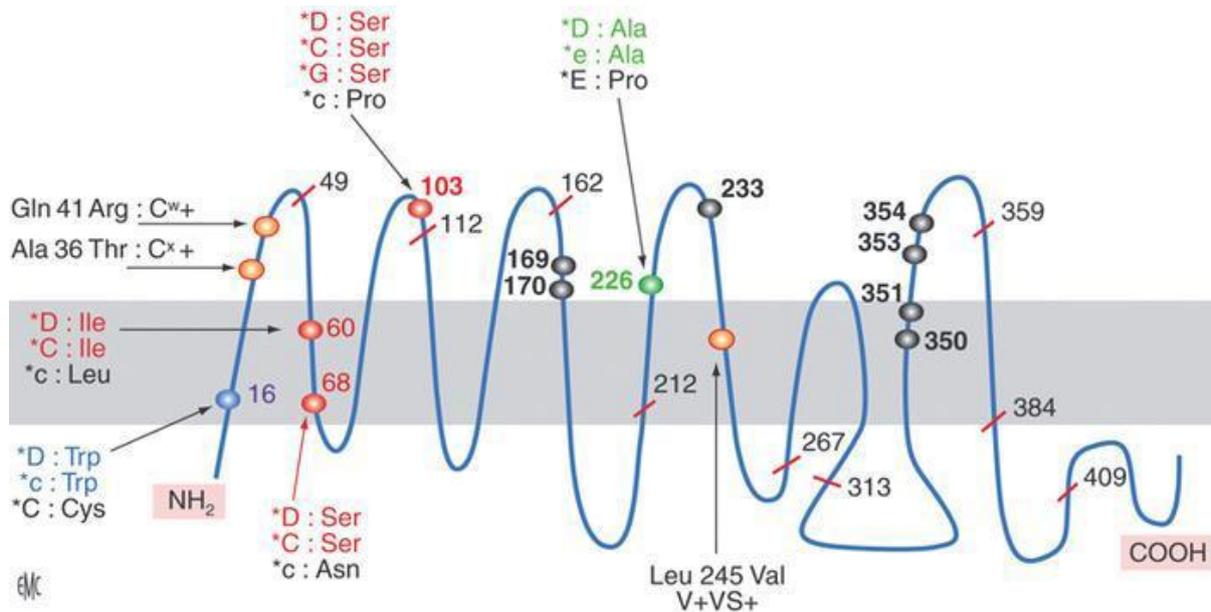


Fig N°9 : La protéine Rh <sup>(17)</sup>

La protéine Rh comporte 6 boucles extracellulaires, 5 intracellulaires et 12 segments intramembranaires. Les extrémités NH<sub>2</sub> et COOH sont en position intracellulaire. Elle compte 417 acides aminés. 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).

Antigènes	Fréquence en Algérie
RH1 (D)	93%
RH2 (C)	68%
RH3 (E)	18%
RH4 (c)	81%
RH5 (e)	99%

**I-3-2-Les phénotypes du système Rhésus**

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

**I-3-2-1-L'antigène D : RH1** : Le plus immunogène, définit le groupe RH standard ou Rh positif, et son absence : RH : -1, le Rh négatif.

**I-3-2-2-Les antigènes C (RH2), E (RH3), c (RH4), e (RH5)** : Ils sont antithétiques : Quand l'un est absent, l'autre est systématiquement présent.

Le polymorphisme E/e résulte d'une substitution (pro→ala) en position 226 causée par une mutation C-G du nucléotide 676 du gène CE. Le polymorphisme C/c résulte d'une substitution (ser→pro) en position 103 causée par une mutation T-C du nucléotide 307 du gène CE. Les autres polymorphismes résultent essentiellement d'évènements de conversion entre les gènes Rh ou bien de mutations ponctuelles.

**I-3-2-3-Phénotypes D faible** : Ces phénotypes sont caractérisés par un niveau d'expression membranaire diminué de l'antigène RhD. c'est un déficit quantitatif. Bien que les performances des techniques de routine aient évolué, la mise en évidence de tel variant peut toujours faire appel à des techniques sérologiques complémentaires comme le test indirect à l'anti-globuline, voire la fixation-élution.

**I-3-2-4-Phénotype D partiel** : L'antigène D de ces sujets est caractérisé par l'absence d'un ou de plusieurs épitopes. C'est un défaut qualitatif. Certains sujets Rh positif, pouvaient faire un anticorps anti-D, et on les considère alors comme des D partiels, que l'on doit transfuser en Rh négatif.

### **I-3-3-Les anticorps du système Rhésus** <sup>(16)</sup>

Il s'agit toujours d'anticorps irréguliers. C'est-à-dire que l'absence de l'antigène n'entraîne pas la présence de l'anticorps correspondant (contrairement au système ABO où l'absence de l'antigène A ou B sur le globule rouge doit entraîner systématiquement la présence de l'anticorps dans le plasma).

Il peut s'agir d'allo-anticorps, chez le sujet sain, ou d'auto-anticorps dans les maladies et anémies auto-immunes.

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.

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.

## I-4-Autres systèmes de groupe sanguin

Ils sont classés dans la série des groupes immunogènes, ils sont, cependant, moins immunogènes que le système Rhésus. Ils sont particulièrement impliqués chez les polytransfusés (tels les thalassémiques). De point de vue immunogénicité, le Kell vient immédiatement après le Rhésus.

- **Système Lewis** : il est classiquement rattaché au système ABO car il possède la même substance de base. Ce n'est pas un système de groupe sanguin car les antigènes ne sont pas partis intégrante de la membrane du globule rouge, ils sont produits par les glandes salivaires, déversés dans le plasma puis adsorbés sur les globules rouges. Il existe deux antigènes Lewis : Le(a) et Le(b) produit par le gène Le.

- **Système Kell**: l'antigène Kell (K) a été découvert en 1946 à la suite d'une allo-immunisation fœto-maternelle avec maladie hémolytique du nouveau-né. Ce système revêt une importance sur le plan pratique en raison de son fort pouvoir immunogène, les antigènes correspondants qui sont à l'origine de l'allo-immunisation transfusionnelle et fœto-maternelle.

- **Système Duffy**: il occupe la 4<sup>e</sup> place après l'ABO, Rhésus et Kell

- **Système Kidd**: c'est le premier système réputé immunisant, composé de deux antigènes JK(a) et JK(b). Seul l'antigène JK(a) est incriminé et semble être aussi immunisant que l'antigène Fy(a). L'anticorps produit est souvent difficile à mettre en évidence. Il est néanmoins responsable d'accidents transfusionnels et maladie hémolytique du nouveau-né.

- **Système MNSs**: classé comme étant immunogène à cause de l'antigène S (+++) et s (+), l'antigène MN n'a pratiquement aucune influence transfusionnelle.

- **Autre**: système Diégo, Xg, Colton, Dombrock, Scianna.

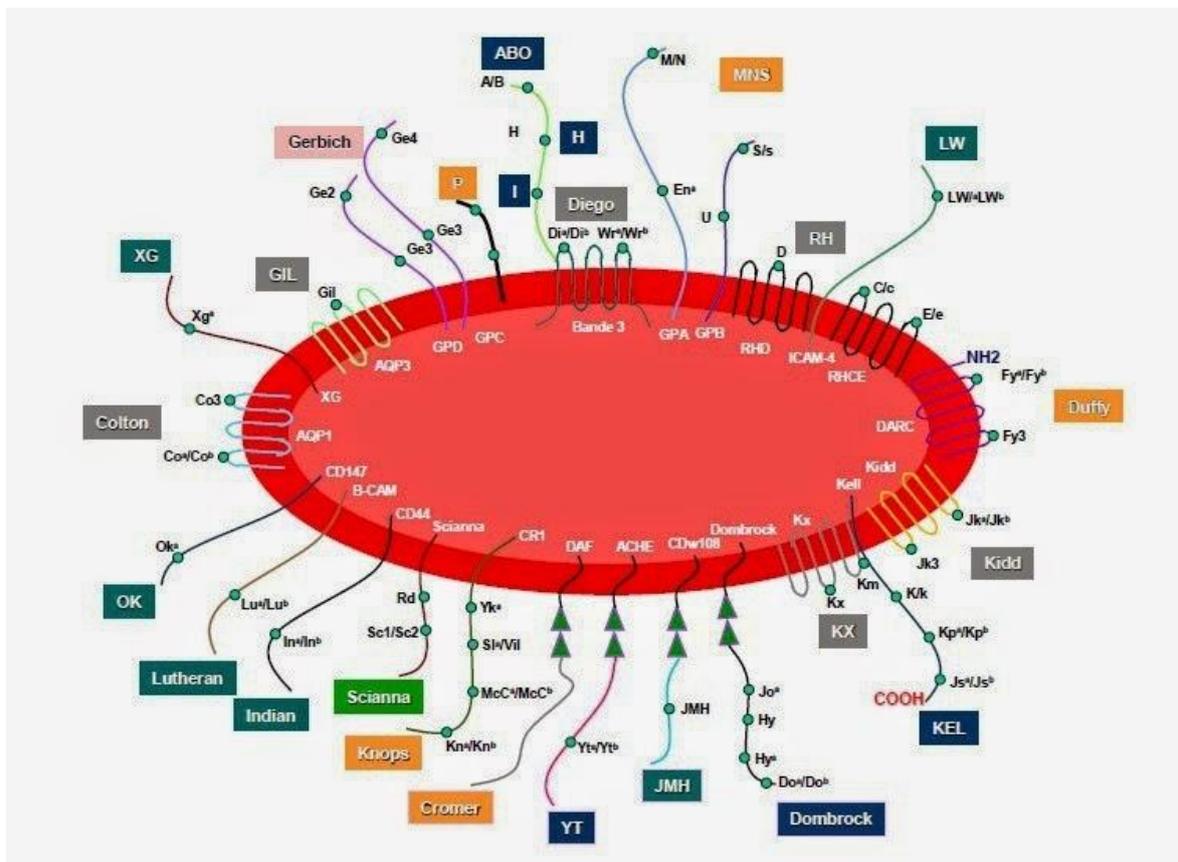


Fig N° 10 : Les antigènes des groupes sanguins <sup>(17)</sup>

## I-5-Détermination du groupe sanguin ABO/RH

Pour déterminer le groupage ou le phénotypage, il faut rechercher l'antigène à la surface des globules par l'intermédiaire d'anticorps qui sont le plus souvent des anticorps monoclonaux. Le principe consiste à mettre en contact un sérum contenant l'anticorps spécifique à l'antigène (anti-sérum) aux globules rouges du patient, après un temps d'incubation plus ou moins long qui permet de laisser le temps aux anticorps de venir à la rencontre des antigènes et de s'y fixer. Si l'anticorps se fixe à l'antigène, alors le patient contient l'antigène correspondant à l'anticorps. Par exemple, si un antisérum anti-A est utilisé qu'il est mis en contact avec les hématies du patient, et qu'il y a formation du complexe immunitaire antigène-anticorps, alors le patient possède l'antigène A.

La réaction antigène-anticorps est appelée **agglutination**. Celle-ci peut être soit visible à l'oeil (essentiellement produit par les anticorps anti-IgM), soit elle doit être mise en évidence par un anticorps anti-anticorps (antiglobuline). Cet anticorps a la capacité de se fixer aux fractions Fc des immunoglobulines afin de faire un réseau entre les globules rouges et ainsi faire apparaître l'agglutination. Cette antiglobuline est essentiellement utilisée afin de mettre en évidence des réactions de sensibilisation par des anticorps IgG. <sup>(17)</sup>

### I-5-1-Techniques classiques <sup>(17)</sup>

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

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

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

- **Epreuve plasmatique (Simonin-Michon) pour le système ABO** : Cette épreuve consiste à mettre en évidence les anticorps du système ABO contenus dans le plasma du patient à l'aide de globules rouges de groupe ABO connu (hématies testes). Lors de cette épreuve, il est utilisé des globules rouges de groupe A1 et des globules rouges B (hors difficulté de groupe). Un individu de groupe A possède les anti-B, le plasma conduira à une agglutination avec les globules rouges de groupe B ou de groupe AB. Un individu de groupe B possède des anti-A et des anti-A<sub>1</sub>, le plasma conduira à une agglutination avec les hématies de groupe A. Les individus O possèdent des anti-A, des anti-B, des anti-AB et des anti-A<sub>1</sub>, le plasma conduira à une agglutination avec les hématies A, B et AB, alors que les individus de groupe AB ne possèdent pas d'anticorps, il n'y aura donc aucune réaction avec les différentes hématies.

- **Détermination du Rhésus** : La réalisation du groupe RhD qui est indissociable du groupage ABO, elle comporte obligatoirement l'utilisation d'un sérum-test anti-D et d'un réactif témoin lui correspondant, ce dernier étant de composition strictement identique au sérum-test anti-D et dépourvu d'activité anticorps.

Une **détermination** repose sur deux réalisations exécutées par deux techniciens différents.

Le résultat du groupage ABO-RhD ne sera considéré comme valide qu'après **une deuxième détermination sur un deuxième prélèvement réellement différent** et dont le résultat est concordant avec celui de la première détermination.

#### 1-5-1-1-Technique classique en plaque et en tube

Ce sont les méthodes historiques. Elles ont peu évolué sauf en ce qui concerne la nature du support et du dispositif d'agitation. Schématiquement, un volume d'hématies est mélangé à un volume de réactif ou du réactif témoin de phénotype RH1. Sur plaque, après une incubation du mélange réactionnel à température ambiante selon les préconisations du fournisseur, la réaction est lue par l'opérateur. En tube, après homogénéisation du mélange, ce tube est ensuite centrifugé de façon modérée afin de mettre les hématies au fond du tube. Par une agitation douce, les globules rouges

libres se diluent dans le tube, alors que s'il y a eu réaction d'agglutination, un amas reste au fond du tube. Cette méthode est très utilisée lors de difficultés de groupage sanguin, car elle permet une meilleure visibilité réactionnelle entre l'anticorps et l'antigène.

### **1-5-1-2-Filtration**

Cette technique nécessite l'utilisation d'une cassette. Cette cassette est constituée d'une micro-cupule pour mettre les globules du patient, surmontant une colonne de filtration. Cette colonne de filtration contient des micro-billes ou du gel et l'anti-sérum de l'antigène à rechercher. Après avoir mis les globules rouges dilués du patient dans la cupule, la cassette est centrifugée. Lors de cette centrifugation, les globules rouges sont dirigés au fond de la colonne de filtration. Pendant cette phase de migration, les hématies possédant l'antigène recherché vont se sensibiliser (fixation de l'anticorps). Ce complexe immun va donc avoir une taille plus importante qu'initialement et va être bloqué par les billes ou le gel. Il ne va donc pas atteindre le fond de la colonne. Cette technique peut-être automatisée.

### **1-5-1-3-Microplaque**

Cette technique est identique à celle en tube. Elle a été mise en place afin de permettre l'automatisation de la méthode en tube. La réaction se fait donc dans des micro-cupules positionnées sur une plaque. La lecture de la réaction est réalisée par le lecteur de l'automate.

### **I-5-1-4-Fixation élution**

Cette technique ne constitue pas une analyse de routine, elle est utilisée afin de déterminer les variantes antigéniques faibles du système ABO lorsque la détermination du groupage sanguin ABO n'a pu être effectuée.

Le principe de la technique de fixation et/ou de l'élution repose sur la dissociation de l'anticorps fixé in vitro, par modification des conditions physico-chimiques de la réaction antigène-anticorps, et le récupérer pour étudier sa spécificité.

Elle permet autant de mettre en évidence une faible quantité d'anticorps anti-A ou/et anti-B présents dans le plasma du patient, que de mettre en évidence la présence d'antigène A ou d'antigène B à la surface des globules rouges.

### **I-5-1-5-Recherche d'hémolysines anti-A et anti-B immunes**

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

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

## **I-5-2-Techniques modernes <sup>(18)</sup>**

### **I-5-2-1-Technique automatique de groupage sanguin**

Le principe de la technique automatique de groupage sanguin repose sur la mise en évidence de l'agglutination par lecture photométrique ou magnétique en effectuant toutes les étapes automatiquement.

Certains appareils permettent d'effectuer le groupage sanguin par cytométrie en flux, technique peu ou pas utilisée en routine.

### **I-5-2-2-Méthodes de biologie moléculaire**

Depuis l'an 2000, les méthodes de biologie moléculaire constituent un élément complémentaire important des analyses approfondies réalisées en vue du diagnostic des groupes sanguins sur des échantillons de sang de patients (receveurs).

Elles sont essentiellement appliquées dans les situations suivantes:

- Identification correcte du D faible.
- Détermination du groupe sanguin du receveur initial à partir d'échantillons de patients transfusés antérieurement.
- Détermination d'allo-anticorps spécialement contre des antigènes de groupes sanguins rares.
- Dans le domaine des transplantations de cellules souches hématopoïétiques.

### **Technique de PCR**

Le principe de la technique de PCR repose sur l'étude de l'ADN après extraction, amplification, séquençage puis analyse en électrophorèse sur gel de polyacrylamide.

Ainsi 27 allèles A, 15 allèles B et au moins 26 allèles O sont aujourd'hui décrits, sans tenir compte de plusieurs allèles hybrides qui ont été également rapportés.

La connaissance des bases moléculaires a permis de projeter le système ABO parmi les systèmes de groupe sanguin les plus discriminants en termes de polymorphisme.

### **I-5-3-Test Direct à l'Antiglobuline <sup>(17)</sup>**

Le Test Direct à l'Antiglobuline (TDA), anciennement Test de Coombs Direct (TCD), permet, grâce à un sérum d'antiglobuline humaine, de révéler la présence d'anticorps fixés sur l'antigène correspondant, à la surface de l'hématie *in vivo* et susceptible d'entraîner leur destruction (hémolyse).

L'antiglobuline utilisée est essentiellement de deux classes : un anti-IgG ou un anti-Complément.

L'antiglobuline Anti-IgG est composée d'immunoglobulines dirigées contre le fragment Fc de l'IgG. Celle-ci peut donc mettre en évidence des anticorps de type IgG fixés sur les globules rouges testés.

L'antiglobuline de type anti-complément est essentiellement composée d'anti-C3d. Le C3d est présent en grande quantité et de façon relativement stable à la surface des globules rouges sensibilisés *in vivo* à la suite de l'activation du complément par certains complexes immuns anticorps-antigène.

Le Test Direct à l'Antiglobuline (TDA) est essentiellement utilisé lors de la recherche de Maladies Hémolytiques du Nouveau-Né (MHNN), d'une réaction transfusionnelle, d'Anémie Hémolytique Auto-Immune (AHAI) et d'anémie hémolytique d'origine médicamenteuse afin de révéler un conflit immunologique.

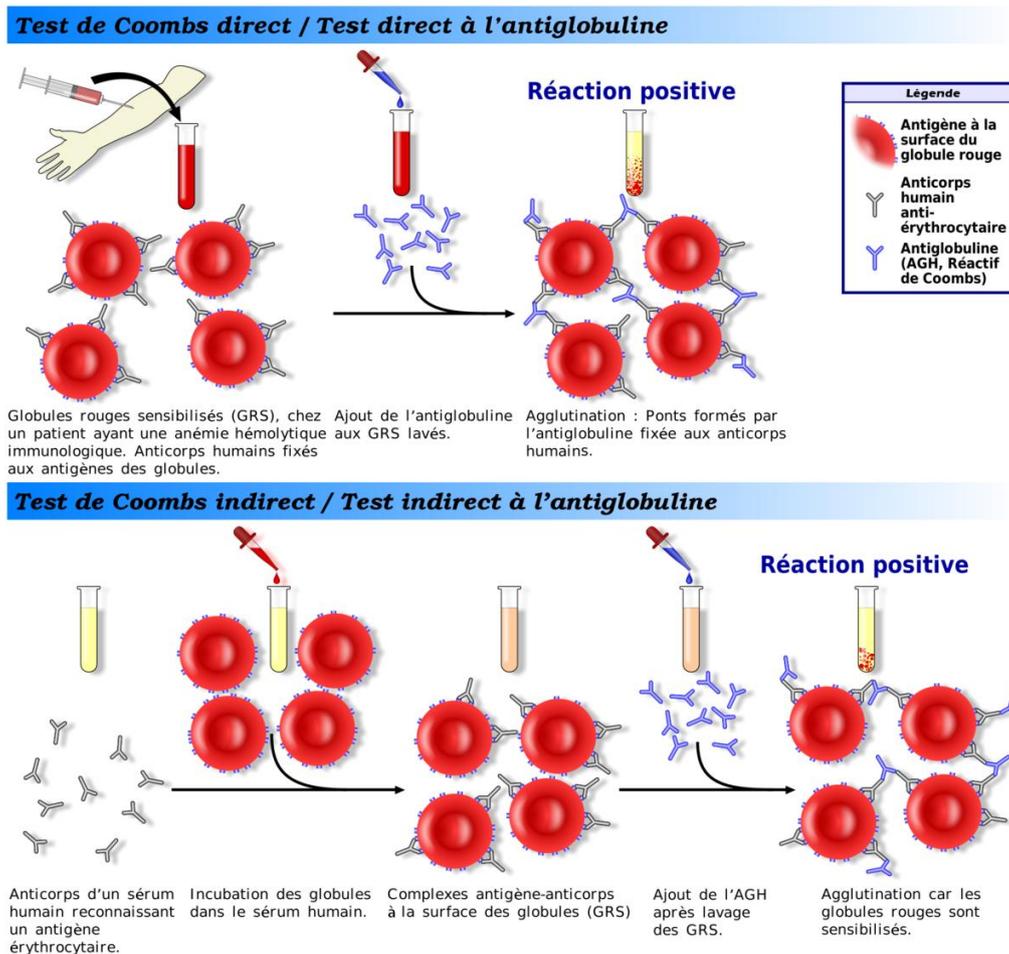
### **I-5-4-Test Indirect à l'Antiglobuline <sup>(17)</sup>**

Ce test permet, grâce à un sérum antiglobuline humaine, de révéler la présence d'anticorps spécifique fixé sur l'antigène correspondant à la surface de l'hématie, non visible spontanément.

Le test de coombs indirect est utile dans la détermination de certains phénotypes érythrocytaires ou bien dans la recherche des agglutinines présentes dans le sérum. La réaction comporte deux temps :

- Fixation de l'anticorps sur les hématies par l'incubation de la suspension globulaire avec le sérum étudié, pendant plusieurs minutes.

- Après éventuellement, un lavage des hématies en milieu salin (destiné à éliminer toute trace d'immunoglobulines sériques libres qui risqueraient d'inhiber l'antiglobuline), les hématies sont mises en présence du sérum antiglobuline qui permet la mise en évidence de l'éventuelle réaction positive, par la création d'un réseau.



**Fig N°11 : Test de Coombs** <sup>(19)</sup>

## I-6-Validation analytique du groupe sanguin standard

<sup>(2)</sup>

Comme pour toute analyse phénotypique, la validation analytique des analyses du groupage sanguin ABO-RH1 repose sur :

- Des résultats conformes de contrôles internes de la qualité (CIQ) qui doivent être réalisés au moins une fois par jour et lors de tout changement de flacon de réactifs. Il s'agit d'une série d'échantillons de contrôle de phénotypes garantis comprenant au minimum, pour le groupe sanguin ABO, un échantillon de groupe A, un échantillon de groupe B et un échantillon de groupe O, pour la détermination du phénotype RH1, un échantillon sera groupe RH1.

- L'absence d'ambiguïté réactionnelle avec chaque réactif. Les réactions doivent être franches et les agglutinats, «puissants». Dans le cas contraire, des explorations complémentaires devront être réalisées.
- L'absence de double population (DP). Il s'agit d'une situation malheureusement non rare du fait des prescriptions d'analyse faites alors que le patient a été récemment transfusé. La détection d'une DP est parfois difficile et pratiquement toujours plus performante par l'œil de l'opérateur que par la lecture de l'automate.
- De la cohérence absolue des réactions observées entre les épreuves globulaires et plasmatiques pour le groupage ABO. Toute incohérence impose une exploration complémentaire (témoin AUTO, témoin AB, témoin ALLO).
- De la négativité du témoin réactif réalisé dans le cadre de la détermination du phénotype RH1. Un témoin positif témoigne en effet de la sensibilisation in vivo des hématies du patient et rend ininterprétable la réaction observée avec le réactif spécifique anti-RH1.
- De l'absence de divergence entre deux réalisations ou de discordance avec une antériorité de résultat, ces deux dernières exigences étant vérifiées par l'informatique de laboratoire.

Chacune des situations que nous venons d'évoquer impose de ne pas rendre le résultat et nécessite des explorations complémentaires pour expliquer ou lever l'anomalie observée et un éventuel conseil transfusionnel dans l'attente du résultat en cas de besoin transfusionnel urgent.

## **I-7-Don du sang et transfusion sanguine**

Près de 112.5 millions de dons de sang sont collectés chaque année dans le monde <sup>(20)</sup>, ils permettent de soigner des millions de malades par an. Les produits sanguins sont utilisés pour répondre aux besoins de personnes souffrant de maladie du sang, ou de certains cancers et dans des situations d'urgence lors d'hémorragies suite à une intervention chirurgicale ou un accouchement.

<sup>(21)</sup>

### **I-7-1-Le don du sang <sup>(21)</sup>**

#### **1-7-1-1-Conditions pour donner son sang**

Peut-être donneur toute personne majeure jusqu'à 60 ans ou 65 ans selon le type de dons. Les personnes souffrant de maladie sanguine et sexuellement transmissible ne peuvent donner leur sang. De plus les personnes possédant un des critères suivant sont interdites de don :

- Personne pesant moins de 50 kilogrammes.
- Les personnes prenant certains médicaments.
- Les personnes ayant subi une opération, un tatouage ou un piercing les 4 mois précédant le don.
- Les personnes revenues depuis moins de 4 mois de zone où le risque de MST est fort.

-Les personnes ayant reçu une transfusion sanguine.

La validité de la personne quant à la possibilité de donner son sang se fait par entretien médical, mais le don en lui-même reste anonyme

### **I-7-1-2-Les différents composants du sang**

Le sang circule dans les vaisseaux à travers tout l'organisme. C'est un tissu vivant, composé de cellules qui baignent dans un liquide appelé plasma. La masse sanguine est d'environ cinq litres pour homme un adulte.

#### **- Les globules rouges**

Ce sont les cellules les plus nombreuses dans le sang, avec une concentration d'environ cinq millions par millimètre cube. Également appelés érythrocytes ou hématies, les globules rouges ont pour rôle de transporter l'oxygène des poumons vers les tissus et, en retour, de capter le gaz carbonique au niveau des tissus afin de l'éliminer par les voies respiratoires. Après un don, ils se conservent jusqu'à 42 jours entre 2°C et 6°C.

#### **- Les plaquettes**

Ce sont des cellules qui interviennent pour prévenir ou arrêter les hémorragies. Elles peuvent être conservées pendant 5 jours, à 22°C.

#### **- Le plasma**

Il représente à lui seul 55 % du volume sanguin. Composé à 90 % d'eau chargée de sels, il est également très riche en protéines, notamment en albumine et immunoglobulines. Il contient aussi des facteurs de coagulation. Congelé à -25°C, il se conserve pendant un an. De nombreux médicaments sont fabriqués à partir du plasma. Ils peuvent agir sur la coagulation et traiter des pathologies chez des patients notamment celles qui altèrent les défenses immunitaires sont altérées.

### **I-7-1-3-Les différents types de don de sang**

Le don de sang dit « total » est le plus courant, mais il est également possible de donner uniquement ses plaquettes ou son plasma.

#### **- Le don de sang total**

On prélève entre 400 et 500 ml de sang, en fonction du volume sanguin du donneur. Une femme peut donner son sang quatre fois par an, un homme six fois, en respectant un délai d'au moins huit semaines entre chaque don et sous les conditions d'un taux d'hémoglobine suffisant. Après le prélèvement, les trois principaux composants sanguins (plaquettes, globules rouges et plasma) sont séparés.

#### **- Le don de plaquettes**

Le sang prélevé est séparé en ses différents composants. Ce processus de séparation est appelé aphérèse. Les plaquettes sont alors collectées dans une poche pouvant contenir jusqu'à 650 ml, soit environ six fois plus de plaquettes que lors d'un don de sang total. Les plaquettes ne se conservent que cinq jours : pour faire face aux besoins, des dons réguliers et quotidiens sont donc

indispensables. On peut donner ses plaquettes jusqu'à douze fois par an, en respectant un intervalle d'au moins quatre semaines entre chaque don. Lorsqu'une maladie (leucémie, aplasie médullaire) ou des traitements lourds (chimiothérapie, radiothérapie) empêchent la fabrication de cellules sanguines par la moelle osseuse, la personne atteinte de cette maladie est dite en aplasie. La transfusion régulière de plaquettes permet alors d'éviter les risques d'hémorragies qui mettraient en péril sa vie.

#### **- Le don de plasma**

Le procédé est similaire au don de plaquettes. On prélève en aphérèse jusqu'à 750 ml de plasma au donneur, puis on lui restitue ses autres composants (globules rouges et plaquettes). Il est possible de donner son plasma toutes les deux semaines, dans une limite de 24 fois par an. Les polytraumatisés (chirurgie dans les accidents graves), les grands brûlés, les hémophiles, les patients souffrant de troubles immunitaires graves, ont besoin de plasma. Celui-ci leur est délivré soit par transfusion, soit sous la forme de médicaments.

#### **I-7-1-4-Dépistage** <sup>(20)</sup>

L'OMS recommande un dépistage systématique des infections dans tous les dons de sang avant leur utilisation. Il devrait être obligatoire pour le VIH1et2, l'hépatite B, l'hépatite C et la syphilis. Le dépistage des infections dans les approvisionnements devrait être effectué conformément aux exigences du système de qualité.

#### **I-7-2- La transfusion** <sup>(22)</sup>

Les groupes sanguins ABO sont essentiellement impliqués en clinique transfusionnelle, où le respect de leur compatibilité est obligatoire. En effet, les anticorps du receveur peuvent, après fixation sur les hématies incompatibles transfusées, aboutir à un choc hémolytique avec coagulation intravasculaire disséminée (CIVD). Les anti-A et anti-B peuvent être à l'origine de maladies hémolytiques néonatales. Cette pathologie se voit surtout chez les nouveau-nés de mères O car les sujets de ce groupe présentent une proportion importante d'anticorps de type IgG. Dans les greffes de rein, de foie ou de cœur les anticorps anti-A et/ou anti-B du receveur peuvent se fixer sur les antigènes homologues présents sur les tissus transplantés et être à l'origine de rejets. Toutefois, la compatibilité n'est pas obligatoire pour les greffes de cornée, de peau et d'os. Il en est de même pour la greffe de cellules souches hématopoïétiques. Enfin, des anémies hémolytiques auto-immunes, à auto-anti-A ou auto-anti-B sont possibles mais rares

La compatibilité entre donneur et receveur correspond à trois niveaux de contraintes :

- Respecter les anticorps naturels présents chez le receveur, car ils sont susceptibles de provoquer des accidents graves dès la première transfusion, c'est avant tout le cas de la compatibilité ABO.
- Vérifier l'absence et prévenir l'apparition d'anticorps inhabituels chez le receveur. Cette contrainte impose le respect systématique de la compatibilité Rh D et de la recherche d'anticorps anti-érythrocytaires irréguliers (RAI) avant toute transfusion. Selon les

recommandations de l'agence française ANSM (agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé), le respect de la compatibilité C, E, c, e et Kell (qualification « Rh-K » du CGR) est formellement indiqué chez les patients ayant ou ayant eu un anticorps d'intérêt transfusionnel et chez les femmes en âge de procréer. Il est notamment recommandée chez les patients soumis à des transfusions répétées et souhaitables pour tout patient d'espérance de vie raisonnable, quels que soient l'âge et le sexe.

- Définir, en fonction du contexte de chaque malade, la compatibilité nécessaire et la stratégie transfusionnelle, qui fait appel à l'expertise médicale et permet de choisir entre :

**La transfusion antigénocompatible**, qui consiste, dans un système donné, à n'injecter au receveur que des cellules ayant des antigènes que lui-même possède

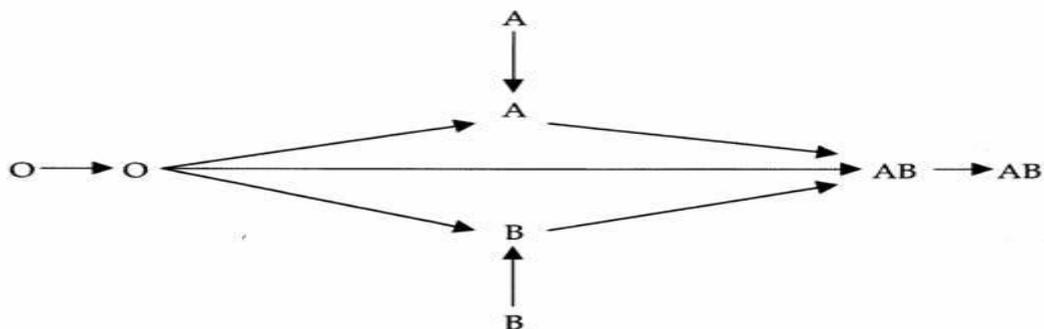
**La transfusion sérocompatible**, qui consiste, dans un système donné, à n'injecter à un receveur que des hématies contre lesquelles il ne possède pas d'anticorps.

Le sang O peut être injecté sans inconvénient à des sujets A, B ou AB puisque les hématies O, dépourvues d'Ag A ou B, sont invulnérables aux éventuels anticorps anti-A ou anti-B du receveur.

Ces sujets de groupes O sont dits *donneurs universels*.

Les sujets AB peuvent recevoir aussi bien des hématies AB ou O puisqu'ils ne possèdent pas d'anticorps naturels. De ce fait, ils sont appelés *receveurs universels*.

Ces notions sont résumées dans le schéma suivant :



**Fig N°12** : Schéma de compatibilité



# CHAPITRE II

## DIFFICULTÉS DU GROUPE SANGUIN

## II-1-Difficultés de groupage ABO <sup>(2)</sup>

L'interprétation du groupe sanguin ABO nécessite une cohérence réactionnelle totale entre les résultats observés dans l'épreuve globulaire et l'épreuve plasmatique. Les réactions d'agglutination devant être franches.

Devant toute incohérence réactionnelle, face à toute réaction d'agglutination de faible intensité ou une image de double population et avant toute action technique complémentaire, il convient de s'assurer de la qualité de l'échantillon (hémolyse, plasma dilué, date de prélèvement, conditions de conservation...), de la qualité des réactifs (péremption, conservation, aspect...) et de la qualité des matériels (défaut de pipetage, contamination...). En cas d'anomalie de l'un de ces paramètres, l'analyse sera réalisée à nouveau après correction de celle-ci et vérification des bons résultats observés avec les CQI.

Par ailleurs il est également important de prendre connaissance du contexte de l'analyse et, en particulier, de l'âge du patient, des antécédents transfusionnels ou d'allogreffe, et du contexte pathologique...

Une fois exclues les causes liées à une anomalie du prélèvement, des réactifs, ou des matériels, dans un contexte d'ambiguïté réactionnelle ou d'incohérence entre les épreuves globulaires et plasmatiques, des réactifs anti-A<sub>1</sub> et/ou anti-H seront alors utilisés lors de l'épreuve globulaire pour analyser, dans certaines situations, l'expression de l'Ag H et de l'Ag A<sub>1</sub> sur les hématies du sujet étudié.

De façon parallèle, l'épreuve plasmatique pourra être complétée avec des hématies de phénotype A<sub>2</sub> et O pour identifier la présence d'un anti-A<sub>1</sub> naturel irrégulier ou d'un autre Ac irrégulier actif à température ambiante et pouvant perturber l'épreuve.

Après s'être assuré de la validité de la méthode par l'analyse des résultats des CQI, et en fonction des anomalies observées, plusieurs « témoins » pourront également être réalisés, permettant de valider les réactions observées et d'orienter le diagnostic biologique (témoin autologue, témoin allo et témoin AB).

### II-1-1-Incohérence par défaut réactionnel

#### II-1-1-1-Lors de l'épreuve globulaire

Il faut tout d'abord valider l'anomalie en éliminant une hémolyse liée à un échantillon trop vieux ou mal conservé ou à une anomalie dans la conservation des réactifs. De nombreuses situations peuvent s'accompagner d'une expression affaiblie des Ag A ou B. Il peut s'agir de :

- **Nouveau-né** : bien que les Ag A ou B puissent être détectés sur les hématies du fœtus dès le 5<sup>e</sup> ou 6<sup>e</sup> mois de la grossesse, ils subissent une maturation postnatale.
- **Hémopathie maligne** : Les modifications correspondent souvent à une diminution de l'expression antigénique A<sub>1</sub>, A, B ou H, voire à leur extinction totale. Le déficit antigénique observé correspond à un déficit de l'enzyme correspondante et non pas à un déficit des précurseurs.

- **Phénotype A ou B faible**

### II-1-1-2-Lors de l'épreuve plasmatique

- Chez le **nouveau né**, les anticorps naturels anti-A et anti-B apparaissent progressivement après la naissance.
- Dans **certaines situations pathologiques** : hypogammaglobulinémie (diminution du taux de gammaglobuline), Syndrome de Wiskott-Aldrich.
- **En dehors de toute circonstance pathologique identifiée**, certains individus peuvent de façon rare, ne pas posséder d'anti-A ou d'anti-B.
- **Chez un patient allogreffé** (par exemple, patient de groupe A et donneur de groupe O)

### II-1-2-Image de double population observée lors de l'épreuve globulaire

Cette image de DP est caractérisée sur plaque par la présence d'agglutinats sur un fond d'hématies libres.

- **Double population d'origine transfusionnelle**
- **Greffe de cellules souches hématopoïétiques non identiques**
- **Dans le cadre d'hémopathies malignes**
- **En cas de gémellité dizygote**
- **En cas de prélèvement de sang de cordon**
- **Chez les sujets âgés en dehors de toute pathologie**
- **Phénomène de poly-agglutinabilité**
- **Les phénotypes A et B faibles, rares ou acquis**

### II-1-3-Incohérence par excès réactionnel

#### II-1-3-1-Lors de l'épreuve globulaire

-- Il convient dans un premier temps, d'éliminer une perturbation de l'épreuve en raison d'une forte concentration de protéines observées dans certaines dysglobulinemies (maladie de Kahler, ou de Waldstrom), dans des hyperfibrinemies, dans certaines réactions inflammatoires

-- La réaction en excès est en relation, le plus souvent, avec une sensibilisation in vivo des hématies par des **auto-anticorps froids**

-- Les phénotypes A et B acquis.

#### II-1-3-2-Lors de l'épreuve plasmatique

-- **Présence, dans le plasma du sujet testé, d'un Ac irrégulier reconnaissant un Ag autre que A ou B**

-- **Présence d'un Ac anti-A<sub>1</sub> dans le sérum du sujet**, cette situation est observée chez environ 10% des sujets A<sub>2</sub> et 20 à 30% des sujets A<sub>2</sub>B.

### **II-1-4-Divergence entre deux réalisations du groupe lorsque celui-ci est réalisé en technique manuelle avec deux séries de réactifs différents**

Vérifier les CQI et les réactifs utilisés, les résultats sont relus par une tierce personne

### **II-1-5-Discordance de groupe observée entre deux déterminations**

Il s'agit le plus souvent d'une erreur de prélèvement d'une des deux déterminations ou d'étiquetage ou autre (étape préanalytique)

## **II-2-Difficultés de la détermination du phénotype RH1 <sup>(2)</sup>**

L'interprétation du résultat du phénotype RH1 devra prendre en compte les paramètres suivants.

### **II-2-1-Négativité obligatoire du témoin réactif**

Un témoin réactif positif témoigne de la sensibilisation in vivo des hématies du patient.

### **II-2-2-Présence d'une image de double population**

Comme pour le typage ABO-RH1, la présence d'une DP doit faire évoquer, en premier lieu, une transfusion, ou une greffe de cellules souches hématopoïétiques. Plus rarement, une telle DP pourra être observée dans le cadre d'une hémopathie, d'une gémellité dizygote, dans un sang de cordon en cas de mélange entre les hématies maternelles et du bébé, voire chez un sujet âgé. En dehors de ces contextes, la possibilité d'un variant sera évoquée.

### **II-2-3-Existence de résultats divergents ou ambigus en fonction des réactifs utilisés**

### **II-2-4-Phénotypes RH1 faible**

Si une substitution d'acide aminé de la protéine transmembranaire RH1 est localisée dans sa partie intramembranaire ou intracellulaire, cela ne s'accompagnera pas de la disparition d'un épitope D mais peut être à l'origine d'une expression membranaire affaiblie de l'Ag RH1.

L'altération de l'expression de l'Ag chez les RH1 faible n'est en théorie que quantitative et n'expose donc pas a priori le patient à un risque d'immunisation quand il est transfusé avec des hématies RH1. En pratique au laboratoire, aucune allo-immunisation contre l'Ag RH1 n'a été rapportée chez des patients présentant une expression affaiblie de l'Ag RH1.

### **II-2-5-Phénotypes RH1 partiel**

Un phénotype RH1 partiel correspond à un Ag RH1 auquel il manque un ou plusieurs épitopes de l'Ag RH1 normal. La plupart des réactifs anti-RH1 agglutinent la majorité des RH1 partiels qui seront donc essentiellement découverts à l'occasion d'une immunisation anti-RH1.

# CHAPITRE III

## LES HÉMOLYSINES ANTI-A ET ANTI-B

On trouve, dans le sérum des êtres humains, de façon « naturelle et régulière » et en fonction de leur groupe ABO, des anticorps anti-A et anti-B. En dehors des sujets de phénotypes AB, du nouveau né, de groupes particuliers et de certains cas pathologiques, l'absence de ces anticorps est exceptionnelle. A côté de ces anticorps naturels et sous l'influence de divers stimuli exogènes, les caractéristiques des anticorps anti-A et anti-B peuvent être modifiées (anticorps immuns).

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

Dans les situations de transfusion non isogroupe, les IgM anti-A ou B présentes dans les concentrés globulaires ne posent le plus souvent pas de problème, car elles ne sont pas en quantité suffisante pour provoquer une hémolyse au cours des transfusions standards. Il existe cependant une situation à risque d'accident hémolytique lorsque l'on transfuse du sang provenant d'un donneur présentant une IgG anti-A ou B. Ce type d'hémolysine rare se retrouve surtout chez les donneurs de groupe O et apparaît par commutation à partir d'une IgM anti-A ou B. Le potentiel hémolytique est beaucoup plus important que pour les IgM ce qui explique que des accidents se produisent pour des quantités très faibles d'hémolysines transfusées au cours de transfusions standards. C'est pourquoi on parle de **donneur universel dangereux** pour les individus de groupe O présentant une hémolysine du système ABO : leur sang est réservé à des transfusions isogroupes.

Les hémolysines peuvent, enfin, traverser la barrière foetoplacentaire et être responsables de la maladie hémolytique du nouveau-né.

### III-1-Conditions d'apparition <sup>(23)</sup>

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

### III-2-Implication pathologique <sup>(23)</sup>

- L'injection d'un sang O contenant des hémolysines à des receveurs A ou B :
  - Peut provoquer des accidents hémolytiques sévères. Ceci était particulièrement vrai lors de la transfusion de sang total, situation devenue exceptionnelle de nos jours. La quantité de plasma résiduel est aujourd'hui très faible dans les concentrés érythrocytaires (< 25 ml). Le risque est donc très limité avec ce type de produit, mais la recherche d'hémolysines anti-A/B demeure obligatoire en France et est en voie de généralisation en Algérie chez tous les donneurs de globules rouges.

-- La situation la plus à risque correspond à la transfusion de produits plaquettaires suspendus dans une quantité importante de plasma. La transfusion de plaquettes non iso groupe est relativement fréquente, du fait de la forte demande de ce type de produit. Ceci est possible à la seule condition que le donneur soit dépourvu d'hémolysines reconnaissant les hématies du receveur.

-- Il est par ailleurs impératif d'identifier la présence d'hémolysines sur l'étiquette des produits sanguins érythrocytaires et plaquettaires.

- Au cours de l'anémie hémolytique du nouveau né :

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

### **III-3-Méthodes de recherche**

- La détection des anticorps naturels se fait par l'épreuve plasmatique de Simonin.

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

# PARTIE PRATIQUE

# MATÉRIEL ET MÉTHODES

## **I-Matériel et Méthodes**

Notre travail s'est effectué au niveau du Centre Régional de Transfusion Sanguine de Blida. Il s'agit d'une étude prospective durant la période s'étalant de Décembre 2016 à Mai 2017, et au cours de laquelle nous avons pu :

- Déterminer la répartition du phénotypage ABO Rhésus chez les donneurs de sang au niveau de la région de Blida.
- Répertoire les difficultés de groupage ABO et RH1 au cours de la détermination du groupage ABO Rhésus et les identifier.
- Rechercher les éventuelles hémolysines anti-A et anti-B présentes chez les donneurs du groupe O au niveau du CRTS Blida.

La population étudiée était diversifiée :

- La première population est constituée par des donneurs de sang et l'étude a été réalisée sur 3725 DDS de sang. Tous ces donneurs ont été prélevés et groupés au sein du CRTS-Blida et testés pour le système ABO et RH.
- La deuxième population est une population externe venue pour confirmer un groupe sanguin dont la difficulté a été établie ailleurs.
- La troisième population a comporté des donneurs de sang du groupe O positif et négatif chez laquelle la recherche des hémolysines anti-A et anti-B a été effectuée.

### **I-1-Matériel**

#### **I-1-1-Prélèvement biologique**

Les prélèvements sanguins sont effectués par un biologiste médical, un(e) infirmier(e) ou un(e) technicien(ne) de laboratoire habilité(e).

Les prises de sang sont généralement faites sur un sujet assis mais aussi peut être allongé.

Malgré les soins apportés au prélèvement sanguin l'apparition d'un hématome, le plus souvent de petite taille, est possible : pour l'éviter appuyer fortement sur le coton après le retrait de l'aiguille, sans replier l'avant-bras sur le bras, sans masser le point de ponction et en évitant les mouvements brusques pendant la demi-heure qui suit la prise de sang. Plus la compression est forte et prolongée, plus le risque d'hématome diminue.

#### **I-1-1-1-Prélèvement pour la détermination du groupe sanguin ABO/RH**

Sang total sur EDTA ou sur citrate ou encore sur héparine.

Le prélèvement doit obéir à des règles strictes et parfaitement préconisées dans l'arrêté du 26 Avril 2002 relatif à la bonne exécution des analyses en immunohématologie érythrocytaire. La personne qui effectue le prélèvement doit indiquer sur l'étiquette :

- Le nom de naissance

- Le prénom. Si prénom composé, transcription en toutes lettres
- Le sexe, La date de naissance
- La date et si possible l'heure du prélèvement

La vérification directe d'identité doit être réalisée par la personne qui effectue le prélèvement

Dans tous les cas, le tube doit être accompagné d'une fiche de renseignements sur laquelle figureront outre les mentions portées sur l'étiquette :

- La nature de l'examen
- Le nom et la qualité du prélèvement

Proscrire les prélèvements très hémolysés.

Conservation de l'échantillon après analyse pendant 24h.



**Fig N°13 :** Prélèvements de sang sur tube avec anticoagulant « citrate de sodium »

### **I-1-1-2-Prélèvement pour le don du sang**

Après avis favorable du médecin qui reconnaît le donneur médicalement apte au don, le prélèvement est effectué par une infirmière spécialement qualifiée.

Elle prépare le matériel stérile et à usage unique.

La peau est désinfectée au niveau des veines du pli du coude, là où le prélèvement sera effectué.

L'aiguille en forme de biseau est spécialement adaptée à la pénétration de la peau et son acier est recouvert de silicone, ce qui rend le prélèvement indolore.

Les premiers millilitres de sang prélevés sont dérivés vers une petite poche pour permettre l'élimination des bactéries qui se seraient introduites au moment du prélèvement. Ces premiers

millilitres ne rentreront pas dans le circuit de la transfusion mais ils serviront à remplir les tubes d'analyses pour la réalisation des examens biologiques (groupe sanguin, tests virologiques, etc.).

Le reste du sang est récupéré dans une poche de recueil du don destinée à la transfusion proprement dite.

La durée et le volume des différents prélèvements :

- Le don du sang total : Le prélèvement dure environ 10 mn - 450 ml de sang sont prélevés
- Le don de plasma : Le prélèvement dure entre 1h et 1h20 - 600 ml de plasma sont prélevés
- Le don de plaquettes : Le prélèvement dure entre 2h et 2h20 - 600 ml de plaquettes sont prélevés



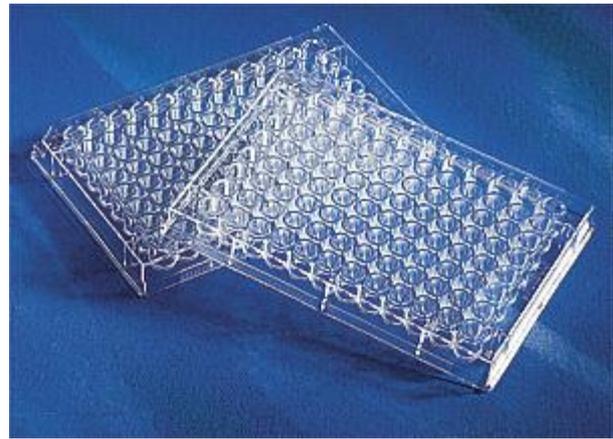
**Fig N°14 : Prélèvement de sang/Don**

### **I-1-2-Matériels non biologique**

- Centrifugeuse de pailasse avec nacelles pour tube à hémolyse
- Étuve réglable à 37° C
- Micropipettes réglables pour les volumes allant de 10 à 100 µl et de 100 à 1000 µl
- Portoirs pour tubes à hémolyse de 5 ml
- Tubes à hémolyse de 5 ml
- Microplaques
- Plaques



**Fig N°15 : Centrifugeuse**



**Fig N°16 : Microplaques**

### **I-1-3-Consommables**

- Embouts 200 µl jaunes et 1000 µl bleus
- Étiquettes autocollantes vierges
- Gants jetables
- Gaze
- Alcool à 70°
- Solution d'hypochlorite de sodium (eau de javel pour désinfecter les paillasses)

### **I-1-4-Réactifs**

- Réactifs monoclonaux anti-A, anti-B, anti-AB : sont préparés in vitro à partir de lignées de cellules de souris, grâce aux surnageants de cultures cellulaires sécrétant des hybrides d'immunoglobulines. Les réactifs sont dilués avec un tampon de phosphate contenant du chlorure de sodium, de l'EDTA et de l'albumine bovine.
- Anti-D est un réactif à faible teneur en protéines préparé à partir d'IgM et IgG anti-D humains monoclonaux minutieusement mélangés. Le réactif est dilué dans une solution tamponnée de phosphate, contenant de l'albumine bovine, du chlorure de sodium et des potentialisateurs macromoléculaires.
- Solution saline à 0,9 ‰, Composée de Na Cl (9grammes pour 1 litre).
- Suspension d'hématies : A et B fraîches, lavées trois fois et diluées au 1/10<sup>ème</sup> en solution saline à 0,9 ‰
- Complément : pool de 20 sérums humains de groupe AB frais.

## I-2-Méthodes

### I-2-1-Détermination du groupe sanguin ABO sur plaque

#### - Épreuve globulaire de Beth-Vincent

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

#### - Épreuve plasmatique de Simonin

1. Déposer sur la plaque, 3 fois 2 gouttes de plasma a testé
2. À coté de chaque goutte, déposer respectivement :
  - 1 goutte de suspension d'hématies tests de groupe B
  - 1 goutte de suspension d'hématies tests de groupe A<sub>1</sub>
  - 1 goutte de suspension d'hématies tests de groupe O

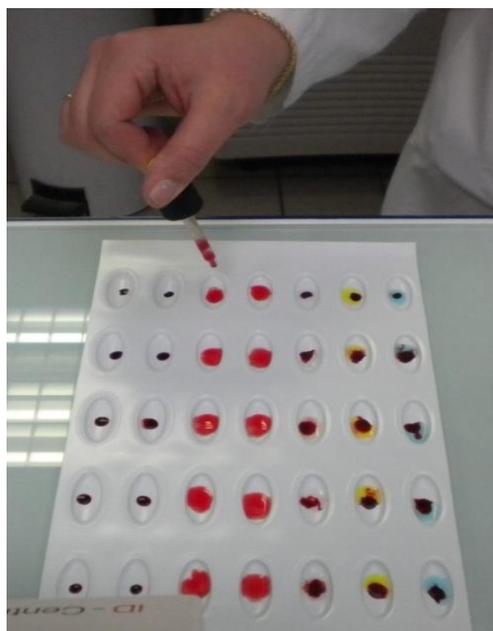


Fig N°17 : Groupage sanguin sur plaque

#### - Lecture

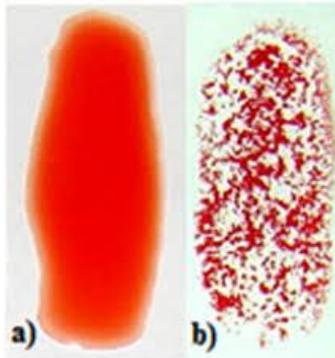
1. À l'aide d'un fond de tube, mélanger soigneusement hématies et plasmas ou sérum-tests en un disque de 3 cm de diamètre environ, en essuyant le tube entre chaque mélange, avec du coton ou de la gaze.
2. Faire chalouper légèrement la plaque à la recherche d'agglutinations.

Les 2 épreuves globulaire et plasmatique doivent :

- Être concordantes pour les 2 techniciens.
- Présenter des résultats identiques avec des réactions d'agglutinations nettes sur un fond blanc.

Lorsque les antigènes du système ABO sont présents sur les hématies à tester, les anticorps correspondants sont absents du plasma à tester.

Lorsque les antigènes du système ABO sont absents des hématies à tester les anticorps correspondants sont présents dans le plasma à tester.



**Fig N°18 : Résultats d'hémagglutination**

a) Absence d'agglutination. b) Présence d'agglutination.

### **I-2-2-Groupage RHD sur plaque**

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

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

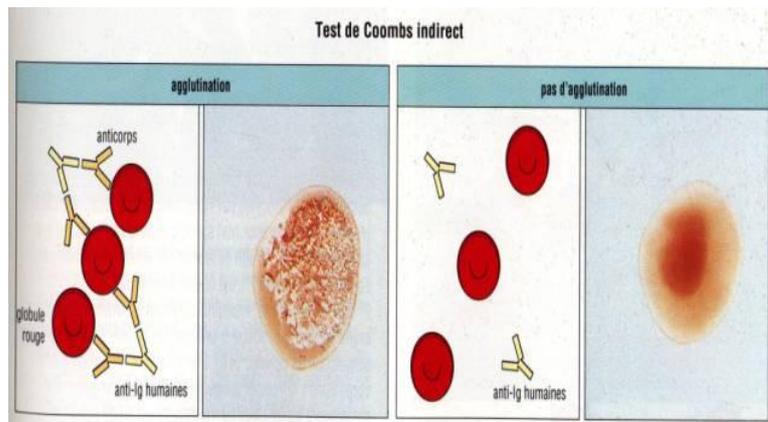
### **I-2-3-Recherche d'antigène D faible par le test de coombs indirect**

1. Sensibilisation :
  - 2 gouttes d'anti-D standard
  - 1 goutte de la suspension globulaire
  - Incubation : 45mn à 37°C
  - 3 lavages en saline
2. Réaction à l'antiglobuline en tube
  - 1 goutte des hématies sensibilisées à 2-3%
  - 2 gouttes d'antiglobuline polyvalente

- Centrifugation de 1 mn à 1000 t /mn
- Lecture macroscopique



**Fig N°19 : Antiglobuline anti-IgG**



**Fig N°20 : Test de coombs indirect**

### I-2-4-Difficultés de groupage

Toute anomalie dans le résultat impose de ne pas valider le groupe et nécessite des investigations complémentaires à la recherche de son origine. Il faudra (si l'anomalie est vérifiée) :

- Se poser la question de la conformité des réactifs (aspect, date de péremption...)
- Vérifier la qualité de l'échantillon du sang à tester.
- Etudier le contexte clinique du patient.
- Et bien sur analyser les résultats des témoins auto, témoin allo et témoin AB.

### Utilisation des témoins

**Le témoin ALLO :** Consiste à utiliser des hématies tests de groupe O, il doit être négatif et permet ainsi de valider l'épreuve sérique.

**Le témoin Autologue :** Consiste à utiliser une goutte de suspension d'hématies à 5% à partir du culot globulaire de l'échantillon à tester qui sera mélangée avec deux gouttes du plasma du même échantillon, il doit être négatif et permet ainsi de valider les deux épreuves : globulaire et sérique.

### **Le témoin réactif (témoin négatif albumineux)**

Lors de la détermination du groupe RH1, on utilise ce témoin réactif qui est un contrôle négatif. Il doit être négatif, il permet de valider le groupage RH1.

### **Interprétation**

- Témoin AUTO positif : signifie agglutinines froides ou phénomène de rouleaux
- Témoin ALLO positif : signifie présence d'agglutinines irrégulières
- Témoin albumineux est positif dans certains cas tels que :

Phénomène de rouleaux : Dû à la présence d'une grande concentration d'immunoglobulines (myélome, Waldenstrom...).

Les anémies hémolytiques a auto-Ac où les hématies sont recouvertes à leurs surfaces par des auto-Ac (de type Ig G).

Les anémies hémolytiques consécutives à l'administration de médicaments : les Ac pénicillines (type IgG) sensibilisent le GR qui a préalablement fixé la pénicilline ou son produit de dégradation, la pénicillamine.

Dans ce cas (témoin albumineux positif), il est impératif d'utiliser des réactifs de classe IgM agglutinant en milieu salin et désormais disponibles sur le marché. Si le témoin réalisé en milieu salin avec les hématies natives, puis éventuellement avec les hématies lavées 3 à 6 fois à +37°C, demeure positif, un typage peut être réalisé après traitement des hématies par le DTT (dithiothréitol C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, réactif de Cleland) qui détruit les ponts disulfures des IgM.

### **I-2-5-Contrôle de qualité**

Le laboratoire doit par ailleurs respecter les normes reconnues applicables aux systèmes d'assurance de la qualité (p.ex. ISO 15189)

La norme ISO 15189 : 2007 Laboratoires d'analyses de biologie médicale - Exigences particulières concernant la qualité et la compétence indique que le laboratoire doit concevoir des systèmes de contrôle interne de qualité dans le but de vérifier que la qualité prévue des résultats est obtenue. Ces systèmes de contrôle interne doivent permettre d'obtenir des informations claires sur lesquelles baser les décisions techniques et médicales. Le laboratoire doit aussi participer à des comparaisons inter laboratoires telles que celles organisées dans le cadre de programmes d'évaluation externe de la qualité.

Dans un sens large, le contrôle de qualité peut se définir comme un ensemble de moyens pour assurer la fiabilité des résultats jour après jour et sur une longue période de temps. Il s'applique à tous les types de méthodes, soit quantitatifs, semi quantitatifs ou qualitatifs. Il est constitué du contrôle interne et externe de qualité. Selon le type de la méthode et la catégorie de matériaux de contrôle utilisés, il renseigne sur les indicateurs de performance tels l'exactitude, la fidélité et la justesse.

#### **I-2-5-1-Contrôle Interne de Qualité CIQ**

À tort, le CIQ est souvent réduit aux résultats de l'analyse de matériaux de contrôle. En réalité, il s'agit plutôt d'une procédure réalisée en même temps que la mesure quantitative ou l'évaluation qualitative d'analytes dans des échantillons de patients. Il implique l'utilisation de matériaux de contrôle de valeurs connues analysés à une fréquence déterminée par un processus analytique identique à celui utilisé pour les échantillons de patients. Il permet de surveiller en continue, tel un film, la qualité des résultats produits en évaluant des indicateurs de performance tels l'exactitude, la fidélité et la justesse des processus analytiques et en validant la calibration des instruments.

Les contrôles de qualité internes doivent se conformer aux exigences minimales suivantes :

**Contrôle des hématies-tests**

- Pour l'épreuve plasmatique/sérique ABO
- 1x/jour ouvrable ou au moins lors de chaque utilisation,
- Contrôle des hématies-tests avec des sérums/plasmas anti-A et anti-B connus.
- Pour le dépistage des anticorps irréguliers
- 1x/jour ouvrable ou au moins lors de chaque utilisation,
- Contrôle de l'hématies-test avec un anti-D de titre faible (limite de détection  $\leq 10$ ng anti-D/ml).

**Contrôle des sérums-tests**

- Pour le groupage ABO
- 1x/jour ouvrable ou au moins lors de chaque utilisation,
- Contrôle des sérums-tests avec des hématies de phénotype ABO connues.
- Pour le phénotypage Rhésus CcEe et Kell
- 1x/jour ouvrable ou au moins lors de chaque utilisation,
- Contrôle des sérums-tests avec des hématies hétérozygotes pour les antigènes C, c, E, e et K.
- Pour la détermination du phénotype étendu
- 1x/jour ouvrable ou au moins lors de chaque utilisation,
- Contrôle des sérums-tests avec au moins une hématie négative et une hématie positive hétérozygote pour chaque antigène recherché.

**Contrôle des résultats de la détermination d'un antigène de groupe sanguin en technique IAT**

Afin d'exclure un résultat faussement positif dû à une possible auto-agglutination des hématies lors d'un test indirect à l'antiglobuline (IAT), un test direct à l'antiglobuline (DAT) doit être réalisé en parallèle avec la même technique et les mêmes réactifs.

**Contrôle des tests directs et indirects à l'antiglobuline (DAT/IAT) en technique tube**

Chaque résultat négatif doit être contrôlé positif avec le réactif de Coombs contrôle.

**Contrôle du test de compatibilité**

- 1x/jour ouvrable ou au moins lors de chaque utilisation,
- Contrôle du test de compatibilité avec des hématies RhD positives et RhD négatives et un antisérum comportant une faible concentration en anti-D (limite de détection  $\leq 10$  ng Anti-D/ml).

**Contrôle des méthodes de biologie moléculaire**

Le type de contrôle dépend de la méthode utilisée (marquage CE ou méthode développée localement).

**Contrôle des autres techniques et méthodes**

Si des analyses impliquent l'utilisation d'autres ou de plusieurs techniques/méthodes, chacune d'entre elles doit faire l'objet d'un contrôle de qualité.

### **I-2-5-2-Contrôle Externe de Qualité CEQ**

Assurance qualité externe, évaluation externe de la qualité, essais d'aptitude, tests d'aptitude ou programmes d'assurance qualité externes (PAQE) sont autant de termes retrouvés dans la littérature pour parler de CEQ.

Quel que soit le terme, le CEQ peut se définir comme une évaluation externe, indépendante et ponctuelle de la qualité des résultats produits. Il s'agit d'une photo à un moment précis de la performance des processus analytiques. Il implique la mesure de matériaux d'essais d'aptitude de valeurs inconnues analysées par un processus analytique identique à celui utilisé pour les échantillons de patients, mais à une fréquence déterminée par le fournisseur du PAQE. Selon les PAQE, il permet de vérifier du pré au post analytique ainsi que d'évaluer et de comparer différentes méthodes d'analyse. Il a également un objectif de formation continue et d'éducation. Il améliore la performance des participants et renforce la confiance dans les résultats transmis. Il peut aussi servir à démontrer la qualité des résultats à des tiers tels que médecins, patients, organisme d'agrément, etc.

Les laboratoires pratiquant l'immunohématologie par méthode sérologique doivent participer 4 fois par an aux contrôles de qualité externes reconnus (cf. QUALAB) pour toutes les analyses pratiquées pour lesquelles un CQE est disponible.

Les laboratoires utilisant les méthodes de biologie moléculaire doivent participer, 2 fois par an, à des contrôles de qualité externes, si disponibles.

### **I-2-6-Recherche des hémolysines**

#### **Principe**

La réaction consiste à rechercher l'hémolyse éventuelle présente chez les sujets de groupe O qui posséderaient au niveau de leur sérum une hémolysine anti A et/ou anti B, et ce, en présence de complément.

#### **Technique**

- Test d'Hémolyse sur sérum frais
- Laver 3 fois les hématies A et B
- Préparer des suspensions à 10 % en solution saline
- Utiliser une microplaque
- Distribuer au niveau de la micropipette les quantités
- Incuber 30 mn à 37°C
- Centrifuger
- Observer une éventuelle hémolyse et noter l'intensité en croix (+, ++, +++)
  
- Test d'Hémolyse sur sérum conservé
- Laver 3 fois les hématies A et B
- Préparer des suspensions à 10 % en solution saline

- Décomplémenter le sérum à examiner par un chauffage au bain marie à 56°C pendant 30 mn
- Utiliser une microplaque
- Distribuer a la micropipette les quantités, figurant sur le tableau suivant
- Incuber à 37°C pendant 30mn.
- Centrifuger
- Observer une éventuelle hémolyse et noter l'intensité en croix (+, ++, +++)

**Tableau 10 : Test d'hémolyse sur sérum conservé**

	<b>Anti-A</b>	<b>Anti-B</b>	<b>T(S)</b>	<b>T(C)</b>	<b>T(GRA)</b>	<b>T(GRB)</b>
<b>Puits</b>	1	2	3	4	5	6
<b>Sérum à étudier</b>	75 µl	75 µl	75 µl	-	-	-
<b>Sérum AB</b>	50 µl	50 µl	-	50 µl	-	-
<b>Eau physiologique</b>	-	-	50 µl	75 µl	125 µl	125 µl
<b>GR A à 10%</b>	25 µl	-	25 µl	25 µl	25 µl	
<b>GR B à 10%</b>	-	25 µl	-	-	-	25 µl

**Anti-A** : à la recherche de l'hémolysine anti-A.

**Anti-B** : à la recherche de l'hémolysine anti-B.

**T(S)** : témoin sérum (inactivation complète du complément).

**T(C)** : témoin complément (absence d'hémolysines dans le complément).

**T (GRA)** : témoin globules rouges A.

**T (GRB)** : témoin globules rouges B.

### **Lecture**

- Hémolyse totale (après centrifugation, absence de culot globulaire avec un surnageant teinté). La présence d'hémolyse totale dans le puits 1 indique la présence d'hémolysine anti-A et dans le puits 2 indique la présence d'hémolysine anti-B
- Absence d'hémolyse (après centrifugation, présence d'un culot globulaire avec un surnageant clair).
- Pour la validation de la réaction, les puits témoins : T(S), T(C), T (GRA), T (GRB) ne doivent présenter aucune trace d'hémolyse.

### **Causes d'erreur**

1. Une hémolyse dans les puits 5 ou 6, témoin hématies, indique que les hématies s'hémolysent spontanément, cela peut être en rapport avec des hématies trop vieilles.

Recommencer la réaction avec des hématies A et B fraîches.

2. Une hémolyse dans le puits 3, témoin sérum, indique une inactivation incomplète du complément.

Il faut recommencer l'inactivation 45 mn à 56°C sur un nouvel échantillon de sérum de notre donneur O.

3. Une hémolyse dans le puits 4, témoin complément, indique la présence dans le mélange des sérums fournissant le complément, d'une hémolysine.

Utiliser un autre mélange de sérums frais.

## **I-2-6-Analyse des données**

Les données obtenues ont été analysées par le logiciel Excel.

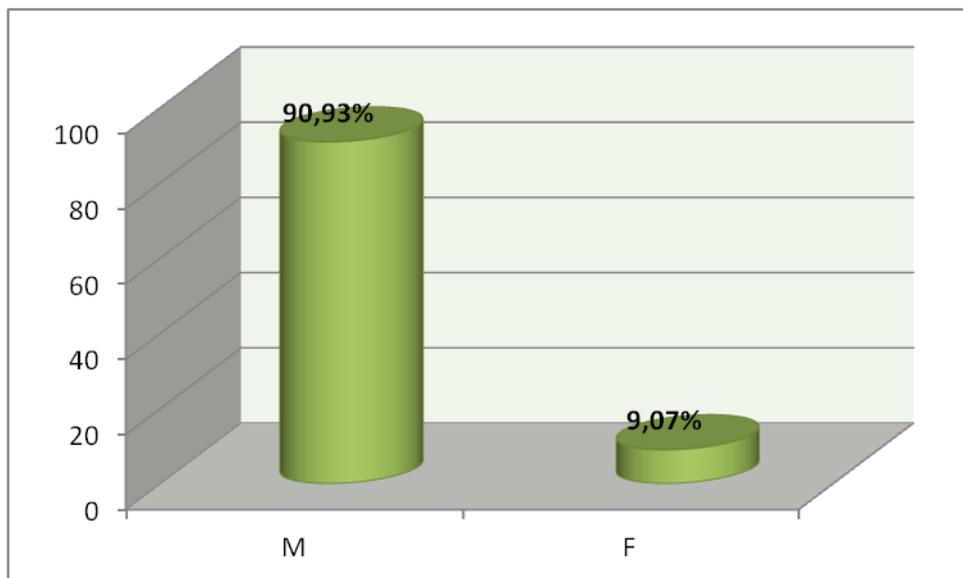
# RÉSULTATS

## II-Résultats

### II-1- Répartition des donneurs de sang du CRTS-BLIDA

#### II-1-1-Répartition des donneurs de sang de notre échantillon selon le sexe (Tableau 11)

Sexe	Effectifs	Pourcentage
Masculin	3387	90,93%
Féminin	338	9,07%
Total	3725	100%

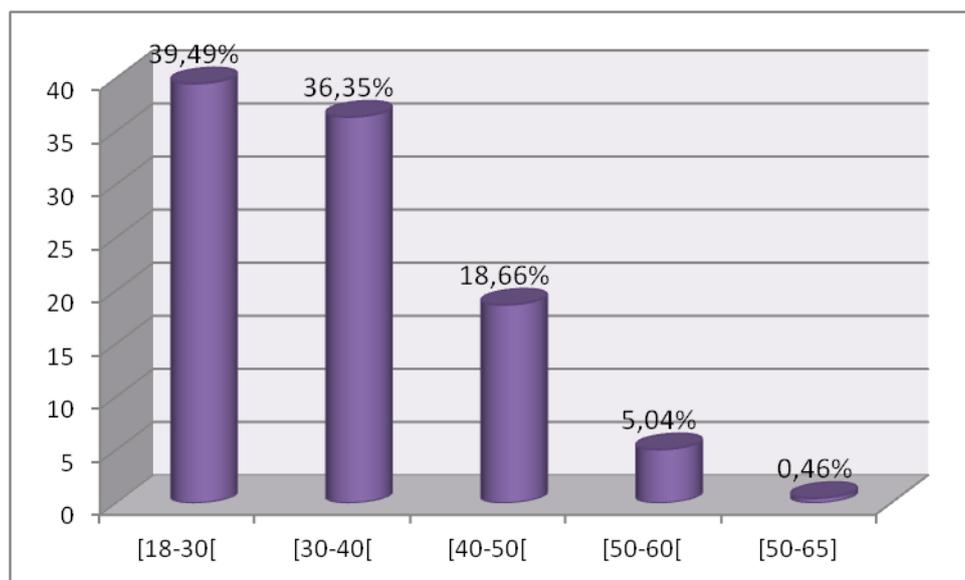


**Fig N°21** : Répartition des donneurs de sang de notre échantillon selon le sexe

Nous remarquons que la prédominance chez les donneurs de sang est essentiellement masculine (90,93%) avec un sexe ratio de 1 pour 10 en faveur de la population masculine.

**II-1-2- Répartition des donneurs de sang selon la tranche d'âge (Tableau 12)**

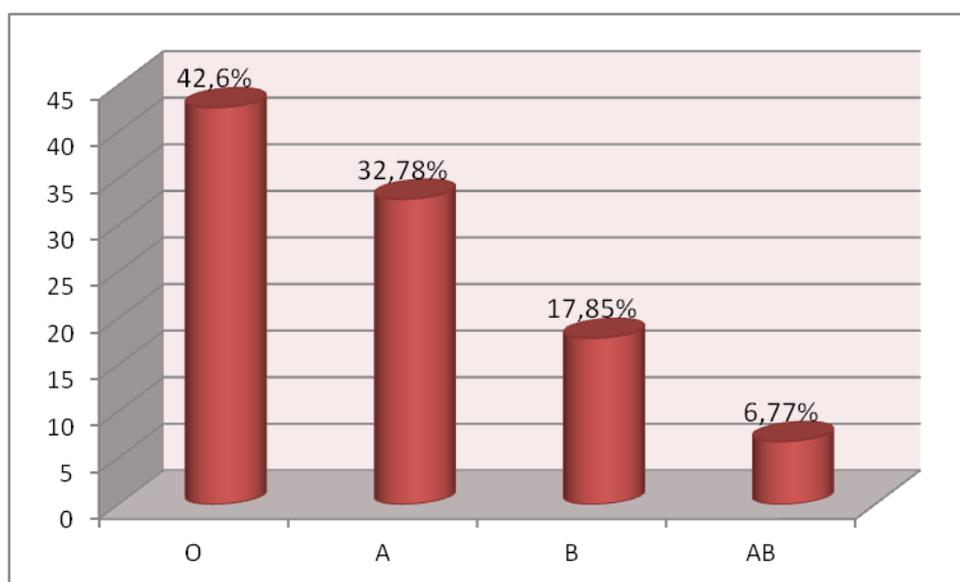
Tranches d'âge	Effectifs	Pourcentage
[18 - 30[	1471	39,49%
[30 - 40[	1354	36,35%
[40 - 50[	695	18,66%
[50 - 60[	188	5,04%
[60 - 65]	17	0,46%
<b>Total</b>	<b>3725</b>	<b>100%</b>

**Fig N°22 : Répartition des donneurs de sang selon la tranche d'âge**

Nous remarquons que la tranche d'âge la plus représentée est celle située entre 18 et 30 ans suivie de près par celle de 30 à 40 ans.

**II-1-3-La fréquence des phénotypes ABO chez la population étudiée (Tableau 13)**

Phénotype	Effectifs	Pourcentage
<b>O</b>	1587	42,60%
<b>A</b>	1221	32,78%
<b>B</b>	665	17,85%
<b>AB</b>	252	6,77%
<b>Total</b>	3725	100%

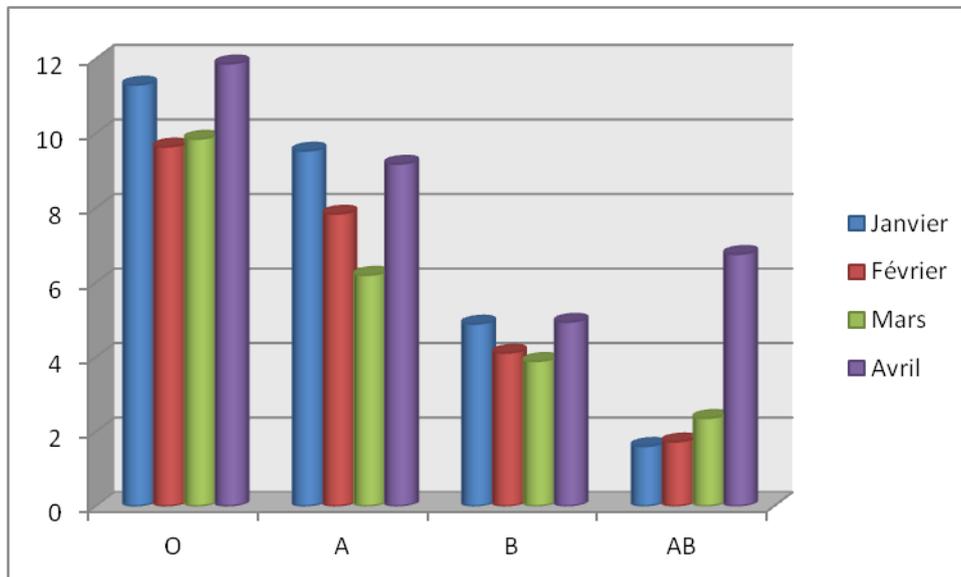
**Fig N°23 : La fréquence des phénotypes ABO**

On constate que les groupes sanguins 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 (42,60%), le groupe A est deux fois supérieur (32,78%) au groupe B (17,85%), Le groupe AB a la fréquence la plus faible (6,77%).

**II-1-4- Répartition mensuelle des donneurs de sang sur 04 mois (Tableau 14)**

	<b>O</b>	<b>%</b>	<b>A</b>	<b>%</b>	<b>B</b>	<b>%</b>	<b>AB</b>	<b>%</b>
<b>Janvier</b>	421	11,30%	355	9,53%	183	4,91%	60	1,61%
<b>Février</b>	359	9,64%	292	7,84%	153	4,11%	51	1,37%
<b>Mars</b>	367	9,85%	232	6,23%	145	3,89%	88	2,36%
<b>Avril</b>	440	11,81%	342	9,18%	184	4,94%	53	1,42%
<b>Total</b>	1587	42,60%	1221	32,78%	665	17,85%	252	6,77%

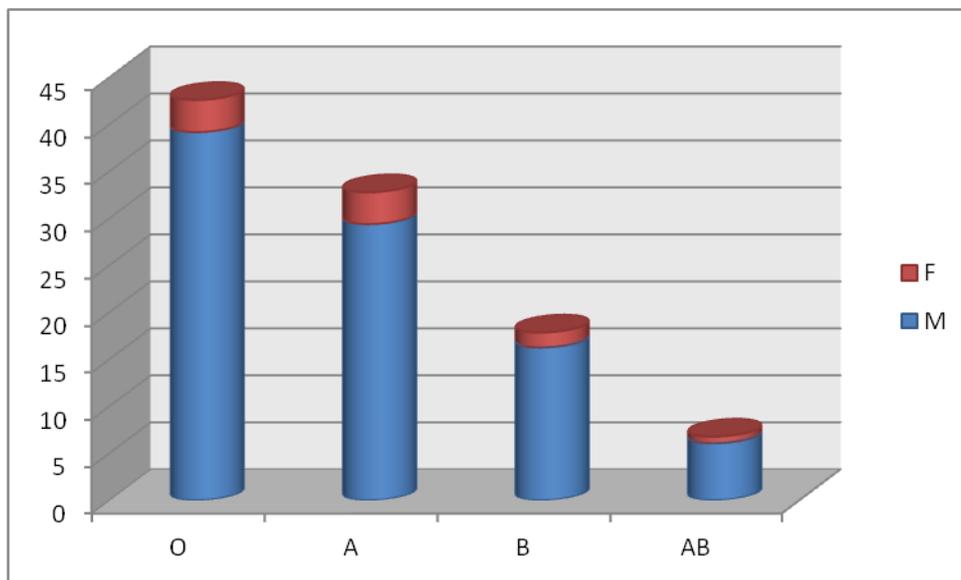


**Fig N°24 : Répartition mensuelle des donneurs de sang**

Nous remarquons à travers ce tableau que les dons de sang sont plus fréquents au mois d’avril suivi de janvier.

**II-1-5-La fréquence des phénotypes ABO chez les donneurs selon le sexe (Tableau 15)**

Phénotype	Sexe	Effectifs	Pourcentage	Total
<b>O</b>	Masculin	1460	39,19%	<b>42,60%</b>
	Féminin	127	3,41%	
<b>A</b>	Masculin	1095	29,40%	<b>32,78%</b>
	Féminin	126	3,38%	
<b>B</b>	Masculin	606	16,27%	<b>17,85%</b>
	Féminin	59	1,58%	
<b>AB</b>	Masculin	226	6,07%	<b>6,77%</b>
	Féminin	26	0,70%	
<b>Total</b>	Masculin	3387	90,93%	<b>100%</b>
	Féminin	338	9,07%	

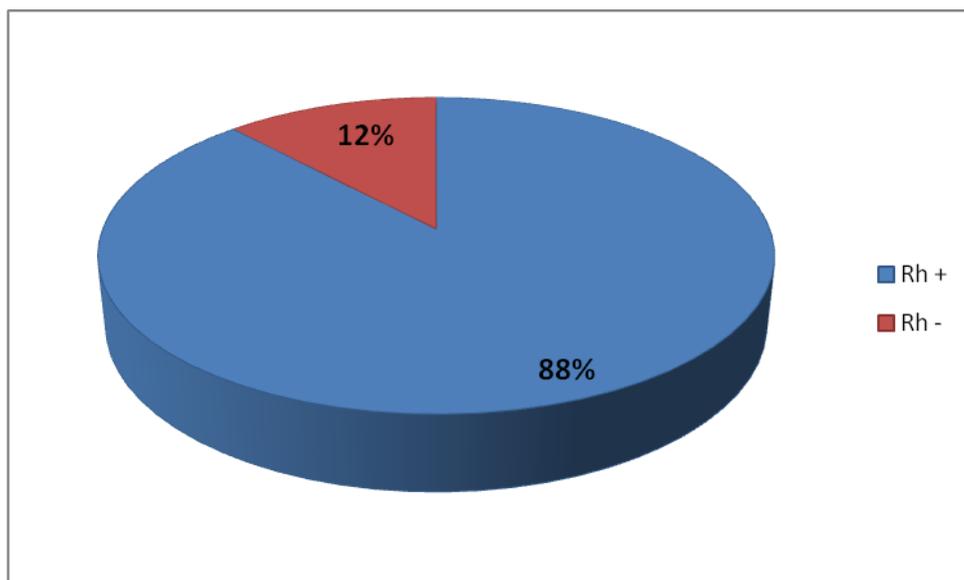


**Fig N°25 : La fréquence des phénotypes ABO chez les donneurs selon le sexe**

La fréquence des phénotypes tous confondus est de prédominance masculine pour le groupe O avec un sexe ratio de 1 pour 12.

**II-1-6-La fréquence des phénotypes Rh chez la population étudiée (Tableau 16)**

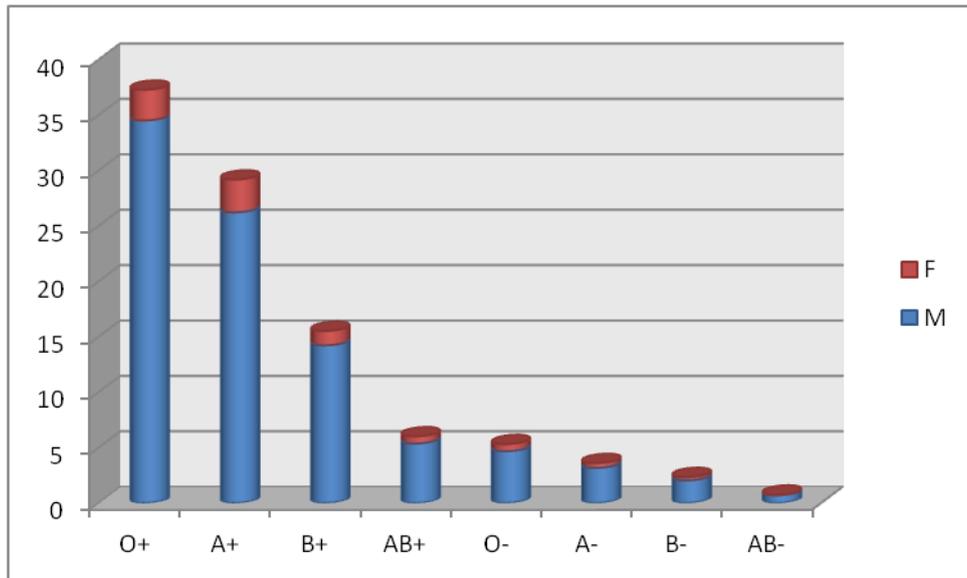
Phénotype	Effectifs	Pourcentage
Rh positif	3278	88%
Rh négatif	447	12%
<b>Total</b>	<b>3725</b>	<b>100%</b>

**Fig N°26 :** La fréquence des phénotypes Rh chez la population étudiée en %

Nous constatons une nette prédominance des sujets Rh positif (88%) par rapport aux sujets Rh négatif (12%).

**II-1-7- La fréquence des groupes sanguins ABO-Rh chez les donneurs selon le sexe**  
(Tableau17)

Phénotype	Sexe	Effectifs	Pourcentage	Total	
<b>O+</b>	Masculin	1286	34,52%	1389	<b>37,28%</b>
	Féminin	103	2,76%		
<b>A+</b>	Masculin	977	26,23%	1087	<b>29,18%</b>
	Féminin	110	2,95%		
<b>B+</b>	Masculin	530	14,23%	578	<b>15,52%</b>
	Féminin	48	1,29%		
<b>AB+</b>	Masculin	200	5,37%	224	<b>6,01%</b>
	Féminin	24	0,64%		
<b>O-</b>	Masculin	174	4,67%	198	<b>5,31%</b>
	Féminin	24	0,64%		
<b>A-</b>	Masculin	118	3,17%	134	<b>3,60%</b>
	Féminin	16	0,43%		
<b>B-</b>	Masculin	76	2,04%	87	<b>2,34%</b>
	Féminin	11	0,30%		
<b>AB-</b>	Masculin	26	0,70%	28	<b>0,75%</b>
	Féminin	02	0,05%		



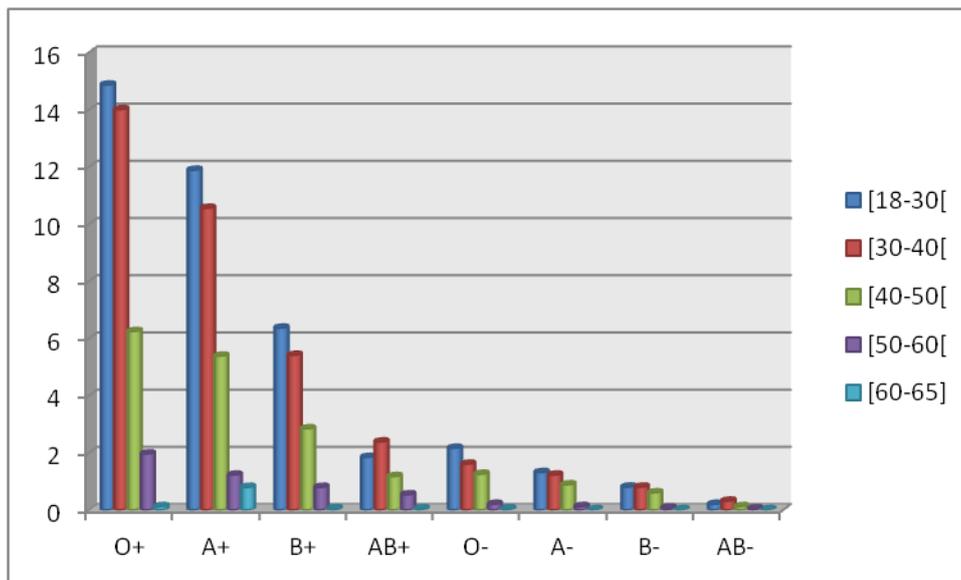
**Fig N°27 :** La fréquence des phénotypes ABO-Rh chez les donneurs selon le sexe

Le groupe O positif masculin (34,52%) est de loin le plus fréquent avec un sexe ratio de 1 pour 12. Suivi par le groupe A positif masculin (26,23%) avec un sexe ratio de 1 pour 9.

**II-1-7- La fréquence des phénotypes ABO-Rh chez les donneurs selon la tranche d'âge**

(Tableau 18)

Tranche d'âge	O+	A+	B+	AB+	O-	A-	B-	AB-
[18-30[	14.87%	11.89%	6.36%	1.85%	2.17%	1.32%	0.81%	0.21%
[30-40[	14.01%	10.56%	5.42%	2.39%	1.61%	1.23%	0.81%	0.32%
[40-50[	6.25%	5.39%	2.85%	1.18%	1.26%	0.89%	0.61%	0.13%
[50-60[	2.02%	1.23%	0.82%	0.54%	0.21%	0.13%	0.08%	0.05%
[60-65]	0.13%	0.11%	0.07%	0.05%	0.05%	0.02%	0.02%	0.02%
<b>Total</b>	<b>37.28%</b>	<b>29.18%</b>	<b>15.52%</b>	<b>6.01%</b>	<b>5.31%</b>	<b>3.6%</b>	<b>2.34%</b>	<b>0.75%</b>



**Fig N°28 :** La fréquence des phénotypes ABO-Rh chez les donneurs selon la tranche d'âge

Tous les groupes confondus sont donneurs entre 18 et 30 ans en majorité et la tranche d'âge ente 30 et 40 ans est également importante.

## II-2-Difficultés de groupage sanguin

### II-2-1-Difficultés de groupage ABO rencontrés aux épreuves globulaires et sériques, les résultats sont les suivants

#### Cas N° 01

Il s'agit d'un Homme de 40 ans, s'étant présenté au CRTS Blida en vue de donner son sang à un parent.

Les résultats de son groupage ABO sont les suivants

Epreuve globulaire			Epreuve sérique		Témoins
Anti-A	Anti-B	Anti A+B	GR A	GR B	
+/-	+++	+++	++	-	AUTO - ALLO - AB -

- On observe un aspect de **DP** avec l'anti-A au niveau de l'épreuve globulaire
- En même temps un Ac anti-A est présent au niveau du sérum de ce donneur avec l'épreuve sérique.

#### Conduite à tenir

- Devant cet aspect de DP, et d'anti-A sérique, l'objectif est de vérifier qu'il s'agit probablement d'un A faible :
  - Un anti-H est utilisé pour l'épreuve globulaire.
  - Un anti- A d'un autre lot de réactifs est utilisé également pour l'épreuve globulaire.

#### Les résultats montrent

- Une agglutination avec l'anti H.
- Une agglutination avec l'anti -A.

**Donc :** Il s'agit d'un groupe **A faible**, mais comme il ya une agglutination également avec l'anti-B au niveau globulaire et qu'il n'ya pas un anti B sérique au niveau de Simonin, **le sujet est finalement groupé A<sub>2</sub>B.**

**Cas N° 02**

Il s'agit d'un enfant de 4 ans, présentant une infection virale et adressé par un autre laboratoire ayant trouvé une difficulté de le grouper.

**Les résultats de son groupage ABO sont les suivants**

Epreuve globulaire			Epreuve sérique		Témoins
Anti-A	Anti-B	Anti A+B	GR A	GR B	
+++	+++	+++	+++	+++	AUTO + ALLO ++ AB +++

- Il ya une agglutination partout mémé avec les témoins.
- Selon les renseignements cliniques cet enfant pourrait présenter la pathologie des agglutinines froides qui est survenue après une infection virale, donc l'objectif est d'éliminer ces agglutinines froides.

**Conduite à tenir**

- **Pour l'épreuve globulaire** : - 06 lavages en solution saline 0,9‰ à 37°C.
- Refaire l'épreuve globulaire et le témoin AB.

**Les résultats montrent**

- Une absence d'agglutination avec l'anti-A, l'anti-B et l'anti A+B dans l'épreuve globulaire, avec un témoin AB négatif.
- En même temps un Ac anti-A et anti-B est présent au niveau du sérum de cet enfant avec l'épreuve sérique

**Donc : le sujet est finalement groupé O.**

**Cas N°03**

Il s'agit d'un homme de 88 ans, présentant une maladie de kahler et adressé par le centre anticancer Blida.

**Les résultats de son groupage ABO sont les suivants**

Epreuve globulaire			Epreuve sérique		Témoins
Anti -A	Anti- B	Anti A+B	GR A	GR B	
+++	+++	+++	+++	+++	Auto + Allo ++ AB +++

-Il ya une agglutination partout même avec les témoins.

- Le sérum du patient pourrait renfermer une grande quantité de protéines pathologiques de poids moléculaire élevé puisque dans les renseignements cliniques le patient avait un myélome multiple, les hématies se forment en rouleaux rapidement avec cette pathologie.

**Conduite à tenir**

- **Pour l'épreuve globulaire :** - 06 lavages en solution saline 0,9‰ à 37°C.
  - Refaire l'épreuve globulaire et le témoin AB.
- **Pour l'épreuve sérique :** - Diluer le plasma au 1/ 2.
  - Refaire l'épreuve sérique.

**Les résultats montrent**

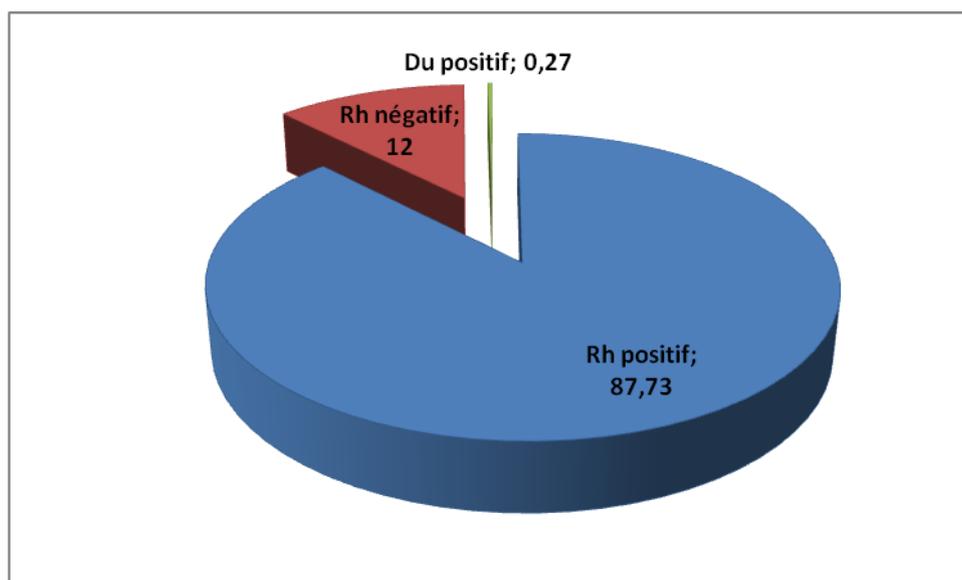
- Une absence d'agglutination avec l'anti-A, une agglutination avec l'anti-B et l'anti A+B dans l'épreuve globulaire, et un témoin AB négatif.
- En même temps un Ac anti-A sérique au niveau de simonin et les témoins ALLO, AUTO sont négatifs.

**Donc : le sujet est finalement groupé B**

**II-2-2-Difficultés de la détermination du phénotype RH1 (Tableau 19)**

Les tests d'agglutination directe ne permettent pas toujours de classer les hématies en rhésus positif ou négatif. Les hématies de certains sujets réagissent faiblement avec l'anti-D ou nécessitent un temps de réaction plus long que la plupart des hématies rhésus positifs. Un nombre plus faible de sujets possède des hématies non agglutinées par l'anti-D, mais qui adsorbent l'anticorps. Ces hématies sensibilisées peuvent être agglutinées par l'antiglobuline. Particulièrement l'antigène D<sup>u</sup> doit être couramment déterminé dans la pratique chez les donneurs de sang.

		Effectifs	Pourcentage	Total
<b>D positif</b>	D+	3268	87,73%	88%
	D <sup>u</sup>	10	0,27%	
<b>D négatif</b>	D-	447	12%	12%

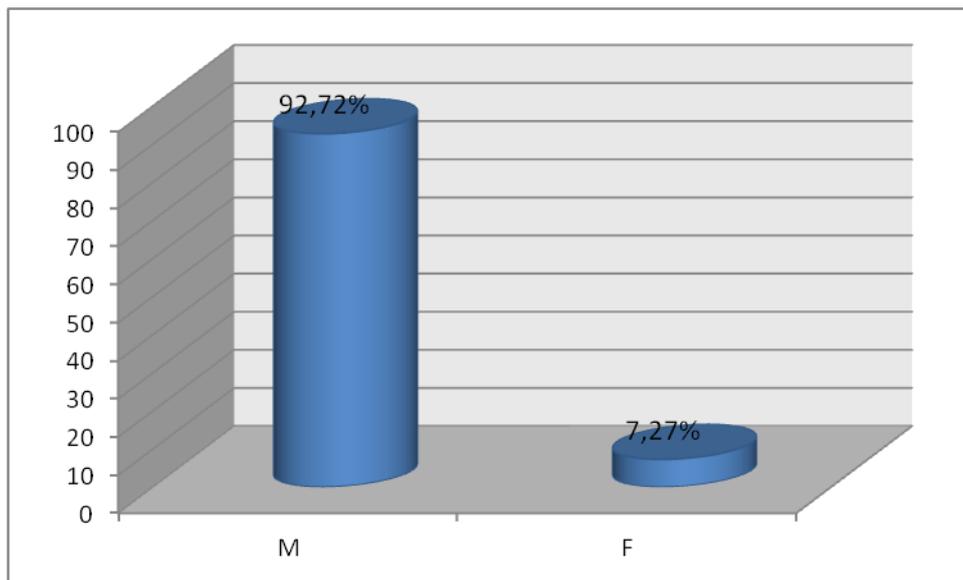


**Fig N°29** : La fréquence des phénotypes Rhésus chez les donneurs

## II-3-La recherche d'hémolysines anti-A et anti-B chez les donneurs O

### II-3-1-Répartition des donneurs O du mois d'Avril selon le sexe (Tableau 20)

Sexe	Effectifs	Pourcentage
Masculin	408	92,72%
Féminin	32	07,27%
Total	440	100%

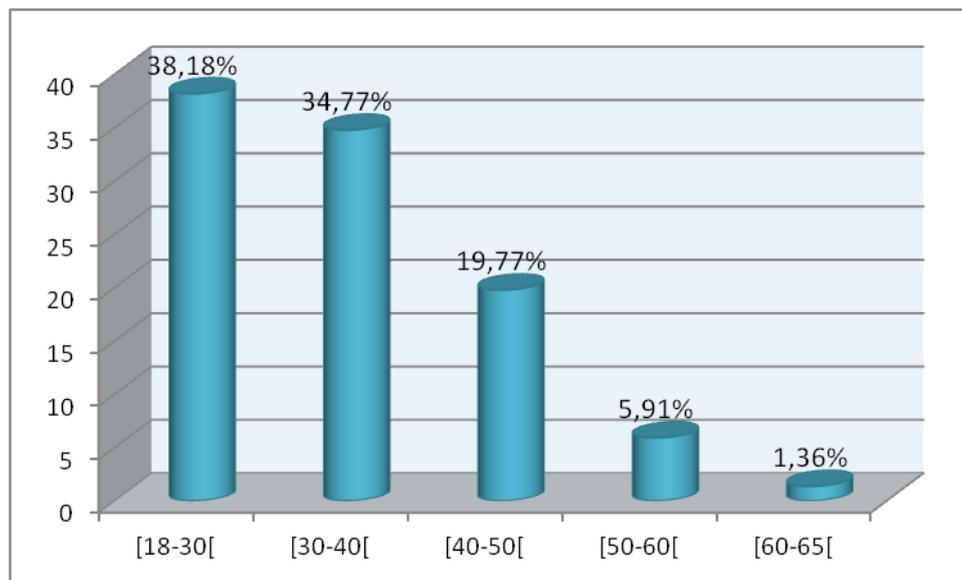


**Fig N°30 :** Répartition des donneurs O du mois d'Avril selon le sexe

Nous remarquons que la prédominance chez les donneurs de sang de groupe O du mois d'Avril est essentiellement masculine (92,72%) avec un sexe ratio de 1 pour 13.

**II-3-2-Répartition des donneurs O du mois d'Avril selon la tranche d'âge (Tableau 21)**

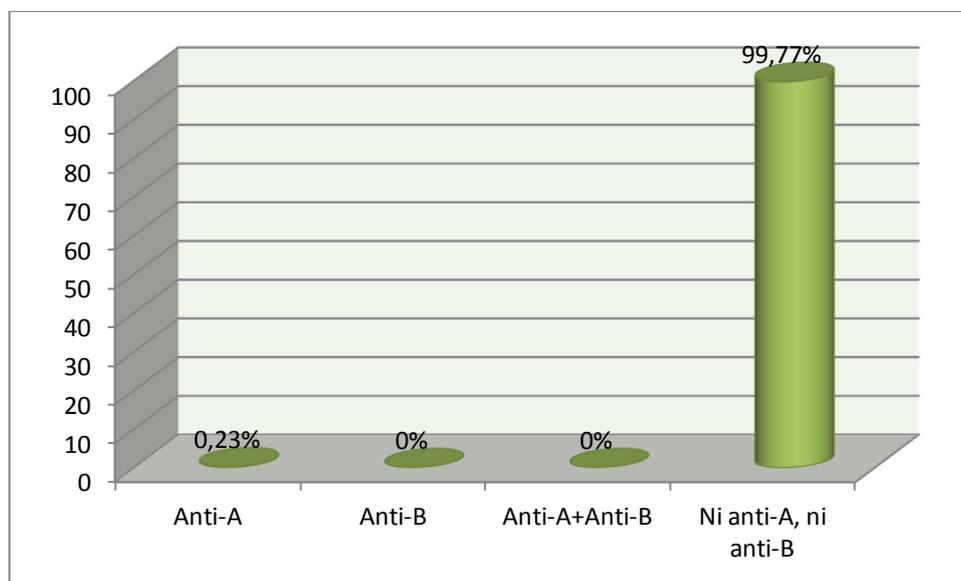
Tranches d'âge	Effectifs	Pourcentage
[18 - 30[	168	38.18%
[30 - 40[	153	34.77%
[40 - 50[	87	19.77%
[50 - 60[	26	5.91%
[60 - 65[	6	1.36%
<b>Total</b>	<b>440</b>	<b>100%</b>

**Fig N°31** : Répartition des donneurs O du mois d'Avril selon la tranche d'âge

Les donneurs de groupe O sont plus fréquents dans la tranche d'âge entre 18 et 30 ans et suivis de près par la tranche entre 30 et 40 ans.

**II-3-3-Répartition globale des hémolysines anti-A et anti-B (Tableau 22)**

	Effectifs	Pourcentage
<b>Anti-A seul</b>	01	0,23%
<b>Anti-B seul</b>	00	00%
<b>Anti-A + Anti-B</b>	00	00%
<b>Ni anti-A, ni anti-B</b>	439	99,77%
<b>Total</b>	440	100%

**Fig N°32 : Répartition globale des hémolysines anti-A et anti-B**

La recherche des hémolysines chez les donneurs de sang O montre qu'il y a un cas possédant une hémolysine anti-A sur 440 donneurs soit un pourcentage de 0,23%.

# DISCUSSION

### III-Discussion

En 2016, l'Algérie a enregistré 557 001 dons sanguins à travers le pays, 69% d'entre eux sont issus de donateurs bénévoles, dont 24% réguliers et 45% occasionnels, cependant 31% des dons proviennent encore de donateurs de compensation. Par ailleurs, deux tiers des dons ont été recueillis au niveau des structures de transfusion sanguine fixes, et un tiers en collecte mobile. Il est à noter que le nombre de donations a augmenté de 3% par rapport à l'année 2015. Selon le communiqué du ministère de la Santé de la Population et de la Reforme Hospitalière, ce chiffre reste « insuffisant » vu qu'un tiers des dons proviennent de donateurs de compensation ou pour aider des proches nécessitants du sang alors que deux autres tiers sont réalisés sur site fixe. La majorité des donateurs sont des hommes, représentant ainsi **78%** des donateurs. La pyramide des âges des donateurs révèle un niveau élevé des donateurs chez les personnes âgées **entre 27-36 ans** dont le taux est de **32%**.

Notre travail a permis de mettre l'accent sur le fait que les donateurs de sang au niveau du CRTS de Blida sont majoritairement des hommes, en effet les hommes représentent un pourcentage de **90,93%** alors que les femmes ne sont qu'à un taux de **9,07%**. Cette disparité hommes / femmes pourrait être rattachée au mode de vie de la population algérienne où l'homme est plus fréquemment à l'extérieur ou à son travail, mais néanmoins plus sensibilisé au don de sang alors que les femmes sont majoritairement au foyer et quand elles sont salariées, elles rencontrent plus de difficultés à sortir de leur lieu de travail.

Par ailleurs la tranche d'âge la plus concernée par le don est celle de 18/30 ans avec 39,49% suivie par celle de 30/40 ans avec 36,35%, ceci est en accord également avec les données de l'Algérie puisque le taux à l'échelle nationale est de 32% pour l'année 2016. L'âge moyen des donateurs de sang est de  $33,12 \pm 9.05$  ans. Cela pourrait s'expliquer par le fait que les personnes dont l'âge varie entre 18 et 40 ans représentent une population relativement jeune et davantage en bonne santé donc plus habilitée à donner son sang alors qu'à partir de 40 ans les problèmes de santé commencent à devenir plus fréquents.

Il faut souligner que ces données ne sont pas en accord avec celles d'autres pays où le mode de vie est différent en effet en France (Les dons de sang en France : Disparités territoriales et profil des donateurs en 2010 Rapport final Août 2013), les besoins en sang et en produits sanguins sont importants et tendent à augmenter. Avec plus de 1.6 millions de donateurs en 2010 (4,3 % de la population générale entre 18 et 70 ans). Au total, 1 454 043 donateurs de sang sont inclus dans la base d'analyse, 51,2 % de femmes et 48,8 % d'hommes. L'âge moyen des donateurs de sang total est de 38,3 ans, proche de l'âge médian (38 ans). Parmi les donateurs de sang, les individus âgés de 20 à 24 ans constituent une classe d'âge spécifique le pourcentage qu'ils représentent dans l'ensemble des donateurs, est près de deux fois supérieur à ceux des classes d'âges suivantes. La répartition des donateurs selon le sexe et l'âge montre que la proportion de donneuses est supérieure à celle des donateurs jusqu'à 35-39 ans.

Par ailleurs dans notre étude, le groupe sanguin O est le plus fréquent avec un pourcentage de 42,60% suivi par le groupe A avec 32,78%, puis le groupe B avec 17,85 % et le groupe AB en dernier avec un pourcentage de 6,77%.

Les données réalisées au Maroc restent en accord avec celles de la population algérienne puisque : Les fréquences phénotypiques moyennes sont au Maroc de : O : 46,05 %, A : 33,89 %, B : 15,68 % et AB : 4,33 %. (Polymorphisme ABO chez les donneurs de sang au Maroc 2004)

Alors que la population française montre des fréquences différentes puisque : A : 45% O : 43% B : 9% AB : 3%. (Les dons de sang en France : Disparités territoriales et profil des donneurs en 2010 Rapport final Août 2013)

Quant au système Rhésus ils sont 88% Rhésus Positif et 12% sont de Rhésus négatif. Ceci est en accord avec des données algériennes notamment l'étude réalisée dans le centre de transfusion sanguine de l'hôpital IBN ROCHD CHU d'Annaba sur un échantillon de 2250 donneurs appartenant à six wilayas de l'Est algérien, chez lesquels un groupage ABO, Rhésus, a été effectuée et les résultats montrent que Le groupe O se trouve chez environ **43,13 %** des personnes phénotypées avec une nette prédominance des sujets Rh positif 89,73 % par rapport aux sujets Rh négatif 10,26 % dans la population étudiée.

Concernant le don en fonction du groupe, le tableau 17 montre que la fréquence est toujours masculine et elle suit la fréquence du groupe ABO dans cet ordre : O+>A+>B+>AB+ Et O- >A- >B- >AB- le Rhésus suivant toujours le groupe ABO.

La récolte du don de sang selon le mois semble être plus importante durant le mois de janvier et avril pour les groupes A et O alors qu'elle est plus ou moins identique pour les groupes AB et B, il semblerait que ces deux derniers groupes donnent leur sang de manière constante du fait de leur moindre fréquence dans la population générale.

Les difficultés de groupage dans le système ABO ne sont pas très fréquemment retrouvées. En effet durant toute la période de notre stage au niveau du CRTS de Blida seuls 03 cas ont pu être relevés et devant l'absence au départ de difficultés rencontrées à grouper dans le système ABO, nous nous sommes déplacées au niveau du service de greffe de rein pour y rechercher d'éventuels patients mais aucun cas n'était répertorié

Nous nous sommes également déplacées vers le service d'oncologie médicale et d'hématologie où les transfusions se faisaient régulièrement à la recherche aussi de patients difficiles à grouper en raison de possible double population mais enfin aucun patient également n'a pu être répertorié

**Le premier cas** était un patient de 40 ans et au niveau de l'épreuve globulaire il y avait une image de double population avec l'anti-A.

Le phénotype A se subdivise en  $A_1$  et  $A_2$  donnant 6 phénotypes possibles  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_1B$ ,  $A_2B$ , O et B courants.

Les globules  $A_1$  réagissent donc avec l'anti-A, l'anti- $A_1$  (souvent une lectine extraite de *Dolichos biflorus*), mais pas avec l'anti-H (souvent une lectine extraite de *Ulex europaeus*), alors que les globules  $A_2$ , réagissent avec l'anti-A, pas avec l'anti- $A_1$ , mais avec l'anti-H.

Le sous-groupe  $A_1$  est le plus fréquent et est celui qui donne les réactions les plus nettes. Les globules  $A_2$  sont légèrement moins bien agglutinés. <sup>(24)</sup>

**Le deuxième cas** était un patient adressé par un autre laboratoire ayant eu des difficultés à le grouper. Il s'agissait d'un enfant qui semblait présenter un syndrome infectieux et possédait des agglutinines froides. Il y avait une image de poly agglutinabilité avec le témoin auto qui était positif. Le phénomène de poly agglutinabilité est évoqué au vu d'un témoin AB positif.

Le groupage à l'épreuve globulaire donnait AB+. La démarche a été de faire : Le lavage plusieurs fois en eau saline à 37°C pour éliminer l'anticorps fixé sur le globule rouge et l'élution se fait à 50°C.

Pour l'épreuve sérique il faudra la refaire à 37°C avec plusieurs adsorptions sur globules rouges O pour éliminer l'anticorps sérique

En fait l'épreuve sérique ainsi que l'épreuve globulaire ont donné un groupe O

Les agglutinines froides (AF) sont des anticorps antiérythrocytaires qui possèdent la propriété d'agglutiner les hématies à des températures inférieures à 37 °C. Leur agglutination est optimale à 4°C et peut être observée jusqu'à 20–25 °C.

Ces anticorps sont généralement de nature IgM. Exceptionnellement, il peut s'agir d'anticorps de nature IgG ou IgA. Parmi les AF, on distingue :

- Les allo-anticorps froids qui sont des anticorps naturels irréguliers, souvent peu actifs à 37 °C et rarement responsables d'accidents transfusionnels.
- Les autoanticorps froids, In vitro, les autoanticorps froids peuvent être responsables d'une agglutination spontanée des hématies sensibilisées, visible sur le frottis et parfois aussi macroscopiquement sur le tube de sang anticoagulé. Cette autoagglutination est généralement

réversible à 37 °C. Ils peuvent interférer avec la détermination du groupe sanguin ABO, Rhésus ou être détectés lors de la recherche d'agglutinines irrégulières (RAI) et masquer d'éventuels allo-anticorps associés.

In vivo, l'agglutination peut survenir dans les vaisseaux superficiels des extrémités où la température peut descendre à 28–31 °C. Elle entraîne des signes d'acrocyanose trouble vasomoteur (en rapport avec les modifications du diamètre des vaisseaux) touchant les extrémités, responsables de cyanose. La fixation de l'autoanticorps sur les hématies est rapidement réversible à 37°C dans la circulation profonde, mais elle permet l'activation du complément qui peut être responsable d'une hémolyse intra- et extra-vasculaire. Le caractère pathogène des AF est davantage lié à leur amplitude thermique qu'à leur concentration. Lorsque l'amplitude thermique est basse, l'hémolyse ne survient qu'en cas de refroidissement. Les AF de nature IgA, incapables de fixer le complément, ne sont responsables que des signes vasculaires.

Sur le plan clinique et biologique, il existe deux types de pathologies associées à la présence d'AF :

- Les formes chroniques : la maladie chronique des agglutinines froides (MCAF) est une pathologie qui touche le sujet de plus de 50 ans avec un pic de fréquence autour de 70 ans.

-Les formes aiguës : ces formes s'observent surtout chez les petits enfants, survenant après une infection virale (mononucléose infectieuse, cytomégalovirus) ou une pneumopathie atypique (*Mycoplasma pneumoniae*). Dans ce cas, l'AF est généralement une IgM polyclonale

Sa présence est transitoire mais peut entraîner une anémie hémolytique auto-immune aiguë. Cette affection guérit spontanément, généralement sans séquelles. <sup>(25)</sup>

**Le troisième cas** était un patient de 88 ans présentant une maladie de Kahler avec une image de poly agglutinabilité qui en fait s'est révélée être des hématies en rouleaux dues à l'hyperviscosité sanguine en rapport avec sa maladie ,il s'agit en fait d'un excès globulaire dû à l'augmentation des protéines au niveau sanguin gênant ainsi l'épreuve globulaire de Beth Vincent, le problème a donc pu être résolu après un lavage des globules rouges en solution saline à 37°C à plusieurs reprises et ces globules rouges après lavage ont pu alors nous permettre d'établir le groupage de ce patient qui était du groupe B, ce phénomène peut également se voir au cours des réactions inflammatoires ou il y a une hyperfibrinémie. <sup>(17)</sup>

En ce qui concerne le système rhésus les difficultés étaient essentiellement dues à la faible réactivité de l'antigène D. En effet 10 cas de D<sup>u</sup> ont été répertoriés.

Les D types avec expression faible seraient secondaires à des mutations du gène RHD qui causent des changements d'acides aminés qu'on prévoit être situés intra membranaires ou intracellulaires, la biologie moléculaire a permis d'identifier ces anomalies génétiques et de classer les D faibles en 73 types au moins. Le test à l'anti globuline indirect était positif ce qui confirmait le D<sup>u</sup>. <sup>(26)</sup>

Il faut toujours utiliser un témoin négatif

À l'origine, était considéré comme de phénotype D<sup>u</sup> un groupe Rhésus donnant de faibles réactions avec les réactifs habituellement utilisés pour déterminer le groupe sanguin RH1, D. Cette recherche était faite par une technique à l'antiglobuline, voire par une technique de fixation-élution ou encore

utiliser une protéase type papaïne sur les globules rouges. Compte tenu de l'amélioration des réactifs (anticorps monoclonaux, réactifs qui ont l'avantage d'être très puissants, mais l'inconvénient de ne concerner qu'un seul épitope par clone) et des techniques (filtration sur gel) le nombre de D<sup>u</sup> dépistés est maintenant très faible. En cas de réelle nécessité, la biologie moléculaire (B.M.) peut maintenant être utilisée, et montre très souvent qu'il s'agit en réalité d'un variant du gène RH1.<sup>(24)</sup> Les D<sup>u</sup> sont des sujets qui sont positifs leur réactivité est juste faible contrairement ceux D partiels chez lesquels des épitopes de la mosaïque antigénique du D manquent, de plus ils peuvent avoir un anti D serique, ces sujets sont considérés Rhésus négatifs en tant que receveurs et positifs en tant que donneurs car l'antigène D est immunogène.

Pour la recherche des hémolysines chez les sujets de groupe O du mois d'Avril, le pourcentage obtenu était très faible puisque sur 440 donneurs seul un cas a été relevé et ce pourcentage était de 0,23% et il s'agissait d'un anticorps anti A

Le système de groupe sanguin ABO est caractérisé par les anticorps sériques naturels. Il existe, en plus et en réponse à certains stimuli, des anticorps immuns encore appelés hémolysines en raison de leur pouvoir hémolysant. Chez les donneurs de sang, ces hémolysines peuvent induire des hémolyses parfois importantes lorsque le sang transfusé en compatibilité non iso-groupe.

Ces données ne sont pas en accord avec des études antérieures effectuées en Algérie et en Tunisie. En effet à Tlemcen une population de 128 donneurs O a été étudiée et la prévalence était de 8,59 % pour l'anti-A, de 5,47 % pour l'anti-B, la présence concomitante de l'anti-A et de l'anti-B était de 3,13 %. (Recherche des hémolysines chez les donneurs de sang : F.ADDA et A.KEBIB, CRTS Tlemcen)

Par ailleurs une étude faite a Sfax en Tunisie sur 1313 donneurs de groupe sanguin O a montré 26 cas d'hémolysines (anti A et anti B), soit 1,98 %. (Recherche des hémolysines chez les donneurs de sang : N. LOUATI, J. CHERIF, I. BEN AMOR, H. REKIK ET J. GARGOURI, CRTS de Sfax)

Il semble donc que les hémolysines au CRTS de Blida ne sont pas très fréquentes en comparaison avec les résultats de Tlemcen, dont l'étude a été réalisée sur uniquement 128 donneurs ce qui représente un chiffre assez élevé.

Alors que le centre de transfusion de Sfax a étudié 1313 donneurs et la prévalence était de 1.98% chiffre plus élevé que celui du CRTS Blida mais bien plus bas que celui de Tlemcen

Cependant du fait de la dangerosité de ces hémolysines il serait souhaitable de les généraliser à tous les centres de transfusion.

CONCLUSION

La détermination d'un groupage sanguin ABO obéit à certaines règles essentielles et indispensables bien que ce soit un examen de réalisation facile et rapide.

Le contrôle de qualité est la règle de base pour effectuer un groupage et c'est la raison pour laquelle des témoins sont indispensables, et que la qualité des réactifs doit être vérifiée et être conforme à la norme iso 15189 relative à la qualité en matière d'examen de biologie médicale.

La première application de ce groupage est la transfusion sanguine que celle-ci soit sur sang total ou soit sur dérivés. Les règles transfusionnelles obéissent directement aux deux épreuves indispensables pour le système ABO : l'épreuve globulaire de Beth Vincent et l'épreuve sérique de Simonin lesquelles doivent absolument être complémentaires.

La détermination du système Rhésus du fait de sa grande immunogénicité doit également être réalisée avec la plus grande rigueur avec l'utilisation de témoins albumineux et de tests de Coombs indirect si nécessaires.

Il est vrai que la prévalence des hémolysines anti-A et anti-B chez les sujets O est relativement faible mais du fait de leur grande dangerosité notamment par les accidents hémolytiques qu'elles peuvent engendrer en cas de transfusion non iso-groupe, il serait souhaitable de systématiser leur recherche à tous les centres de transfusion sanguine.

**RÉFÉRENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES**

- (1) <http://www.futura-sciences.com>
- (2) **J. Chiaroni, F. Roubinet, P. Bailly, L. Mannessier, F.N. Pirenne.** Les analyses immunohématologiques et leurs applications cliniques, Editions John Libbey Eurotext 2011. P : 35-58
- (3) **A. JOUVENCEAUX. PHYSIOLOGIE HUMAINE** immuno-hématologie, Simep éditions. P : 17, 33-35
- (4) **RIGAL, D. MEYER, F. MAYRAND, E. DUPRAZ, F.** Les allo-immunisations foeto-maternelles anti-érythrocytaires : état de l'art en 2008. Revue francophone des laboratoires, 2008 ; n°402, p.52-62. (Université de LORRAINE.)
- (5) <http://www.isbtweb.org/> (International Society of Blood Transfusion)
- (6) **Jean-François BACH.** Immunologie, troisième édition. P : 152-159, 168-169
- (7) <http://www.trucsettutos.com>
- (8) **LETIZIA Guillaume.** FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG LILLE2. Année : 2015
- (9) <http://svtmarcq.over-blog.com/article-les-innovations-genetiques>
- (10) **Pr. Messaoudi :** Cours : Immuno-hématologie : Hôpital Militaire .Rabat, 2009-2010.
- (11) **Pascal Bailly, Jacques Chiaroni, Francis Roubinet.** Les groupes sanguins érythrocytaires. . P : 4-8.
- (12) **H. AIRECHE.** Polymorphisme érythrocytaire dans la population algérienne. INESM (Institut National de l'Education en Sciences Médicales), Alger 1987.
- (13) Christian Janot et Al. Immuno-hématologie et groupes sanguins, cahier de formation biologie médicale bioforma 2002
- (14) <http://sante-medecine.journaldesfemmes.com>
- (15) <https://tenma123.wordpress.com/>
- (16) **J. Chiaroni, V. Ferrera, I. Dettori, F. Roubinet.** Groupes sanguins érythrocytaires. EMC - Hématologie 2005:1-41 [Article 13-000-R-50].
- (17) <http://www.toutsurlatransfusion.com>
- (17) <http://www.toutsurlatransfusion.com>
- (18) Document de référence ANALYSES DE MÉDECINE TRANSFUSIONNELLE CHEZ LE PATIENT Version 5.0 DU 01/01/2016 SUISSE.
- (19) <https://microbiologyinfo.com>
- (20) <http://www.who.int>

<sup>(21)</sup> <https://dondesang.efs.sante.fr/>

<sup>(22)</sup> <http://dspace.univ-tlemcen.dz>

<sup>(23)</sup> **N. LOUATI, J. CHERIF, I. BEN AMOR, H. REKIK ET J. GARGOURI**, CRTS de Sfax  
Recherche des hémolysines chez les donneurs de sang

<sup>(24)</sup> <https://fr.wikipedia.org>

<sup>(25)</sup> Berentsen S, Ulvestad E, Langholm R, Beiske K, Hjorth-Hansen H, Ghanima W, et al. Primary chronic cold agglutinin disease : a population based clinical study of 86 patients. Haematologica 2006 ; 91/4 : 460-466.

Judd WJ. How I manage cold agglutinins. Transfusion 2006 ; 46 : 324-326. Rochant H.

Anémies hémolytiques auto-immunes. EMC – Hématologie 1999 ; 13-006-D-20, 19 p.

<sup>(26)</sup> Anne Long M.D Le RHD et ses Variants.