



UNIVERSITÉ
DE BISKRA

Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques

Référence / 2021

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté et soutenu par :

Derardja Imene

Bambra Moussa Abderrazak

Le:dimanche 4 juillet 2021

Recherche des difficultés de groupage ABO dans les syndromes lymphoprolifératifs

Jury :

Mme. TRABSA hayat

MCB Univ Biskra

Président

Mme. ACHOUR Hanane

MAB Univ Biskra

Rapporteur

M. REBAI Redouane

MCB Univ Biskra

Examineur

Année universitaire : 2020/2021

Remerciement

Nous exprimons tout d'abord, nos profonds remerciements et louanges à Allah le tout puissant, qui nous guide sur le droit chemin et nous donne le courage et la volonté d'achever et d'entamer ce travail ainsi de nous avoir éclairé sur le chemin de la réussite.

Cet humble travail n'aurait pas eu lieu sans l'aide de notre chère encadreur, *Mme ACHOUR Hanane*.

Nous tenons à remercier infiniment avec beaucoup d'affection et d'amour notre chère encadreur, *Mme ACHOUR Hanane* pour sa patience, ses précieux conseils qu'elle n'a cessé de donner, son aide et sa rigueur scientifique qu'à nous illuminer pour l'élaboration de ce mémoire. Mme, nous ne pouvions pas trouver les mots pour vous exprimer notre profond respect et notre gratitude, vous êtes notre exemple et nous espérons être comme vous un jour.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements et notre profond respect avec beaucoup d'affection à tous nos enseignants sans exception durant nos années universitaires.

Nous exprimons notre gratitude et remerciements aux membres du jury d'avoir accepté de juger notre modeste travail.

Nous tenons à remercier également tous le personnel du laboratoire de CTS pour leur aide et leur disponibilité. Sans oublier le personnel des services d'hémo-oncologie adulte et pédiatrique du centre de cancer de Batna.

Dédicace

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance... Aussi, c'est tout simplement que je dédie, Ce modeste travail

❖ A ma très chère **Oma**

École et première enseignante de mon enfance qui n'a jamais cessé de m'encourager et de me soutenir. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour ma réussite, Vos prières et vos conseils m'ont toujours accompagné et ont éclairé mon chemin. Ce travail aujourd'hui est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour ma formation. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé et une longue vie.

❖ A ma très chère **MÈRE**

Tu m'as comblé avec ta tendresse et ton affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir, de me protéger et de m'encourager durant toutes les années de mes études, En ce jour mémorable, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

❖ A mon très cher **PÈRE**

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté.

❖ A Mon chère Binôme **Imene**

❖ A mon adorable petite sœur **Hania Ibtissem** & A mes cher frères **Malek, Badrou,**

Chamsou et Bahaa

Mes anges gardiens et mes fidèles compagnants dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse. Pour toute l'ambiance dont vous m'avez entouré. Pour toute la complicité et l'entente qui nous unissent. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

❖ A Mes chères Tantes **Naziha & Radhia**

Que Dieu vous préserve santé et longue vie.

❖ A mes adorables amis et collègues **Chella**

Et A toute la première promotion **Biochimie Appliquée** 2020/2021 Biskra.

Bambra Moussa Abderrazak

Je dédie ce travail

*A ma très chère grand-mère **Belkacemi yasmina***

Mon amour... mon respect pour toi ne peut s'exprimer avec des mots. Tu étais toujours avec moi, pour me soutenir et me pousser en avant, tu as été l'amie, la mère, le père, et tout le monde pour moi. Aujourd'hui je suis arrivé à cette place à cause de ton aide et c'est grâce à toi que j'ai réussi toutes ces années, je ne trouve même pas les mots pour exprimer combien je suis heureuse en ce moment.

*A mes chers parents **Derardja Hamdi et Chaib Naziha** et ma chère soeur **Dounia***

Qui m'ont toujours soutenu, dans tout ce que je fais, je vous remercie. Ma réussite est la votre.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible, merci d'être toujours là pour moi.

*A mes chers amis **Bambra Moussa, Hamdi Amine et Osmane Nassim***

Qui ont toujours été à mes côtés, qui m'ont aidé et soutenu dans les moments difficiles Vous êtes les personnes les plus merveilleuses que j'ai connues dans ma vie, que Dieu vous protège et réalise tous vos souhaits

A mes chers amies

Derbali safia, Saouli Khaoula ,ZiadDjahida, CherifSoundous, TerissaAmel,HamdiHind, GuettafHana, sans oublier Wafa.

Vous êtes les plus belles, gentilles, et merveilleuses amies que j'ai connu.

Merci pour tous les bons moments.

Table des Matières

REMERCIEMENT

DEDICACE

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX	I
LISTE DES FIGURES.....	II
LISTE DES ABREVIATIONS	III
INTRODUCTION.....	1

PREMIERE PARTIE: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1: LE SYSTEME ABO

1.1. Présentation du système ABO.....	3
1.2. Génétique du système ABO et expression des antigènes ABH.....	3
1.2.1. Le gène ABO	3
1.2.2. Biosynthèse des antigènes A et B	4
1.3. Biochimie et phénotypes du système ABO.....	6
1.3.1. Les principaux phénotypes	6
1.3.2. Les autres phénotypes moins fréquents	6
1.3.2.1. Le phénotype A2	6
1.3.2.2. Les phenotypes faibles ou rares	7
1.4. Immunologie et anticorps du système ABO.....	7
1.4.1. Les anticorps Anti-A et Anti-B réguliers.....	7
1.4.2. Les anticorps irréguliers.....	7
1.5. Détermination du groupe sanguin ABO.....	8
1.5.1. Techniques et principe du groupage ABO	8
1.5.2. Modalités de groupage sanguin.....	8
1.5.2.1. L'épreuve globulaire (épreuve de Beth-Vincent)	9
1.5.2.2. L'épreuve sérique ou plasmatique (épreuve de Simonin).....	9

CHAPITRE 02: PATHOLOGIES DU SYSTEME HEMATOPOÏËTIQUE - HEMOPATHIES MALIGNES-

2.1. Définition des hémopathies malignes.....	10
2.2. Classification des hémopathies malignes.....	10

DEUXIEME PARTIE: PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 03 : MATERIEL ET METHODES

3.1. Stratégie de travail	12
3.2. Matériel biologique	14
3.3. Méthode de travail	14
3.3.1. Étapepréanalytique	14
□ Prélèvement sanguin	14
3.3.2. Etape analytique	14
3.3.2.1. Séparation du plasma et préparation des suspensions globulaires	14
3.3.2.2. Groupage sanguin.....	15
3.3.2.3. L'épreuve globulaire	15
3.3.2.4. L'épreuve sérique ou plasmatique	15
3.3.2.5. Réalisation des trois témoins (Allo, Auto et AB).....	15
3.4. Autres techniques de groupage ABO	16
3.5. Matériel biologique	17
3.6. Méthode de travail	17
3.6.1. Technique d'adsorption-élution	17
3.6.2. Méthode de cytométrie en flux.....	18

CHAPITRE 04 : RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Résultats	21
4.1.1. Population d'étude	21
4.1.1.1. Selon l'âge et le sexe	21
4.1.2. Les Données des diagnostics de syndromes lymphoprolifératifs.....	21
4.1.3. Les données de transfusion sanguine et de la chimiothérapie.....	22
4.1.4. Résultats de groupage sanguin ABO.....	23
4.2. Résultats des autres études	25
4.2.1. L'analyse par les techniques sérologiques	25
4.2.2. Analyse par cytométrie en flux des antigènes ABH	27
4.3. Discussion.....	28
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	34
BIBLIOGRAPHIE.....	35

ANNEXE

RESUME

Liste des Tableaux

Tableau 1. Les principaux phenotypes du systeme abo avec les sous groupes A1 et A2.....	6
Tableau 2. Les principales entites des hemopathies malignes selon la classification de l'oms en 2001 (actualise en 2008).....	11
Tableau 3. Technique de chacun des temoins	16
Tableau 4. Distribution des patients selon l'age.	21
Tableau 5. Donnees cliniques de la transfusion sanguine.....	22
Tableau 6. Le groupe sanguin abo anterieurement connu et apres les resultats de notre analyse.....	23
Tableau 7. resultats des temoins : allo, auto, et ab pour les echantillons qui ont represente une discordance.....	25
Tableau 8. Groupe ABO des patients etudie selon la methode standard d'agglutination.....	25
Tableau 9. Groupe sanguin des deux patients obtenu par la technique d'adsorption-elution.	26
Tableau 10. Resultats obtenus par le test en tube.....	26
Tableau 11. Le groupe sanguin ABO et le diagnostic des patients analyses avec l'alteration des antigenes ABH revelee par cytometrie en flux.....	27

Lies des figures

Figure 1. Structure du gene abo chez l’homme avec les principales mutations responsables de polymorphisme du systeme ABO	4
figure 2. Voie de biosynthese des antigenes A et B	5
figure 3. Structure de l'antigene H	6
Figure 4. Les antiserums test	9
Figure 5. Illustration schematique des etapes de groupage sanguin ABO	13
Figure 6. Representation graphique des pourcentages de distribution des patients selon le sexe	21
Figure 7. Pourcentages de distribution des differents types des hemopathies rencontrees chez la population d'etude.	22
Figure 8. Distribution des patients selon la coherence des deux epreuves en %	24
Figure 9. Groupe sanguin du patient etudie par la technique d’agglutination sur colonne.	26

Liste des abréviations

Ac	Anti corps
Ag	Antigène
CSH	Cellule souche hématopoïtique
CTS	Centre de transfusion sanguine
EDTA	Ethylène diamine tétra acétique ou acideéthylènediaminetétraacétique
GR	Globule rouge
HLA	Antigène humain leucocytaire
IgG	L'immunoglobuline G
IgM	L'immunoglobuline M
Nbr	Nombre
OMS	Organisation mondiale de la santé
PSL	Produits sanguin labiles
V	Volume

Introduction

Introduction

L'étude du système de groupe sanguin ABO dans l'acte transfusionnel et en pratique médicale, a permis de démontrer le rôle primordial du système ABO dans la sécurité immunologique des greffes, des transplantations d'organes, et des transfusions sanguines. (Jean-Yves *et al.*, 2015; Kleinclauss *et al.*, 2016; Fumihiko *et al.*, 2019) En effet, la majorité des accidents transfusionnels qui peuvent être dans certaines mesures mortelles sont liés au grand polymorphisme et aux variations génétiques des antigènes ABO entre les individus. (Marie-Hélène et Danielle, 2010; Bukasa *et al.*, 2017).

La distribution de ces épitopes est ubiquitaire et leur expression est génétiquement induite et contrôlée par différents mécanismes de régulation. (Yoshihiko *et al.*, 2020) Néanmoins, cette expression peut être altérée ou modifiée dans certains profils pathologiques, dont des multiples études ont indiqué que les antigènes du système ABO sont susceptibles de subir des modifications dans leur expression lors des tumeurs solides et hématologiques. (Vowdenl *et al.*, 1986; Le Pendu *et al.*, 2001; Archana *et al.*, 2020; Soukaina *et al.*, 2020)

Les tumeurs hématologiques sont reconnues comme l'ensemble des proliférations malignes qui affectent le système hématopoïétique et lymphatique. Ces tumeurs se développent à partir des lignées myéloïdes ou lymphoïdes qui sont les progéniteurs de toutes les cellules sanguines. (Diallo *et al.*, 2005; N'Dhartz *et al.*, 2012; Belmin *et al.*, 2016)

Au cours de la dernière décennie, l'incidence de ces tumeurs est en augmentation continue (Chahrazed *et al.*, 2020) dont, elles sont responsables de différentes complications plus ou moins sévères (Dourmane *et al.*, 2016; Guido *et al.*, 2019) et parmi les anomalies les plus observées au cours des hémopathies malignes est la variation des antigènes du système ABO. (Mia *et al.*, 1962; Dreyf *et al.*, 1969 ; Scott et Rasbridge, 1972; Jerry *et al.*, 1978)

En effet, de nombreuses observations réalisées en Europe et en Amérique ont rapporté l'altération des antigènes ABO chez des sujets porteurs de syndromes lymphoprolifératifs, dont cette altération est traduite par un affaiblissement voire une perte totale de certains antigènes du système ABO des globules rouges, et elle est responsable d'une modification du groupe sanguin chez les sujets affectés par les tumeurs. (Tina *et al.*, 2001; Sarwer *et al.*, 2013; N'guessan *et al.*, 2017; Sanmukh *et al.*, 2018 ;N'Guessanet *al.*, 2019 ; Abegaz, 2021)

A cet effet, la transfusion sanguine chez ces patients peut être dangereuse en raison de la variation possible de leur groupe sanguin ABO lors du processus tumoral car une compatibilité ABO est essentielle pour assurer la sécurité transfusionnelle des

receveurs.(Marie-Hélène et Danielle, 2010)

En Algérie, peu des études publiées sur cette problématique. Alors, durant la présente étude, nous avons essayé de déterminer le groupe sanguin ABO chez des sujets atteints des syndromes lymphoprolifératifs dans le but de rechercher des difficultés de groupage sanguin (double population, polyagglutinabilité, agglutination faible ou discordance entre les épreuves globulaire et sérique).

Pour répondre à cette problématique intéressante et pour achever notre objectif, notre travail est subdivisé en deux principales parties:

Une partie bibliographique qui comporte deux chapitres, le premier va être consacré à la présentation, la biochimie, la base génétique, et à l'immunologie du système ABO. En ce qui concerne le deuxième chapitre, il répond aux deux questions suivantes : qu'est ce qu'une hémopathie maligne? Quels sont les différents types histologiques des hémopathies malignes et quelle population cellulaire touchée dans chaque type?

Une partie expérimentale qui se divise en deux chapitres, premier c'est "Matériel et Méthode" dont il va présenter la stratégie qui va être adaptée pour la réalisation de ce travail, et le matériel biologique à étudier, avec la méthode qui va être suivie pour examiner le groupe sanguin ABO chez la population d'étude. Le deuxième chapitre, va présenter les résultats obtenus avec l'interprétation possible de chaque résultat. En raison de l'indisponibilité des techniques sophistiquées, nous avons ajouté une partie synthétique qui repose sur l'analyse de quelques articles scientifiques réalisés dans le même cadre d'étude, pour faire une comparaison entre les résultats trouvés selon les techniques de groupage conventionnel et d'autres techniques plus sensibles.

Première partie :
Synthèse bibliographique

Chapitre 01:

Le système ABO

Chapitre 1: Le système ABO

1.1. Présentation du système ABO

C'est le premier système qu'est a été découvert par Karl Landsteiner en 1900. Il est considéré comme le plus important sur le plan clinique et thérapeutique par rapport aux autres systèmes du groupe sanguin. (Lefrère et Berche, 2010)

Le système ABO est un système ubiquitaire c'est à dire que sa présence n'est pas limitée aux globules rouges uniquement mais, il a été rencontré à la surface des autres éléments figurés du sang (lymphocytes et plaquettes) (Cartron *et al*, 1980), de plus il a une large distribution tissulaire précisément dans les tissus épithéliaux et également il a été trouvé même dans les sécrétions cellulaires.(Helmut, 2000;Vibeke et Erik, 2000; Aminata, 2020) Cependant ce système n'est pas exprimé dans le tissu conjonctif, les muscles et le système nerveux central (Yoshihiko *et al*, 2020).

Due à sa localisation ubiquitaire le système ABO est devenu vraiment un complexe d'histocompatibilité majeur en plus du système HLA (Fressy, 1992) dont il joue un rôle très important au cours la transfusion sanguine thérapeutique, la transplantation de certains organes (foie, reins,...), les greffes de la moelle osseuse et les CSH. En effet l'incompatibilité ABO donne des conséquences graves qui peuvent être dans certains cas mortelles. (Rouger, 2005;Fontanet et Jean-Michel, 2010)

Le système ABO se caractérise par deux antigènes: l'antigène A et l'antigène B exprimés à la surface des globules rouges (également sur certaines cellules épithéliales et sécrétions) et par une production constante des iso-anticorps dites naturels réguliers dans le plasma (Anti-A et/ou Anti-B) correspondant aux antigènes absents.(Boufrioua *et al*, 2020)

1.2. Génétique du système ABO et expression des antigènes ABH

1.2.1. Le gène ABO

En 1990, Yamamoto *et al* sont mis en évidence la base génétique et moléculaire des antigènes ABO (fumi-ichiro *et al*, 1990). Le gène ABO qui contrôle la production et l'expression des ces antigènes est localisé dans le chromosome 9 en position 9q34 (Cartron, 1996), dont il comprend sept exons qui s'étend environ sur 19.5 kb d'ADN génomique et la majeure partie de la séquence codante est contenue dans les exons 6 et 7 la figure 1 présente la structure du gène ABO humain(Fumi-ichiro *et al*, 1995;Yoshihiko *et al*, 2020).

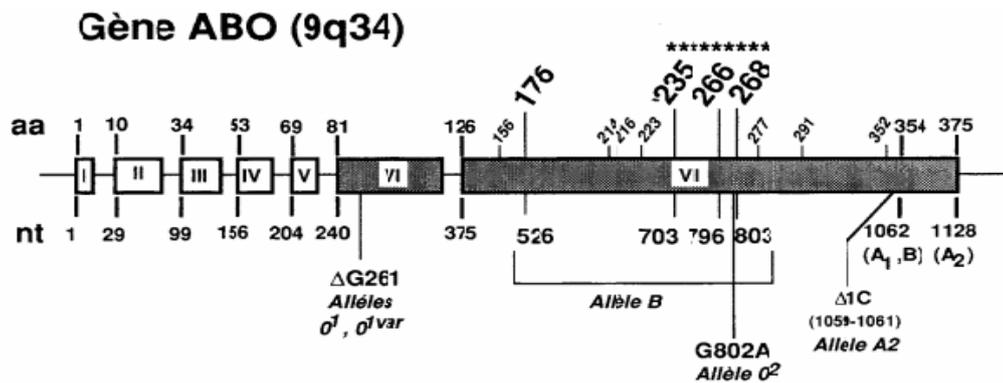


Figure 1. Structure du gène ABO chez l'homme avec les principales mutations responsables de polymorphisme du système ABO (Cartron, 1996)

1.2.2. Biosynthèse des antigènes A et B

Le gène ABO code pour des glycosyl transférases qui catalysent la glycosylation d'une unité de base pour faire générer les antigènes A et B (Cartron, 1996), en réalité l'activation de ce gène seule n'assure pas leur biosynthèse mais elle nécessite l'intervention d'un autre gène qui contrôle la production de l'antigène H c'est le gène H/h ou FUT1, par conséquent l'antigène H représente la molécule précurseur pour les antigènes A et B et leur expression est sous la dépendance de l'activation du gène FUT1 à côté du gène ABO. (Charles, 1989; Olsson et Chester, 2001)

Le gène ABO comporte trois allèles (A,B, et O), l'allèle A (ou A1) code pour une α -1,3-N-acétyl -galactosamine transférase qui catalyse le transfert d'une molécule de N-acétylgalactosamine sur le D-galactose terminal du motif accepteur qui est l'antigène H dans la position C3 ce qui aboutit à la formation de l'antigène A1 comme il est montré dans la figure 2 Le donneur du sucre est le nucléotide UDP-GalNAc. (Helmut, 2000; Olsson et Chester, 2001)

L'allèle A2 par comparaison avec l'allèle A1 présente une délétion d'un nucléotide dans la partie 3' ce qui conduit à un décalage dans le cadre de lecture et génère une enzyme (A2) avec une extension C-terminal supplémentaire de 21 acides aminés, cette extension donne comme conséquence une protéine avec des propriétés catalytiques différentes à celle de l'enzyme A1. (Cartron, 1996; Guillaume, 2015)

L'allèle B donne une α -1,3-galactosyltransférase qui assure la production de l'antigène B en ajoutant un résidu de galactose sur le précurseur de base au niveau le sucre terminal (D-galactose en C3), La figure 2 indique sa voie de formation et que l'UDP-GalNAc est la molécule donatrice du sucre. (Helmut, 2000; Olsson et Chester, 2001)

Pour l'allèle O, il est non fonctionnel et ne produit pas une enzyme active. Lorsqu'il présente à l'état homozygote les antigènes A et B ne sont pas produits et uniquement les antigènes H sont exprimés à la surface des hématies. En effet, l'allèle O présente une mutation par rapport au allèles de références (A1 et B) résultant de la délétion d'un nucléotide situé dans la position G261 au niveau l'exon 6, ce qui provoque un décalage dans le point de lecture et donnant par la suite une protéine tronquée sans activité catalytique. (fumi-ichiro *et al*, 1990;Cartron, 1996; Helmut, 2000; Olsson et Chester, 2001)

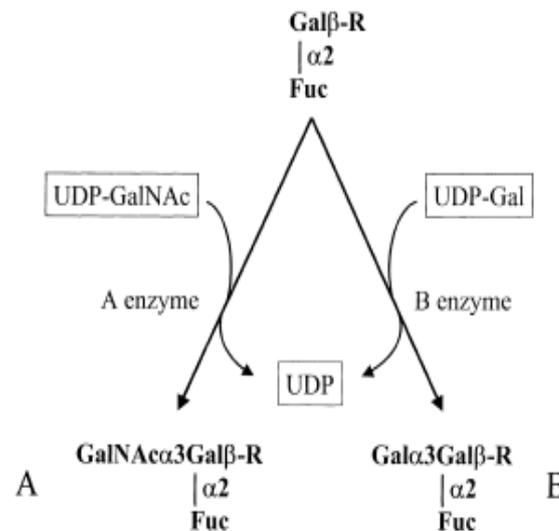


Figure 2. Voie de biosynthèse des antigènes A et B (Olsson et Chester, 2001)

1.2.3. Base génétique du système H - Production de l'Antigène H

L'expression de l'antigène H est sous le contrôle de deux gènes, le gène FUT1 qui assure la production de la forme membranaire et situé dans le chromosome 19 en 19q13.3, et le gène FUT2 ou Se (sécréteur) responsable de la forme sécrétoire dont les deux gènes codent pour deux α -1,2-fucosyl transférases différentes. La formation de l'antigène H selon la figure 3, s'effectue par le transfert un résidu de fucose à partir le nucléotide GDP-L-fucose sur le galactose terminal de la chaîne oligosaccharidique en C2 sous l'action d'une α -1,2-fucosyl transférase. (BALL, 1991;Helmut, 2000 ; Guillaume, 2015)

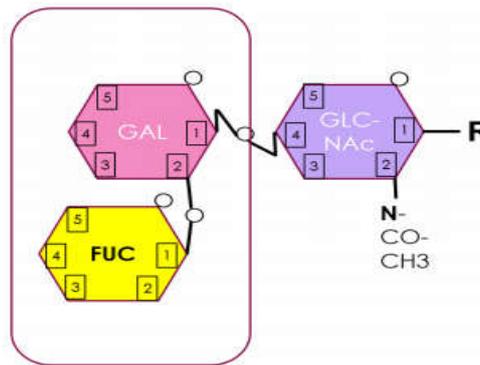


Figure 3. Structure de l'antigène H (Guillaume, 2015)

GLC-NAc:N-acetylglucosamine

GAL: Galactose

FUC:Fucose

1.3. Biochimie et phénotypes du système ABO

1.3.1. Les principaux phénotypes

La présence ou l'absence des antigènes A et B parmi de donner 4 phénotypes différents qui sont: A, B, AB, et O. Le plasma d'un sujet donné (tab.1) contient un anticorps naturel (Anti-A et/ou Anti-B) correspondant à l'antigène absent, si les deux antigènes sont présents à la fois sur la surface des hématies aucun anticorps est trouvé dans le plasma, et si les globules rouges ne portent ni l'antigène A ni B (portent l'antigène H seulement) dans ce cas les deux anticorps Anti-A et Anti-B sont présents dans le plasma sanguine.(Charles, 1989; Watkins, 2001; Boufrioua *et al*, 2020)

Tableau 1. Les principaux phénotypes du système ABO avec les sous groupes A1 et A2 (Watkins, 2001)

Globules rouges		Sérum
Génotypes	Phénotypes	Anticorps
A ₁ /A ₁ , A ₁ /A ₂ , A ₁ /O	A ₁	Anti B
A ₂ /A ₂ , A ₂ /O	A ₂	Anti A ₁ , Anti B
B/B, B/O	B	Anti A
A ₁ /B	A ₁ B	/
A ₂ /B	A ₂ B	Anti A ₁
O/O	O	Anti A et Anti B

1.3.2. Les autres phénotypes moins fréquents

1.3.2.1. Le phénotype A2

Le groupe A est subdivisé en deux sous groupes : A1 et A2 (tab.1) ce qui permet de distinguer dans le groupe AB les deux sous groupes A1B et A2B et par la suite le nombre des phénotypes devient six. (Charles, 1989;Olsson et Chester, 2001)

Dans le phénotype A1, le nombre de sites antigéniques occupés par l'agglutinogène A est très important que dans le phénotype A2 car l'enzyme codée par l'allèle A1 est très active que celle produite par l'allèle A2 et par la suite les antigènes H sont totalement masqués au niveau des hématies de type A1 mais au contraire dans le cas des hématies de type A2 ils persistent. Les hématies de phénotype A1 et A1B sont agglutinées par les anticorps Anti-A1 et ne donnent aucune réaction avec les anticorps Anti-H, par contre les hématies A2 s'agglutinent en présence des anticorps Anti-H et ne sont pas reconnus par les Anti-A1. (Keita, 2010; Guillaume, 2015; Ayad, 2019)

1.3.2.2. Les phénotypes faibles ou rares

Il existe également d'autres phénotypes A et B dites faibles résultant à partir des mutations au niveau des allèles de références ce qui donne des enzymes A ou B altérées citant par exemple les phénotypes : A3, Ax, B3, Bx, Bm,... ect. (Jean, 1964; Guindo, 2005)

Autre cas particulier, c'est le phénotype Bombay qui résulte lorsque le gène FUT1 est à l'état homozygote avec une délétion observée du gène FUT2 et par la suite les hématies des sujets de ce phénotype sont dépourvus totalement de l'antigène H et sont nommées H-déficients. Le plasma de ces sujets contient des anticorps Anti-A, des Anti-B, et un puissant Anti-H. (Guillaume, 2015).

1.4. Immunologie et anticorps du système ABO

1.4.1. Les anticorps Anti-A et Anti-B réguliers

Ces anticorps sont nommés des isoagglutinines et ce sont des anticorps naturels et réguliers de type IgM avec un optimum thermique à 4°C, c'est à dire qu'ils sont présents d'une manière spontanée sans stimulation induite et systématique en cas d'absence de leurs antigènes spécifiques. (Louati et al, 2008; Olsson et Chester, 2001)

1.4.2. Les anticorps irréguliers

Ce sont des anticorps immuns irréguliers car ils apparaissent suite à une stimulation immunitaire et sont majoritairement de type IgG, ils peuvent être soit : des hétéroanticorps, dont ils sont synthétisés due à une hétéroimmunisation provoquée par exemple par des vaccins, des allo-anticorps qui sont produits au cours des allo-immunisations provoquées par une incompatibilité foeto-maternelle ou d'une transfusion de produits sanguins ABO incompatibles, ou bien des auto-anticorps qui sont exprimés en cas de maladies auto-immunes. (Louati et al, 2008; Keita, 2010; Ayad, 2019)

1.5. Détermination du groupe sanguin ABO

Le groupage sanguin ABO est une analyse immuno-hématologique systématiques très importante sur le plan clinique et permet la sécurité de l'acte transfusionnelle.(Benoît, 2012) C'est un examen pré-transfusionnel obligatoire qui permet de prévenir les risques d'accidents immuno-hémolytiques au cours la transfusion de produits sanguins labiles (PSL).(Virginie *et al*, 2008; Bhallil *et al*, 2015)

1.5.1. Techniques et principe du groupage ABO

Ce test consiste à mettre en évidence l'antigène globulaire par l'intermédiaire des anticorps spécifiques ou des anti-sérums et les anticorps plasmatiques à l'aide des hématies tests qui ont une constitution antigénique bien connu, dont l'opération est basée sur une réaction d'agglutination dite active et directe. Active car les Ag font partie naturellement de GR et directe car les Ac utilisés sont des agglutinants complets ou multivalents de type IgM provoquant l'agrégation des GR lors de leur contact avec leurs Ag spécifiques sans l'intervention d'aucun artifice. En effet, une agglutination positive indique la présence de l'antigène correspondant à l'anticorps test (et l'inverse) et une réaction négative est généralement le signe d'absence des antigènes à la surface érythrocytaire (ou des anticorps dans le plasma).(Dimitris, 1980)

Pour réaliser le groupage sanguin plusieurs techniques peuvent être employées dont chacune d'entre elles a ses propres limites et intérêts d'utilisation, permet eux on distingue : la technique sur lame porte objet pour la microscopie, sur plaque de porcelaine blanche ou d'opaline, technique en tube à essai, la technique sur microplaque, et technique en gel. (Wim et Birgid, 2009;David *et al*, 2011)

1.5.2. Modalités de groupage sanguin

La détermination des groupes sanguins ABO s'effectue obligatoirement par deux épreuves complémentaires qui permettent l'identification simultanée des (Ag) globulaires et les (Ac) plasmatiques d'un sujet donné. La méthodologie du groupage doit être réalisée sur deux prélèvements différents, par deux techniciens selon deux techniques différentes et avec deux lots de réactifs différents. (Bhallil *et al*, 2015)

1.5.2.1. L'épreuve globulaire (épreuve de Beth-Vincent)

Cette épreuve permet la détection de la présence ou l'absence des agglutinogènes A et B à la surface des hématies en utilisant les anti-sérums test : Anti-A, Anti-B, et Anti-AB. La figure 4 illustre les trois réactifs utilisés dans ce test. (Dimitris, 1980; Roubinet *et al*, 2003; Batavisoaniatsy, 2015)



Figure 4. Les antisérums test

1.5.2.2. L'épreuve sérique ou plasmatique (épreuve de Simonin)

Elle repose sur l'identification de l'agglutinine Anti-A et/ou Anti-B présent dans le plasma d'un sujet à l'aide des hématies de contrôle d'un phénotype connu : GR (A1), GR (A2), GR (B), et GR (O) (Voire Annexe N°2). (Dimitris, 1980; Roubinet *et al*, 2003; Batavisoaniatsy, 2015)

Chapitre 02:

**Pathologies du système
hématopoïétique -
Hémopathies malignes-**

Chapitre 02: Pathologies du système hématopoïétique -Hémopathies malignes-

2.1. Définition des hémopathies malignes

Les hémopathies malignes sont des pathologies très hétérogènes avec un degré d'agressivité assez important qui affectent le système hématopoïétique dont l'origine, les caractéristiques, le type et le stade de cellules affectées, ainsi que la vitesse de progression tumoral se diffèrent d'un type à l'autre. (Rodriguez-Abreu *et al*, 2007; Claire, 2020)

Ces tumeurs malignes touchent les lignées myéloïdes et lymphoïdes responsables à la génération de toutes les cellules sanguines, lorsque la prolifération maligne réside dans des cellules matures elle est responsable d'hémopathies avec une progression lente dites hémopathies chroniques et lorsqu'elle se développe dans des cellules immatures elle provoque des hémopathies qui se progressent rapidement nommées hémopathies aiguës. (Maynadié, 2011)

2.2. Classification des hémopathies malignes

En 2001, l'OMS a adopté une classification international pour les néoplasies hématologiques en basant sur des études cliniques et biologiques, des résultats d'études cytologiques, histopathologiques, immunohistochimiques, cytogénétiques et moléculaires, puis en 2008 cette classification a été actualisé par l'OMS suite à l'identification de certaines entités mais la division initiale reste inchangée. (Jacques *et al*, 2008; Maynadié, 2011)

Selon cette classification (tab.2), les hémopathies malignes sont subdivisées en: hémopathies myéloïdes qui se développent à partir les cellules de lignée myéloïde, hémopathies lymphoïdes ou lymphomes qui touchent la lignée lymphoïde, les néoplasies histiocytaires et des cellules dendritiques qui se développent à partir des précurseurs monocytaires et histiocytaire de la moelle osseuse, et les mastocytoses qui affectent les mastocytes.(Jacques *et al*, 2008)

Parmi les hémopathies myéloïdes on cite : les syndromes myéloprolifératifs chroniques qui se caractérisent par la prolifération des cellules médullaires différenciées, et les leucémies myéloïdes aiguës qui sont marquées par une prolifération rapide des cellules immatures ou blastiques dont leur différenciation est bloquée.(Jacques *et al*, 2008;Maynadié, 2011)

Pour les lymphomes on distingue: les lymphomes hodgkiniens qui se caractérise par la transformation maligne des cellules particulières (cellule de Sternberg), et les lymphomes non

hodgkiniens qui incluent les leucémies lymphoblastiques chroniques B et T. (Jacques *et al*, 2008; Maynadié, 2011; Questel, 2011)

Tableau 2. Les principales entités des hémopathies malignes selon la classification de l'OMS en 2001 (actualisé en 2008). (Nancy *et al*, 1999; Jacques *et al*, 2008; James W, 2010)

Hémopathies myéloïdes			
Néoplasmes myéloprolifératifs	Néoplasmes myélodysplasiques / myéloprolifératifs	Syndromes myélodysplasiques	Leucémie myéloïde aiguë (LMA)
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Leucémie myéloïde chronique, BCR-ABL1 positif. ✓ Leucémie neutrophile chronique. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Leucémie myélomonocytaire chronique. ✓ Leucémie myéloïde chronique atypique, BCR-ABL1 négatif. ✓ Leucémie myélomonocytaire juvénile. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Cytopénie réfractaire avec dysplasie non lignée. ✓ Anémie réfractaire. ✓ Neutropénie réfractaire. ✓ Thrombocytopénie réfractaire. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ LAM avec anomalies génétiques récurrentes. ✓ AML avec NPM1 muté. ✓ LAM avec CEBPA muté.
Lymphome			
Les lymphomes non-hodgkiniens			lymphome de Hodgkin
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Néoplasmes lymphoïdes précurseurs 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Néoplasmes à cellules B matures 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Néoplasmes à cellules T matures et à cellules NK 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Lymphome hodgkinien à prédominance lymphocytaire nodulaire. ✓ Lymphome hodgkinien classique. ✓ Sclérose nodulaire Lymphome de Hodgkin classique.
<ul style="list-style-type: none"> ✓ leucémies lymphoblastiques B. ✓ leucémies lymphoblastiques T. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Leucémie lymphoïde chronique. ✓ Leucémie prolymphocytaire à cellules B. ✓ Lymphome splénique de la zone marginale à cellules B. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Leucémie prolymphocytaire ✓ à cellules T. ✓ Leucémie lymphocytaire granulaire à grandes cellules T. 	
Néoplasmes à cellules histiocytaires et dendritiques			
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Sarcome histiocytaire. ✓ Sarcome à cellules de Langerhans. ✓ Sarcome à cellules dendritiques folliculaires. 			

Deuxième partie : Partie expérimentale

Chapitre 03 :

Matériel et Méthodes

Chapitre 03 : Matériel et Méthodes

3.1. Stratégie de travail

L'étude que nous avons entreprise est une rétrospective transversale réalisée sur des échantillons du sang veineux qui ont été aimablement fournis par des services d'oncologie pédiatrique et le service d'hémo-oncologie des adultes. Les patients présentent au diagnostic un néoplasie hématologique.

Dans un premier temps, les prélèvements de sang recueillis ont été centrifugés pour séparer le culot globulaire au plasma. Tout d'abord, nous avons préparé une suspension globulaire avec deux concentrations différentes. Pour éliminer toute trace du plasma, des protéines, des anticorps, des débris cellulaire, et obtenir des globules rouges sans contaminants un lavage du culot globulaire est effectué par l'eau physiologique.

Ensuite, la détermination du groupe sanguin ABO a été réalisée par la technique standard d'agglutination directe sur plaque d'opaline. Elle comportait les deux épreuves simultanées (globulaire et sérique). Ces déterminations étaient encadrées par des témoins Auto, Allo et AB.

Enfin, nous avons observé les résultats obtenus et voir qu'est ce qu'il y a une double population, de polyagglutinabilité, d'agglutination faible ou de discordance entre l'épreuve globulaire et l'épreuve plasmatique.

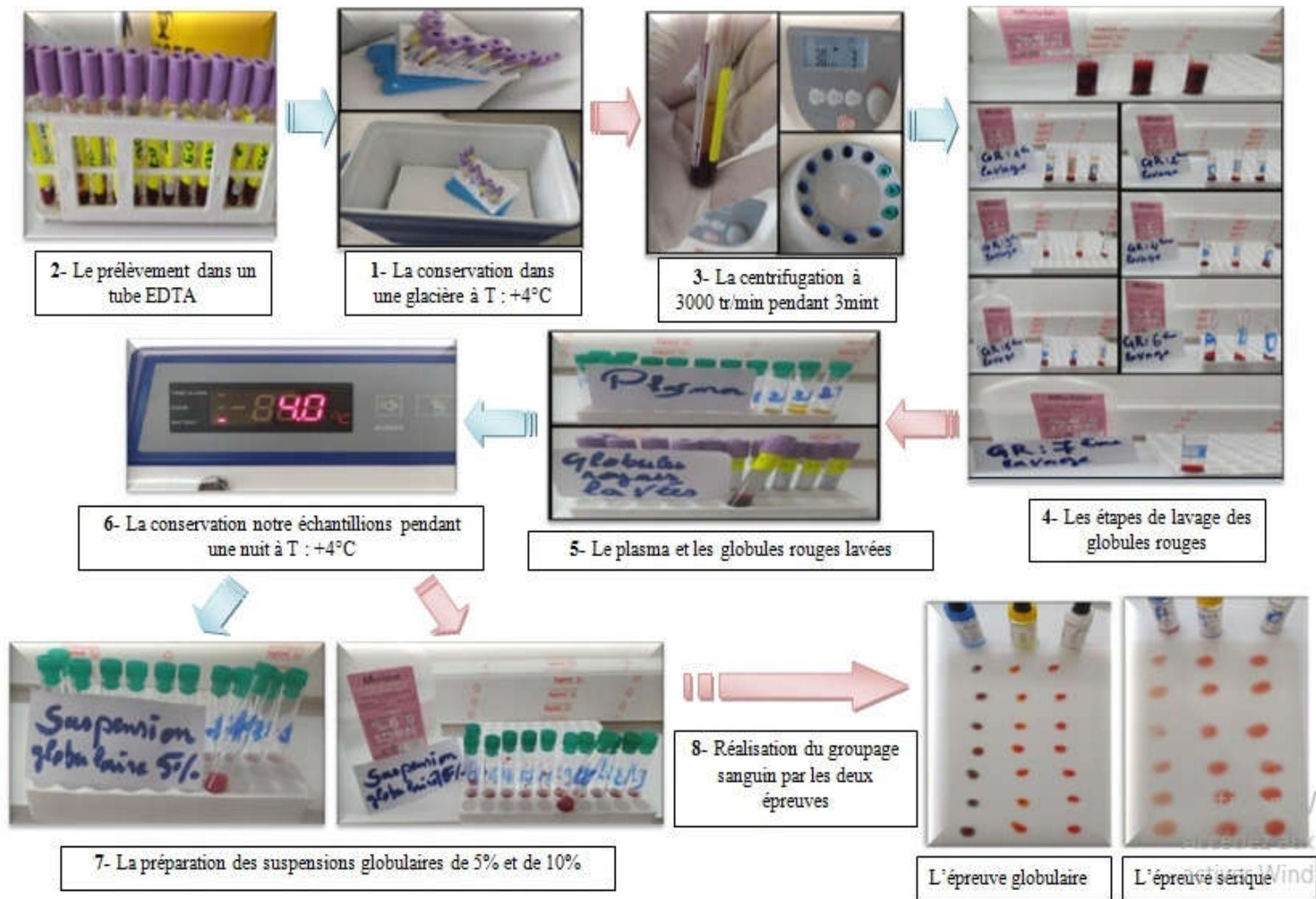


Figure 5. Illustration schématique des étapes de groupage sanguin ABO

Partie I : Travail pratique réalisé

3.2. Matériel biologique

Notre étude a porté sur 23 malades atteints d'hémopathie maligne. Elles sont de différentes tranches d'âge et des deux sexes. Les caractéristiques cliniques et pathologiques des échantillons ont été recueillies après un traitement des dossiers médicaux.

Tous les prélèvements ont été effectués dans le service d'oncologie. Ensuite les échantillons ont été conservés et transportés au laboratoire de Centre de Transfusion pour faire le groupage sanguin (ABO).

3.3. Méthode de travail

3.3.1. Étape préanalytique

✓ Prélèvement sanguin

C'est un prélèvement de sang veineux qui a été effectué au niveau du pli du coude par des techniciens de laboratoire des deux services d'oncologie (pédiatrique et hématologique). Le sang prélevé a été collecté dans un tube EDTA. Chaque tube a porté un code propre à chaque patient pour faciliter le travail. Après le prélèvement, le sang total a été transporté dans une glacière (à +4°C), dont la température a été vérifiée à l'aide d'un thermomètre. (Rasamiravaka *et al*, 2011).

3.3.2. Etape analytique

3.3.2.1. Séparation du plasma et préparation des suspensions globulaires

Pour chaque échantillon nous avons préparé deux suspensions globulaires (10% et 5%) selon le protocole recommandé par Rasamiravaka et al. 2011, dont nous avons apporté quelques ajustements selon les instructions du laboratoire. Pour cela une centrifugation du sang total à 3000 tr/min pendant 3 minutes a été effectuée Silva, 2005, suivi d'un lavage du culot globulaire par une solution de NaCl 0,9%. Puis les deux suspensions (10% et 5%) ont été préparées selon la méthode de Leesha et Elizabeth, 2020.

Ensuite, les suspensions préparées et les plasmas sanguins ont été conservés à +4 C° pendant une nuit (Rasamiravaka *et al*, 2011). Le groupage sanguin a été effectué dans le jour suivant.

3.3.2.2. Groupage sanguin

Le groupage sanguin ABO a été réalisé par la technique standard sur une plaque d'opaline et par les deux méthodes complémentaires. Dont il a été fait deux fois par deux personnes différentes.

3.3.2.3. L'épreuve globulaire

Pour mettre en évidence le type des antigènes exprimés à la surface des globules rouges de chaque patient, nous avons utilisé des anticorps monoclonaux Anti-A, Anti-B, et Anti-AB d'un seul lot de réactif (Voir Annexe N°1). La procédure de la technique était réalisée selon (Batavisoaniatsy, 2015; Doghmi, 2021)

3.3.2.4. L'épreuve sérique ou plasmatique

Par cette méthode, nous avons déterminé les anticorps naturels réguliers dans le plasma des patients à grouper via l'utilisation des globules rouges tests A, B et O. La procédure de cette méthode c'est la même que celle de l'épreuve globulaire (Batavisoaniatsy, 2015; Doghmi, 2021)

3.3.2.5. Réalisation des trois témoins (Allo, Auto et AB)

Lorsque le groupage sanguin d'un patient donné est réalisé, la validation de son groupe sanguin ABO oblige forcément une compatibilité entre les résultats donnés par les deux méthodes complémentaires. Néanmoins, dans certains cas une contradiction entre les résultats peut être observée et dans cette situation l'interprétation et la confirmation des résultats est impossible donc face à cette incohérence la question qui se pose est : comment résoudre ce problème ? Et quelle est la ou les causes possibles qu'ils provoquent ?

D'une façon générale, plusieurs probabilités sont constatés d'être l'origine de cette incompatibilité mais avant de commencer à donner toute interprétation possible pour le résultats il faut assurer qu'est-ce que la discordance observée est due à un défaut technique ou non dont on commence à vérifier tous les étapes qui ont été suivi durant la détermination du groupe sanguin d'après l'acte de prélèvement jusqu'à la réalisation de la procédure, car des erreurs dans le prélèvement peuvent provoquer une hémolyse ou même une contamination des échantillons, ainsi que l'anticoagulant EDTA utilisé peut induit un changement morphologique des globules rouges s'il est en excès par rapport au quantité de sang mis dans le tube, de plus les réactifs ou le support technique (plaque, tube, microplaque,...) utilisés peuvent être contaminés. Si aucun problème technique est rencontré, on passe à vérifier les

autres causes qui provoquent l'anomalie de l'une des épreuves et par la suite la discordance entre les deux en effectuant les témoins suivants :

➤ **Le témoin autologue (Auto) :** qui permet de vérifier la présence des auto-anticorps dans le plasma du patient à grouper dirigé contre ses propre GR. Les globules rouges dans ce cas devient sensibilisé par ces anticorps ce qui provoque une anomalie de l'épreuve globulaire et à l'aide à ce témoin on peut vérifier qu'est-ce que les GR sont auto-agglutinables ou non. (Roubinet *et al*, 2003)

➤ **Le témoin AB:**ou réactif qui permet d'assurer que les GR du patient ne sont pas agglutinés par d'autres Ac que les Ac anti-A et anti-B. Si ce témoin est négatif, on confirme l'épreuve plasmatique. (Roubinet *et al*, 2003)

➤ **Le témoin Allo :** qui consiste à recherche sur des allo-anticorps anti-érythrocytaires qui peuvent être présents dans le plasma du patient à étudier dirigés contre les antigènes des autre systèmes du groupe sanguin porté par les GR que les antigènes A et B ou même contre les antigènes du système ABO en cas d'une transfusion d'un produit sanguin incompatible. (Roubinet *et al*, 2003)

La technique suivie (tab.3) pour réaliser les trois témoins est comme suite:

Tableau 3. Technique de chacun des témoins (Roubinet *et al*, 2003)

Les témoins	Auto	AB	Allo
Technique	1 goutte de plasma de patient + 1 goutte de GR de patient	1 goutte de plasma de sujet AB + 1 goutte d'hématies à tester	1 goutte de plasma à tester + 1 goutte d'hématies tests O

Partie II : Etude synthétique des recherches réalisées sur le groupage ABO

3.4. Autres techniques de groupage ABO

Dans cette étude, nous avons essayé de rechercher les difficultés de groupage ABO dans le syndrome lymphoprolifératif par la technique standard d'agglutination directe sur plaque d'opaline, qui est un test qualitatif et peu sensible. Malheureusement, au cours de notre étude, nous n'avons pas pu effectuer une détermination quantitative plus précise des antigènes ABO, c'est à cause de l'indisponibilité des techniques sensibles et fiables au niveau le laboratoire de centre de transfusion sanguine.

Afin de présenter d'autres techniques permettant une identification efficace des antigènes ABO, nous avons analysé quelques travaux qui sont fait le groupage ABO par des méthodes ayant une sensibilité de détection assez élevée que le test d'agglutination direct.

3.5. Matériel biologique

Nous avons choisis 3 études qui sont effectuées le typage ABO chez les malades atteints d'hémopathie maligne, toujours dans le but de dépister le changement de groupage de ces patients.

L'équipe de Tina et *al.*,(2001) a été fait l'analyse de 57 échantillons du sang des patients diagnostiqués avec différents types de tumeurs myéloïdes malignes, dont 38 cas entre eux présentent une leucémie myéloïde aiguë, 6 sujets atteints de troubles myéloprolifératifs, et 13 patients souffrant de syndromes myélodysplasiques.

L'étude de Rakul et *al.*,(2017) a été apportée sur des échantillons de sang des deux patients atteints de leucémie myéloïde aiguë (LAM). Le premier cas était une femme de 29 ans et le second était un garçon de 14 ans. Leur groupe sanguin d'origine était respectivement groupe B et groupe A. Les deux patients ont reçu un traitement d'induction de la LAM selon le protocole 7+3 de la chimiothérapie. Cela comprend l'induction avec la cytarabine et la daunorubicine qui ont été administrés pendant 7 jours, suivi d'une consolidation avec de la cytarabine à haute dose administré durant 3 jours.

Le troisième travail choisis est de l'équipe Debasish et *al.*,(2019) dont il a été effectué son étude sur un seul cas, un échantillon de sang d'une femme de 60 ans atteinte de leucémie aiguë qui avait besoin d'une transfusion sanguin pour initier le traitement par chimiothérapie.

3.6. Méthode de travail

Dans les situations où le groupage ABO d'un patient est suspect (discordance entre l'épreuve globulaire et plasmatique, par exemple), il est impossible de déduire le groupe sanguin. La détermination du groupe sanguin ABO nécessite alors des techniques plus sensibles comme la technique d'adsorption-élution et lacytométrie en flux.

3.6.1. Technique d'adsorption-élution

Selon les études de Rakul et *al.*,(2017) et Debasish et *al.*,(2019), la confirmation du groupe sanguin ABO chez les cas étudiés dans les deux travaux a été effectuée par la méthode d'adsorption-élution. Cette technique a été réalisée lors de la confirmation d'un groupe faible (A faible, B faible,...) où l'antigénicité ne s'est pas exprimée lors d'un groupage sur plaque.

L'équipe de Debasish et *al.*,(2019) d'abord a été effectué le groupage sanguin par la technique d'agglutination en colonne sur gel de filtration en utilisant les antisérums Anti-A et Anti-B(Ortho BioVue, Ortho Clinical Diagnostics, USA), mais le groupe sanguin était O par

le typage direct, alors que par le typage inverse ou le typage sérum/plasma, il n'y avait qu'une agglutination avec les cellules B (c'est le groupe A). Donc le groupage sanguin de cas étudié a été suspect (A ou O). Un second typage a été réalisé par la méthode standard sur tube en utilisant des Anti-A, Anti-B, Anti-D, Anti-A1 lectine et Anti-H lectine (Tulip Diagnostics Private Limited, Goa, India). En plus, ils sont aussi recherchés la présence des antigènes A et H dans la salive, c'est pour confirmer le phénotype érythrocytaire faible (A faible). Dont les antigènes qui sont peu ou pas développés sur les hématies sont abondants dans la salive des sujets sécréteurs. Ce sont des substances hydrosolubles dont l'activité sérologique est identique à celle des antigènes érythrocytaires et qui sont capables de neutraliser les anticorps correspondants.

Alors que pour confirmer le groupe sanguin de cette patiente, la méthode d'adsorption-élution est une technique sensible et reste la technique de référence. La méthode d'adsorption-élution a été réalisée comme décrite dans le manuel technique American Association of blood Banks, (2011). L'absorption des globules rouges a été effectuée avec l'anti-A polyclonal (source humaine) à 4°C pendant 1 heure pour faire fixer les anticorps sur leurs antigènes spécifiques s'ils sont existants. Dont les anticorps en excès, et non fixés sur l'antigène correspondant ont été éliminés par plusieurs lavages successifs avec le sérum physiologique. Alors que le détachement des anticorps adsorbés sur les GR a été réalisé à 56°C pendant 10 min (l'élution thermique).

Afin d'identifier correctement le groupe ABO et de détecter le types d'antigènes exprimés à la surface des globules rouges des patients analysés, les anticorps élués ont été testés et mis au contact avec un panel érythrocytaire (A, B et O).

3.6.2. Méthode de cytométrie en flux

La cytométrie en flux (CMF) est une méthode d'analyse qui permet, à grande vitesse (plusieurs milliers d'événements par seconde), de caractériser et compter des cellules en suspension dans un flux liquidien. L'interaction de ces éléments avec la lumière émise par une ou plusieurs sources lumineuses (lasers en général) permet de caractériser les cellules selon différents critères tels que l'expression de molécules de surface (souvent nommées CD pour *cluster of differentiation*) généralement révélées par un composé fluorescent couplé à un anticorps monoclonal dirigé contre le CD d'intérêt. (Zafrani et Monneret, 2017)

A propos de l'expérimentation menée par Tina et *al.*, (2001) la détection correcte des antigènes ABH ainsi que leur degré d'altération chez des patients atteints de tumeurs

myéloïdes, a été effectué par la méthode de cytométrie en flux. Cet équipe a été effectué cette méthode comme suit :

1. Préparation de globules rouges sphériques fixés au formol

Pour la préparation des globules rouges sphériques fixés au formol, le groupe de Tina et *al.*,(2001) ont suivi la méthode qui a été publiée par Langlois et *al.*,(1990).

Tout d'abord, 100 μ L du sang total a été ajouté à 1 ml de «routine staining buffer (RSB) (Isoton II [Coulter, Hialeah,FL], 1% de sérum de veau fœtal, 0,1% de NaN_3 , pH 7,2) et contient 0,005% de dodécyl sulfate de sodium (SDS). Après incubation pendant 1 minute, 10 ml de solution de fixation contenant 3 % de formaldéhyde et 0,001 % de SDS ont été ajoutés au mélange, le mélange a été incubé à température ambiante pendant 1 h 30 min. Puis, 0,7 ml de formaldéhyde a été ajouté et le tube a été posé sur le côté et laisse incubé pendant une nuit à température ambiante pour la fixation des cellules. Ensuite les sphères ont été récupérés par un procédé de filtration à travers une membrane de 0.45 μ m, et lavées deux fois dans un tamponSSB (spherical staining buffer) (0.15 M NaCl, 0.0072 M Na_2HPO_4 , 0.0028 M NaH_2PO_4 , 5 mg/mL BSA, 0.01% Nonidet P40, pH 7.2). Finalement, les cellules fixées ont été remises en suspension dans 5 mL de SSB.

La filtration de toutes les solutions a été faite à travers des membranes de 0,45 μ m pour éliminer les particules qui pourraient interférer avec la cytométrie en flux, assurant par la suite la fiabilité des résultats. Une numération des globules rouges sphérique a été effectuée utilisant un l'analyseur d'hématologie à haut volume COULTER STKS.

2. Analyse par cytométrie en flux des antigènes ABH

L'analyse par cytométrie en flux a été réalisée sur un Coulter Epics Profile II. L'immuno- marquage des globules rouges fixées au formol a été effectué par des anticorps/lectines appropriés, dont il a été réalisé dans un volume total de 100 μ L de SSB pendant 15 minutes à température ambiante.

Les lectines lyophilisés d'*Ulex europaeus* (UEA-I), détectant l'antigène H, sont conjugués au L'isothiocyanate de fluorescéine (FITC) (Sigma, St Louis, MO) et ils sont été resuspendus dans un tampon RSB pour former une solution mère à 0.5 mg/mL.

Alors que pour la lectine (*Helix pomatia*) lyophilisée, détectant l'antigène A, a été conjuguée soit au FITC soit à la biotine (Sigma), elle a été remise en suspension pour préparer une solution mère à 0,25 mg/ml.

Concernant les antigènes B, ils ont été identifiés à l'aide des anticorps monoclonaux de souris (Novaclone anti-B blood grouping reagent; Dominion Biologicals, Dartmouth, NS, Canada) et goat F(ab')₂ anti-mouse immunoglobulin G (IgG) conjugué au Phycoerythrin(Caltag, Burlingame, CA). Les cellules ont été lavées deux fois avec du SSB avant l'incubation avec chaque anticorps/lectine, ainsi que, avant l'analyse en flux.

Cependant, des échantillons normaux pour des patients sains ont été utilisés comme références pour déterminer s'il y avait un changement dans l'échantillon de patient analysé par rapport à l'échantillon normal.

Chapitre 04 :

Résultats et Discussion

Chapitre 04 : Résultats et Discussion

Partie I

4.1. Résultats

4.1.1. Population d'étude

Les patients inclus dans cette étude ont été subdivisés en plusieurs sous-groupes selon différents facteurs.

4.1.1.1. Selon l'âge et le sexe

Après l'analyse des différentes tranches d'âge de 23 patients (tab.4), on constate que l'âge moyen des patients est de 22 ans, avec des extrêmes allant de 4 ans à 66 ans. Les adultes étaient les plus représentés dans notre échantillon avec un pourcentage de 57%.

Tableau 4. Distribution des patients selon l'âge.

Le groupe	Intervale d'âge (ans)	Nombre de patients
Enfants	[0-17]	10
Adults	[18-66]	13

Pour le sexe, la figure 6 montre que nous avons eu une prédominance de sexe féminine avec 57% de la totalité de notre échantillon.

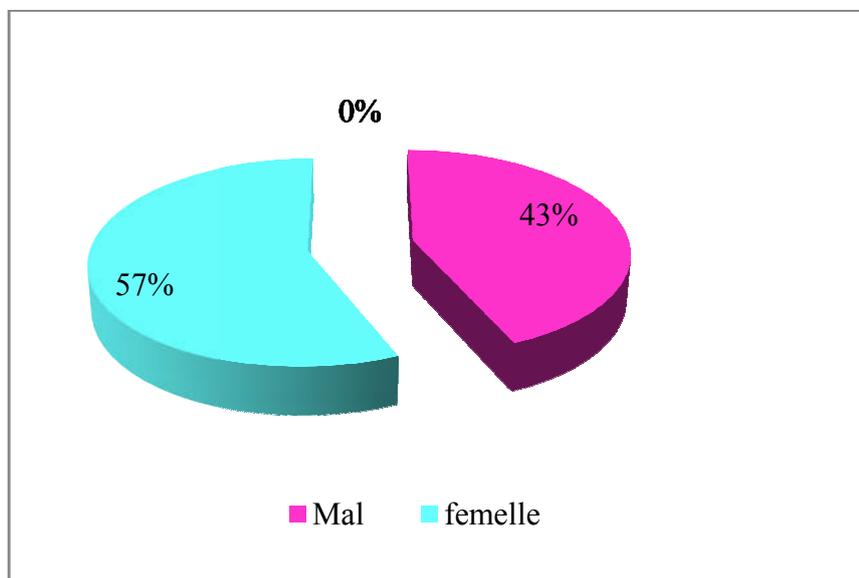


Figure 6. Représentation graphique des pourcentages de distribution des patients selon le sexe.

4.1.2. Les Données des diagnostics de syndromes lymphoprolifératifs

Après traitement de dossiers médicaux des patients inclus dans notre étude, la figure 7 résume les différents types des hémopathies malignes diagnostiqués avec leur fréquence dans

la population d'étude, dont nous avons trouvé que les leucémies aiguës lymphoblastiques de type B et les leucémies myéloïdes aiguës étaient les plus rencontrés dans la population d'étude et représentent respectivement 43% et 22% des cas totale. Les autres types qui restent sont présentés en faible pourcentage dont la leucémie aiguë lymphoblastique de type T était le plus faible 4%

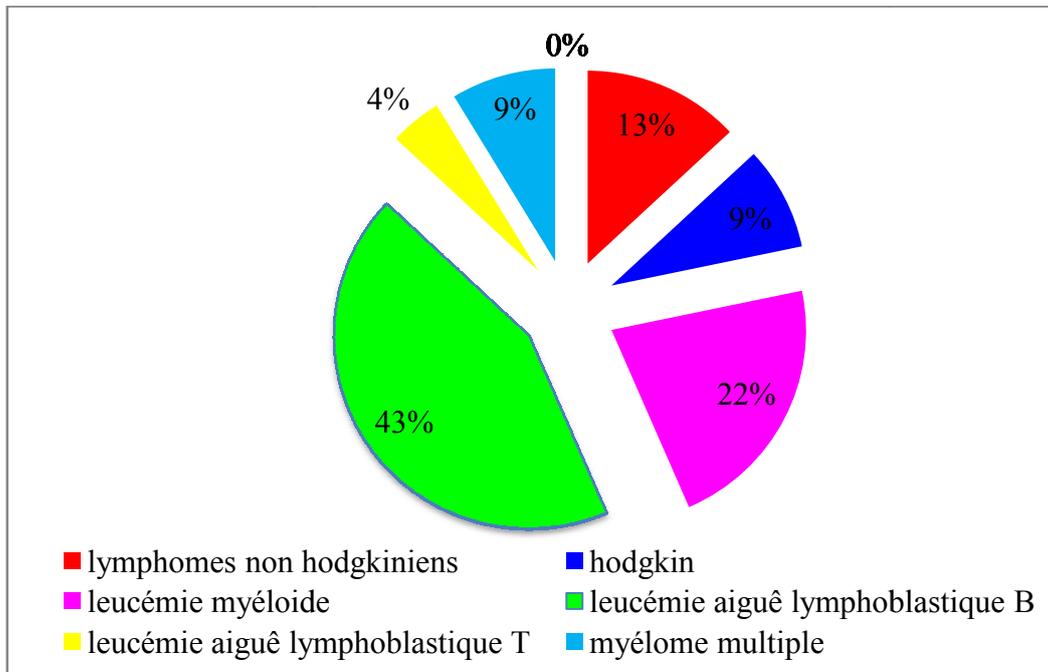


Figure 7. Pourcentages de distribution des différents types des hémopathies rencontrées chez la population d'étude.

4.1.3. Les données de transfusion sanguine et de la chimiothérapie

D'après les données cliniques, la majorité des patients avaient bénéficié d'une transfusion du sang, dont le patient (N° 13) était le plus transfusé (17 fois). Alors que, les quatre patients (N° 11, 12, 21, et 22) n'avaient bénéficié d'aucune transfusion.

Tableau 5. Données cliniques de la transfusion sanguine

	Pas transfusé	Transfusé 1 fois	Transfusé 2 fois	Polytransfusé (> 3)
Nbr des patients	04	03	03	13

Pour la chimiothérapie, le patient (N°4) a reçu un traitement par chimiothérapie (27 séances). Alors que, six patients (N° 8, 18, 20, 21, 22 et 23) ont reçu une seule séance de chimiothérapie.

4.1.4. Résultats de groupage sanguin ABO

Après l'analyse de groupage ABO (tab.6), en vue de dépister des difficultés de groupage ABO, aucune double population, ni de polyagglutinabilité, ni d'agglutination faible, ni de discordance entre les deux épreuves n'ont été détectées chez 19 patients (83%). Par ailleurs une discordance a été retrouvée chez 4 patients (N° 17, 19, 21, et 22) 17% des cas (voir la fig N° 8). Les résultats trouvés sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6. Le groupe sanguin ABO antérieurement connu et après les résultats de notre analyse

Les échantillons	Le groupe sanguin à partir le dossier médical	Epreuve globulaire						Epreuve sérique					
		1 ^{er} essai			2 ^{ème} essai			1 ^{er} essai			2 ^{ème} essai		
		Anti A	Anti B	Anti AB	Anti A	Anti B	Anti AB	GR test A	GR test B	GR test O	GR test A	GR test B	GR test O
1	O	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
		O			O			O			O		
2	B	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-
		B			B			B			B		
3	O	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
		O			O			O			O		
4	O	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
		O			O			O			O		
5	A	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-
		A			A			A			A		
6	O	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
		O			O			O			O		
7	A	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-
		A			A			A			A		
8	O	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
		O			O			O			O		
9	O	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
		O			O			O			O		
10	O	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
		O			O			O			O		
11	A	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-
		A			A			A			A		
12	A	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-
		A			A			A			A		
13	O	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
		O			O			O			O		
14	O	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
		O			O			O			O		
15	A	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-
		A			A			A			A		

16	AB	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
		AB			AB			AB			AB		
17	A	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
		A			A			AB			AB		
18	O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		O			O			O			O		
19	B	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
		B			B			O			O		
20	O	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
		O			O			O			O		
21	O	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
		O			O			B			B		
22	O	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
		O			O			B			B		
23	A	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-
		A			A			A			A		

(+) : La présence d'agglutination

(-) : L'absence d'agglutination

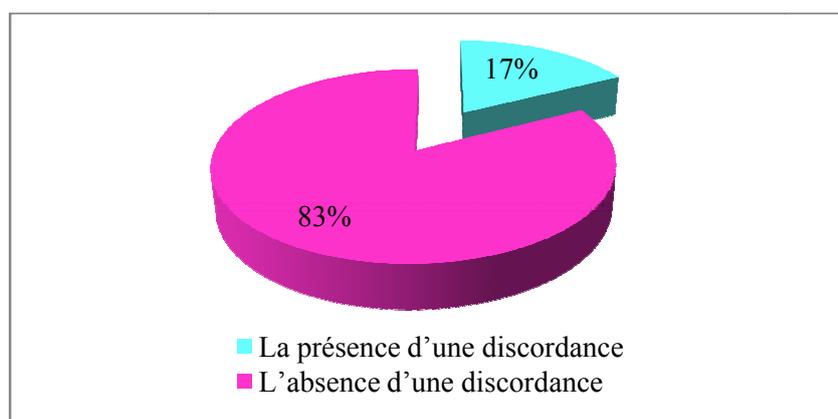


Figure 8. Distribution des patients selon la cohérence des deux épreuves en %

Il faut signaler que, dans ces résultats, nous avons retrouvé un seul cas (patient N°5) d'agglutination faible.

Pour confirmer les résultats de groupage, nous avons répété l'analyse deux fois afin de confirmer le groupe sanguin obtenu pour ce patient. Les résultats ont été les mêmes que ceux trouvés pour la première fois. Nous avons vérifié l'aspect des sérums tests, leur date de péremption, leur conformité d'activité et vérifier aussi l'aspect des hématies tests, et même l'absence de l'altération de l'échantillon de sang à tester. Nous avons évité toutes fausses agglutinations par les lavages répétitifs des globules rouges.

Dans un 3ème temps, nous avons pratiqué les 3 témoins (Allo, Auto, et AB) qui valident l'épreuve globulaire et l'épreuve sérique. Les témoins réalisés pour chaque groupage

sanguin étaient négatifs pour les 19 patients qui n'ont pas une discordance entre les deux épreuves.

Alors que, pour les cas qui ont représenté une discordance entre les deux épreuves (N°17, 19, 21, et 22), les témoins (tab.7) ont été négatifs à l'exception du patient N° 19 le témoin Allo est positif.

Tableau 7. Résultats des témoins : Allo, Auto, et AB pour les échantillons qui ont représenté une discordance.

Les échantillons	Les témoins		
	Auto	Allo	AB
17	-	-	-
19	-	+	-
21	-	-	-
22	-	-	-

(+) : La présence d'agglutination

(-) : L'absence d'agglutination

Partie II

4.2. Résultats des autres études

4.2.1. L'analyse par les techniques sérologiques

D'après l'étude de Rakul et *al.*, (2017) le groupage sanguin par la méthode standard n'a pas pu identifier précisément le groupe sanguin ABO chez les deux patients étudiés, les résultats sont résumés dans le tableau N°8.

Tableau 8. Groupe ABO des patients étudié selon la méthode standard d'agglutination. Rakul et *al.*, (2017)

Patients	Réaction avec les Anti-sérums tests			Réaction avec des globules rouges tests		
	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	A	B	O
1	-	-	-	+	-	-
2	-	-	-	-	+	-

(+) : Présence d'agglutination

(-) : Absence d'agglutination

Comme le montre le tableau précédent, les résultats des deux tests étaient incohérents entre eux. Le groupe sanguin des deux patients s'est avéré être le groupe O par le test globulaire, tandis que le test plasmatique a révélé la présence des anticorps Anti-A chez le patient N°01 et des anticorps Anti-B chez le patient N°02.

D'autre part, l'analyse des échantillons par la technique d'adsorption-élution a permis de confirmer le groupe sanguin chez les deux patients (Tableau N°9). Dans le premier cas,

l'éluant a montré des résultats positifs avec les globules rouges B et une réaction négative avec les globules rouges O, indiquant ainsi la présence de l'antigène B sur les globules rouges du patient N°01. Dans le second cas, il a eu une réaction positive avec les globules rouges du groupe A uniquement, notant la présence des antigènes A à la surface des globules rouges du patient N°02.

Tableau 9. Groupe sanguin des deux patients obtenu par la technique d'adsorption-élution. Rakul et al., (2017)

Patients	Réaction de l'éluant avec des globules rouges contrôle		
	A	B	O
1	-	+	-
2	+	-	-

(+) : Présence d'agglutination

(-) : Absence d'agglutination

l'équipe de Debasish et al., (2019) a été effectué un groupage ABO du patient étudié par la technique d'agglutination en colonne sur gel de filtration, une discordance ABO a été rencontré (voir la figure N° 9), dont selon le résultat du test direct, il est constaté que le groupe sanguin du patient était groupe O, alors que celui du test indirect a montré la présence d'agglutination avec des globules rouges B. Par conséquent, le groupe sanguin n'a été pas confirmé à l'aide de cette technique.



Figure 9. Groupe sanguin du patient étudié par la technique d'agglutination sur colonne. (Debasish et al., 2019)

Les résultats obtenus après la répétition du test direct en tube, sont mentionnés dans le tableau suivant.

Tableau 10. Résultats obtenus par le test en tube. (Debasish et al., 2019)

Anti-A	Anti-B	Anti-A1	Anti-AB	Anti-H
0	0	0	+2	+4

(0) : Absence d'agglutination (+2) : Faible agglutination (+4) : Forte agglutination

Le groupe ABO de ce patient a été suspecté d'être groupe A. En effet, les globules rouges de ce patient ont donné une faible agglutination en présence des anticorps Anti-AB bien qu'il n'y ait pas eu une agglutination avec les anti-A même après incubation à 4°C pendant 1h.

Tandis que, après le typage sanguin par la technique d'adsorption-élution, l'éluant a démontré la présence d'agglutination avec les globules rouges A uniquement, les résultats du test avec les globules rouges B et O étaient négatifs.

Donc, d'après ces résultats, il a été possible de confirmer le groupe sanguin chez le patient étudié, en tant que groupe A. De plus, la recherche des antigènes solubles dans la salive a permis d'identifier des substances A et H chez ce patient, confirmant par son tour les résultats de la méthode d'adsorption-élution.

4.2.2. Analyse par cytométrie en flux des antigènes ABH

Selon Tina et *al.*, (2001) l'analyse en flux par immunophénotypage a démontré une variation dans le statut d'expression des antigènes ABH chez des patients atteints de tumeurs myéloïdes malignes, les données de diagnostic de la population étudiée au cours de ce travail, ainsi que les résultats obtenus, sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 11. Le groupe sanguin ABO et le diagnostic des patients analysés avec l'altération des antigènes ABH révélée par cytométrie en flux. (Tina et al., 2001)

Diagnostic	Groupe sanguin	Perte de A ou B	Perte de H	Perte de A ou B et H	Aucune perte	totale
AML	A, B	3	3	2	8	16
	O	NA	6	NA	16	22
MPD	A, B, AB	1	1	0	3	5
	O	NA	0	NA	1	1
MDS	A, B, AB	4	1	1	2	8
	O	NA	0	NA	5	5
Totale		8	11	3	35	57

LAM : leucémie aiguë myéloïde, MPD : trouble myéloprolifératif, LMC : leucémie myéloïde chronique, et SMD : syndrome myélodysplasique. NA (non détectable) fait référence au groupe sanguin O où la perte des antigènes A ou B n'a pas pu être évaluée.

L'altération des antigènes ABH chez la population étudiée a été évaluée par mesure de la fluorescence émise par le fluorochrome conjugué aux anticorps/lectines dans chaque échantillon analysé, suite à la fixation de l'anticorps/lectine sur l'antigène correspondant. La perte des antigènes a été traduite par la réduction totale de la fluorescence en comparaison avec la population normale qui a été utilisée comme référence.

Parmi la totalité des échantillons analysés, la perte de l'antigène H a été détecté chez 11 cas, 9 patients entre eux atteints de leucémie myéloïde aiguë, 1 patient atteint de trouble myéloprolifératif, et 1 patient souffre de syndrome myélodysplasique. Sur ces 11 cas, 6 patients ont été de groupe O, et 5 ont été de groupe A, B, ou bien AB. En ce qui concerne la perte de l'antigène A ou B, elle a été observée chez 16 sujets sur 57 cas qui avaient étudiés, parmi eux 8 patients diagnostiqués avec une leucémie aiguë myéloïde, 6 patients avec un syndrome myélodysplasique, et 2 cas avec des troubles myéloprolifératifs.

D'après les résultats obtenus, 6 patients des 28 patients de groupe O qui ont été étudiés, avaient présenté une perte d'antigènes H, cela a été observé comme une réduction totale de la fluorescence de lectine (*Ulex europaeus*) qui permet la détection de l'antigène H, conjugué à l'isothiocyanate de fluorescéine.

La perte des antigènes A ou B sans perte des antigènes H a été montré chez 8 des 29 patients qui ont un groupe A, B, ou AB, dans lequel la diminution ou la perte de ces antigènes a été corrélé à une augmentation significative des antigènes H. Les profils de la fluorescence ont montré l'absence de la fluorescence de lectine (*Helix pomatia*) (qui détecte les antigènes A, conjugués à la biotine) et de coloration des cellules en présence des Anti-B (conjugués au Phycoerythrin) chez certains échantillons, dans des autres, il a détecté la présence des antigènes H.

D'autres parts, la perte des antigènes A ou B chez 5 des 29 patients A, B ou AB était la conséquence de la perte des antigènes H, car la population de globules rouges a donné moins de fluorescence de lectine (*Ulex europaeus*). Ainsi que d'autres cellules ont marqué une diminution de la fluorescence de lectine (*Helix pomatia*) sans aucune augmentation de la fluorescence de lectine (*Ulex europaeus*).

De plus, 3 patients parmi les 29 patients A, B, ou AB, ont eu à la fois une perte des antigènes A/B et des antigènes H. Les cellules n'avaient présenté aucune fluorescence de lectine (*Helix pomatia*), et même en présence des Anti-B.

4.3. Discussion

Notre étude réalisée dans les services d'hémato-oncologie adulte et pédiatrique avait pour but de dépister des difficultés de groupage au cours des syndromes lymphoprolifératifs. A cet effet, les patients porteurs d'un syndrome lymphoprolifératif durant la période d'étude avaient fait l'objet d'un contrôle de leur groupe sanguin ABO antérieurement connu.

Parmi les 23 échantillons quand on a analysé, les résultats de groupage sanguin ABO de 19 patients ont été normaux sans aucune discordance observée entre les deux épreuves. Aussi, ni de double population, ni de polyagglutinabilité, ni d'agglutination faible ont été observés malgré qu'il y a des patients polytransfusés et ils ont reçu un traitement par chimiothérapie.

Parmi ces 19 patients, une faible agglutination a été visualisée chez le patient N°5 avec les trois témoins négatifs. Pour ce patient, les résultats de groupage ont été normaux avec une nette cohérence entre les deux épreuves dont, son groupe sanguin est trouvé groupe A. D'après ces résultats, on peut constater que la faible agglutination n'a été pas à cause de la tumeur et on peut expliquer ce résultat par la probabilité que ce patient peut être apparenté au sous groupe (A) faible (peut être groupe A2). En effet, les globules rouges de type A2 expriment à leurs surfaces les variants antigéniques A2 avec une quantité moins faible que les globules rouges A1. Car, tous les antigènes H sont masqués à la surface des globules rouges de type A1 mais au contraire dans le cas de A2 les antigènes H se persistent. (Cartron *et al.*, 1974 ; Cartron, 1976; Shamee et Sudha, 2010). Cependant, nous avons effectué l'analyse par la technique standard (kit de groupage ABO). Donc, nous n'avons pas pu confirmer le groupe sanguin de ce patient, c'est à cause du manque des réactifs et des techniques de détection plus sensibles au niveau le laboratoire de CTS.

Chez les patients (N° 17, 19, 21, et 22), nous avons trouvé une discordance entre les deux épreuves avec les 3 témoins négatifs. À l'exception du patient (N° 19), le témoin Allo a été trouvé positif.

Le patient (N° 19) est un homme de 35 ans, atteint d'une leucémie aiguë lymphoblastique de type B. Il a bénéficié de la transfusion sanguine (11 fois). La discordance ici peut expliquer par la présence des Allo anticorps dans le plasma du patient (d'allo anticorps irréguliers) capables de réagir avec d'autres (Ag) portés par les GR tests, que les Ag-A et les Ag-B. Le patient est un sujet polytransfusé alors, il est possible qu'il avait reçu une transfusion à partir d'un patient non-isogroupe dont les globules rouges de donneur exprimant un antigène absent à la surface des globules rouges de ce patient, cela est traduit par la production des anticorps dite immuns et irréguliers dirigés contre cet antigène. Donc le résultat de l'épreuve sérique n'est pas validé et cette discordance est induite par l'allo-immunisation post-transfusionnelle et ce n'est pas à cause de changement de groupe sanguin ABO chez des patients atteints de syndrome myélodysplasique. (Zalpuriet *al.*, 2012 ; Everset *al.*, 2016).

Concernant les résultats de groupage ABO des 3 patients (N° 17, 21, et 22) qui ont une discordance entre les deux épreuves avec les trois témoins négatifs. Cette discordance entre l'épreuve de Beth-vincent et l'épreuve de simonin peut être expliquée par la modification du groupe sanguin ABO au cours les hémopathies malignes.

En effet, les néoplasies hématologiques peuvent influencer sur les antigènes ABH par deux façons, soient elles provoquent l'affaiblissement antigénique dont le nombre des antigènes A et/ ou les antigènes B exprimés à la surface des globules rouges va être diminué par rapport à leur nombre dans les situations normal. Ou bien, elles provoquent la suppression totale des antigènes portés par les globules rouges. (Ayres *et al.*, 1966; Salmon, 1978; Tina *et al.*, 2001)

Le patient (N° 17) est un homme de 59 ans, atteint de myélome multiple et il a bénéficié d'une seule transfusion sanguine. Son groupe sanguin est trouvé groupe A à l'aide de l'épreuve de Beth-Vincent. Tandis que, il est de groupe AB selon l'épreuve de Simonin. Cette discordance peut être expliquée par le changement du groupe sanguin ABO chez ce patient à cause de la tumeur. Peut-être le groupe sanguin original de ce patient a été AB, alors que le myélome multiple a entraîné la perte totale ou partielle (affaiblissement) des antigènes B. Des études similaires réalisées par l'équipe Supinun et Pimol (1978) et l'équipe Waleed et Sadiq (2020) sur des patients atteints de néoplasies hématologiques, ont démontré l'altération des antigènes B chez des patients ayant un groupe AB.

Mais on ne peut pas confirmer ça, qu'après la réalisation des techniques sensibles qui permet l'identification des antigènes ABH, comme la cytométrie en flux ou adsorption-élution, etc.

Le patient (N° 21) est une femme de 66 ans, atteint de myélome multiple et elle n'a pas bénéficié d'aucune transfusion. Le groupe sanguin de cette femme est de groupe O d'après l'épreuve globulaire, alors que les résultats de l'épreuve plasmatique a montré la présence des anticorps Anti-A dans son plasma, c'est-à-dire que son groupe sanguin est B. cette discordance peut être expliquée par l'altération des antigènes B par les processus tumoraux.

Concernant le patient (N° 22), est un homme de 21 ans, souffrant d'une leucémie myéloïde aiguë et il n'a pas bénéficié d'aucune transfusion. Les résultats de l'épreuve globulaire ont indiqué que il est de groupe O, tandis que le groupage sanguin par l'épreuve plasmatique étaient de groupe B. Peut-être expliquer cette discordance par la perte ou l'affaiblissement des antigènes B durant la leucémie.

Des études similaires ont été trouvées un changement du groupe sanguin chez des sujets souffrant d'hémopathies malignes avec un groupe original B, dont ils ont détecté la perte totale des antigènes B chez certains patients et l'affaiblissement antigénique chez d'autres cas. (Mia *et al.*, 1962; Tina *et al.*, 2001).

Des autres études ont montré et confirmé l'altération des antigènes ABH au cours ces néoplasies, dont elles ont été observées majoritairement dans les leucémies myéloblastiques et elles ont trouvées l'antigène le plus touché par le processus tumoral qui a été l'antigène A. (Van *et al.*, 1957; Goldet *al.*, 1959; Hoogstraten *et al.*, 1962; Ayres *et al.*, 1966; Starli et Fernbac, 1970; Thielet *al.*, 1985 ; Xiros *etal.*, 1987; Debasish *et al.*, 2019)

Après l'analyse de nos résultats, nous avons trouvé des difficultés de groupage ABO chez quelques patients. Cependant, on ne peut pas confirmer est ce que vraiment la tumeur qui a entraîné le changement du groupe sanguin ABO par un affaiblissement ou perte totale des antigènes ABH, c'est à cause de l'indisponibilité des technique sensibles qui permettant une étude quantitative du statut d'expression de ces antigènes. En plus, la taille de notre échantillon est faible, donc on peut ne pas obtenir des conclusions assez fiables durant cette étude.

En outre, nous avons fait le groupage ABO par la technique standard d'agglutination directe sur plaque d'opaline qui comprenait les deux méthode complémentaires (test de Beth-Vincent et test de Simonin), il s'agit d'un test qualitatif couramment utilisé dans les centres de transfusion sanguine, l'avantage de cette technique réside dans la simplicité de sa procédure et sa rapidité surtout en cas d'urgence, car elle n'exige pas d'équipements sophistiqués. (Ottenberg, 1983 ; Malomgré et Neumeister, 2009). Cependant, ce test présente certaines limites, dont il expose les manipulateurs aux risques de contamination en cas des échantillons infectieux (Sangjaroen *et al.*, 2018). L'inconvénient le plus important à prendre en compte, c'est qu'en termes de sensibilité, cette méthode est peu sensible, ce qui ne permettra pas la détection des phénotypes ayant une faible fréquence antigénique à la surface membranaire. De plus, le test de Simonin permet de détecter uniquement les anticorps complets ayant une capacité d'agglutination directe (IgM), par contre la présence des anticorps incomplets qui sont de type IgG ne peut pas être détectée dans les sérums ou les plasmas des patients par cette technique (Malomgré et Neumeister, 2009).

Au cours des hémopathies malignes, le groupe sanguin ABO est susceptible de subir une modification dont, il existe suffisamment de preuves qui confirment que ces prolifération tumorales provoquent l'altération des antigènes ABH. (Yokoyama, 1969 ; Salmon *et al.*, 1984 ;

Lopez et *al.*, 1986) La détection de cette variation tant sur le plan quantitatif que qualitatif, fait appel aux techniques quantitatives, spécifiques, et sensibles. Afin de mieux présenter notre travail, nous avons fait une comparaison entre les techniques de typage par rapport à la technique standard que nous avons utilisée dans notre étude.

Dans les deux travaux de Rakul et *al.*,(2017) et Debasish et *al.*,(2019) ils n'ont pas pu confirmer le groupe sanguin des échantillons analysés au moyen de la technique standard d'agglutination, et même après avoir utilisé la technique d'agglutination sur colonne (gel de filtration) et celui en tube à essai. Bien que ces deux derniers aient une sensibilité plus élevée que la technique sur plaque d'opaline.(Lapierre *et al.*, 1990 ; Malyska et Weiland, 1994 ; Tiwari et *al.*, 2019 ; Shah et *al.*, 2021)

Le groupe sanguin ABO a été confirmé dans les deux études en utilisant la technique d'adsorption-élution. Cette technique est très sensible, très spécifique, et permettant une identification correcte mieux que les autres techniques décrites précédemment. (Ramnarayan et *al.*, 2013)

Cette analyse n'est utilisée que lorsque la détermination du groupage sanguin ABO n'a pu être réalisée par les techniques de routine du laboratoire. Le principe général de cette méthode repose d'un part sur la fixation d'agglutinines spécifiques sur les agglutinogènes correspondants, s'ils sont présents à la surfaces des globules rouges, et d'autre part, sur l'élution des anticorps adsorbés à haute température, car la liaison antigène-anticorps est une liaison réversible, avec une constante d'association dépend de divers paramètres, notamment de la température. En présence de l'antigène approprié, les anticorps se fixent à la surface cellulaire et par la suite après que l'éluant est testé avec le panel érythrocytaire et donne une réaction positive cela indique que les cellules à étudiés portent le même type d'antigène des cellules de control. (Pereira et *al.*, 1969 ; Crainic et Barres, 1983 ; Kobayashi et *al.*, 1999 ; Ramnarayan et *al.*, 2013)

En effet, la technique d'adsorption-élution a été un moyen pour confirmer les résultats de typage ABO après avoir rencontré une incohérence réactionnelle, car cette méthode a le potentiel d'identifier les sous-groupes ABO faibles qui ont une fréquence antigénique plus faible. (Shafiq et Karim, 2015 ; Subramaniyan, 2016 ; Vala et *al.*, 2017 ; Das et *al.*, 2018 ; Mohammadi et *al.*, 2018 ; Mishra et *al.*, 2019 ; Jain et *al.*, 2020)

En général, la technique d'adsorption-élution a une certaine sensibilité de détection, mais elle n'a pas permis d'identifier avec précision l'état des antigènes ABH chez les patients

souffrant de néoplasies hématologiques. C'est l'une des limites de cette technique. En plus, selon Dean-El et Quraishy (2019) l'éluotion thermique peut conduire à une hémolyse des globules rouges soit a analysé, soit le panel érythrocytaire (de test), de sorte que la chaleur peut dénaturer les membranes cellulaire et affecter les antigènes de groupe sanguin.

Alors que l'étude menée par Tina et *al.*, (2001) l'altération des antigènes ABH dans les cas de tumeur myéloïde malignes, a été détecté par la cytométrie en flux, ce qui a permis de dépister l'influence de la tumeur sur la stabilité des antigènes ABH, qui a été traduite par leur perte totale chez certains patients.

La cytométrie en flux est une technique objective, sensible et quantitative qui permet de mesurer simultanément et très rapidement plusieurs paramètres sur une suspension de particules. Ces propriétés font de la cytométrie en flux une technique particulièrement adaptée à l'analyse des populations cellulaires complexes, des événements rares et aux études quantitatives. (Gane, 2002; Autissier, 2010; Zafrani et Monneret, 2017 ; Finot et *al.*, 2019)L'utilisation de cette technique dans le phénotypage ABO a donné des résultats très satisfaisants et fiables. Son principe de base est simple, les cellules en suspension passent une à une devant un ou plusieurs faisceau laser et des détecteurs captent des signaux de fluorescence émise par un anticorps couplé à un fluorochrome et qui se lie spécifiquement au antigène a détecté, dont la fluorescence est proportionnelle à la fréquence d'expression de ce dernier. (Gane, 2002 ; Hult et Olsson, 2010 ; Adan et *al.*, 2017 ; Zafrani et Monneret, 2017 ; Bakdash et *al.*, 2018 ; Sawant, 2019)

Donc cette technique permet d'évaluer si une molécule est présente à la surface de telle ou telle cellule et également de donner l'intensité de son expression.

Dans des autres études, les chercheurs ont confirmé l'efficacité de cette technique pour déterminer la fréquence de changement des antigènes ABH dans les hémopathies malignes. Dont, ils ont été capables de déterminer qu'est-ce que la tumeur a entraîné la perte totale ou partielle de ces antigènes. De plus, ils ont été capables d'identifier correctement le phénotype cellulaire. (Bianco-Miotto et *al.*, 2009 ; Hult, 2018 ; Chenna et *al.*, 2019 ; Xu et *al.*, 2019 ; Cooper et *al.*, 2020 ; Hayakawa et *al.*, 2020 ; Matzhold et *al.*, 2020 ; Tokodai et *al.*, 2020 ; Maracaja et *al.*, 2021)

La cytométrie en flux est une technique de choix pour étudier l'impact des tumeurs hématologiques sur les antigènes ABH chez les patients concernés.

Conclusion et Perspectives

Conclusion et Perspectives

Nos résultats ont mis en évidence des difficultés de groupage ABO au sein d'une population de patients Algériens, atteints de néoplasies hématologiques.

D'après nos résultats, il y a une discordance entre les deux épreuves de groupage ABO (globulaire et sérique) dans quelques échantillons. Mais, nous n'avons pas pu ni identifier l'altération des antigènes ABH, ni d'évaluer leur expression membranaire. C'est à cause d'un manque des techniques de phénotypage plus sensible et plus précise au niveau notre laboratoire.

Alors que, après une étude analytique des autres travaux sur la recherche des antigènes ABH chez les patients atteints d'une hémopathie maligne. Nous avons conclu que l'utilisation de la cytométrie en flux permet de préciser la conséquence des tumeurs hématologiques sur la stabilité des antigènes ABH.

Par conséquent, la modification éventuelle du groupe sanguin ABO au cours des hémopathies malignes pose des problèmes plus ou moins graves chez les patients porteurs de ces tumeurs, donc une surveillance continue du groupe sanguin ABO chez ces sujets au cours de la pathologie, est obligatoire.

En ce qui concerne les prochaines études, nous suggérons :

- D'augmenter le nombre des échantillons étudiés pour tirer des conclusions fiables et valides.
- De surveiller les patients porteurs d'hémopathies malignes et de contrôler en permanence le groupe sanguin ABO de ces patients jusqu'à ce que la pathologie soit en rémission.
- D'utiliser d'autres techniques qui permettent une détermination quantitative et qualitative tels que les techniques moléculaires de génotypage d'ADN par la PCR-RFLP, séquençage, etc.
- D'analyser le statut et le niveau d'expression des glycosyltransférases A et B.
- D'analyser le gène ABO et le gène H au cours de ces tumeurs afin de déterminer le mécanisme par lequel le processus tumoral entraîne l'altération des antigènes ABH et quels changements se sont produits dans ces gènes.

Bibliographie

Bibliographie

1. Abegaz S, B. 2021. Human ABO blood groups and their associations with different diseases. *BioMed Research International*.
2. Adan, A., Alizada, G., Kiraz, Y., Baran, Y., Nalbant, A. 2017. Flow cytometry: basic principles and applications. *Critical reviews in biotechnology*, 37(2) :163-176.
3. Ahle G., Nachbar C., Camoreyt A., Debliquis A., Fornecker L. M., Martinot M., Kremer S. 2019. Complications neurologiques centrales dans les hémopathies malignes. *Revue Neurologique* 175: S156.
4. Aminata S. 2020. Grossesse et accouchement chez les femmes rhesus negatif au centre de sante de reference de la commune iii du district de bamako. Thèse de doctorat d'état, universite des sciences, des techniques et des technologies de bamako, Mali, p. 19.
5. Autissier, P. 2010. Phénotypage des cellules immunitaires par cytométrie en flux multiparamétrique: un outil indispensable dans l'immunopathologie du Sida (Doctoral dissertation, Conservatoire national des arts et metiers-CNAM).
6. Ayres M., Salzano F. M., Ludwig O. K. 1966. Blood group changes in leukaemia. *Journal of medical genetics* 3(3):180.
7. Bakdash, A., Kumar, S., Gautam, K. A., Mishra, V. C. 2018. Use of flow cytometry in forensic medicine: Current scenario and future prospects. *Journal of forensic and legal medicine*, 60 :42-44.
8. Ball S. P., Tongue N., Gibaud A., PENDU J. L., Mollicone R., Gerard G., Oriol R. 1991. The human chromosome 19 linkage group FUT1 (H), FUT2 (SE), LE, LU, PEPD, C3, APOC2, D19S7 and D19S9. *Annals of human genetics* 55(3):225-233.
9. Batavisoaniatsy E. E. 2015. Distribution phenotypique des antigenes erythrocytaires abo et rhesus d chez les donneurs de sang a fianarantsoa. Thèse pour l'obtention du Diplôme d'Etat de Docteur en Médecine, universite d'antananarivo faculte de medecine, pp. 17-20.
10. Belmin J., Chassagne P., Friocourt P., Gonthier R., Jeandel C., Nourhashemi F., Pfitzenmeyer P. 2016. Gériatrie: pour le praticien. 3eme edition, Elsevier Health Sciences, p. 659-662.
11. Bhallil O., Benseffaj N., Ouadghiri S., Drissi Bourhanbour A., Essakalli M. 2015. Le groupage sanguin : difficultés d'interprétation. *Journal de Biologie Médicale*, Vol 3, N° 12 : 280-285

12. Bianco T., Farmer B. J., Sage R. E., Dobrovic A. 2001. Loss of red cell A, B, and H antigens is frequent in myeloid malignancies. *Blood* 97(11):3633-3639.
13. Bianco-Miotto, T., Hussey, D. J., Day, T. K., O'Keefe, D. S., Dobrovic, A. 2009. DNA methylation of the ABO promoter underlies loss of ABO allelic expression in a significant proportion of leukemic patients. *PloS one*, 4(3) :e4788.
14. Bijou F., Boiron J. M. 2010. Transfusion dans les greffes de cellules souches hématopoïétiques. *Hématologie* 16(1):47-54.
15. Bouiadjra C. B., Seddiki O. K., Diaf M. B. 2020. Hematologic malignancies in children: Epidemiological aspects in the pediatric oncology department of Oran Anti-Cancerous center, Algeria (2009-2013). *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 10(4): 168-174.
16. Cartron J. P. 1976. Etude quantitative et thermodynamique des phénotypes érythrocytaires A faible. *Revue Française de Transfusion et Immuno-hématologie* 19(1):35-54.
17. Cartron J. P. 1996. Vers une approche moléculaire de la structure, du polymorphisme et de la fonction des groupes sanguins. *Transfusion clinique et biologique* 3(3):181-210.
18. Cartron J. P., Gerbal A., Hughes-Jones N. C., Salmon C. 1974. Weak A phenotypes: relationship between red cell agglutinability and antigen site density. *Immunology* 27(4):723.
19. Cartron J. P., Mulet C., Bauvois B., Rahuel C., Salmon C. 1980. ABH and Lewis glycosyltransferases in human red cells, lymphocytes and platelets. *Revue française de transfusion et immuno-hématologie* 23(3):271-282
20. Chenna, D., Mohan, G., Reddy, V. R., Shastry, S. 2019. The disappearance of blood group antigens: A clue to the clinical diagnosis of leukemia. *Transfusion and Apheresis Science*, 58(1) : 48-49.
21. Claire F. 2020. Activite physique adaptee et coherence cardiaque en soins de support : leurs effets sur la variabilite de la frequence cardiaque et la qualite de vie en post-traitement d'une hemopathie maligne. Thèse de Doctorat En Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives, Université de la Réunion, Ecole Doctorale Sciences Technologie Santé, pp. 35-38.

22. Clavier B. 2012. Le groupage sanguin en question: actualité et perspectives. *Revue Francophone des Laboratoires* (439):43-48.
23. Cooper, N., Li, Y. T., Möller, A., Schulz-Weidner, N., Sachs, U. J., Wagner, F., Hackstein, H., Wienzek-Lischka, S., Grüneberg, M., Sauvage, MK., Marquardt, T. 2020. Incidental diagnosis of leukocyte adhesion deficiency type II following ABO typing. *Clinical Immunology*, 221 :108599.
24. Crainic, K., Barres, D. 1983. Détermination du groupe sanguin ABO sur les dents et les os humains récents par la méthode d'absorption-élution. *Bulletins et mémoires de la Société d'anthropologie de Paris*, 10(4) : 393-400.
25. Das, S., Kumar, V., Jafa, E., Basavarajegowda, A., Kayal, S. 2018. Complete disappearance of ABO antigen—a cause of ABO discrepancy. *Transfusion*, 58(1) :5-6.
26. David R., Ballerini., Xu L., Wei S. 2011. An inexpensive thread-based system for simple and rapid blood grouping. *Analytical and bioanalytical chemistry* 399(5):1869-1875.
27. Dean-El, C., Quraishy, N. 2019. Heatelution: a modification of the Landsteiner-Miller method. *Immunohematology*, 35(2) : 45-47.
28. Delabesse E. 2018. Marqueurs génétiques des hémopathies. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris)- Biologie médicale 13(1): 1-8
29. Diallo D. A., Cissoko L. S., Cissoko Y., Diallo Y., Baby M., Mouhaha J., Traoré H. A. 2005. Epidémiologie actuelle des hémopathies malignes dans les services d'hématologie oncologie médicale et de médecine interne de l'hôpital du Point G, Bamako, Mali. *Mali Médical* 20(4): 1-8.
30. Diebold J., Molina T., Le Tourneau A., Audouin J. 2008. Hémopathies malignes : définition et différentes variétés selon la classification de l'OMS 2001. *Revue Francophone Des Laboratoires* (398):65–71
31. Diebold J., Molina T., Le Tourneau A., Audouin J. 2008. Hémopathies malignes : définition et différentes variétés selon la classification de l'OMS 2001. *Anatomie et cytologie pathologiques* N°398 : 65-71.
32. Dimitris P. 1981. Automate de reconnaissance de caractères immunocytologiques application à la recherche automatique des groupes sanguins abo-rhésus et des groupes tissulaires H.L A. Centre d'Etudes Nucléaires de Saclay, Département d'Electronique et d'Instrumentation Nucléaire, pp. 06-07.

33. Doghmi W. 2021. Les techniques en immuno-hématologie. Thèse Pour l'Obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie, royaume du maroc universite mohammed v de rabat faculte de medecine et de pharmacie rabat, pp. 20-21.
34. Dourmane S., Ihadadene D., Ketfi A., Jaafar M., Harieche N., Gharnaout M. 2016. Les manifestations respiratoires révélatrices d'hémopathies malignes. *Revue des Maladies Respiratoires* 33: A119.
35. Dreyfus B. C. H. C. P. J. P. C., Sultan C., Rochant H., Salmon C. H., Mannoni P., Cartron J. P., Galand C. 1969. Anomalies of blood group antigens and erythrocyte enzymes in two types of chronic refractory anaemia. *British journal of haematology* 16(3): 303-312.
36. El Ghali B., Mohammed O., Hicham Y., Mustapha A. A. 2020. Les fréquences phénotypiques et génotypiques des systèmes ABO et Rh dans la population marocaine: expérience du Service de Transfusion de l'Hôpital Militaire Avicenne, Marrakech. *PAMJ-Clinical Medicine* 2(140).
37. El Ghouzzi M. H., Rebibo D. 2010. Transfusion et risques résiduels. *Revue francophone des laboratoires* 2010(426): 79-83.
38. Evers, D., Middelburg, R. A., de Haas, M., Zalpuri, S., de Vooght, K. M., van de Kerkhof, D., ... & van der Bom, J. G. 2016. Red-blood-cell allo immunisation in relation to antigens' exposure and their immunogenicity: a cohort study. *The Lancet Haematology*, 3(6), e284-e292.
39. Ferrera V., Legrand D., Chiaroni J. 2008. L'immuno-hématologie des receveurs de sang: quels tests utiles?. *Hématologie* 14(2):143-150.
40. Finot, L., Chanut, E., Boutinaud, M., Even, S., Germon, P., Dessauge, F. 2019. La cytométrie en flux: une approche pertinente pour l'étude des cellules épithéliales mammaires bovines. In XVIIIe journée transversalité Glande Mammaire Lait (GML) (p. np).
41. Fressy P. 1992. Rôle du système ABO dans les transplantations et greffes. *Revue Française de Transfusion et d'Hémodiologie* 35(5):363-377
42. Gane, P. 2002. La cytométrie en flux en immunohématologie. *Transfusion clinique et biologique*, 9(4) : 271-279.
43. Gold E. R., Tovey G. H., Benney W. E., Lewis F. J. W. 1959. Changes in the group A antigen in a case of leukaemia. *Nature* 183(4665):892-893.

44. Green C. 1989. The ABO, Lewis and related blood group antigens; a review of structure and biosynthesis. *FEMS microbiology immunology* 1(6-7):321-330.
45. Guillaume L. 2015. Mise au point du séquençage des gènes FUT1 et FUT2 et applications au Centre National de Référence pour les Groupes Sanguins : Étude de 70 échantillons H-déficients ou "Bombay" référencés dans le registre national des sujets présentant un phénotype érythrocytaire rare. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine, université du droit et de la santé - lille 2, pp. 06-19.
46. Guindo S. 2005. Antigenes erythrocytaires appartenant a quatre systemes de groupes sanguins chez les donneurs de sang a bamako. Thèse de doctorat d'état, Université de Bamako, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS), Mali, p. 08.
47. Hé B., Kabobo K. I., Mukena T. S., Ngiele M. D., Kabingie N. G., Kasolva T. C., Kasendue E. P. 2017. Frequency of erythrocyte phenotypes in blood group systems ABO and Rhesus at Moba, Province of Tanganyika, Democratic Republic of Congo. *Open Access Library Journal* 4(3): 1-12.
48. Helmut SB. 2000. Human Blood Groups Chemical and Biochemical Basis of Antigen Specificity. 2nd edition. Springer-Verlag Wien GmbH. Universität Wien, Vienna, Austria, pp. 91-97.
49. Hoogstraten B., Rosenfield R. E., Wasserman L. R. 1961. Change of ABO blood type in a patient with leukemia. *Transfusion* 1(1):32-35.
50. Hoogstraten B., Rosenfield R., Wasserman L. 1962. Change of ABO Blood Type in a Patient With Leukemia. *Bibliotheca haematologica* 13:276-278.
51. Hult, A. K. 2018. Flow cytometry in transfusion medicine: an overview. *ISBT Science Series*, 13(1) : 3-10.
52. Hult, A. K., Olsson, M. L. 2010. Many genetically defined ABO sub group sex hibit characteristic flow cytometric patterns. *Transfusion*, 50(2) :308-323.
53. Jahan S. M. S., Kamruzzaman A. K. M., Hossain M. I., Matin M. A., Hossain M. Z. 2013. Blood group changed in a patient with acute myelocytic leukemia. *Journal of Medicine* 14(1): 77-79.
54. Jain, A., Garg, S., Marwaha, N., & Sharma, R. R. 2020. ABO blood grouping discrepancies in the donor population. *ISBT Science Series*, 15(2) : 281-285.

55. Joshi S. R., Savaliya K., Rajapara M., Narang P. 2018. Anomalous blood grouping showing red cell mosaicism in a patient with acute leukemia. *Global Journal of Transfusion Medicine* 3(1): 59.
56. Kimura F., Kanda J., Ishiyama K., Yabe T., Yoshifuji K., Fukuda T., Kanda Y. 2019. ABO blood type incompatibility lost the unfavorable impact on outcome in unrelated bone marrow transplantation. *Bone marrow transplantation* 54(10): 1676-1685.
57. Kleinclauss F., Frontczak A., Terrier N., Thuret R., Timsit M. O. 2016. Aspects immunologiques et immunosuppression en transplantation rénale, transplantations rénales ABO et HLA-incompatibles. *Progrès en Urologie* 26(15): 977-992.
58. Kobayashi, T., Yokota, M., Mitani, T., Akane, A. 1999. Effects of solvent displacement on sensitivity and specificity of monoclonal antibodies for ABO blood grouping of forensic specimens with an absorption-elution test. *Legal medicine*, 1(2) :68-75.
59. Koffi K. G. 2017. Groupage sanguin abo dans les syndromes lymphoprolifératifs à abidjan: Recherche des difficultés. Abo blood Typing In Lymphoproliferative Syndrome At Abidjan: Screening of Difficulties.
60. Kolins J., Holland P. V., McGinniss M. H. 1978. Multiple red cell antigen loss in acute granulocytic leukemia. *Cancer* 42(5): 2248-2253.
61. Kominato Y., Sano R., Takahashi Y., Hayakawa A., Ogasawara K. 2020. Human ABO gene transcriptional regulation. *Transfusion* 60(4):860.
62. Koo, M., Lim, J., Kim, S. Y., Kim, J. M., Koo, S. H., Kwon, G. C. 2019. Evaluation of the Automated Cross-Matching Instrument, ORTHO VISION, for Use in Blood Banks. *Laboratory Medicine Online*, 9(4) : 218-223.
63. Langlois, R. G., Nisbet, B. A., Bigbee, W. L., Ridinger, D. N., Jensen, R. H. 1990. An improved flow cytometric assay for somatic mutations at the glycophorin A locus in humans. *Cytometry: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, 11(4) : 513-521.
64. Lapierre, Y., Rigal, D., Adam, J., Josef, D., Meyer, F., Greber, S., Drot, C. 1990. The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions. *Transfusion*, 30(2), :109-113.
65. Le Pendu J., Marionneau S., Anne C-T., Rocher J., LE MOULLAC-VAIDYE B., Clément M. 2001. ABH and Lewis histo-blood group antigens in cancer. *Apms* 109(1): 9-26.

66. Lefrère J. J., Berche P. 2010. Karl Landsteiner découvre les groupes sanguins. *Transfusion clinique et biologique* 17(1): 1-8.
67. Lopez, M., Bonnet-Gajdos, M., Reviron, M., Janvier, D., Huet, M., Salmon, C. 1986. An acute leukaemia augured before clinical signs by blood group antigen abnormalities and low levels of A and H blood group transferase activities in erythrocytes. *British journal of haematology*, 63(3) : 535-539.
68. Louati N., Cherif J., Ben Amor I., Rekik H., Gargouri J. 2008. Recherche des hémolysines chez les donneurs de sang. *JIM Sfax* (15/16):17-19.
69. Malomgré W., Neumeister B. 2009. Recent and future trends in blood group typing. *Analytical and bio analytical chemistry* 393(5):1443-1451.
70. Malyska, H., Weiland, D. 1994. The gel test. *Laboratory Medicine*, 25(2) : 81-85.
71. Maracaja, D. L., Qiao, J., Salazar, T., Barry, J., LaForce, K., Holder, K., Olson, J. D. 2021. A Flow Cytometric Study of Reagent Cells to Resolve ABO Typing Discrepancy. *American journal of clinical pathology*, 155(1) :117-123.
72. Martha R. C., Gregory D., Brenda J. G., Rebecca N. H., Teresa H., Betsy W. J., Regina M. L., Jeanne V. L., Janice G. M., James T. P., Susan D. R., Joseph S., Darrell J. T. 2005. *Technical Manual*. 15th Edition. Mark E. Brecher, p. 727.
73. Matzhold, E. M., Wagner, T., Drexler, C., Schönbacher, M., Körmöczi, G. F. 2020. Aberrant ABO B Phenotype with Irregular Anti-B Caused by a Para-Bombay FUT1 Mutation. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 47(1) : 94-97.
74. Maynadié M. 2011. Expositions professionnelles responsables d'hémopathie maligne. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), *Hématologie*, 13-030-A-10.
75. Mishra D., Ray G. K., Mahapatra S., Parida P. 2019. ABO typing error resolution and transfusion support in a case of an acute leukemia patient showing loss of antigen expression. *Cancer Translational Medicine* 5(4):80.
76. Mishra, D., Ray, G. K., Mahapatra, S., Parida, P. 2019. ABO typing error resolution and transfusion support in a case of an acute leukemia patient showing loss of antigen expression. *Cancer Translational Medicine*, 5(4) :80.
77. Mohammadi, S., Moghaddam, M., Babahajian, S., Karimian, M. S., Ferdowsi, S. 2018. Discrepancy in ABO Blood Grouping in a Blood Donor: a case report. *Iranian Journal of Blood and Cancer*, 10(2) :61-63.

- 78.** Muller J. Y., Chiaroni J., Garraud O. 2015. Sécurité immunologique des transfusions. *La Presse Médicale* 44(2): 200-213.
- 79.** N'dhatz Comoe E., Koffi K., Ayemou R., Nanho Danho C., Alla D., Kouakou B., Sanogo I. 2012. Prévalence et incidence des hémopathies malignes au chu de Yopougon. *Revintscméd*, 14 : 205-8.
- 80.** N'Guessan Koffi, K, S., Rodrique K, D., Romuald D, S. 2019. Recherche des difficultés de groupage sanguin ABO dans la leucémie aigue à Abidjan/Screening of ABO Blood typing difficulties in Acute Leukemia at Abidjan.
- 81.** Nambiar R. K., Narayanan G., Prakash N. P., Vijayalakshmi K. 2017. Blood Group Change in Acute Myeloid Leukemia. *Proceedings (Baylor University. Medical Center)* 30(1): 74-75.
- 82.** Nancy L. H., Elaine S. J., Jacques D., Georges F., Konrad H.M-H., James V., Andrew T.L., Clara D. B. 1999. World Health Organization Classification of Neoplastic Diseases of the Hematopoietic and Lymphoid Tissues: Report of the Clinical Advisory Committee Meeting—Airlie House, Virginia, November 1997. *Journal of Clinical Oncology*, Vol 17 : 3835-3849
- 83.** Olsson M. L., Chester M. A. 2001. Polymorphism and recombination events at the ABO locus: a major challenge for genomic ABO blood grouping strategies. *Transfusion Medicine* 11(4):295-313.
- 84.** Ottenberg, R. 1983. Medical egal application of human blood grouping : Third communication : sources of error in blood group tests, and criteria of reliability in investigations on heredity of blood groups. *JAMA*, 250 (18): 2532-2535.
- 85.** Pereira, M., Dodd, B. E., Marchant, J. V. 1969. The detection of A, B and H group specific substances in stains from body fluids by absorption-elution and mixed agglutination techniques. *Medicine, Science and the Law*, 9(2) : 116-121.
- 86.** Pokala A., Paramkusam G., Tejasvi M. A., Bangi B. B., Nadendla L. K., Devulapalli R. V. 2020. Histo-Blood Group Antigens in Oral Cancer and Potentially Malignant Disorders. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP* 21(4): 1163.
- 87.** Questel F. 2011. Hémopathies malignes d'origine professionnelle. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Pathologie professionnelle et de l'environnement, 16-530-A-10.

-
- 88.** Radhakrishnan V., Mishra S., Bhaskar N., Sagar T. 2016. Blood Group Change in Pediatric Leukemia: A Rare Phenomena. *The Indian Journal of Pediatrics* 83(8):874-874.
- 89.** Raman L., Armstrong B., Smart E. 2008. Principles of laboratory techniques. *ISBT Science Series* 3(2):33-60.
- 90.** Ramnarayan, B. K., Manjunath, M., Joshi, A. A. 2013. ABO blood grouping from hard and soft tissues of teeth by modified absorption-elution technique. *Journal of forensic dental sciences*,5(1) : 28.
- 91.** Ravn V., Dabelsteen E. 2000. Tissue distribution of histo-blood group antigens. *Apmis* 108(1):1-28.
- 92.** Reviron J. 1964. Données récentes sur le système ABO. *Transfusion* 7(2):127–149.
- 93.** Rodriguez-A. D., Bordoni A., Zucca E. 2007. Epidemiology of hematological malignancies. *Annals of Oncology*, 18(Supplement 1), i3–i8. Volume 18
- 94.** Roubinet F., Mannessier L., Chiaroni J. 2003. Les difficultés techniques en immunohématologie clinique. *Transfusion clinique et biologique (Paris)* 10(3):252-257.
- 95.** Rouger P. 2005. Influence des antigènes de groupes sanguins en transplantation. *Transfusion Clinique et Biologique* 12(5):403–408.
- 96.** Saichua S., Chiewsilp P. 1978. Red cell ABH antigens in leukaemias and lymphomas. *Vox sanguinis* 35(3):154-159.
- 97.** Salmon C. 1978. Les modifications des marqueurs génétiques au cours des hémopathies malignes. *Revue Française de Transfusion et Immuno-hématologie* 21(1):47-55.
- 98.** Salmon, C., Cartron, J. P., Lopez, M., Rahuel, C., Badet, J.,Janot, C. 1984. Level of the A, B and H blood group glycosyltransferases in red cell membranes from patients with malign anhemopathies. *Revue française de transfusion et immuno-hématologie*, 27(5) : 625-637.
- 99.** Sawant, R. B. 2019. Application of flow cytometry in transfusion medicine. *Global Journal of Transfusion Medicine*, 4(1) : 16.
- 100.** Scott G. L., Rasbridge M. R. 1972. Loss of blood group antigenicity in a patient with Hodgkin's disease. *Vox sanguinis* 23(5): 458-460.

- 101.** Shafiq, M., Karim, F. 2015. Red cell antigenloss in a patient with chronic myeloid leukemia: a case of ABO discrepancy. *Transfusion and Apheresis Science*, 52(1) :103-104.
- 102.** Shah, M., Bhatnagar, N., Shah, S., Pandav, F., Soni, S. 2021. Blood Grouping With ABD PAD-Efficacy And Comparison With Standard Method-A Pilot Study. *National Journal of Integrated Research in Medicine*, 12(1).
- 103.** Shastry S., Bhat S. 2010. Imbalance in A2 and A2B phenotype frequency of ABO group in South India. *Blood Transfusion* 8(4):267.
- 104.** Songjaroen T., Primpray V., Manosarn T., Khumchanta W., Sakuldamrongpanich T., Kulkeratiyut S., Laiwattanapaisal W. 2018. A simple and low-cost portable paper-blased ABO blood typing device for point-of-care testing. *Journal of immunoassay and immunochemistry*, 39 (3): 292-307.
- 105.** Starling K. A., Fernbach D. J., With the Technical Assistance of A. Craig. 1970. Changes in strength of A antigen in children with acute leukemia. *Transfusion* 10(1):3-5.
- 106.** Subramaniyan, R. 2016. Diminished expression of B antigenmimicking B3 phenotype in a patient with AML-M3: a rare case report. *Revistabrasileira de hematologia e hemoterapia*, 38 :264-266.
- 107.** Thiel, E. T., Gupte, S. C., & Kissling, K. 1985. Changes in 'A'Antigenic Sites in Haematological Disorders. *Acta haematologica*, 73(2), 65-70.
- 108.** Tiwari, A. K., Setya, D., Aggarwal, G., Arora, D., Dara, R. C., Ratan, A.,Bhardwaj,G.,Acharya, D. P. 2018. Evaluation of new indigenous “point-of-care” ABO and Rh grouping device. *Journal of laboratory physicians*, 10(01) : 080-084.
- 109.** Tokodai, K., Kumagai-Braesch, M., Karadagi, A., Johansson, H., Ågren, N., Jorns, C., Ellis, E. 2020. Blood group antigen expression in isolated human livercells in preparation for implementing clinical ABO-incompatible hepatocyte transplantation. *Journal of clinical and experimentalhepatology*,10(2) :106-113.
- 110.** Trop M. 2011. Préparation simplifiée d'hématies-tests pour le groupage sanguin ABO dans un laboratoire malgache. *Med Trop* 71:460-463.
- 111.** Vala, D., Nayyar, A. S., Pooja, V. K., Kartheeki, B., Patel, N., Vala, D., Tanmay, P. 2017. Determination of ABO blood grouping from dentine and pulp by absorption-elution technique. *International Journal of Orofacial Biology*, 1(2) : 70.

112. Van der Hart M., van der Veer M., Van Loghem J. J. 1962. Change of blood group B in a case of Leukaemia. *Vox Sanguinis* 7:449-453.
113. Van Loghem Jr J. J., Dorfmeier H., Van der Hart M. 1957. Two A antigens with abnormal serologic properties. *Vox sanguinis* 2(1):16-24.
114. Vardiman J.W. 2010. The World Health Organization (WHO) classification of tumors of the hematopoietic and lymphoid tissues: An overview with emphasis on the myeloid neoplasms. *Chemico-Biological Interactions* 184: 16–20
115. Vowden P., Lowe A. D., Lennox E. S., Bleehen N. M. 1986. The Expression of ABH and Y Blood Group Antigens in Benign and Malignant Breast Tissue: The Preservation of the H and Y Antigens in Malignant Epithelium. *British journal of cancer* 53(3): 313-319.
116. Waleed M. S., Sadiq W. 2020. Multiple Myeloma and Change of ABO Blood Group Type: A Case Report. *Cureus* 12(9).
117. Watkins W. M. 2001. The ABO blood group system: historical background. *Transfusion medicine*, 11(4):243-265.
118. Xu, X., Xu, F., Ying, Y., Hong, X., Liu, Y., Chen, S., Hu, W. 2019. ABO antigen levels on platelets of normal and variant ABO blood group individuals. *Platelets*, 30(7) : 854-860.
119. Yamamoto F. I., Clausen H., White T., Marken J., Hakomori S. I. 1990. Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system. *Nature* 345(6272): 229-233.
120. Yamamoto F. I., McNeill P. D., Hakomori S. I. 1995. Genomic organization of human histo-blood group ABO genes. *Glycobiology* 5(1):51-58.
121. Yokoyama, M. 1969. Suppression of A and I antigens in a case of chronic myelogenous leukemia. *Blut*,18(4) : 193-200.
122. Zafrani, L., Monneret, G. 2017. Comprendre la cytométrie en flux. *Médecine Intensive Réanimation*,26(6) :517.
123. Zalpuri, S., Zwaginga, J. J., Le Cessie, S., Elshuis, J., Schonewille, H., & Van der Bom, J. G. 2012. Red-blood-cell allo immunization and number of red-blood-cell transfusions. *Vox sanguinis*, 102(2) : 144-149.

- 124.** Zouine S., Marnissi F., Otmani N., Othmani M. B., Zaid N., Kojok K., Habti N. 2020. Expression of Histo-blood Group Antigens in Tumor and Adjacent Normal Breast Tissues as Prognostic Markers of Breast Carcinoma. *Journal of breast cancer* 23(1): 69.

Annexes

Annexe N°01: Matériels et réactifs

- Anticorps monoclonaux commerciaux:
- Anticorps Anti-A, solution de coloration bleu
- Anticorps Anti-B, solution de coloration jaune
- Anticorps Anti-AB, solution incolore.
- Des hématies tests :

Nous avons préparé les solutions d'hématies test dans le laboratoire du (CTS) à partir des échantillons de donneurs avec un groupe sanguin confirmé. Trois solutions d'hématies tests (A, B, et O) ont été préparées avec une concentration égale à 5% dont, nous avons suivi le même protocole de la préparation des suspensions globulaires pour les échantillons des patients. Pour la préparation de chaque solution nous avons mélangé un volume de globules rouges à partir de trois échantillons différents et tous les globules rouges que nous avons utilisé ont été de système Rh(D) positif. Puis, nous avons effectué un lavage des hématies tests sept fois.

- Sérum physiologique (solution de NaCl 0,9%).
- Plaque d'opaline propre et stérilisée.
- Micropipette de 1000 et 50.
- Centrifugeuse.
- Matériels pour la collecte des déchets de sang.

Matériels	La marque	Référence
Lot de réactif	DIAGNOPHARM	GR0501040
Centrifugeuse	DIAB	DM0412
Chlorure de sodium 0,9%	Biolyse	4-3-099-21
Micro-pipette de 50µl	DIAB	YL179AD0008983
Micro-pipette de 1000µl	DIAB	YL179AD0009374
Médical réfrigérateur	BIOBASE	BXC-V360M

الملخص

يعد التحديد الصحيح لفصيلة الدم ABO أمراً ضرورياً لمنع حوادث ما بعد عملية نقل الدم. خلال الاضطرابات التكاثرية للمفيدة، كثيراً ما يتم ملاحظة تغيير في مستضدات نظام الزمر الدموية ABO. من أجل العثور على صعوبات خلال عملية تحديد الزمر الدموية ABO عند مرضى سرطان الدم، تم إجراء دراسة رجعية مقطعية على 23 مريضاً يعانون من أنواع مختلفة من أورام الدم. تم إجراء تصنيف الدم من خلال اختبار التراص الدموي المباشر على الشريحة والتي تضمنت الاختبارين الإيجابيين المتزامنين، اختبار Beth Vincent واختبار Simonin. بعد تحليل البيانات، مثل البالغون 57% من إجمالي مجتمع الدراسة مع غلبة للإناث (57%). تم العثور على تناقض بين الاختبارين مع الشواهد الثلاثة السلبية لدى 3 مرضى من أصل 23 شخصاً، بينما لم يلاحظ لدى 19 مريضاً أي تناقض، لا ازدواجية، ولا قابلية تعدد التراص، ولا تراسص ضعيف، باستثناء حالة واحدة. حيث انه تمت مصادفة تراسص ضعيف. لوحظ التغيير في فصيلة الدم لدى 3 أشخاص، حالتان مصابتان بالورم النخاعي المتعدد وحالة واحدة مصابة بسرطان الدم النخاعي الحاد. في جميع الحالات، تم ربط التغيير في فصيلة الدم بالفقد الكلي أو الجزئي للمستضدات B.

الكلمات المفتاحية: أورام الدم، نظام ABO، تصنيف الدم، تناقض الاختبارين، اختبار Beth Vincen، اختبار Simonin.

Résumé

La détermination correcte du groupe sanguin ABO est primordiale pour prévenir les accidents post-transfusionnels. Lors des syndromes lymphoprolifératifs, l'altération des antigènes du système ABO est fréquemment observée. Dans le but de rechercher des difficultés de groupage ABO lors des différents types de tumeurs hématologiques, une étude rétrospective transversale a été réalisée sur 23 patients diagnostiqués d'un néoplasie hématologique. Le groupage sanguin a été réalisé par la technique standard d'agglutination directe sur plaque d'opaline qui avait comportait les deux épreuves obligatoires et simultanées, l'épreuve de Beth Vincent et l'épreuve de Simonin. Après l'analyse des données, les adultes représentaient 57% de l'effectif total de la population d'étude avec une prédominance féminine (57%). Une discordance entre les deux épreuves avec les trois témoins négatifs a été rencontrée chez 3 patients parmi 23 sujets. Tandis que pour 19 patients aucune discordance n'a été observée, ni double population, ni polyagglutinabilité, ni faible agglutination, à l'exception d'un cas dont une agglutination faible a été rencontrée. La modification du groupe sanguin a été observée chez 3 sujets, 2 cas atteints de myélome multiple et 1 cas présente une leucémie myéloïde aiguë. Dans tous les cas, le changement du groupe sanguin a été lié à la perte totale ou partielle des antigènes B.

Mots clés: Tumeurs hématologiques, système ABO, groupage sanguin, discordance, Epreuve de Beth Vincent, Epreuve de Simonin

Abstract

The correct typing of the ABO blood group is crucial to prevent post-transfusion accidents. In lymphoproliferative syndromes, alteration of ABO antigens is frequently observed. In the aim to screen for ABO typing difficulties in hematological tumors, a retrospective cross-sectional study was carried out on 23 patients with hematological neoplasia. The blood typing was performed by the standard technique of direct agglutination on plate which included both Beth Vincent test and the Simonin test. After the data analysis, adults were represented by 57% of the total population of the study with a female predominance (57%). Discrepancy between both tests with the three negative controls was found in 3 patients out of 23 subjects, while for 19 patients no discrepancy was seen, no dual population, no polyagglutinability, and no weak agglutination, except for one case in which weak agglutination was observed. The change in blood group has been seen in 3 patients, 2 cases suffering from Multiple Myeloma and 1 case with Acute Myeloid Leukemia. In all cases, the change in the blood group has been linked to the total or partial loss of B antigens

Key words : Hematologic tumors, ABO system, blood typing, discrepancy, Beth Vincent test, Simonin test