



Université Salah Bounider Constantine 3
Faculté de Médecine
Département de Pharmacie

**ÉTUDE DU POLYMORPHISME GENETIQUE DU SYSTEME ABO DANS
LA POPULATION DU NORD-EST ALGERIEN**

THESE

**Présentée pour l'Obtention du
Diplôme de Doctorat en Sciences Médicales
en Hémobiologie – Transfusion Sanguine**

**Par
Khaled BOUZENDA**

Devant le Jury Composé de :

Fatiha Grifi	Présidente	Professeur	Université Annaba
Hanifa Ouelaa	Directeur	Professeur	Université Annaba
Sabiha Meriche-Gadiri	Examineur	Professeur	Université Annaba
Issam Frigaa	Examineur	Professeur	Université Alger
Karima Sifi	Examineur	Professeur	Université Constantine 3

**Année Universitaire
2020-2021**



Université Salah Bounider Constantine 3
Faculté de Médecine
Département de Pharmacie

N° de Série :

N° d'Ordre :

**ÉTUDE DU POLYMORPHISME GENETIQUE DU SYSTEME ABO DANS
LA POPULATION DU NORD-EST ALGERIEN**

THESE

Présentée pour l'Obtention du
Diplôme de Doctorat en Sciences Médicales
en Hémobiologie – Transfusion Sanguine

Par
Khaled BOUZENDA

Devant le Jury Composé de :

Fatiha Grifi	Présidente	Professeur	Université Annaba
Hanifa Ouelaa	Directeur	Professeur	Université Annaba
Sabiha Meriche-Gadiri	Examineur	Professeur	Université Annaba
Issam Frigaa	Examineur	Professeur	Université Alger
Karima Sifi	Examineur	Professeur	Université Constantine 3

Année Universitaire
2020-2021

Remerciements

Je voudrais dans un premier temps exprimer de la reconnaissance à ma directrice de thèse, Madame **Le Professeur OUELAA Hanifa** de la **Faculté de Médecine d'Annaba, Service d'Hémodiagnostic - Transfusion Sanguine CHU Annaba**, de m'avoir encadré, orienté, aidé et conseillé, et à qui je tiens à témoigner toute ma gratitude pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

A Madame le Professeur Grifi Fatiha de la **Faculté de Médecine d'Annaba**, pour m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de thèse.

A Mesdames et Messieurs les membres du jury :

Professeur Frigaa Issam de la **Faculté de Médecine d'Alger**.

Professeur Sifi Karima de la **Faculté de Médecine Salah Boubnider Constantine 3**.

Professeur MERICHE GADIRI Sabiha de la **Faculté de Médecine d'Annaba**.

Je vous remercie pour m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury et d'avoir consacré du temps pour juger ce travail et d'apporter votre regard critique.

J'adresse mes sincères remerciements à toute l'équipe du **laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire, Faculté de médecine, Université Salah Boubnider Constantine 3**, à leur tête **Pr Abadi N, Pr Sifi K, et Pr Hannachi S**, qui ont été d'un grand soutien dans l'élaboration de ce travail.

Je remercie toute ma famille, mes amis et collègues qui m'ont beaucoup encouragé.

Dédicaces

Je dédie se travail :

A mes parents qui ont toujours été à mes cotés

A ma femme qui m'a soutenu

A mes enfants Mohamed Ibrahim et Isra

A mes frères et sœurs

A toute ma famille

Table des Matières

Liste des figures	vi
Liste des tableaux	viii
Abréviations	ix
Résumé	xi
Introduction	1
1. Le système ABO	3
1.1 Définition.....	3
1.2 Historique.....	4
1.3 Etude immunologique.....	6
1.4 Etude Biochimique.....	16
1.5 Génétique du système ABO.....	22
2. Application du système ABO en pratique médicale	31
2.1 La Transfusion sanguine.....	31
2.2 Incompatibilité Fœto-maternelle.....	33
2.3 Greffe et transplantation	34
2.4 Système ABO et maladies.....	34
2.5 Application du système ABO en médecine légale.....	40
2.6 Polymorphisme ABO et étude des populations.....	41
3. Méthodes d'étude du système ABO	42
3.1 Méthodes sérologiques.....	42
3.2 Méthodes de biologie moléculaire.....	44
4. Population et Méthodes	51
4.1 Population étudiée.....	51
4.2 Méthodes d'étude.....	53
4.2.1 Recueil et traitement des échantillons.....	53
4.2.2 Détermination du groupage sanguin ABO.....	54
4.2.3 Détermination du génotype ABO par biologie moléculaire.....	57
4.3 Etude statistique.....	70
5. Résultats et discussion	73
5.1 Etude sérologique.....	73
5.1.1 Résultats.....	73

5.1.2 Discussion.....	88
5.2 Etude génétique.....	92
5.2.1 Résultats.....	92
5.2.2 Discussion.....	103
Conclusion	112
Bibliographie	114
Annexes	127
A. Nomenclature des allèles du groupe sanguin ABO.....	127
B. Cartes de répartition mondiale des différents allèles du groupe sanguins ABO	145
C. Fiche de consentement.....	149
D. Fiche de renseignement.....	150

Liste des Figures

Figure 1.1 : Structure des déterminants antigéniques ABH.....	19
Figure 1.2 : Etapes de biosynthèse des antigènes ABH.....	20
Figure 1.3 : Réaction catalysée par la fucosyl transférase.....	21
Figure 1.4 : Schéma de biosynthèse des antigènes ABH.....	22
Figure 1.5 : Structure du gène ABO et des séquences nucléotidiques des allèles <i>A</i> , <i>B</i> et <i>O</i>	23
Figure 1.6 : Représentation schématique des principales glycosyltransférases ABO.....	24
Figure 1.7 : Diagramme représentant les cinq allèles ABO communs.....	30
Figure 2.1 : Compatibilité dans la transfusion de Plasma.....	32
Figure 2.2 : Compatibilité dans la transfusion des globules rouges.....	32
Figure 3.1 : Représentation des différentes étapes d'une PCR.....	45
Figure 3.2 : Profils électrophorétiques des produits obtenus par PCR RFLP.....	46
Figure 3.3 : Principe du séquençage par la méthode de Sanger.....	49
Figure 3.4 : Résultat donné par un séquenceur automatique.....	50
Figure 4.1 : Carte montrant la zone géographique de la population étudiée.....	52
Figure 4.2 : Exemple de groupage ABO sur carte gel.....	56
Figure 4.3 : Protocole de l'étude.....	58
Figure 4.4 : Schéma représentatif du QuickGene-Mini80.....	60
Figure 4.5 : QuickGene-Mini80 et son Kit dédié.....	60
Figure 4.6 : Protocole d'extraction avec le QG-Mini80.....	62
Figure 4.7 : Le Maxwell® 16 Blood DNA Purification et l'appareil Maxwell®16....	63
Figure 4.8 : Cartouches Maxwell® 16 Blood DNA Cartridges.....	64
Figure 5.1 : Répartition de l'échantillon de l'étude phénotypique selon l'âge.....	74
Figure 5.2 : Répartition de l'échantillon de l'étude phénotypique selon le sexe.....	74
Figure 5.3 : Fréquences des phénotypes ABO dans le Nord-Est Algérien.....	76
Figure 5.4 : Distribution des phénotypes ABO selon la wilaya d'origine.....	77
Figure 5.5 : Fréquences des allèles ABO dans la population du Nord-Est Algérien.....	78

Figure 5.6 : Répartition des phénotypes ABO selon les groupes d'étude.....	80
Figure 5.7 : Répartition des allèles ABO selon les groupes d'étude.....	81
Figure 5.8 : Analyse en Composante Principale des distributions des allèles ABO....	85
Figure 5.9 : Classification Hiérarchique Ascendante des populations en fonction des fréquences alléliques ABO.....	87
Figure 5.10 : Répartition de l'échantillon de l'étude génotypique selon l'âge.....	92
Figure 5.11 : Répartition de l'échantillon de l'étude génotypique selon le sexe.....	93
Figure 5.12 : Profil électrophorétique des génotypes ABO.....	93
Figure 5.13 : Répartition des génotypes dans la population du NE-Algérien selon les allèles ABO.....	95
Figure 5.14 : Fréquences des génotypes ABO dans la population du NE-Algérien.....	96
Figure 5.15 : Fréquences des allèles ABO déterminées par biologie moléculaire.....	98
Figure 5.16 : Analyse en Composante Principale.....	100
Figure 5.17 : Classification Hiérarchique Ascendante de la distribution des allèles ABO.....	102
Figure 5.18 : Groupage du cas numéro 01 sur plaque en double détermination.....	104
Figure 5.19 : Groupage du cas numéro 01 sur carte gel.....	105
Figure 5.20 : Profil du génotype du cas numéro 01.....	105
Figure 5.21 : Génotype du cas numéro 02 avec la mise en évidence d'un allèle ABO rare.....	107
Figure 5.22 : Génotype du cas numéro 03 avec la négativité de certains allèles ABO rares.....	108

Liste des Tableaux

Tableau 1.1 : Les quatre phénotypes érythrocytaires ABO principaux.....	07
Tableau 1.2 : Réactivités des sous-groupes A ₁ , A ₂ et A _{int}	08
Tableau 1.3 : Caractéristiques sérologiques principales des phénotypes A faible.....	10
Tableau 1.4 : Caractéristiques sérologiques principales des phénotypes B faible.....	10
Tableau 4.1 : Programme PCR.....	69
Tableau 4.2 : Populations choisies pour la comparaison des fréquences géniques ABO.....	72
Tableau 5.1 : Distribution des phénotypes ABO dans le Nord-Est Algérien.....	75
Tableau 5.2 : Fréquences alléliques ABO dans le Nord-Est Algérien.....	78
Tableau 5.3 : Loi de Hardy Weinberg.....	79
Tableau 5.4 : Répartition des phénotypes ABO selon les groupes d'étude.....	80
Tableau 5.5 : Répartition des fréquences des allèles ABO selon les groupes d'étude.....	81
Tableau 5.6 : Comparaison des fréquences alléliques ABO du Nord-Est Algérien avec celles d'autres populations.....	82
Tableau 5.7 : Distances génétiques en fonction des fréquences des principaux allèles ABO.....	84
Tableau 5.8 : Fréquences des génotypes ABO déterminées par biologie Moléculaire.....	94
Tableau 5.9 : Fréquences des génotypes observés et calculés.....	96
Tableau 5.10 : Fréquences des allèles ABO déterminées par biologie moléculaire...	97
Tableau 5.11 : Comparaison des fréquences géniques ABO avec celles d'autres populations.....	98
Tableau 5.12 : Matrice des distances génétiques selon la distribution des allèles ABO.....	100

Liste des abréviations

aa :	acide aminé
A :	Adénine
Ac :	anticorps
ACD :	Adénine, Citrate, Dextrose
ACP :	Analyse par Composante Principale
ADN :	Acide Désoxyribonucléique
Ag :	antigène
Ala :	Alanine
Arg :	Arginine
Asn :	Asparagine
Asp :	Acide aspartique
BET :	Bromure d'éthidium
BGMUT :	<i>Blood Group antigen gene Mutation database</i>
C :	Cytosine
CD :	Cluster de différenciation
CP :	Culot plaquettaire
dbRBC :	<i>database to the human Red Blood Cells</i>
ddGTP :	Didésoxyguanosine tri-phosphate
dNTP :	Désoxyribonuléotide
ddNTP :	Didésoxyribonuléotide
DO :	Densité optique
EDB :	<i>Protease</i>
EDTA :	<i>Ethylène Diamine Tétra-Acétique</i>
ELISA :	<i>Enzym Linked Immunosorbent Assay</i>
etc :	et cetera
FUT :	Fucosyl Transférase
G :	Guanine
Gal :	Galactose
GalNAc :	N-acetylgalactosamine
GDB :	Guanosine di-phosphate
Glu :	Acide glutamique
Gly :	Glycine
GR :	Globule rouge
GTA :	Glycosyltransférase A
GTB :	Glycosyltransférase B
µg :	Microgramme
h :	Heure
His :	Histidine
HPA :	<i>Human Platelet Antigen</i>
IC :	Intervalle de confiance
Ig :	Immunoglobuline
Ile :	Isoleucine
ISBT :	<i>International Society of Blood Transfusion</i>
IVD :	<i>In vitro diagnostic</i>
Kb :	Kilo base
kDa :	kilo dalton

Leu :	leucine
mM :	millimolaire
μl :	microlitre
MHNN :	Maladie hémolytique du Nouveau né
Met :	Méthionine
Min :	Minute
ml :	Millilitre
mos :	mosaïque
NAIT :	<i>Néonatal alloimmun Thrombocytopenia</i>
NCBI :	National Center for Biotechnology Information
N.E :	Nord Est
ng :	Nanogramme
nm :	Nanomètre
NS :	Non significative
Nt :	Nucléotide
OR :	<i>Odds Ratio</i>
ONS :	Office National des Statistiques
pb :	paire de base
PCA :	Protéine C activée
PCR :	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PCR-SBT :	<i>Polymerase Chain Reaction Sequencing-based Typing</i>
PCR-SSCP :	<i>PCR-Single-Strand Conformation Polymorphism</i>
PFC :	Plasma Frais Congelé
Phe :	Phénylalanine
PK :	Protéinase K
Pro :	Proline
QG :	<i>Quick Gene</i>
RFLP :	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
RAI :	Recherche des agglutinines irrégulières
Ser :	Sérine
SNP :	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
SSP :	<i>Sequence-Specific Primers</i>
T :	Thymine
TBE :	Tris - Borate - EDTA
Thr :	Thréonine
Trp :	Tryptophane
UDP :	Uridine di-phosphate
UV :	Ultra violet
V :	Volt
Val :	Valine
W :	<i>Weak</i>

Résumé

La découverte du système ABO a permis l'entrée en existence de la science de l'immuno-hématologie, et le fondement des bases et des règles de la médecine transfusionnelle, en effet plusieurs chercheurs se sont intéressés à l'étude du polymorphisme du système ABO, notamment avec le développement des techniques de biologie moléculaire, d'une part afin d'approfondir les connaissances sur les mécanismes d'interaction de ce système avec différentes maladies dans la perspective du développement et de l'amélioration de nouvelles thérapeutiques, et d'autre part afin de participer à l'étude et à la compréhension de la diversité génétique humaine, et de retracer l'histoire migratoire et les origines des populations. Notre travail consiste à déterminer les fréquences phénotypiques, alléliques, et géniques du système ABO dans la population du Nord-Est Algérien, par techniques sérologiques, et de biologie moléculaire. L'étude phénotypique a concerné 10208 donneurs de sang, l'ordre des fréquences des allèles ABO est $O > A > B$ avec respectivement 0.6820, 0.2112, 0.1068. Alors que l'ordre de fréquence des génotypes ABO déterminé par biologie moléculaire est : $OO > AO > BO > AA > AB > BB$ avec respectivement : 44.44% > 23.08% > 15.38% > 10.26% > 5.13% > 1.71%. En plus des allèles ABO, *A1*, *A2*, *B*, *O1* et *O2* mis en évidence par biologie moléculaire, dont les fréquences sont respectivement : 16.67%, 6.41%, 11.97%, 58.12%, 5.55%, trois variants rares des allèles ABO ont été mis en évidence. L'estimation des distances génétiques à travers l'analyse en Composantes Principales et la classification hiérarchique ascendante entre notre population d'étude et d'autres populations nationales, Maghrébines, et mondiales, a permis de constater que notre population d'étude est très proche génétiquement des autres populations Algériennes et Maghrébines, et les différences génétiques étaient moins prononcées avec les populations subsahariennes, qu'avec les populations Européennes et Asiatiques, et elles ne sont pas toujours bien corrélées aux distances géographiques, mais influencées par d'autres facteurs engendrant plus de mixtions avec certaines populations qu'avec d'autres. La localisation géographique de notre population à la porte de l'Afrique, et sur la rive sud de la Méditerranée, associée à plusieurs événements historiques comme les envahissements, les échanges commerciaux, et les conquêtes Islamiques, ont été à l'origine de beaucoup de mouvements et de brassages populationnels qu'a connue notre région, et contribuant ainsi à l'identité génétique de notre population. Notre travail sera poursuivi, par une étude sur un échantillon plus large, et un séquençage du gène *ABO* pour mieux préciser les bases moléculaires du polymorphisme génétique des variants ABO.

Mots clés : ABO, Phénotype, Allèles, Génotype, PCR-SSP, Nord-Est Algérien.

Summary

The discovery of the ABO system, enabled the development of the science of immunohematology, and to lay the foundations and rules of transfusion medicine, several researchers were interested in the study of the polymorphism of the ABO system, in particular with the development of molecular biology techniques, on the one hand, in order to deepen knowledge on the mechanisms of interactions between this system and various diseases, with a view to the development and improvement of new therapies, and to participate in the study, and understanding human genetic diversity, and retracing the migration history and origins of populations.

Our work consists in determining the phenotypic, allelic and genetic frequencies of the ABO system on the population of Northeast Algeria, by serological techniques and molecular biology. The phenotypic study involved 10208 blood donors, the order of frequency of the ABO alleles is O > A > B with 0.6820, 0.2112, 0.1068 respectively. While the order of frequency of ABO genotypes determined by molecular biology is: OO > AO > BO > AA > AB > BB with respectively: 44.44% > 23.08% > 15.38% > 10.26% > 5.13% > 1.71%. In addition to the alleles ABO, A1, A2, B, O1 and O2 demonstrated by molecular biology, the frequencies of which are respectively: 16.67%, 6.41%, 11.97%, 58.12%, 5, 55%, three rare variants of ABO alleles have been highlighted.

The estimation of genetic distances, through the analysis in Main Components, and the hierarchical Ascending classification, between our study population, and other national, Maghrebian, and global populations, found that our study population is very close genetically to other Algerian, and Maghrebian populations, and genetic differences were less pronounced with sub-Saharan populations, than with European and Asian populations, and they are not always well correlated with geographic distances, but influenced by other factors, that result in more mixing with certain populations than with others. The geographic location of our population at the gateway to Africa, and on the southern shore of the Mediterranean, associated with several historical events, such as invasions, trade, and Islamic conquests have been at the origin of many movements, and populations mixing, that have known our region, and thus contributing to the genetic identity of our population. Our work will be continued, with a study on a larger sample, and a sequencing of the ABO gene, to better specify the molecular bases of genetic polymorphism of ABO variants.

Keywords: ABO, Phenotype, Alleles, Genotype, PCR-SSP, North-East Algeria.

ملخص

سمح اكتشاف نظام ABO بدخول علم الدم المناعي إلى حيز الوجود، وإيجاد أسس وقواعد طب حقن الدم ، في الواقع كان العديد من الباحثين مهتمين بدراسة تعدد أشكال النظام ABO، على وجه الخصوص مع تطوير تقنيات البيولوجيا الجزيئية ، من ناحية لتعميق المعرفة حول آليات تفاعل هذا النظام مع الأمراض المختلفة بهدف تطوير وتحسين علاجات جديدة ، و من ناحية أخرى من أجل المشاركة في دراسة وفهم التنوع الجيني البشري ، وتتبع تاريخ الهجرة وأصول السكان.

ان مهمتنا تتلخص في تحديد ترددات النمط الظاهرية والأليلية والترددات الجينية لنظام ABO على سكان شمال شرق الجزائر، من خلال التقنيات السيرولوجية، وعلم الأحياء الجزيئي. شملت دراسة النموذج الظاهري 10208 متبرعاً في الدم، و ترتيب تردد أليلات ABO هو $O > A > B$ على التوالي 0.6820، و 0.2112، و 0.1068. في حين أن ترتيب تردد الطرز الجينية ABO التي تحدها البيولوجيا الجزيئية هو $OO > AO > BO > AA > AB > BB$ على التوالي:

1.71% > 5.13% > 10.26% > 15.38% > 23.08% > 44.44% بالإضافة إلى الأليلات ABO, AI و A2 و B و O1 و O2 التي تم تمييزها بعلم الأحياء الجزيئي، والتي تم توضيح تكرارها على التوالي: 16.67% و 6.41% و 11.97% و 58.12% و 5.55% فقد تم تحديد ثلاثة أنواع نادرة من الأليلات ABO.

إن تقدير المسافات الجينية من خلال تحليل المكونات الرئيسية والتصنيف الهرمي التصاعدي بين مجتمع دراستنا والمجموعات السكانية الوطنية، المغاربية والعالمية الأخرى، جعل من الممكن ملاحظة أن مجتمع دراستنا قريب جداً وراثياً بالنسبة للسكان الجزائريين والمغاربيين الآخرين، وكانت الاختلافات الجينية أقل وضوحاً مع سكان جنوب الصحراء مقارنة بالسكان الأوروبيين والآسيويين، ولا ترتبط دائماً بشكل جيد بالمسافات الجغرافية، ولكنها تتأثر بعوامل أخرى تولد المزيد من الامتزاج مع مجموعات سكانية معينة أكثر من غيرها. كان الموقع الجغرافي لسكاننا عند بوابة إفريقيا، وعلى الشاطئ الجنوبي للبحر الأبيض المتوسط، المرتبط بالعديد من الأحداث التاريخية مثل الغزوات والتجارة والفتوحات الإسلامية، أصل العديد من الحركات والامتزاجات السكانية التي شهدتها منطقتنا، وبالتالي المساهمة في الهوية الجينية لسكاننا.

سيستمر عملنا، بدراسة على عينة أكبر، وتسلسل جين ABO لتحديد القواعد الجزيئية لتعدد الأشكال الجيني لمتغيرات ABO بشكل أفضل.

الكلمات الرئيسية: ABO، النمط الظاهري، الأليلات، التركيب الجيني، PCR-SSP، شمال شرق الجزائر.

Introduction

La découverte du système ABO en 1900 par Karl Landsteiner ^(1, 2) a permis l'entrée en existence de la science de l'immuno-hématologie, et le fondement par la suite des bases et les règles de la médecine transfusionnelle, principale application de ce système de groupe sanguin érythrocytaire, dont le respect de la compatibilité est capital avant chaque transfusion de produits sanguins labiles, en raison de la présence d'une façon régulière des anticorps dirigés contre les antigènes absents de la surface des hématies ^(1, 2).

Des années plus tard, plusieurs études ont été consacrées afin de comprendre les structures biochimiques des antigènes ABH et les mécanismes de leurs synthèses. Le développement des techniques de biologie moléculaire, a permis l'étude et le cumul de connaissances concernant les bases moléculaires des antigènes ABH, leurs mécanismes de transmission héréditaire, ainsi que le polymorphisme génétique de ce système, levant l'ambiguïté sur plusieurs observations lors de l'interprétation des résultats des études sérologiques de ce système liées à une expression antigénique faible d'un allèle rare ^(1, 3-10).

De nombreux liens ont été établis entre certains polymorphismes du système ABO et différentes maladies humaines, en modulant la résistance ou la susceptibilité à ces pathologies, Ces interactions ont fortement influencé la répartition géographique mondiale de certains groupes sanguins. Approfondir et cumuler les connaissances sur ces mécanismes d'interaction participeraient au développement et à l'amélioration de nouvelles thérapeutiques⁽⁶⁾.

Les grandes épidémies et certaines maladies infectieuses, en plus des mouvements des populations liés à des processus migratoires qui permettent un apport génétique extérieur, ainsi que les mutations et dérives qui engendrent des différenciations

locales, ont contribué à la distribution actuelle des allèles ABO entre les différentes régions du monde, cela a fait du système ABO un véritable marqueur et traceur génétique des populations, et a suscité l'intérêt de plusieurs chercheurs dans le domaine de l'anthropologie biologique qui se sont intéressés aux allèles ABO, dont le polymorphisme génétique qui reflète des milliers d'années de migrations et de brassages entre les populations et d'interaction avec l'environnement naturel et culturel, est devenue un outil important participant à l'étude et à la compréhension de la diversité génétique humaine. Il permet de retracer l'histoire migratoire et les origines des populations à ce jour ⁽⁶⁾.

Notre travail, consiste en l'étude du polymorphisme génétique ABO dans la population Nord-Est Algérienne, dont l'objectif est de déterminer les fréquences phénotypiques, alléliques et géniques du système ABO, d'établir une base de données pour les marqueurs génétiques de cette population permettant sa caractérisation anthropogénétique, afin d'enrichir nos connaissances sur la diversité génétique à l'échelle de cette région, de mieux caractériser le patrimoine génétique de notre population, mais aussi d'estimer les distances génétiques entre notre population d'étude et d'autres populations nationales, Maghrébines, et mondiales.

Notre travail s'inscrit aussi dans le cadre du développement en immuno-hématologie. Il permettra l'acquisition et la maîtrise des techniques récentes de biologie moléculaire, qui pourront être utilisées en routine dans les laboratoires d'hémobiologie et les centres de transfusion sanguine, comme outils de diagnostic en médecine transfusionnelle, ce qui contribuera à l'amélioration de la prise en charge des patients à un niveau qui ne peut être atteint que par une analyse génotypique.

01 : Le Système ABO

1.1 Définition

Les groupes sanguins érythrocytaires peuvent être définis comme l'ensemble des antigènes allotypiques, génétiquement transmis, détectés par des anticorps spécifiques à la surface de la membrane érythrocytaire. La majorité des antigènes de ces groupes sanguins peut être regroupée, sur des critères génétiques, au sein de systèmes.⁽¹⁾

Le système de groupe sanguin ABO a été le premier découvert en 1900 par Karl Landsteiner, classé N°001 (ISBT 2008)⁽²⁾, c'est le système majeur d'allo-antigènes érythrocytaires, et le plus important en pratique médicale, il regroupe 4 groupes sanguins: A, B, O et AB dont chacun est doublement défini par la présence ou l'absence des Ag A et ou B à la surface des hématies, et par la présence ou l'absence des anticorps sériques correspondants. Chaque spécificité antigénique est également affectée d'un numéro, A : 001, B : 002, AB : 003.^(3, 4)

Le système ABO est un système tissulaire, ce qui signifie que les déterminants antigéniques se retrouvent non seulement sur les hématies, mais aussi sur les cellules d'autres tissus. En outre, ils sont retrouvés sous forme soluble dans différents fluides corporels^(5, 6).

1.2 Historique

La transfusion sanguine fut considérée comme une pratique incertaine et dangereuse, depuis les tentatives échouées de William Harvey du 17^{ième} siècle jusqu'au début du 20^{ième} siècle (7, 8).

C'est Karl Landsteiner (1868-1943) un biologiste et médecin Autrichien, qui a publié le 23 mars 1900 dans le «Zentralblatt fur Bakteriologie originale» une très courte communication dans laquelle il affirme que « le sérum des personnes saines agglutine des globules rouges d'autres personnes »⁽⁹⁾.

En 1901, Landsteiner a systématisé ses premières observations et décrit trois groupes sanguins chez l'homme (1, 2 et 3 = A, B et O), et un article détaillé a été donné dans la 17^{ième} publication scientifique du « Wiener Klinische Wochenschrift »⁽²⁾.

En 1902 Alfred Decastello et Adriano Sturli, collaborateurs de Karl Landsteiner ont prolongé ses travaux et identifié le groupe AB^(10, 11). Cette étape a inauguré une discipline nouvelle en biologie humaine et a permis l'essor d'une thérapeutique appelée à sauver des millions de vies : La Transfusion Sanguine.

En 1908, Epstein et Ottenberg ⁽¹²⁾ ont suggéré que les groupes sanguins ABO sont transmis héréditairement, ce qui a été confirmé deux ans plus tard par Dungern et Hirsfeld, qui ont décrit en 1911 les sous-groupes de A (A₁ et A₂) ⁽¹²⁻¹⁵⁾.

Bernstein a déterminé le mode de transmission en 1924 et a montré que ces quatre groupes étaient transmis au moyen de trois gènes allèles A, B, et O ^(10, 16, 17).

En 1930, Thomsen, Friedenreich et Worsae ont inclus les sous-groupes A₁ et A₂ et ont avancé la théorie héréditaire de quatre allèles⁽¹⁸⁾. A cette année Landsteiner fut

honoré par le prix Nobel de physiologie et de médecine pour la découverte des groupes sanguins ⁽⁹⁾.

C'est en 1932 que Schiff a démontré que le caractère sécréteur est transmis de façon dominante selon les lois de Mendel, et est codé par un gène indépendant du gène *ABO* ⁽¹⁹⁾.

Les structures biochimiques des groupes sanguins ABO ont été élucidées à la fin des années 1950, les motifs antigéniques A, B et H représentent les structures terminales des déterminants oligosaccharidiques complexes exprimés par des glycosphingolipides solubles ^(1, 10, 20).

En 1952, Bhende a identifié dans la ville de Bombay, un individu n'exprimant ni l'antigène A, ni l'antigène B, et dont le sérum agglutinait toutes les hématies testées, c'est ainsi que le système H et sa liaison avec le système ABO étaient découverts^(6, 21).

Le locus *ABO* a été localisé en 1986 par Allderice ⁽²²⁾. En 1990, Clausen a purifié et caractérisé l'enzyme A⁽²³⁾, puis Yamamoto a cloné et séquencé l'ADNc de cette glycosyltransférase A^(24, 25), cette même année Larsen a cloné le gène *H* ⁽²⁶⁾.

A partir des travaux référencés ci-dessus, les données sur les bases moléculaires du polymorphisme ABO et des glycosyltransférases se sont rapidement accumulées.

1.3 Etude Immunologique

1.3.1 Etude des antigènes

1.3.1.1 Développement des antigènes ABH et leur distribution dans l'organisme

- Le développement embry-foetal : est précoce et complexe, on observe une variation du niveau d'expression des antigènes ABH dans les tissus durant l'embryogenèse. Ainsi dès la 5^{ième} semaine de la vie embryonnaire, la plupart des tissus expriment les Ag ABH dans les parois des cellules endothéliales et épithéliales, les individus sécréteurs ou non sécréteurs semblent exprimer la même quantité ABH. Les Ag ABH de l'endothélium persistent toute la vie alors que les Ag des parois des cellules épithéliales atteignent leur maximum d'expression à environ 9 semaines, après celle-ci commence à diminuer et cela en coïncidant avec l'apparition de fonctions spécifiques. Vers le 10^{ième} jour après la naissance, les antigènes ABH apparaissent dans toutes les sécrétions exocrines sous le contrôle des gènes *ABO* et *FUT2*^(27, 28).

- La distribution des antigènes ABH dans les tissus humains: Les Ag ABH sont largement répartis dans l'organisme; ils sont dits ubiquitaires. Ils sont exprimés par les hématies, les cellules épithéliales, endothéliales, ainsi que lymphocytes et les plaquettes, mais aussi dans la plupart des tissus. Chez les sujets sécréteurs, les substances du groupe ABH sont présentes dans tous les liquides de l'organisme (salive, plasma, lait, sperme) à l'exception du liquide cérébro-spinal^(5, 29-34).

1.3.1.2 Les phénotypes ABO courants

Les phénotypes ABO sont définis par des antigènes présents sur les GR et qui sont détectés par leurs anticorps spécifiques qui agglutinent les hématies qui les portent, ainsi deux antigènes A et B définissant 4 groupes sanguins A, B, AB et O⁽¹⁾.

Deux de ces phénotypes O et AB expriment le génotype lui même. Les sujets du groupe O sont nécessairement homozygote(*OO*) tandis que les sujets du groupe AB sont hétérozygotes. au contraire, un sujet A peut avoir un génotype *AO* ou *AA* et de même pour le sujet du groupe B⁽¹⁾.

Tableau 1.1 Les quatre phénotypes érythrocytaires ABO principaux ⁽⁶⁾

Phénotype	Génotype	Ag présents sur le GR	AC présents dans le sérum
A	<i>A/A ou A/O</i>	A	Anti-B
B	<i>B/B ou B/O</i>	B	Anti-A
O	<i>O</i>	Ni A, ni B	Anti-A et Anti-B
AB	<i>AB</i>	A et B	Ni anti-A, ni anti-B

Le groupe A est subdivisé en deux sous-groupes : **A₁** et **A₂** (et le groupe AB: en **A₁B** et **A₂B**). 80% des individus du groupe A sont **A₁** et 20% sont de groupe **A₂**. Ce qui a fait passer le nombre de phénotypes courants de quatre à six⁽¹⁴⁾.

Le sérum des sujets B (anti-A) après adsorption (sélective) par les hématies **A₂** possède encore une activité spécifiquement anti **A₁**, ce qui laisse supposer que ce sérum contient deux AC :

- un AC anti-A reconnaissant les déterminants communs à toutes les hématies A
- un autre anti-**A₁** reconnaissant des déterminants propres aux hématies **A₁**. (qui ne réagissent qu'avec 80% des sujets A). Les sujets dont les GR ne sont pas agglutinés par cet AC ; sont de phénotype **A₂**.

La différence entre les deux phénotypes **A₁** et **A₂** est à la fois:

- quantitative: le nombre de copies de l'antigène A sur les hématies **A₁** a été estimé entre 980000 et 1170000, alors que ce nombre n'est évalué qu'entre 240000 et 290000 sur les hématies **A₂**⁽³⁵⁾.
- qualitative: Tant pour l'activité enzymatique de la glycoyltransférase, que pour la nature du substrat de base; les transférases **A₁** sont capables de modifier les substrats précurseurs de types 1 à 4, alors que les transférases **A₂** utilisent préférentiellement ceux de types 1-2. Ces dernières laissent à la surface des hématies une substance H de type 3, qui n'est pas convertie en substance A. donc les antigènes A de type3 et de type4 sont présents presque exclusivement sur les hématies de phénotype **A₁**⁽³⁶⁾.

La détermination des phénotypes A₁ et A₂ est couramment effectuée à l'aide des lectines: A₁ sont agglutinés par la lectine de Dolichos biflorus et par les réactifs anti-A₁ d'origine humaine, par contre A₂ est agglutinés par la lectine d'Ulex europaeus⁽³⁷⁾.

Le phénotype A_{int} (A intermédiaire) : Possède certaines propriétés de A₁ et d'autres de A₂, ces hématies sont faiblement agglutinées par les réactifs anti-A₁, et agglutinées par les réactifs anti-H. Ce phénotype est rare dans la population blanche, moins de 01% des sujets A chez les blancs Américains, et plus fréquent dans la population noire, plus de 08% chez les noirs Américains et 13% chez les noirs Sud-Africains⁽¹⁰⁾.

Yoshida et al, ont détecté une forme unique de glycosyltransférase dans A_{int}, qui diffère de la glycosyltransférase A₂ par une plus grande affinité pour l'UDP-GalNac, et de la glycosyltransférase A₁ par une faible affinité pour le 2'-fucosyllactose, un analogue soluble pour la substance H liée à la membrane⁽³⁸⁾.

Tableau 1.2 Réactivités des sous-groupes A₁, A₂ et A_{int}⁽⁶⁾

Phénotype	Anti-A ₁	Anti-H
A ₁	+++	-
A ₂	-	+++
A _{int}	++	++

1.3.1.3 Les phénotypes ABO rares

➤ Les variants génétiques

De nombreux groupes faibles ont d'abord été définis sérologiquement, avant que l'étude des glycosyltransférases ne soit entreprise en biologie moléculaire^(1,6).

En effet, certains groupes sanguins ne peuvent être mis en évidence par les réactions d'agglutination normalement utilisées, suite à une discordance entre les épreuves globulaire et sérique, quoique non, ou peu agglutinables par le sérum test utilisé. Les globules rouges possèdent cependant l'antigène à leur surface, qui est révélé par des

techniques d'adsorption-élution. Ces phénotypes faibles sont dus soit à une baisse d'activité enzyme de la glycosyltransférase, soit à une diminution de la production d'enzymes⁽¹⁾.

- Les sous-groupes faibles de A

L'accumulation de nombreuses données sérologiques a permis d'identifier différents variants phénotypiques faibles de A. La classification sérologique de ces sous-groupes est basée sur les principes suivants^(10, 39) :

- la réactivité des hématies avec les réactifs anti-A, anti-B, anti-AB, anti-H,
- la présence éventuelle d'une image de double population,
- la présence éventuelle d'un anti-A1 ou d'un anti-A dans le sérum de l'individu,
- la sécrétion ou non, dans la salive, de substance A et/ou H par les sujets sécréteurs.

Tous ces phénotypes ont des hématies de réactivité inférieure à celle des hématies A₂ et présentent généralement une expression normale ou renforcée de l'antigène H.

Tous sont le plus souvent liés à des formes alléliques du locus ABO, qui s'expriment en position trans d'allèles *O* ou *B*. et qui correspondent en fait à des groupes eux-même hétérogènes sur le plan moléculaire, et la classification sérologique présente peu de corrélation génétique et aucun intérêt sur le plan transfusionnel^(10, 39).

- Les sous groupes faibles de B

Plusieurs classifications sérologiques ont été proposées vu l'extrême hétérogénéité des phénotypes B, et en l'absence de consensus, celle par analogie à la classification des phénotypes A faibles paraît la plus pratique, sans supposer une homogénéité sur le plan moléculaire. Leurs faibles fréquences sont sans aucun doute liées à la faible fréquence du phénotype B par rapport au phénotype A⁽⁴⁰⁾.

Beaucoup d'autres variants A ou B liés à des allèles spécifiques, ne correspondent pas aux catégories sérologiques définies plus haut, sont regroupés sous la terminologie génétique *A_w* ou *B_w* (pour *weak* : faible) ⁽¹⁾.

Tableau 1.3 Caractéristiques sérologiques principales des phénotypes A faibles⁽⁶⁾

Phénotype	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-A ₁	Anti-H	Hématie B	Hématie A ₁	Hématie A ₂	Substance Soluble A	Substance Soluble H
A₃	++/-	-	++/-	-	+++	+++	+ ou -	-	+	+
A_x	(+)	-	+	-	+++	+++	+	-	-	+
A_{end}	(+)/-	-	(+)/-	-	+++	+++	+ ou -	(+) ou -	-	+
A_m	-	-	-	-	+++	+++	-	-	+	+
A_{el}	-	-	-	-	+++	+++	+++	++ ou +	-	+
A_y	-	-	-	-	+++	+++	-	-	(+)	+
A_{bantu}	+	-	+	-	+++	+++	+	-	-	+
A_{lae}	-	-	-	+(Db)	+++	+++	-	-	-	+
A_{finn}	(+)	-	(+)	-	+++	+++	+	-	-	+

++/- ou +/- : double population ; (+) : très faible agglutination ; Db : lectine Dolichos biflorus

Tableau 1.4 Caractéristiques sérologiques principales des phénotypes B faibles⁽⁶⁾

Phénotype	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-A ₁	Anti-H	Hématie B	Hématie A ₁	Hématie A ₂	Substance Soluble A	Substance Soluble H
B₃	-	++/-	++/-	-	+++	-	+++	++	+	+
B_x	(+) ou -	-	(+)	-	+++	+	+++	++	(+)	-
B_m	-	-	-	-	+++	-	+++	++	+	+
B_{el}	-	-	-	-	+++	(+) ou -	+++	++	+	-

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

Phénotype A_{mos} et B_{mos}

En dehors des causes connues pour être à l'origine d'une mosaïque ou d'une double population ABO (Transfusion sanguine, chimérisme...etc.), l'existence d'un mélange d'hématies de groupes sanguins ABO différents a été décrite en 1975 chez 05 individus dont 02 de la même famille^(6, 15).

Ce phénomène ne concerne que le groupe sanguin ABO, le sang des individus A_{mos} et B_{mos} contient deux populations d'hématies différentes, exprimant l'antigène A ou B qui semblent plus faible que leurs homologues normaux et des hématies négatives. Ces hématies ne sont pas polyagglutinables et n'ont pas les caractéristiques des antigènes A ou B acquis. Aucun mécanisme moléculaire expliquant ce phénomène n'a été élucidé à ce jour^(6, 15).

- Phénotype Cis-AB

Le phénotype cis-AB peut soulever des questions sur un héritage apparemment paradoxal du groupe sanguin ABO, comme la naissance d'un enfant O d'une mère AB^(41,42).

La caractéristique de ce phénotype est que les caractères A et B exprimés à la surface des hématies sont transmis par un seul allèle dénommé « *cis-AB* », son incidence est très faible (la population japonaise 0.012 %, et 0,0354% chez les donneurs de sang coréens)^(41, 42).

Ces allèles du sous-type ABO confèrent la capacité de créer des antigènes A et B avec une seule enzyme. Une variété d'enzymes cis-AB différente a été rapportée et beaucoup présentent un échange d'acides aminés entre la séquence de l'enzyme A normale et son homologue B, ce qui rend l'enzyme mutante capable de créer les deux antigènes⁽⁴¹⁻⁴⁴⁾.

Ce phénotype est hétérogène, et sur la base des réactions sérologiques, trois phénotypes principaux ont été décrits : cis- A_1B_3 , cis- A_2B_3 et le cis- A_2B .

Le phénotype cis- A_2B_3 est le plus fréquent et est caractérisé par :

un antigène A dont la réactivité est égale à celle d'un A_2 , un antigène B très affaibli, un excès important d'antigène H, et dans le plasma existe un anti-B de faible activité. La présence dans la salive des sujets sécréteurs de substances A et H en quantité normale, en plus d'une très faible quantité de substance B qui n'est détectable que par inhibition de l'agglutination des cellules cis-AB par les anti-B⁽⁴¹⁻⁴⁴⁾.

Ce phénotype se différencie du phénotype B acquis par l'excès d'expression de l'antigène H et par la présence d'un anti-B faible dans le plasma ⁽⁴¹⁻⁴⁴⁾.

- **Phénotypes B (A) et A (B): spécificités superposées de A- et B-Transférases**

Il a été démontré que les transférases A et B ne sont pas précises dans leur choix de substrat donneur, et qu'il y a un petit degré de chevauchement entre les produits des gènes A et B.

Ce phénomène est dû au fait qu'une enzyme B puissante ajoute non seulement le D-galactose à la substance H préformée, mais également de petites quantités de N-Acétyl-Galactosamine, ce phénotype a été appelé B(A)⁽⁴⁵⁾.

Beck a montré que ces hématies sont agglutinées avec un anticorps anti-A monoclonal puissant⁽⁴⁵⁾. Et de façon contraire Voak a mis en évidence un phénotype A(B) à l'aide d'un anticorps monoclonal puissant anti-B⁽⁴⁶⁾.

➤ **Les phénotypes rares acquis**

- **Phénotype B acquis**

Dans de rares situations, les personnes du groupe A peuvent acquérir un antigène B et devenir du groupe AB, bien que l'antigène B soit généralement faible, c'est un phénomène transitoire, qui s'observe presque toujours chez les sujets de phénotype A1, atteints de maladies du tube digestif, généralement un carcinome du côlon. Décrit pour la première fois en 1959 par Cameron chez sept patients initialement de phénotype A, ayant acquis un antigène B, mais avec un anti-B apparemment normal dans leur sérum. Il se caractérise par une faible agglutination paradoxale (image de double population) avec les réactifs anti-B polyclonaux^(47, 48).

Le germe responsable de l'infection produit une désacétylase, qui transforme la N-acétyl-galactosamine (épitope A) en galactosamine, qui est très proche du galactose (épitope de B). Ces sujets possèdent la transférase A, mais pas de B-transférase et pas de gène B dans leur génome⁽⁴⁹⁾.

- **Phénotype A acquis**

Généralement suite à une difficulté de groupage avec une image de double population que ce phénomène est mis en évidence, fréquemment chez des patients atteints de pathologies malignes hématologiques. Ce phénotype a été décrit en 1992 par Berman, qui a montré que les hématies polyagglutinables de type Tn dont le sucre immuno-dominant est le N-acétyl-galactosamine, se comportent comme ayant un antigène A^(6, 50).

1.3.1.3 Phénomène de renforcement et de compétition allélique

- **Le renforcement allélique** : consiste en une interaction génétique permettant l'augmentation de l'expression des antigènes A ou B faibles chez les sujets hétérozygotes.

Dans une famille française, un allèle A a été exprimé comme A_x chez les sujets du génotype AO, mais comme A₂ chez les membres du génotype AB. Les cellules A_x avaient 11200 sites antigéniques A par globule rouge, alors que les cellules A₂B avaient 96 000 sites A. L'activité de la A-transférase n'était pas apparente dans le sérum des membres A_x, mais a été détectée dans le sérum des individus A₂B, bien que tous avaient le même gène A⁽⁵¹⁾.

D'autres familles ont montré qu'un gène B responsable du phénotype B_x a été exprimé plus fortement chez les membres A₁B, et un gène B exprimé en B_{el} chez les membres de génotype BO était représenté par un phénotype B₃ chez les membres de génotype AB^(52, 53).

- **Compétition allélique**

Il est bien établi que l'antigène A est plus faiblement exprimé sur les hématies de phénotype A₂B que sur les cellules de phénotype A₂, et que A₁ est faiblement exprimé sur les globules rouges de phénotype A₁B que celles de phénotype A₁. Ce phénomène est lié à l'effet de deux glycosyl-transférases différentes en compétition pour le même

substrat accepteur. Bien que généralement moins évidente, B est souvent plus faible en A_1B qu'en B⁽⁵⁴⁻⁵⁷⁾.

Dans certains cas, le génotype A_1B peut être exprimé comme un phénotype A_2B , et A_2B peut être exprimé en phénotype A_3B .

Dans les populations noires, le rapport A_2B/A_1B est souvent significativement supérieur à ce que l'on pourrait attendre du rapport A_2/A_1 . Dans une étude de 5000 Afro-Américains, (80%) des individus du groupe A étaient A_1 et 20% étaient A_2 , alors que 53% des individus du groupe AB étaient A_1B et 47% étaient A_2B ⁽⁵⁸⁾.

Une B-transférase avec une activité élevée avec une A_1 -transférase a été retrouvé dans le sérum de 50% de ces sujets, sans la présence d'une A_2 -Transférase, cette B-transférase super-active utilise la part des sites H disponibles, de sorte que la A_1 -transférase ne peut produire suffisamment d'antigène A pour fournir la densité de site élevée requise pour le statut A_1 ⁽⁵⁹⁻⁶¹⁾.

Des divergences similaires ont été observées chez des blancs^(59, 62), des Chinois⁽⁶³⁾ et des Japonais^(64, 65).

1.3.2 Etude des anticorps

Tous les sérums humains contiennent de manière absolument constante l'anticorps ou les anticorps correspondants aux antigènes ABO absents de la surface des globules rouges, on a donc qualifié ces anticorps de naturels. Sous l'influence des stimulations supplémentaires, des anticorps immuns apparaissent. Plus rarement on assiste même à l'apparition d'auto-anticorps dirigés contre les antigènes ABO⁽¹⁾.

1.3.2.1 Anticorps naturels :

Leur production est liée à la réponse primaire de l'organisme dirigée contre des antigènes de groupes sanguins portés par les bactéries saprophytes de la flore intestinale ou diverses substances de l'environnement⁽⁶⁶⁾.

Les niveaux d'anticorps anti-A et anti-B semblent être influencés principalement par des facteurs environnementaux, la génétique n'a qu'un rôle mineur ^(67, 68). Ils ne sont mis en évidence par la sérologie qu'entre le 3^{ème} et 6^{ème} mois de vie, et la concentration maximale de ces anticorps est observée entre 05 et 10 ans ⁽⁶⁹⁾.

L'absence de ces anticorps est inhabituelle en dehors de certains groupes particuliers, de sujets de phénotype AB et du nouveau-né.

Trois spécificités existent dans le système ABO. L'anti-A, et l'anti A₁ rencontrés chez les sujets du groupe B. L'anti-B, présent chez les sujets du groupe A. L'anti-A, l'anti-A₁, l'anti-B et l'anti-AB que l'on trouve chez un sujet du groupe O. alors que l'anti-AB des sujets du groupe O reconnaît des structures communes aux antigènes A et B, ils sont essentiellement de classe IgG, et possèdent des caractéristiques sérologiques différentes des mélanges d'anti-A et d'anti-B ⁽⁷⁰⁾.

Certains anticorps naturels sont présents de façon inconstante au niveau du plasma/sérum, et sont de ce fait dits anticorps irréguliers, à savoir l'anti A₁ qui est présent chez 02 à 05% des sujets A₂, chez 20% des sujets A₂B et certains sujets de groupe A faible ^(1, 66).

Ces anticorps naturels sont principalement des IgM, mais également des IgG voire des IgA. Leur optimum thermique d'activité est à + 4°C. Ils sont thermolabiles (10 min à + 70°C), spontanément agglutinants en milieu salin, et neutralisables par des substances solubles, leur pouvoir hémolysant est faible, et ne traversent pas la barrière placentaire⁽¹⁾.

Des anticorps ABO peuvent être retrouvés dans divers fluides corporels y compris la salive, le lait, les sécrétions cervicales, les larmes et le contenu des kystes ⁽⁷¹⁾.

Ils sont principalement des IgA et généralement les plus actifs dans les fluides des individus du groupe O ⁽⁷²⁾.

1.3.2.2 Anticorps immuns

Sous l'influence de divers stimuli exogènes, (vaccination, sérothérapie, infection,

grossesse ou même une transfusion incompatible), on assiste à des changements dans les caractéristiques des anticorps anti-A et anti-B, avec une augmentation de l'activité hémolytique, et un changement de la température optimale d'activité qui passe à 37°C. essentiellement de classe IgG mais peuvent être un mélange IgG + IgM ou bien des IgA. Ils sont thermostables (résistent à la chaleur 1h à 63°C ou à 70°C pendant 10min), ne sont pas spontanément agglutinants en milieu salin, et difficile à neutraliser par des substances solubles. Ils sont hémolysants, opsonisants, et traversent la barrière foeto-placentaire^(1, 66).

1.3.2.3 Auto-anticorps :

Sokol et al⁽⁷³⁾. Ont mis en évidence en 1995 sur 4668 patients étudiés, seulement six cas d'auto-anticorps de spécificité ABO, avec des auto-anticorps anti-A, des auto-anticorps anti-A₁ ou des auto-anticorps de spécificités mixtes, comme l'anti-AI, qui possède une amplitude thermique élevée. Les anticorps anti-A et anti-B sont rarement impliqués dans des phénomènes auto-immuns. Ils sont en général peu actif à 37°C, et la spécificité de l'auto-anticorps est parfois de type AI, BI, Ou HI.

1.4 Etude Biochimique

Les antigènes ABH sont des structures glucidiques. Des chaînes d'oligosaccharides synthétisées par l'ajout séquentiel de monosaccharides, catalysé par des enzymes appelées glycosyltransférases. Ces oligosaccharides sont généralement conjugués avec des polypeptides pour former des glycoprotéines, ou avec du céramide pour former des glycosphingolipides^(74, 75).

1.4.1 Structure des déterminants antigéniques ABH

Les déterminants antigéniques ABO sont des motifs glucidiques terminaux disposés à l'extrémité non réductrice des oligosaccharides portés par des glycoprotéines ou des glycolipides⁽⁷⁶⁾.

Dans la membrane des globules rouges, environ 80% des déterminants ABH sont associés à la protéine Bande 3. L'autre principale glycoprotéine des globules rouges, la glycophorine A, ne semble porter aucun antigène ABH, mais des déterminants ABH ont été détectés sur la bande 4.5 et la glycoprotéine associée au Rh ⁽⁷⁷⁻⁷⁹⁾.

Ces chaînes oligosaccharidiques sont constituées d'une structure interne plus au moins ramifiée (Structure I et i) et des structures périphériques également nommées chaînes précurseurs, qui seront les structures de base accepteurs des motifs ABH et dont il existe plusieurs types^(1, 75, 76) :

Type 1 : Gal β 1-3 Glc NAc β 1-R

Type 4 : Gal β 1-3 Gal NAc β 1-R

Type 2 : Gal β 1-4 Glc NAc β 1-R

Type 5 : Gal β 1-3 Gal β 1-R

Type 3 : Gal β 1-3 Gal NAc α 1-R

Type 6 : Gal β 1-4 Glc β 1-R

Gal : D- Galactose

GlcNAc : N-acétyl- D – glucosamine

GalNAc : N- acétyl- D – galactosamine

R : reste de la molécule

Les chaînes faisant partie intégrante de la membrane érythrocytaire sont principalement de type 2, alors que celle qui sont présentes dans les liquides biologiques sont de type 1⁽¹⁾.

Le précurseur de type 1 est synthétisé dans les tissus de l'endoderme (cellules épithéliales digestives, urinaires, respiratoires et certaines cellules exocrines) et donc trouvé avec les molécules ABH fixées sur les protéines et les lipides des sécrétions et fluides de l'organisme^(1, 80).

Le précurseur de type 2 est trouvé dans des tissus dérivant du mésoderme et en particulier les érythrocytes mais aussi des plaquettes et l'endothélium ou de l'ectoderme comme l'épiderme^(1, 81).

Le précurseur de type 3 est limité à des oligosaccharides liés par des liaisons O glycosidiques, à des glycoprotéines exprimées par des cellules épithéliales et à des glycolipides de la membrane du globule rouge, qui peut être utilisé par la transférase A1 et non par la transférase A2. Ce déterminant répétitif A est caractéristique du phénotype A1^(1, 82).

Le précurseur de type 4 est un composant de glycolipides de la membrane du globule rouge et de certains organes solides comme le rein^(1, 82).

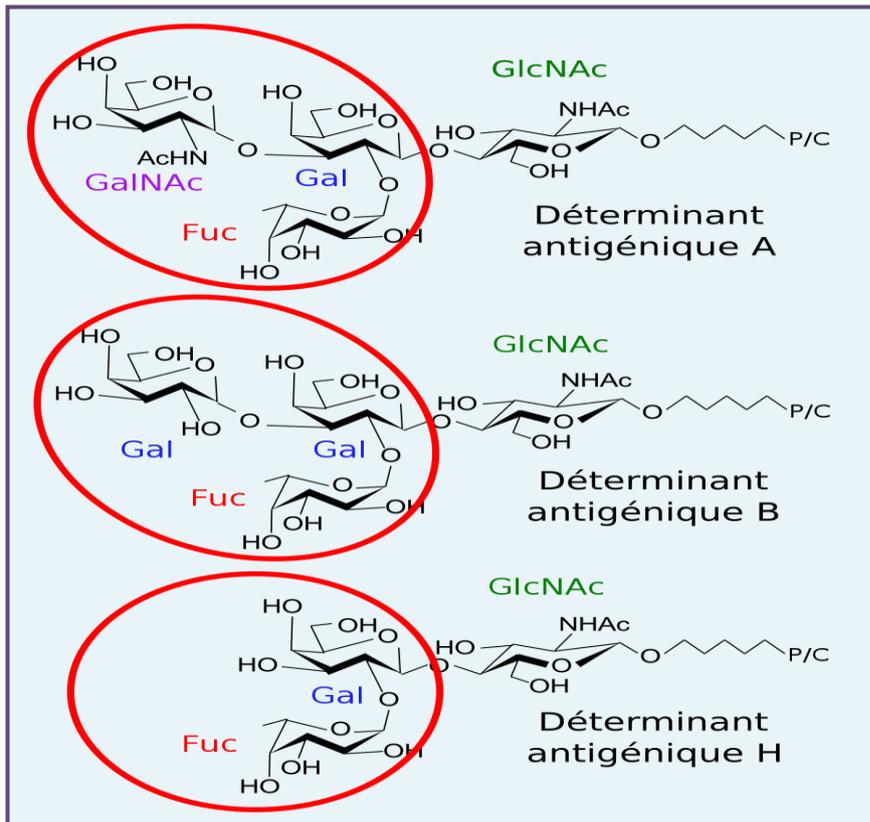
Le précurseur de type 5 a été synthétisé en 1990 par Oriol pour caractériser des anticorps monoclonaux ABH, mais n'a pas été à ce jour identifié dans les tissus humains^(1, 83).

Le précurseur de type 6 appelé lactose, ces dérivés ABH ont été retrouvés sous forme libre dans les sécrétions exocrines comme le lait et les cellules intestinales^(1, 83).

Ces disaccharides précurseurs sont couplés à des structures support (R) qui peuvent être de nature carbohydre, glycolipidique, ou glycoprotéique et de taille très variable. Ils sont utilisés comme substrat pour des réactions de transglycosylation catalysées par deux $\alpha(1,2)$ fucosyltransférases : l'une est le produit du gène *H(FUT1)* et l'autre du gène *SE (FUT2)*; ces deux enzymes se différencient par leur affinité pour leur substrat, la FUT1 utilise les précurseurs de type 2 et 4 et donne la substance H de type 2 et 4. Et la FUT2 utilise les précurseurs de type 1 et 3 et donne la substance H de types 1 et 3^(74, 75, 84).

Le produit du gène (*FUT1*) est une protéine transmembranaire de type II de 365 aa, avec un domaine cytosolique NH₂-terminal de 8 aa, un domaine transmembranaire de 15 aa et un grand domaine extra-membranaire de 340 aa, où se situe l'activité catalytique. Le produit du gène *FUT2 (Se)* de 332 aa est similaire à celui de l'enzyme H avec 68% d'homologie, avec un domaine amino-terminal de 03 aa, un domaine transmembranaire de 14 aa, et un domaine extra-membranaire de 315 aa^(75, 85).

Après l'action des fucosyltransférases, peuvent intervenir les glycosyltransférases codominantes permettant la fabrication des déterminants A et/ou B (figure 1.1).



Les cercles rouges entourent les régions de reconnaissance par les anticorps.

GlcNAc : *N*-acétyl-D-glucosamine;

Gal :D-galactose;

GalNAc : *N*-acétyl-D-galactosamine;

Fuc : *L*-fucose.

Les chaînes de sucres sont portées par des protéines (P) ou des céramides (C)

Figure 1.1 Structure des déterminants antigéniques ABH ⁽⁸⁶⁾

1.4.2 Biosynthèse des antigènes ABH

Les déterminants antigéniques du groupe sanguin ABO, sont de nature glucidique et ne sont pas le produit primaire des gènes gouvernant leur expression. Des glycosyltransférases spécifiques qui sont les produits primaires des gènes, catalysent le transfert d'un monosaccharide de son donneur de nucléotides, et son attachement, selon une liaison glycosidique spécifique, à son substrat accepteur ^(6, 75).

La biosynthèse des antigènes du système ABO s'effectue dans l'appareil de Golgi et le réticulum endoplasmique, et s'effectue en trois étapes : initiation, élongation et terminaison⁽¹⁾(figure 1.2).

L'initialisation est représentée par la fixation du premier motif monosaccharidique sur la molécule protéique ou lipidique, en ce qui concerne les glycoprotéines, deux types de liaisons peuvent être retrouvés. Des liaisons N.glycosidiques caractérisées par

la fixation d'une N-acétyl-glucosamine (GlcNAc) à une asparagine, et des liaisons O-glycosidiques caractérisées par la fixation d'une N-acétylgalactosamine (GalNAc) à une sérine ou une thréonine. En ce qui concerne les glycosphingolipides, ils associent un élément glucidique à une céramide⁽¹⁾.

Lors de l'élongation, un enchainement de disaccharides de bases (Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3) linéaires ou branchées va se fixer sur l'unité saccharidique (antigène I). On obtient ainsi au niveau des globules rouges, un disaccharide terminal qui constitue le précurseur de type 2 (Gal β 1-4 GlcNAc-R)⁽¹⁾.

Enfin, l'étape de terminaison représente l'adjonction des sucres terminaux spécifiques des antigènes A, B et H. Ces déterminants antigéniques vont par la suite migrer dans une des vésicules golgiennes vers la membrane cellulaire puis s'ancrer dans la membrane grâce à la protéine ou au lipide de départ, et s'expriment sur la face externe de l'hématie⁽¹⁾.

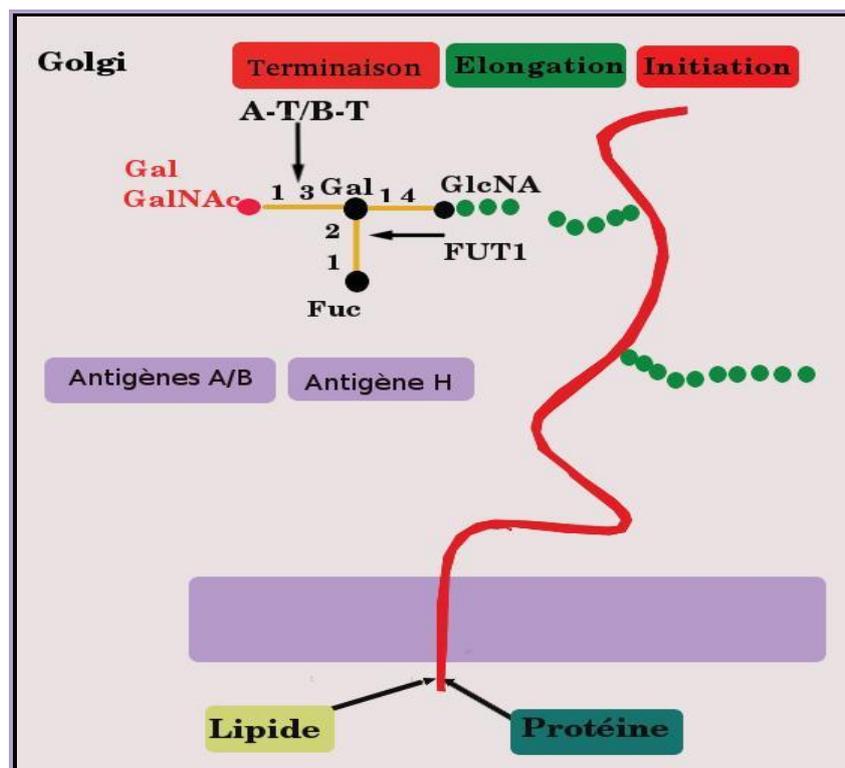


Figure 1.2 Etapes de biosynthèse des antigènes ABH ⁽⁸⁷⁾

A- ou B-transférase appropriée. Cette situation se produit dans les sécrétions des non sécréteurs ABH, et sur les globules rouges des rares déficients en H (phénotype Bombay)^(1, 6).

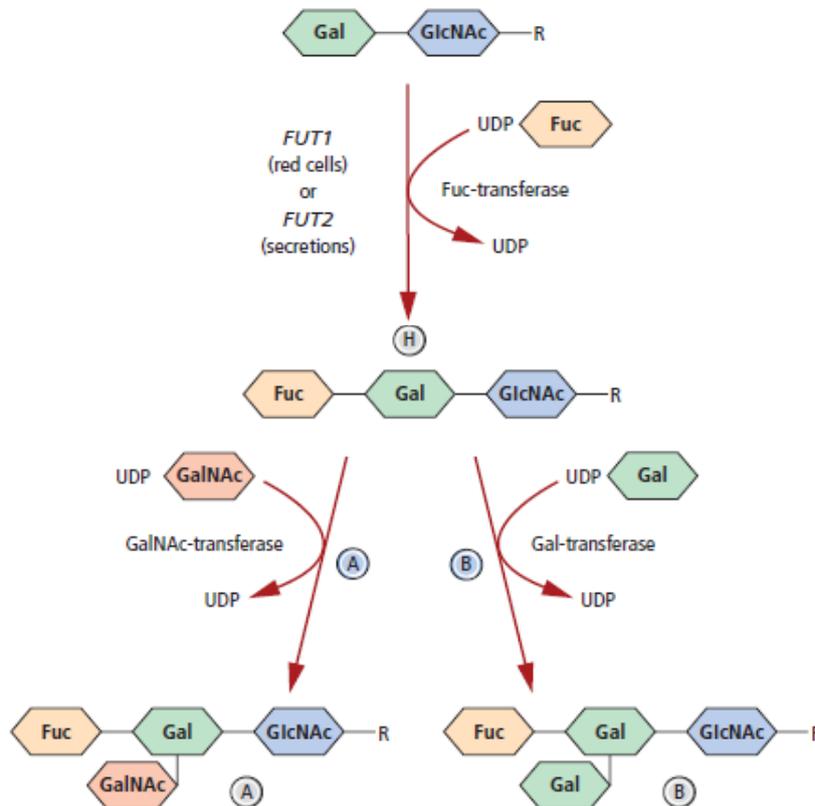


Figure 1.4 Schéma de biosynthèse des antigènes ABH ⁽⁴⁸⁾

1.5 Génétique du système ABO

1.5.1 Génétique moléculaire

1.5.1.1 Le gène *ABO*

Le locus ABO est localisé sur le bras long du chromosome 9 (9q34.1-q34.2). Il comprend 7 exons (1065 bp) et 6 introns, et s'étend sur plus de 18 kb (19514 bp du codon d'initiation au codon-stop). La taille des introns varie de 554 à 12982 bp pour l'intron 1. Les 05 premiers exons sont de très petite taille, respectivement 28, 70, 57, 48, et 36 bp, les exons 6 et 7 (135 et 688 bp) constituent 77% de la séquence codante, et codent pour 91% des aa du site catalytique de la glycosyltransférase synthétisée (figure 1.5) ^(6, 75, 89, 90).

Sur le chromosome 9, Trois allèles majeurs transmis selon la loi Mendélienne sont possibles, *ABO**A, *ABO**B et *ABO**O, ce dernier est un allèle silencieux qui ne modifie pas la substance de base H, alors que les allèles A et B sont exprimés de manière codominante lorsqu'ils sont tous les deux présents^(75, 91).

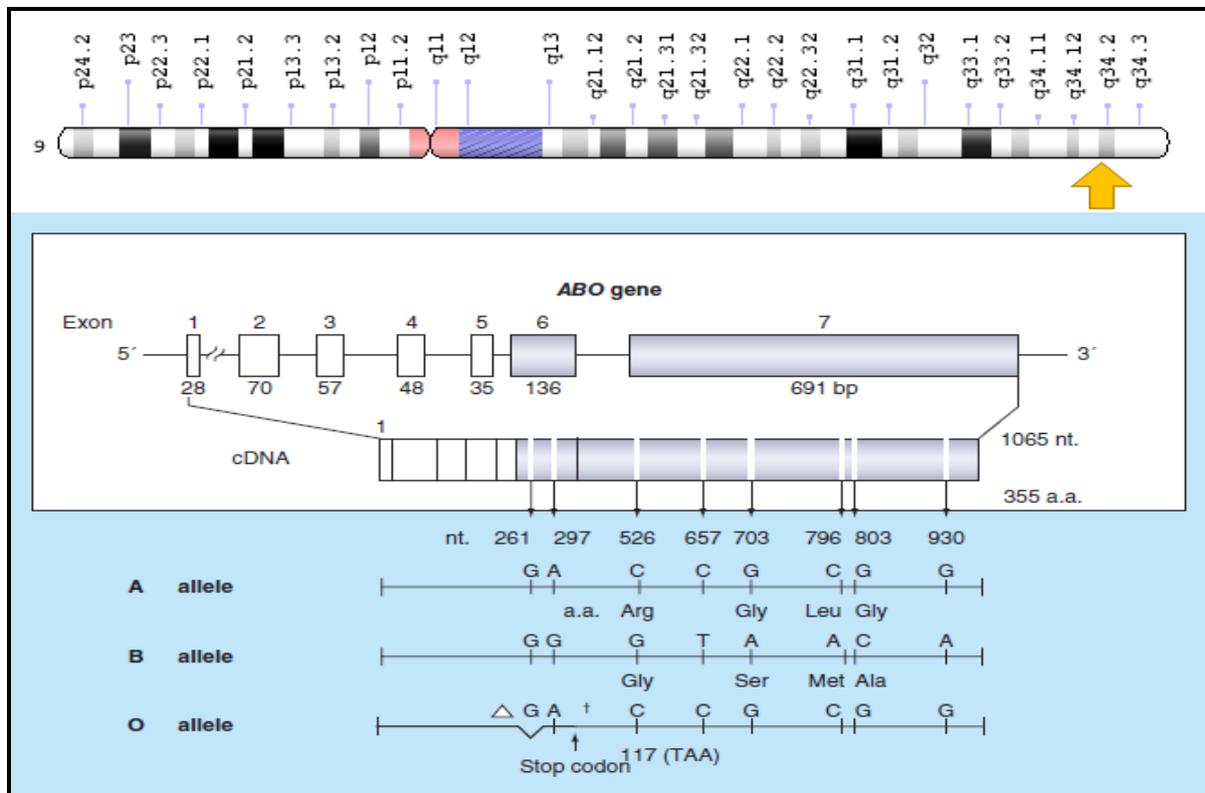


Figure 1.5 Structure du gène *ABO* et des séquences nucléotidiques des allèles A, B et O⁽⁹²⁾.

Les produits des allèles A ou B sont des protéines transmembranaires de type II, de 42 kDa comportant pour l'enzyme A₁ 354 aa avec un domaine intracytoplasmique formé des 16 aa NH₂-terminaux, un domaine transmembranaire de 20 aa, et d'un grand domaine C terminal se trouvant au niveau de l'appareil de Golgi et contenant un site pour la N-glycosylation. Ce site constitue le centre actif de l'enzyme^(6, 24).

La différence entre les allèles de référence A₁₀₁ et B₁₀₁, porte sur sept nucléotides sur 1065 (297, 526, 657, 703, 796, 803, et 930), la première substitution nucléotidique se situe dans l'exon 6 et les autres dans l'exon 7, dont quatre entraînent une substitution d'acide aminé. L'aa 176 (arginine pour A₁ et glycine pour B), L'aa 235 (glycine pour A₁ et sérine pour B), L'aa 266 (leucine pour A₁ méthionine pour B) et

L'aa 268 (glycine pour A₁ et alanine pour B). Les aa qui sont plus impliqués dans la discrimination du sucre utilisé comme substrat et qui jouent aussi un rôle critique dans l'activité catalytique de l'enzyme, sont en position 266 et 268^(75, 93) (figure 1.6).

L'allèle **O**, non fonctionnel, qui est caractérisé par la production d'une protéine tronquée de 117 aa (au lieu de 353), dépourvue du site catalytique, est lié à la délétion d'un nucléotide en position 261 du codon 87 (allèle *O01*) (qui correspond à une G dans l'allèle de référence A₁), entraînant un décalage du cadre de lecture (frame-shift), aboutissant à l'apparition d'un codon stop prématuré. Cela a été constaté sur tous les clones d'ADNc isolés initialement par Yamamoto. D'autres types d'allèles **O** plus rares ne possédant pas la délétion en position 261, et qui sont liés à d'autres polymorphismes ont été par la suite rapportés par le même auteur^(25, 75).

L'allèle **A₂** de référence, (*A₂₀₁*), a la particularité de présenter en plus d'une mutation sur le codon 156 (C467T substituant une leucine à la place d'une proline)⁽⁹⁴⁾, une délétion de l'un des nucléotides 1059-1061 en 3' du gène dans une séquence répétitive de 3 cytidines, décalant le cadre de lecture à l'extrémité 3' du gène avec l'extension de 21 acides aminés supplémentaires (extra-domaine C-terminal). Cette extension de la protéine (374 aa au lieu de 353) est à l'origine des propriétés catalytiques différentes de l'enzyme A₂. En effet la mutation du codon 156 n'a que peu d'effet^(15, 95) (figure 1.7).

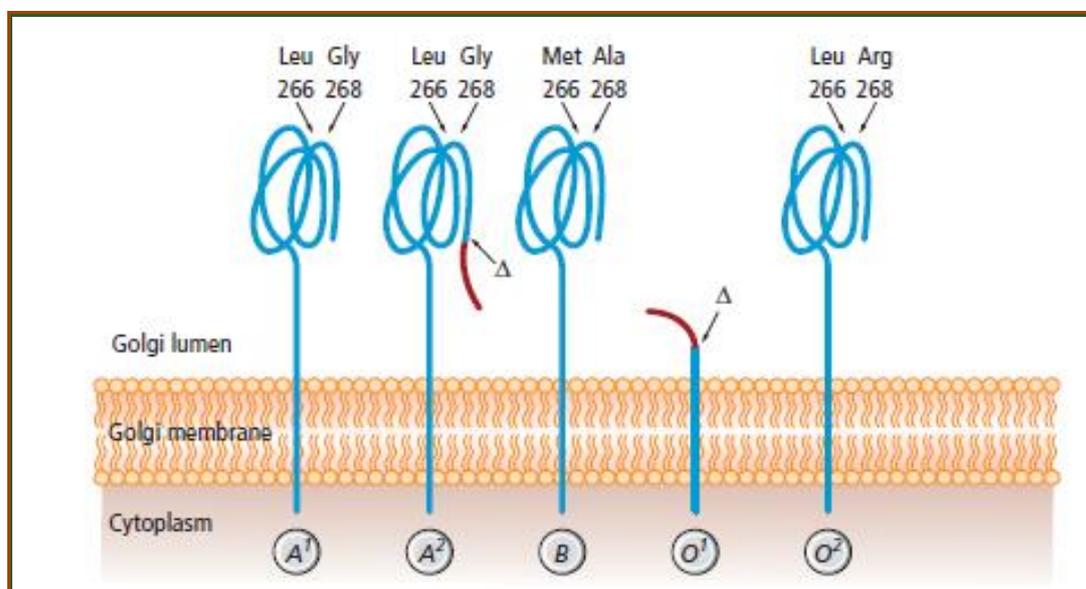


Figure 1.6 Représentation schématique des principales glycosyltransférases ABO⁽⁴⁸⁾.

1.5.1.2 Gènes des fucosyltransférases FUT1 et FUT2

Les gènes *FUT1* (*H/h*) et *FUT2* (*Se/se*), sont localisés sur le chromosome 19q13.3, séparés d'une région de 35.5 kb, ils présentent de très fortes homologies (70%) dans leur séquence^(96, 97).

Le gène *FUT1* possède 8 exons et s'étend sur moins de 9kb, avec une région codante construite du seul exon 8 de 1.1 kb⁽⁹⁸⁾. La base moléculaire du phénotype Bombay a été rapportée pour la première fois en 1994 par Kelly, par la mise en évidence au niveau de la séquence d'un allèle Bombay de six substitutions par rapport à l'allèle de référence *FUT1*, la plus importante est le remplacement du codon de la tyrosine en position 316 par un codon stop (C948G), avec la synthèse d'une protéine tronquée des 50 aa terminaux⁽⁹⁹⁾. Mais le phénotype Bombay typique chez les personnes originaires de l'Inde résulte de la présence en double dose, chez un individu non sécréteur (délétion du gène *FUT2*), de la mutation T725G dans le gène *FUT1* aboutissant à une enzyme FUT1 inactive liée à la substitution Leu242Arg⁽¹⁰⁰⁾. Depuis, de nombreuses autres mutations associées à des phénotypes H-déficients ont été décrites dans différentes populations⁽⁶⁾.

Le gène *FUT2* de 3.1 kb possède 2 exons, dont l'exon 2 contient toute la séquence codante, le premier exon étant non codant⁽¹⁰¹⁾. Le phénotype non sécréteur résulte de la formation d'une protéine inactive sur le plan enzymatique, tronquée de 189 aa dans la partie C-terminale, résultant de la mutation G428A à l'état homozygote, par rapport à l'allèle *Se*, transformant le codon du tryptophane 143 en un codon-stop⁽¹⁰²⁾. Depuis 1995 bien d'autres mutations ont été associées à un phénotype non sécréteur et certaines semblent spécifiques d'une ethnie^(6, 103).

1.5.2 Polymorphisme génétique

Plusieurs méthodes de typage moléculaire du gène codant la glycosyltransférase ABO ont été développées. Ces méthodes ciblent les exons 6 et 7, qui codent pour le domaine catalytique et comprennent la majorité de la séquence codante, et se

concentrent sur les polymorphismes mono-nucléotidiques au sein de ces deux exons (104, 105).

Après la description initiale des principaux allèles ABO par Yamamoto⁽⁹⁰⁾, de nombreux travaux ont montré que l'étude du polymorphisme génétique ABO s'avère bien plus complexe que le polymorphisme sérologique. La détermination des bases moléculaires de ce polymorphisme repose sur un large éventail de techniques telles que le polymorphisme de longueur de fragment de restriction (RFLP), amorce spécifique à la séquence (SSP) PCR, polymorphisme de conformation monobrin (SSCP), hybridation de microréseaux d'ADN ou encore la (PCR-SBT) pour « Sequencing-based Typing » (106-110).

L'introduction actuelle de données concernant l'intron 6 ou les autres exons complique encore ce polymorphisme. La description progressive de variants des allèles *A*, *B* ou *O* a entraîné des problèmes de nomenclature rendant difficile la comparaison des allèles, dont la plupart dérivent des allèles fréquents différant par une ou deux mutations, les autres résultent de phénomènes de recombinaisons (crossing-over ou conversions géniques) (111-113).

La base de données BGMUT « Blood Group Antigen Gene Mutationdatabase » Compilée par Olga O. Blumenfeld⁽¹¹⁴⁾, documente les variants des gènes qui codent les antigènes pour les groupes sanguins humains. Elle fait partie de la ressource (dbRBC) du « National Center for Biotechnology Information (NCBI) » des États-Unis. La base de données est accessible sur le web ^I, en Mars 2014, elle énumère 1545 allèles de 44 gènes de 34 systèmes de groupes sanguins (115, 116).

En Novembre 2017, sur les 1865 allèles des systèmes de groupes sanguins, 414 allèles ABO ont été signalés dans cette base de données ^{II}.

Outre l'information allélique, la ressource BGMUT présente également des informations complètes et actuelles sur les systèmes de groupe sanguin.

I. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gv/rbc/xslcgi.fcgi?cmd=bgmut>

II. <https://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/pub/mhc/rbc/Final Archive>

1.5.2.1 Bases moléculaires associées aux phénotypes A₁, A₂ et A faibles

Plusieurs variants de l'allèle *A101* considéré comme allèle de référence ont été identifiés.

L'**allèle A102** (*ABO*A1.02*), présente par rapport à l'allèle *A101* (*ABO*A1.01*) une mutation non synonyme C467T (Pro156Leu)⁽⁹³⁾, sans modification de l'activité enzymatique. Il est le plus fréquent des allèles A chez les Asiatiques, (82.6% des allèles A chez les Japonais)^(117, 118), alors qu'il n'est pas détecté dans d'autres populations comme les Suédois ou les Allemands, ou de façon moins fréquente chez les européens de la région de London. Ce qui suggère une origine orientale de cette mutation^(118, 119).

L'**allèle A103** présente par rapport à l'allèle *A102* une mutation synonyme supplémentaire la C564T⁽⁹³⁾. Quant à l'**allèle A104**, il diffère de l'allèle *A101* par la mutation synonyme A297G⁽⁹³⁾.

L'**allèle A201**, dont les différences avec l'allèle *A101* ont été citées précédemment, est très fréquent dans les populations caucasiennes et beaucoup plus rare chez les asiatiques⁽⁶⁾. La mutation non synonyme C1054T (Arg352Trp) distingue l'**allèle A202** de l'allèle *A101* et l'**allèle A203** par une mutation non synonyme C1054G (Arg352Gly)⁽¹²⁰⁾.

L'**allèle A204**, qui s'exprime comme un A₁ lorsqu'il est associé à un allèle *O*, aboutit à un phénotype A₂B lorsqu'il est associé à un allèle *B*. Cet allèle présente 6 différences par rapport à l'allèle *A101*⁽⁶⁴⁾.

Plusieurs allèles sont associés au phénotype A₃. L'**allèle ABO*A301** est caractérisé par la mutation G871A de l'allèle *A1*(Asp291Asn)⁽¹²¹⁾. Quant au **phénotype A_x**, le premier allèle décrit par Yamamoto diffère de l'allèle de référence *A101* par une seule mutation non synonyme T646A (Phe216Ile)⁽¹²²⁾. Alors que le premier **allèle A_{el}** a été décrit en 1995 par Olsson⁽¹²³⁾. Depuis plusieurs autres allèles associés à ces phénotypes (A_x et A_{el}) ont été révélés^(110, 124).

1.5.2.2 Bases moléculaires associées aux phénotypes B et B faibles

Plusieurs allèles codent une glycosyltransférase B normale ont été décrits en plus de l'allèle de référence *ABO*B101*.

Les allèles *B102* et *B103* diffèrent chacun de l'allèle *B101* par les mutations synonymes A930G et T657C respectivement, et qui ne modifient pas la séquence protéique de la glycosyltransférase B⁽⁹³⁾.

A ce jour plusieurs allèles *B3* ont été décrits, l'allèle *B301* présente une mutation ponctuelle C1054T de l'exon 7 (Arg352Trp) par rapport à l'allèle *B101*⁽¹²¹⁾. Le premier allèle *B_X* a été décrit chez un individu japonais en 1996 par Ogasawara, *ABO*Bx01* ou *ABO*B104* qui présente la mutation non synonyme G871A (Asp291Asn) comparé à l'allèle *B101*⁽¹²⁰⁾. Depuis plusieurs autres allèles *B_X* ont été décrits dans la population chinoise présentant tous une seule mutation non synonyme de l'exon 7^(6, 124, 125).

Deux allèles anormaux différents ont été retrouvés chez deux individus ayant des globules rouges **B_{el}**. **B_{el}01** ou **B105** et **B_{el}02** ou **B106**, Chacun différait de l'allèle *B* normal par un seul nucléotide : 641T>G (Met214arg), et 669G>T Glu223asp, respectivement⁽¹²⁰⁾.

1.5.2.3 Bases moléculaires associées aux phénotypes Cis AB et B(A)

Il y a deux explications possibles au phénomène Cis-AB. L'un est représenté par un crossing-over, ce qui donne des gènes *A* et *B* adjacents et vraisemblablement des produits géniques distincts (enzymes transférases). L'autre implique la mutation d'un gène *A* ou *B* à un gène produisant une enzyme capable de transférer des quantités significatives de N-acétylgalactosamine et de galactose au H substrat accepteur^(15, 126, 127).

L'allèle *Cis-AB01* qui correspond à un allèle *A101* avec deux mutations, C467T (Pro156Leu) (mutation qui correspond à l'allèle *A102*), et C803G (Gly268Ala) qui représente l'un des résidus, qui permet de distinguer la GTA de la GTB, modifiant ainsi la spécificité de l'enzyme vers une enzyme Cis-AB^(10, 128). Cet allèle a été mis en

évidence pour la première fois chez la population Japonaise ou l'allèle *A102* est très fréquent⁽¹²⁹⁾. Yazer et al. ont montré par l'étude de la cinétique de l'enzyme CisABO1 chez 16 sujets coréens, une activité moyenne de type GTA de l'ordre de 29% par rapport à l'activité de l'enzyme normale A, et une activité enzymatique de type GTB de l'ordre de 27% par rapport à l'activité de l'enzyme normale B⁽¹³⁰⁾.

L'allèle *Cis-AB02* mis en évidence initialement chez un Vietnamien, correspond à un allèle *B* avec une mutation A796C (Met266Leu), qui représente aussi l'un des aa critiques qui différencient la GTA de la GTB⁽¹³¹⁾.

Plusieurs allèles *cis-AB* ont été rapportés, se trouvant dans divers groupes ethniques, essentiellement chez les Asiatiques et particulièrement les Coréens, ces allèles contenant un seul nucléotide muté responsable de la substitution d'un seul acide aminé, pour la plupart à des positions 266 ou 268, deux résidus impliqués dans la distinction entre la GTA et la GTB⁽¹³²⁻¹³⁴⁾.

L'allèle *B(A)01*, qui donne aussi une enzyme ayant une double activité, a été rapporté pour la première fois par Yamamoto en 1993, caractérisé par deux mutations ponctuelles par rapport à l'allèle *B101*, une synonyme T657C et l'autre non synonyme A703G remplaçant la sérine 235 par une glycine⁽¹³⁵⁾. L'allèle *B(A)02* quant à lui diffère de l'allèle *B101* par la substitution C700G avec un remplacement de la Proline 234 par une Alanine⁽¹³⁶⁾.

1.5.2.4 Bases moléculaires associées au phénotype O (nul)

En plus de la délétion du nucléotide 261 qui différencie l'allèle *O01* de l'allèle *A101*, une mutation (G784A) dans l'intron 6 a été mise en évidence dans la majorité des cas⁽⁶⁾. Un variant a été décrit en 1990 par Yamamoto, c'est l'allèle *O02* ou *O1v*, qui diffère de l'allèle *O01* par au moins neuf autres mutations ponctuelles dont quatre synonymes (C189T, A297G, G681A, C771T) et cinq non synonymes (G106T = > Val36Phe, G188A = > Arg63His, C220T = > Pro74Ser, T646A = > Arg176Gly, et G829A = > Val277Met)^(137, 138).

Un deuxième type d'allèle *O* dépourvu de la délétion 261 a été décrit par

Yamamoto en 1993, O^2 ou $O03$, qui présente par rapport à l'allèle $A101$, cinq substitutions nucléotidiques dont trois au niveau des exons 6 et 7 (A297G, C526G, G802A) entraînant le changement de deux aa en position 176 (glycine à la place d'une arginine) et 268 (arginine à la place d'une glycine) . La disparition de la glycine en 268 semble être responsable de la perte de l'activité glycosyltransférase^(10, 139).

Un troisième type d'allèle O rare a été rapporté dans la population caucasienne par Olsson en 1993, $O3$ ou $O08$, présentant en plus des mutations caractéristiques de l'allèle $A201$ (C467T et C1060) une insertion d'un G entre les nucléotides 798 et 804 caractéristique du variant A^{el} ⁽¹⁴⁰⁾. Depuis, plusieurs autres types d'allèles O plus rare ont été rapportés.

- Voir annexe A Nomenclature des allèles du groupe sanguin ABO (ISBT 001) v1. 1 171023.

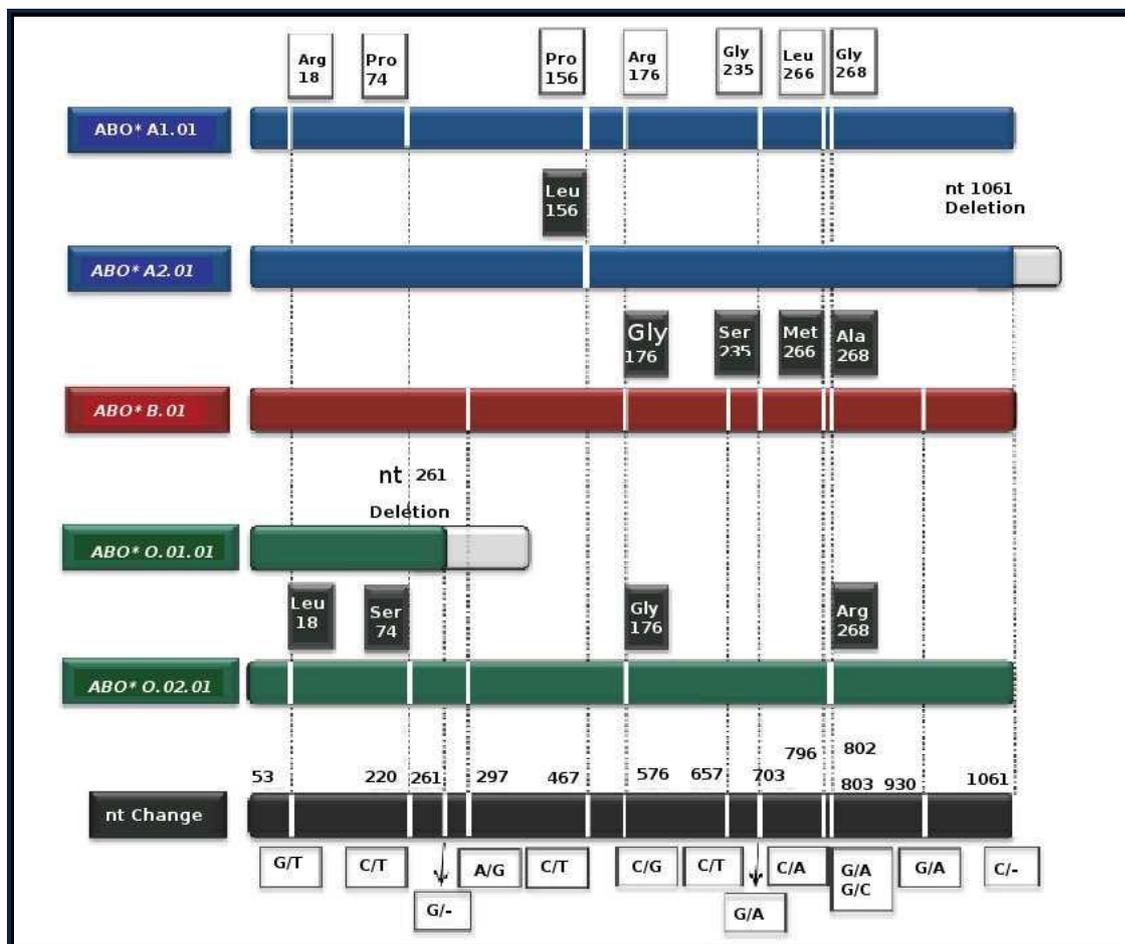


Figure 1.7 Diagramme représentant les cinq allèles ABO communs ⁽¹⁴¹⁾.

02 : Applications du système ABO en pratique médicale

2.1 La Transfusion sanguine

Le polymorphisme génétique allélique et le caractère immunogène des antigènes de groupes sanguins, constituent un obstacle à la transfusion incompatible. Le respect de la compatibilité dans le système ABO est primordial en matière de transfusion sanguine qui constitue une implication majeure de ce système (figure 2.1), en raison de la présence constante dans le sérum du receveur des anticorps correspondant aux antigènes absents, donc, si l'on transfuse des globules rouges qui apportent l'antigène correspondant à cet anticorps, il y'a conflit de gravité variable, allant de la persistance des besoins transfusionnels, à l'accident hémolytique sévère qui met en jeu le pronostic vital du malade^(142, 143).

Le plus souvent, il s'agit de la destruction des globules rouges du donneur, suite à une erreur ABO, liée à une confusion de malade ou de poche de sang, à une erreur d'identification, d'étiquetage ou de groupage. Parfois on assiste à la destruction des globules rouges du receveur, par les hémolysines anti-A et anti-B présentes chez les donneurs O dangereux. Plus rarement, l'accident résulte de la présence d'un anticorps irrégulier hémolysant qui aurait dû être mis en évidence par une RAI pré-transfusionnelle ⁽¹⁴⁴⁾.

Ce conflit Antigène/Anticorps induit soit une hémolyse intra vasculaire par activation du complément jusqu'au complexe d'attaque membranaire, soit une hémolyse intra tissulaire par séquestration splénique⁽¹⁴³⁾.

Vu le caractère ubiquitaire des antigènes du système ABO, qui sont faiblement exprimés sur les plaquettes. La règle générale est de transfuser des concentrés plaquettaires (CP) isogroupe chaque fois que cela est possible. Le cas échéant, et pour un meilleur rendement transfusionnel, il est préférable de respecter la compatibilité antigénique^(145, 146).

La compatibilité sérologique doit être respectée dans le cadre de la transfusion de plasmas frais congelés (PFC), qui apporte essentiellement des anticorps (figure 2.2). Même en situation d'incompatibilité ABO, l'apport passif des anticorps anti-A et anti-B naturels reste bien toléré, puisque leurs cibles seront multiples, préservant ainsi les hématies du receveur, si les PFC sont dépourvus des anticorps immuns et que le volume transfusé reste inférieur à 60mL/Kg de poids du receveur⁽¹⁴⁷⁾.

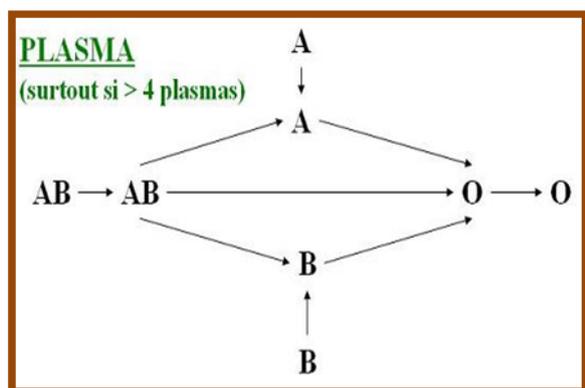


Figure 2.1 Compatibilité dans la transfusion de Plasma⁽¹⁴⁸⁾.

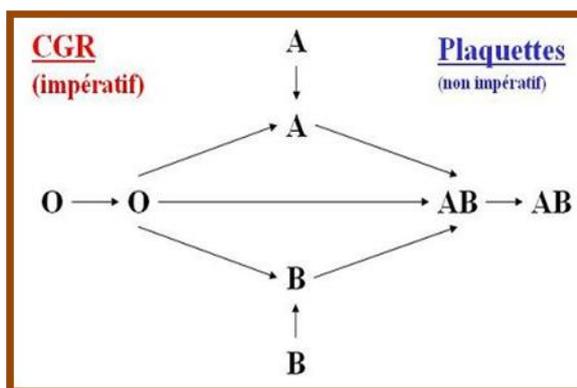


Figure 2.2 Compatibilité dans la transfusion des globules rouges⁽¹⁴⁸⁾.

2.2 Incompatibilité fœto-maternelle

2.2.1 MHNN

Les anticorps du système ABO sont fréquemment à l'origine des maladies hémolytiques néonatales (MHNN). Surtout si la mère est de groupe O⁽¹⁴⁹⁾, ceci est dû au fait que les sujets de groupe O suite à une exposition à des antigènes A et/ou B par un contact avec des bactéries ou à une vaccination, produisent de grandes quantités d'anticorps de nature IgG que les sujets de groupes A ou B⁽⁶⁾.

Quoique que les MHNN par incompatibilité ABO sont les plus fréquentes (1/3000 naissance), l'hémolyse est relativement modérée, et nécessite rarement une prise en charge thérapeutique, cela semble lié à la neutralisation partielle des anticorps par les cellules endothéliales vasculaires et les tissus de l'enfant, à la fixation imparfaite des anticorps Anti-A et Anti-B sur les hématies en raison de la faible expression des Ag A(ou B) au niveau des hématies fœtales, et la faible efficacité hémolytique de ces anticorps^(150, 151).

2.2.2 Thrombopénie néonatale

Une étude publiée en 2012 par Ahlen et al⁽¹⁵²⁾. réalisée en Norvège (N=100 448), a établi une relation entre le génotype ABO et la sévérité des thrombopénies néonatales, elle a observé que les femmes immunisées avec le groupe sanguin O présentaient un risque plus faible d'avoir un enfant avec un NAIT sévère que les femmes du groupe sanguin A, 20 % des femmes du groupe sanguin O ont donné naissance à des enfants avec un NAIT sévère, comparativement à 47 % des mères du groupe sanguin A (risque relatif de 0,43; IC à 95 % de 0,25 à 0,75)⁽¹⁵²⁾.

La région chromosomique 9q34, où se situe le gène *ABO*, contient plusieurs loci codant les gènes régulant la réponse immunitaire, et cette observation peut être due à des propriétés génétiques liées au génotype ABO maternel qui influencent la réponse immunitaire et cause une thrombocytopénie sévère chez les nouveau-nés de mères immunisées contre l'HPA-1a⁽¹⁵²⁾.

2.3 Greffe et Transplantation

Les antigènes du système ABO sont dénommés histo-antigènes, du fait de leur distribution ubiquitaire, et leur présence sur l'organe ou tissu greffé doit être prise en compte lors des transplantations et greffes allo-géniques. En effet, les antigènes présents sur les tissus transplantés peuvent être la cible des anticorps anti-A et/ou anti-B du receveur entraînant ainsi le rejet ⁽¹⁵³⁾.

Dans le cas de greffe de cellules souches hématopoïétiques, l'incompatibilité ABO ne constitue pas une barrière importante, bien que si cette incompatibilité est majeure, elle peut entraîner une réaction du greffon contre l'hôte ou une diminution de la survie du greffon ⁽¹⁵⁴⁻¹⁵⁶⁾.

Dans les transplantations rénales, de foie ou de cœur, l'incompatibilité ABO est fondamentale pour le pronostic, et à l'origine de rejets. Elle n'a qu'un rôle mineur pour les greffes de cornée, de peau et d'os^(81, 157).

Cependant, des stratégies thérapeutiques ont été mises en place par certains pays permettant la transplantation d'organes dans un contexte d'incompatibilité ABO.

Dans certaines situations d'urgence avec absence de donneurs ABO compatibles, les échanges plasmatiques et l'utilisation d'immunoglobulines intraveineuses et du Rituximab (anti-CD20), visant à réduire le taux des Ac anti-ABO ⁽¹⁵⁷⁻¹⁵⁹⁾ sont réalisées.

Néanmoins, des greffes ABO incompatibles de rein, de foie et même du cœur étaient tolérées, malgré la présence des anticorps anti-A et anti-B dans le sérum du receveur, du fait d'un phénomène d'accommodation, qui correspond à « une résistance acquise d'un organe à des dommages à médiation immunitaire »⁽¹⁶⁰⁾.

2.4 Système ABO et Maladies

De nombreuses corrélations entre certains polymorphismes du système ABO et maladies ont été mise en évidence, ces polymorphismes peuvent conférer une susceptibilité ou une résistance à certaines pathologies, Ces dernières peuvent même être la cause ou la conséquence de la modification des groupes sanguins ABO. Ces

interactions sont impliquées dans le maintien du polymorphisme du système ABO et dans sa répartition dans le monde^(6, 66).

2.4.1 Groupes sanguins ABO et maladies infectieuses

Des liens statistiques entre les groupes sanguins érythrocytaires en particulier ABH et Lewis, et maladies infectieuses ont été mis en évidence par plusieurs études épidémiologiques.

La présence des anticorps anti-A et anti-B naturel, peut expliquer ces associations, qui en réagissant avec des antigènes carbohydrates exprimés par l'agent pathogène, permettent de prévenir ou de diminuer la sévérité de l'infection. D'autre part, l'expression des antigènes ABH par les cellules épithéliales, peut servir de récepteur à ces agents pathogènes ou à leurs toxines^(161, 162).

2.4.1.1 COVID-19 (SARS-CoV-2)

Une étude a été menée afin d'établir la relation entre les groupes sanguins ABO et la sensibilité au COVID-19 chez 2 173 patients confirmé par le test SARS-Cov-2 de trois hôpitaux de Wuhan et Shenzhen en Chine, contre 3694 sujets normaux⁽¹⁶³⁾.

Cette étude a démontré que les personnes du groupe sanguin A présentent un risque plus élevé d'infection (odds ratio-OR, 1.20; 95% intervalle de confiance-CI 1.02~1.43, P = 0.02) par rapport aux autres groupes sanguins, et nécessitent des mesures de protections plus renforcées, et les sujets de ce groupe développent les formes les plus sévères et leurs prise en charge doit être plus rigoureuse, alors que les sujets de groupe O présentent un risque plus faible d'infection par le SRAS-Cov-2 (OR, 0.67; 95% CI 0.60~0.75, p= 0.001) par rapport aux autres groupes, et de gravité moindre⁽¹⁶³⁾.

Ces constatations ont été déjà mentionnées dans une étude publiée en 2008 sur la corrélation entre le polymorphisme ABO et l'infection par les coronavirus (SARS-Cov), ils ont travaillé sur l'inhibition de l'interaction entre la protéine SARS-Cov Spike et son récepteur cellulaire par des anticorps ABO. Cette étude a démontré que les anticorps ABO assurent une protection contre ce virus en bloquant l'interaction

entre le virus et son récepteur, et que le polymorphisme ABO pourrait contribuer à réduire considérablement la transmission du virus, affectant à la fois le nombre d'individus infectés et la cinétique de l'épidémie⁽¹⁶¹⁾.

2.4.1.2 Paludisme

Le paludisme est connu pour être l'un des facteurs importants impliqués dans la distribution géographique des antigènes ABO dans le monde, et une association entre la sévérité de la maladie et groupe ABO a été démontrée par plusieurs études.

Ainsi l'allèle *O* est associé à des formes bénignes de la maladie et confère un avantage sélectif en réduisant le risque de survenu des formes sévères et la létalité de l'infection essentiellement chez l'enfant. Ceci est lié au fait que les sucres immuno-dominants A et B jouent le rôle de récepteurs et permettent l'adhésion des hématies infectées aux globules rouges non parasités formant des rosettes, et même à l'endothélium vasculaire, provoquant des lésions tissulaires multiples. Ce phénomène de rosettes implique une protéine PFEMP1 (Plasmodium falciparum erythrocyte membranaire protein 1) qui se lie préférentiellement à l'antigène A et à moindre degré à l'antigène B, cette protéine exprimée à la surface des hématies infectées est sécrétée par le parasite. Cela explique la prédominance de l'allèle *O* dans les régions où le paludisme est endémique ⁽¹⁶⁴⁻¹⁶⁶⁾.

Une autre étude réalisée en 2014, a suggérée que le paludisme est beaucoup plus associé au statut sécréteur des substances ABH qu'aux groupes sanguins ABO, ainsi les sujets sécréteurs ont moins de risque de développer l'infection que les sujets non sécréteurs, et la pathologie était significativement moins fréquente chez les sujets *O* sécréteurs que les sujets sécréteurs des autres groupes sanguins ⁽¹⁶⁷⁾.

2.4.1.3 Autres infections

Plusieurs études ont établi une relation entre le risque d'infection à *Helicobacter pylori* et les groupes sanguins ABO. Il a été suggéré le rôle de La substance H et Le(2) dans l'adhésion de la bactérie sur la muqueuse gastrique, et cela explique le fait que les

sujets de groupe O sécréteurs sont plus susceptibles de développer un ulcère gastrique^(168, 169).

Les norovirus (virus de type Norwalk) sont les principaux agents étiologiques de gastro-entérites non bactériennes épidémique chez l'homme. Pour établir une infection, les antigènes des groupes sanguins sont avérés des facteurs de liaison indispensables, et c'est l'action combinée des gènes *ABO*, *FUT2(Se)* et *FUT3(Le)*, qui aboutit à la synthèse des glycanes au niveau des cellules digestives en particulier la substance H, permettant la fixation de ce virus. Ainsi Une association étroite a été établie entre le phénotype sécréteur et la sensibilité aux infections à norovirus, et les sujets de phénotype O sécréteur (Se) sont associés à une sensibilité aux infections à norovirus⁽¹⁷⁰⁻¹⁷³⁾.

Plusieurs autres maladies infectieuses ont montré une susceptibilité et une sévérité variables en fonction du groupe ABO. Ainsi, le groupe sanguin O peut avoir un rôle protecteur contre l'hépatite B, C, au VIH, et à la syphilis⁽¹⁷⁴⁾. Alors qu'il confère une sensibilité aux formes sévères de choléra^(175, 176), et aux infections gastro-intestinales graves liées à *Escherichia coli* O157⁽¹⁷⁷⁾.

2.4.2 Groupes sanguins ABO et cancer

Le lien entre les antigènes de groupes sanguins et le cancer a été établi pour la première fois en 1953 par Aird et al : qui ont constaté l'augmentation de la fréquence de l'atteinte du cancer gastrique en Angleterre et en Scotland chez les sujets du groupe A, et il a mis le point sur le rôle protecteur du groupe O contre ce type de cancer⁽¹⁷⁸⁾. Dans une méta-analyse réalisée par Wang et al, (2012), il a constaté que les sujets de groupe sanguin A étaient plus susceptibles au cancer gastrique par rapport aux sujets non A (Odds ratio [OR] = 1,11; IC à 95%: 1,07–1,15) et que le groupe sanguin O confère une résistance à ce cancer par rapport aux groupes sanguins non O (OR: 0,91; IC à 95%: 0,89-0,94)⁽¹⁷⁹⁾.

La relation entre le risque de développer un cancer du pancréas et le groupe sanguin ABO a fait l'objet de plusieurs études. Deux grandes études indépendantes,

prospective de cohorte, ont été suivies en 2009, sur 107503 professionnels de santé aux Etats-Unis, il s'est avéré que les sujets de groupe A, AB et B étaient plus susceptibles de développer la maladie⁽¹⁸⁰⁾. En confirmant ces observations, le même auteur a constaté l'année suivante un risque accru chez les sujets avec des allèles A_1 mais pas A_2 , le risque était similaire pour les variantes $O01$ et $O02$, et le statut sécréteur n'a pas d'effet sur la survenue du cancer du pancréas. Et à partir de ces données, il a mis l'hypothèse selon laquelle la survenue du cancer du pancréas est influencé par l'activité de la glycosyltransférase ABO plutôt que l'action d'autres gènes voisins sur le chromosome 9q34⁽¹⁸¹⁾.

Les conclusions pour les autres cancers sont moins claires, certaines études suggèrent des associations entre les groupes sanguins non O et la susceptibilité au cancer, comme le cas du lymphome de Burkitt endémique⁽¹⁸²⁾, tandis que d'autres n'ont trouvé aucun lien⁽⁹²⁾.

Une altération de l'expression des antigènes ABO par les tissus peut être observée lors du développement d'un processus malin, et cette altération est souvent fortement associée à un bon ou mauvais pronostic, et des données récentes indiquent cependant qu'elles jouent un rôle biologique au cours de la progression tumorale. Ainsi la perte d'antigènes A et B augmente la motilité cellulaire, tandis que la présence d'épitopes H augmente la résistance à l'apoptose par des mécanismes toujours mal connus⁽¹⁸³⁾.

Lors des hémopathies malignes la diminution de l'expression des antigènes ABO affecte uniquement le clone malin, et correspond à une perte de l'expression allélique ABO qui est due à une importante méthylation de sa région promotrice⁽¹⁸⁴⁾.

En revanche, et moins fréquemment, certaines tumeurs solides sont associées à une surexpression ou même une néo-expression des antigènes ABH, parfois incompatible avec le groupe sanguin du patient^(40, 183).

2.4.3 Antigènes ABH, fertilité et avortement à répétition

En dehors de l'incompatibilité foëto-maternelle ABO, une association entre le groupe sanguin ABO et l'avortement à répétition a été suggéré par plusieurs études, et une

nette augmentation des avortements à répétition a été rapportée chez les femmes de groupe sanguin A avec un mari de groupe sanguin B ⁽¹⁸⁵⁾.

Bottini et al. ont établi le lien entre le phénotype de l'adénosine désaminase (ADA2) et les avortements à répétition qui est médié par son interaction avec le groupe sanguin ABO⁽¹⁸⁶⁾. Dans un modèle murin, une association entre la diminution de la fertilité et l'absence d'un gène *FUT1* fonctionnel a été proposée par Sidhu et al. lié à la stimulation dans l'épithélium de l'endomètre de la transcription du gène *FUT1* par les œstrogènes ⁽¹⁸⁷⁾.

2.4.4 Groupe sanguin ABO et troubles de la coagulation

L'association entre le système ABO et les troubles de la coagulation a été établie par plusieurs études, les sujets du groupe non O, du fait qu'ils présentent des concentrations plus élevées en facteurs Von willebrand et en FVIII sont plus prédisposés à développer des accidents thromboemboliques ⁽¹⁸⁸⁻¹⁹⁰⁾. Alors que les sujets de groupes O présentent plus de risques de saignement par rapport aux sujets non O. Ce risque a été évalué pour les hémorragies gastroduodénales⁽¹⁹¹⁾. Ces constatations sont appuyées par la diminution du risque thrombotique chez les individus de groupe A₂ par rapport aux groupes les moins riches en substance H (A₁, B, AB), qui présentent des taux des facteurs de la coagulation plus élevés⁽¹⁹²⁾.

Gallinaro et al. ont rapporté que le taux bas des facteurs de la coagulation chez les sujets de groupes O est lié essentiellement à sa demi-vie particulièrement courte chez ces individus, et que cette demi-vie est directement influencée par le niveau de la clearance du facteur de la coagulation qui est variable en fonction du groupe sanguin, et plus importante chez les sujets de groupe O, cette étude a été réalisée sur le facteur Von Willebrand⁽¹⁹³⁾.

MORELLI et al. ont suggéré que les groupes sanguins non O sont associés à une augmentation du risque de thrombose chez les sujets porteurs de la mutation du facteur V Leiden, par leurs associations aux taux plus élevés de FVIII, en effet les sujets porteurs d'allèles A₁ et B ont un risque deux fois plus élevé de première thrombose

veineuse profonde, et le génotype non *OO* influencent fortement le risque de thrombose chez les porteurs de la mutation Leiden du FV, ainsi la connaissance du génotype ABO contribue à un meilleur suivi des malades thrombophiliques essentiellement porteurs de la mutation Leiden du FV ⁽¹⁹⁴⁾.

Sachant que les niveaux élevés du FVIII sont aussi associés à une réduction de la sensibilité à la PCA, non causée par la mutation Leiden du facteur V⁽¹⁹⁵⁾, donc chez les porteurs de la mutation Leiden du FV, ce petit effet supplémentaire sur la sensibilité à la PCA pourrait augmenter d'une façon exponentielle le risque aux thromboses⁽¹⁹⁴⁾.

De plus, il a été établi par Varadi et al. que le facteur V potentialise la fonction de cofacteur de la protéine S dans la médiation de l'inactivation du facteur VIIIa par la PCA⁽¹⁹⁶⁾.

Enfin, c'est cette association d'une mauvaise inactivation du FVIIIa, avec des niveaux de FVIII élevés chez les individus de groupes sanguins non O, pouvant entraîner une diminution plus exprimée de la sensibilité à la PCA, qui augmente considérablement le risque aux thromboses chez les sujets non O avec la mutation Leiden du FV ⁽¹⁹⁴⁾.

2.5 Application du système ABO en médecine légale

Depuis l'avènement des empreintes génétiques et leurs utilisations dans les affaires criminelles, « viols, meurtres...etc », la principale application du système ABO en médecine légale c'est l'exclusion de paternité. Bugert et al, ont réalisé une étude comparative du pouvoir d'exclusion de paternité suite à l'utilisation du génotype ABO par rapport à l'utilisation du phénotype ABO. Sur les 95 cas étudiés, le génotype ABO était significativement plus concluant que le phénotype, et a permis l'exclusion de paternité dans 34.5% des cas, contrairement au phénotype qui n'a exclu le père présumé que dans 20% des cas⁽¹⁹⁷⁾.

2.6 Polymorphisme ABO et étude des populations

D'une population à une autre, la répartition des allèles ABO varie significativement, et c'est l'anthropologie biologique qui permet de comprendre cette diversité génétique, et c'est le cumul dans le temps des interactions avec l'environnement naturel et culturel, des migrations et des contacts entre populations, qui détermine cette répartition géographique mondiale du polymorphisme génétique ABO ⁽¹⁹⁸⁾.

Cette diversité génétique dans le polymorphisme ABO observée entre les populations est en parfaite corrélation avec les distances géographiques, donc plus ces populations sont loin géographiquement, plus elles sont différentes génétiquement ⁽¹⁹⁹⁻²⁰¹⁾.

Les études permettant de déterminer la répartition mondiale des allèles du groupe sanguin ABO sont multiples, et le rôle de certaines maladies infectieuses et des grandes épidémies a été largement impliqué dans cette distribution géographique ⁽²⁰²⁾.

- *Voir Annexes B : Cartes de répartition mondiale des différents allèles ABO* ⁽¹⁹⁸⁾.

Pour l'allèle *O*, les fréquences les plus faibles ont été enregistrées en Asie, alors qu'en Amérique du sud, chez les Amérindiens c'est le seul allèle qui existe ou 100% de cette population est du groupe *O*. En Amérique du Nord, on enregistre aussi des fréquences élevées de l'allèle *O* où il coexiste avec l'allèle *A*, des fréquences élevées ont été aussi notées dans certaines parties de l'Australie, à l'ouest des Pyrénées, en Ecosse, en Irlande, et au Sud-ouest de l'Afrique ^(203, 204).

L'allèle *A* enregistre ses plus hautes fréquences en Europe centrale et du Nord, dans certaines régions de sud de l'Australie et chez les natifs de l'Amérique du Nord. Là où l'allèle *A* est présent l'allèle *A₁* est majoritaire ou même exclusif, sauf en Europe du Nord et en Afrique où l'allèle *A₂* coexiste ^(203, 205).

Quant à l'allèle *B*, il est quasi absent chez les Amérindiens et du continent australien en dehors de quelques exceptions, il est essentiellement fréquent en Inde du Nord et en Asie Centrale, il est moins présent en Egypte et en Afrique centrale. Un gradient croissant est observé en Europe de l'Ouest vers l'Est, à l'exception des populations Celtes, avec les fréquences les plus basses notées chez les Basques ^(203, 206).

03 : Méthodes d'étude du système ABO

Les méthodes permettant l'étude du système ABO sont multiples, elles associent des techniques immunologiques pour l'étude des antigènes et des anticorps, des techniques physicochimiques afin d'étudier les enzymes ABH, et des techniques de biologie moléculaire permettant l'étude des allèles ABO.

3.1 Méthodes Sérologiques

3.1.1 Hémagglutination directe

La réalisation du groupage sanguin ABO est basée sur les caractéristiques de ce groupe, à savoir la présence des antigènes A et/ou B à la surface des hématies et des anticorps naturelles au niveau de plasmas correspondants aux antigènes absents de la surface du globule rouge. De ce fait la détermination du groupe sanguin érythrocytaire ABO comporte deux épreuves complémentaires réalisées simultanément, et doivent être concordantes afin de valider la détermination.

Une épreuve globulaire de Beth Vincent, qui consiste à mettre en présence des globules rouges du sujet avec du sérum test anti-A, anti-B, anti-AB. Les agglutinations observées témoignent de la présence sur les hématies de l'un ou l'autre antigène, une épreuve sérique de Simonin, ou le plasma du sujet est testé en présence d'hématies-A et d'hématies-B de manière à vérifier la présence des anticorps naturels.

Le groupage ABO a bénéficié des progrès technologiques et la technique a été automatisée, et que l'analyse soit manuelle ou automatisée, la vérification de l'intégrité du processus analytique par des contrôles internes de qualité est obligatoire afin d'assurer la fiabilité des résultats ^(66, 207).

3.1.2 Fixation élution

Cette technique est réalisée afin de mettre en évidence un antigène ABO faible, ne pouvant être mis en évidence par la technique précédente d'agglutination, ou d'un anticorps au sein d'un mélange d'anticorps. Elle est basée sur la possibilité de rompre par des procédés physicochimiques (modification du pH ou solvants organiques) ou thermodynamiques (chaleur, congélation-décongélation) la réaction antigène-anticorps qui est réversible. Elle comporte deux étapes, la première consiste en la sensibilisation in vitro des hématies, suivie d'une élution permettant la récupération d'anticorps fixé, plusieurs techniques sont actuellement utilisées, et plusieurs kits sont de plus en plus commercialisés ⁽⁶⁶⁾.

3.1.3 Méthodes ELISA

Takada et al⁽²⁰⁸⁾ ont développé un test immuno-enzymatique compétitif indirect (ELISA) qui a permis de détecter les antigènes des groupes sanguins dans des échantillons humains, sang, salive, mais essentiellement des taches de sang, dont les antigènes du groupe sanguin ABO ont été extraits en utilisant une méthode impliquant une pré-incubation avec la protéinase K (PK), suivie d'un traitement thermique. Et pour la phase solide, les antigènes de groupe sanguin ABO conjugués au polyacrylamide ont été utilisés.

Les extraits (analytes) ont été combinés avec des anticorps monoclonaux anti-A ou -B, et ajoutés directement aux puits recouverts d'antigène. Les anti-A et -B complexés avec les antigènes de groupe sanguin ABO immobilisés, sont mis en évidence par une réaction colorimétrique à l'aide d'un anticorps IgM murin conjugué à la peroxydase⁽²⁰⁸⁾.

3.1.4 La Cytométrie en flux

La cytométrie en flux est une méthode utile pour l'étude des doubles populations (transfusions ou chimères), et dans l'analyse quantitative de l'expression des antigènes ABO, aussi utilisée pour l'identification des allèles ABO homozygotes et hétérozygotes. Elle permet la mise en évidence et la caractérisation des antigènes cellulaires même faiblement exprimés, et des anticorps sériques, et la révélation de la réaction antigène-anticorps se fait grâce à une antiglobuline couplée à un fluorochrome^(209, 210).

3.2 Méthodes de biologie moléculaire

Le développement des techniques de biologie moléculaire a permis d'accéder au matériel génétique et d'étudier directement le polymorphisme de l'ADN, ces méthodes sont très utiles en immunohématologie dans la recherche et la pratique clinique. La majorité des allèles ABO sont très rares ; certains résultent de mutations ponctuelles, tandis que d'autres sont formés par une recombinaison entre deux allèles ABO, et ces méthodes de biologie moléculaire ont permis à la fois de mettre en évidence le polymorphisme considérable du gène *ABO*, et de mieux connaître la répartition des fréquences des allèles ABO ^(211, 212).

1- Extraction de l'ADN

C'est une technique permettant d'isoler l'acide désoxyribonucléique (ADN) des cellules ou des tissus. L'ADN ainsi extrait peut ensuite être utilisé pour des recherches de biologie moléculaire, telles que le séquençage, la PCR ou le clonage ^(213, 214).

Plusieurs procédés ont été décrits, et de nombreux kits sont proposés par les industriels. L'ADN peut être isolé à partir du buffy coat ou du sang total^(213, 214).

2- Amplification du gène *ABO* par PCR

Qui consiste à amplifier d'une manière spécifique une séquence d'ADN en utilisant une polymérase thermorésistante, Elle a été développée par Kary Bank Mullis (prix Nobel de chimie en 1993), cette amplification permet d'obtenir de très grandes quantités de la séquence choisie. Chaque cycle comporte 03 étapes, une dénaturation afin de séparer les deux brins composant l'ADN, une hybridation des amorces aux extrémités de la séquence recherchée, puis une élongation grâce à l'action d'une polymérase (figure 3.1). Ces 03 étapes sont répétées plusieurs fois, pour que le nombre de copies d'ADN augmente d'une façon exponentielle ⁽²¹⁵⁾.

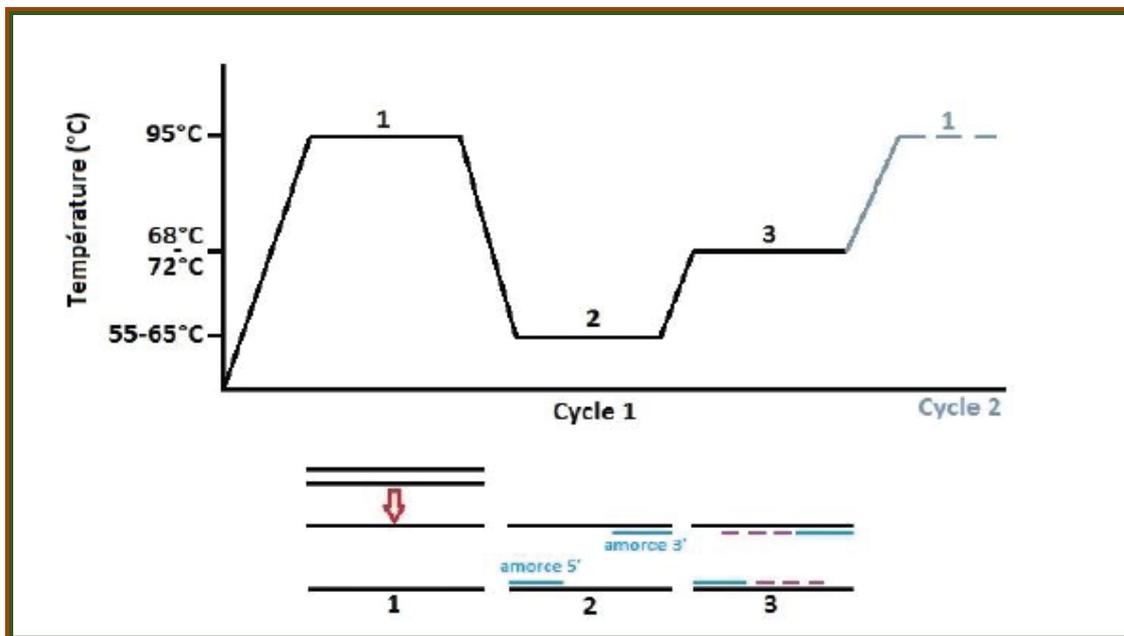


Figure 3.1 Représentation des différentes étapes d'une PCR ⁽²¹⁵⁾

Le polymorphisme des groupes sanguins est lié en général à la modification d'une seule base dans une séquence d'ADN « SNPs ». Ils sont mis en évidence par l'amplification génique ou PCR suivie ou non par le séquençage des acides nucléiques.

Plusieurs méthodes de typage moléculaire permettant de réaliser le génotypage ABO ont été développées ⁽²¹⁶⁾ :

- **La PCR-RFLP** : permet d'identifier le polymorphisme au niveau des sites de restriction des endonucléases au niveau des allèles. Ces enzymes ont la particularité de couper l'ADN partout où il détecte une séquence de nucléotides spécifiques, elles peuvent couper à plusieurs endroits le long de la séquence. La digestion de la séquence d'ADN générera plusieurs fragments de longueurs différentes qui pourront ensuite être séparés par électrophorèse sur gel d'agarose (figure 3.2). Cette méthode est largement utilisée pour l'étude des cinq allèles ABO communs (A1, A2, B, O1 et O2)^(112, 217), et malgré que c'est une technique de référence en matière de génotypage de SNP, une digestion partielle par l'enzyme de restriction des amplicons d'ADN peut empêcher une interprétation correcte du test ⁽²¹⁸⁾.

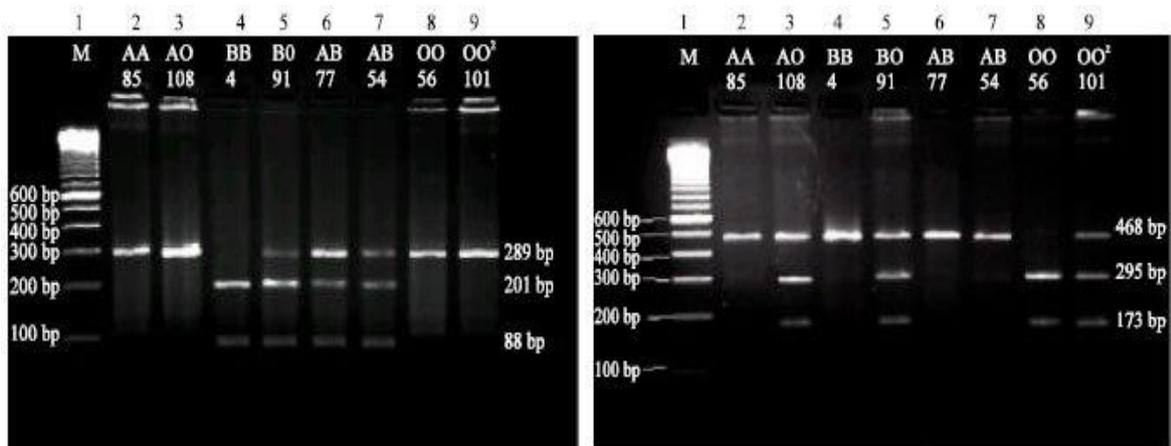


Figure 3.2 Profils électrophorétiques des produits obtenus par PCR RFLP ⁽²¹⁹⁾.

La PCR SSP : le terme SSP, «Séquence Spécifique Primer», décrit une variante de la PCR dans laquelle seule la séquence de l'amorce à l'extrémité 3' est responsable de la spécification de l'allèle à identifier. Pour une analyse PCR-SSP complète, plusieurs amplifications sont effectuées en parallèle. Les échantillons de PCR dans lesquels l'amorce se lie à sa cible spécifique ont un amplificat spécifique après PCR; tandis que les échantillons sans cette liaison spécifique d'amorce ne le font pas. En plus des amorces spécifiques dans chaque puits, il existe également des amorces pour l'amplification d'un contrôle interne (fragment du gène *HGH*). Si aucun produit

spécifique n'est présent après PCR, l'amplificat de ce contrôle interne doit être clairement détectable. L'évaluation du résultat est réalisée par électrophorèse sur gel d'agarose, dans un champ électrique, la séparation se fait en fonction de la taille. Les bandes sont visualisées sous lumière UV en présence du bromure d'éthidium et peuvent être photographiées pour documentation ^(218, 220, 221).

- **PCR-SSCP** : pour (single strand conformation polymorphism). Cette technique est basée sur l'analyse électrophorétique des produits PCR sous forme de fragments simple brin. Le principe est de comparer la mobilité de l'ADN dénaturé portant une mutation après amplification par PCR de la région que l'on veut étudier par rapport à celle d'un fragment de référence comportant une séquence normale, la modification de la structure secondaire de l'ADN monobrin suite à une mutation ponctuelle au sein d'une séquence entraîne des changements de migration électrophorétique sur gel de polyacrylamide. C'est une technique pratique, peu coûteuse, et sensible permet à la fois la détermination des allèles ABO communs et les nouvelles variantes génétiques^(118, 222, 223).

- **Allele-specific PCR**: consiste à amplifier des fragments d'ADN en utilisant des amorces spécifiques d'allèles. Ce qui implique une hybridation des amorces spécifiques en présence du polymorphisme étudié. C'est une méthode de génotypage ABO directe et rapide sans besoin d'extraction d'ADN à partir de taches de sang frais, de cheveux et de liquides corporels avant la PCR. Elle a été décrite par plusieurs auteurs. Lee HY et al ⁽²²⁴⁾. ont utilisé un jeu d'amorces multiplex spécifiques à un allèle pour la détection simultanée de trois sites de polymorphismes mononucléotidiques (SNP) (nucléotides 261, 526 et 803), et identifie les allèles A, B, O01 / O02, O03 et cis-AB01 en environ 70 minutes⁽²²⁴⁾. Steven L et al. (1998) l'ont utilisé pour le génotypage de 122 échantillons de sang périphérique dans la région de Milwaukee, Wisconsin, en utilisant une réaction PCR multiplex spécifique d'allèles qui grâce à plusieurs couples d'amorces spécifiques permet d'amplifier plusieurs segments d'ADN différents en même temps. Cette méthode de génotypage ABO est

utilisée efficacement dans la pratique médico- légale, qui offre les avantages du temps et du coût mais aussi de la réduction de la contamination lors de l'analyse d'ADN⁽²²⁵⁾.

- **PCR en temps réel** : technique de plus en plus utilisée, son principe est simple, pendant la phase exponentielle de la réaction de PCR, l'émission d'un reporter fluorescent est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés, cette fluorescence est visualisée et quantifiée d'une façon fiable. Automatisée dans son ensemble, utilise des systèmes clos et aucune manipulation post-amplification n'est nécessaire, ce qui lui confère l'avantage de réduire significativement les contaminations post-PCR⁽²²⁶⁾.

Muro et al. ont utilisé la PCR en temps réel pour le génotypage ABO au moyen d'amorces spécifiques à un allèle. Le procédé permet la détermination de six génotypes ABO majeurs en détectant trois polymorphismes nucléotidiques simples (SNP) aux positions 261, 796 et 803 dans le gène *ABO*, Cet auteur a suggéré que la méthode pourrait être utilisée pour un dépistage rapide et simple d'échantillons médico-légaux⁽²²⁷⁾.

3- Le séquençage

3.1 Méthode de Sanger

Depuis la description de la structure de l'ADN en 1955 jusqu'à nos jours⁽²⁸⁸⁾, le séquençage de l'ADN a révolutionné la biologie moléculaire, son objectif est de déterminer la succession linéaire des bases de l'ADN, la méthode de Sanger est la plus utilisée par les laboratoires de biologie moléculaire, après amplification par PCR, l'ADN double brin sera dénaturé, le brin matrice sera séquencé, pour cela l'ADN polymérase incorpore d'une façon aléatoire les nucléotides (dNTP) présents dans le milieu réactionnel afin de copier l'ADN matrice, l'incorporation d'un didésoxy-nucléotide (ddNTP) privés du groupement OH en position 3' interrompt définitivement la synthèse de l'ADN, chaque ddNTP est marqué par un fluorochrome différent (A vert, T rouge, C bleu et G jaune), une chaîne qui se termine par exemple par un G sera jaune. A la fin de la réaction on aura des fragments de différentes tailles (figure 3.3), et après migration sur gel d'acrylamide sous l'effet d'un courant électrique, on obtiendra

en fonction du dernier nucléotide incorporé une succession de bandes colorées permettant de connaître l'ordre des nucléotides, et par conséquent la séquence de l'ADN (figure 3.4), étape informatisée et assurée automatiquement par les détecteurs du séquenceur, et afin de confirmer la séquence il est toujours nécessaire d'utiliser une amorce sens et anti-sens, cette technique permet d'obtenir des séquences de longueur comprise entre 400 et 850pb⁽²²⁸⁾.

3.2 Le séquençage d'ADN à haut Débit

Le séquençage à haut débit ou next-generation sequencing (NGS) est une méthodologie moléculaire qui permet le séquençage rapide de milliers à des millions de molécules d'ADN ou d'ARN simultanément, en déterminant l'ordre unique et spécifique des bases des acides nucléiques. Cet outil permet donc le séquençage de plusieurs gènes et de plusieurs individus simultanément, en comparant la séquence du patient à une séquence de référence⁽¹⁰⁴⁾.

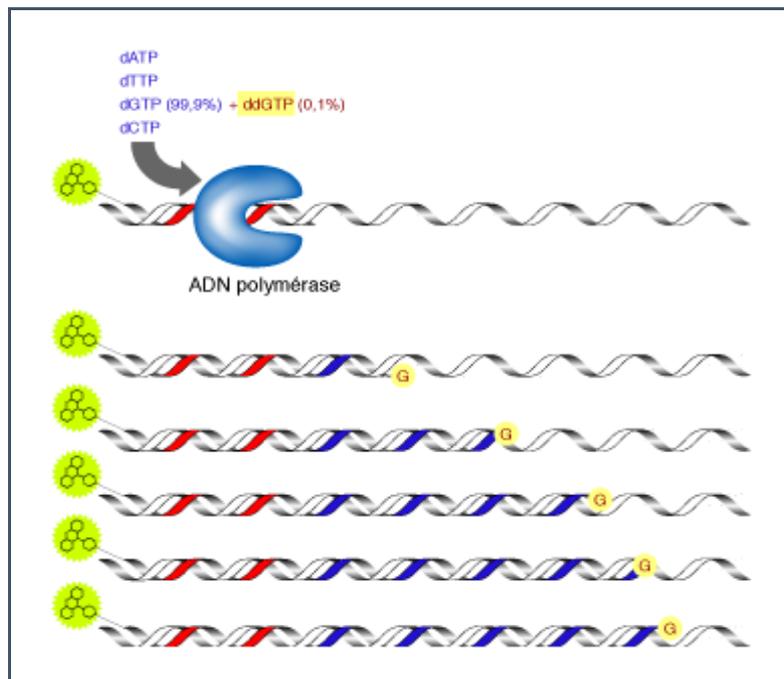


Figure 3.3 Principe du séquençage par la méthode de Sanger (ddGTP, en jaune) ⁽²²⁹⁾.

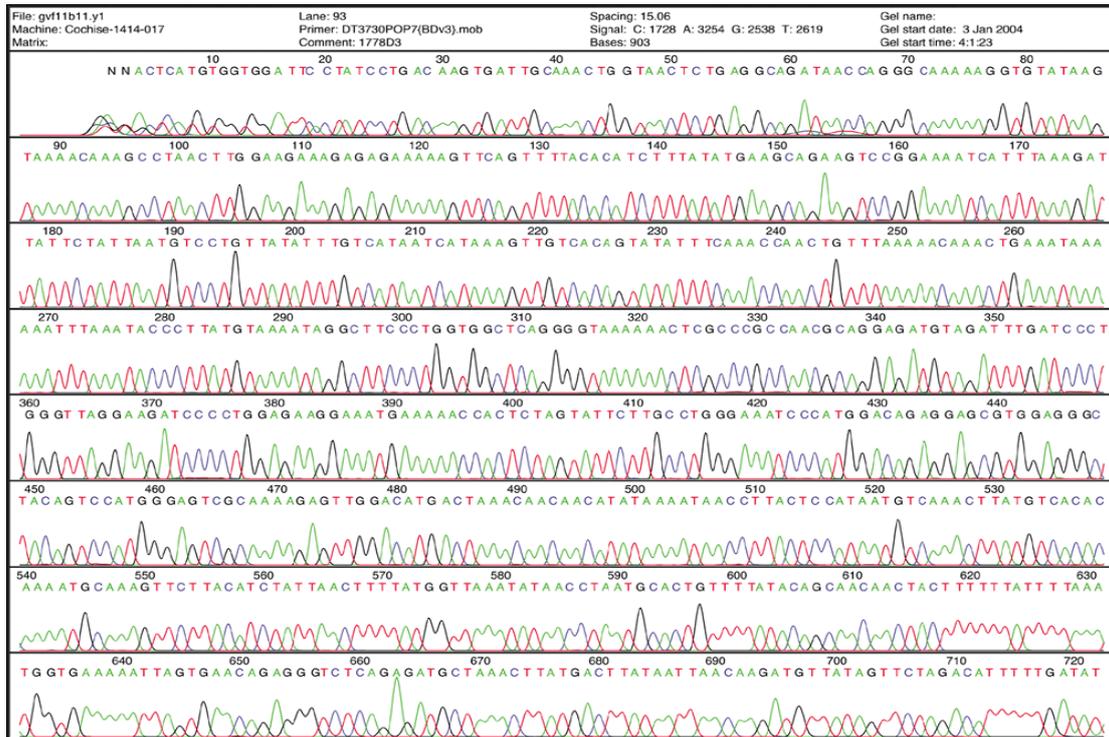


Figure 3.4 Résultat donné par un séquenceur automatique ⁽²³⁰⁾.

04 : Population et Méthodes

Il s'agit d'une étude descriptive transversale réalisée sur une période de Décembre 2018 jusqu'au mois de Mars 2021.

Notre travail comporte comme objectifs

Principal : déterminer les fréquences phénotypiques, géniques, et alléliques du système ABO, dans la population du Nord Est Algérien.

Secondaires :

- comparer le degré de diversité génétique de notre population d'étude par rapport à d'autres populations nationales et internationales.
- acquérir et maîtriser les techniques récentes de biologie moléculaire qui pourront être utilisées en routine dans les centres de transfusion sanguine.

4.1 Population étudiée

Il s'agit de la population Nord-Est Algérienne (Figure 4.1), géographiquement le Nord-Est Algérien est composé des wilayas suivantes :

Annaba, Batna, Bejaia, Borj Bou Arreridj, Constantine, El Taref, Guelma, Jijel, Khenchela, Mila, M'sila, Oum el Bouagui, Sétif, Skikda, Souk-Ahras, et Tébessa.

Limité au Nord par la Méditerranée, à l'Est par la Tunisie, au Sud par Biskra et l'Oued, et à l'Ouest par Tizi Ouzou, Bouira et Djelfa. Il s'étend sur une superficie de 102090 km² (ONS, 2008).

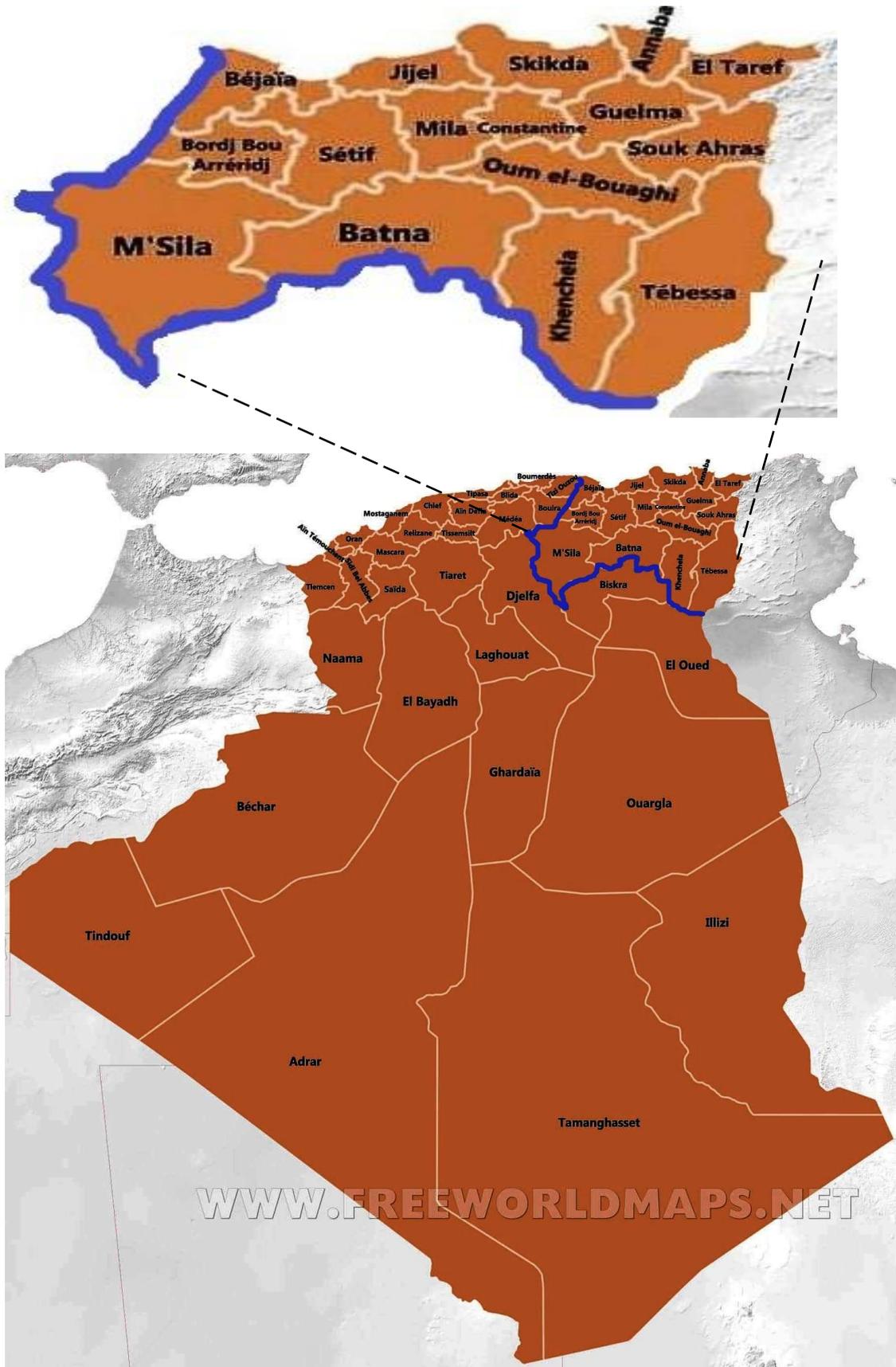


Figure 4.1 Carte montrant la zone géographique de la population étudiée (231)

L'échantillonnage a été réalisé au niveau des services d'Hémodiagnostic-Transfusion Sanguine des Centres Hospitalo-universitaire de Constantine et d'Annaba, sur des donneurs de sang non apparentés, d'une manière aléatoire indépendamment du sexe et de l'âge.

Le médecin de collecte informe le candidat sur l'objectif et le déroulement de l'étude, et consigne son consentement sur une fiche qui comporte les données sociodémographiques à savoir le nom, le prénom, l'âge, le sexe, l'adresse, tout en mentionnant l'origine géographique (voir annexe C : fiche de consentement et annexe D : fiche de renseignements).

- Critères d'inclusion

L'origine géographique était le principal critère d'inclusion à cette étude. Tous les donneurs de sang présumés sains, non apparentés, dont l'origine géographique est du Nord-Est Algérien, et consentants, ont été inclus dans cette étude.

4.2 Méthodes d'étude

4.2.1 Recueil et traitement des échantillons

Le sang total est prélevé par phlébotomie sur une veine périphérique dans un tube polypropylène contenant de l'EDTA « ethylene diamine tetra-acetic acid ».

Deux tubes EDTA par individu sont remplis de 05 ml de sang total, et utilisés pour la réalisation des groupages sanguins ABO par hémagglutination et le génotypage ABO par biologie moléculaire après extraction de l'ADN.

- Le premier tube est centrifugé à 4000 tr/min pendant 03 minutes afin de réaliser les deux épreuves sérique et globulaire du groupage ABO.

- Le deuxième tube destiné au génotypage ABO par biologie moléculaire, est utilisé directement pour l'extraction de l'ADN, le cas échéant et si cette extraction est différée, le sang total est congelé à -20°C, jusqu'à son utilisation.

4.2.2 Détermination du groupage sanguin ABO

Un échantillonnage de 10208 (Dix mille deux cent huit) donneurs de sang des CTS des CHU de Constantine, Annaba et Sétif, était concerné par la détermination sérologique du groupage sanguin ABO en utilisant les techniques manuelles sur plaque et sur gel de microfiltration, réalisé dans les heures qui suivent le prélèvement.

4.2.2.1 Technique sur plaque d'opaline

1. Le principe : est basé sur les caractéristiques essentielles du système ABO, et comporte obligatoirement deux épreuves complémentaires :

- **Epreuve globulaire de Beth Vincent :** elle permet de mettre en évidence la présence ou l'absence des antigènes A et/ou B à la surface des hématies, en utilisant des sérums-tests anti-A, anti-B et anti-AB.

- **Epreuve sérique de Simonin :** elle permet de mettre en évidence les anticorps naturels du système ABO dans le plasma du sujet, correspondants aux antigènes absents de la surface des globules rouges, en utilisant des hématies-tests A, et B.

- **Témoins :** ont été réalisés en cas de discordance entre les épreuves sérique et globulaire :

- **Témoin Auto :** mise en présence du plasma du sujet avec ses propres hématies.
- **Témoin Allo :** mise en présence du plasma du sujet avec des hématies tests du groupe O. Sa négativité permet de valider l'épreuve sérique.
- **Témoin AB :** mise en présence des hématies du sujet avec un sérum AB. Sa négativité permet de valider l'épreuve globulaire.

La concordance entre les deux épreuves sérique et globulaire, et la réalisation du groupage par deux techniciens différents en utilisant deux séries de réactifs différentes, sont nécessaires pour la validation des résultats.

2. Matériel et réactifs utilisés

- Sérum test anti-A, anti-B et anti-AB (de marque Bioscot).
- Hématies test-A et B préparées localement (suspension de 05%).
- Centrifugeuse de tubes NF400R (NÚVE).
- Consommables : Gants, eau physiologique 0.9%, compresses, pipettes pasteur, tubes secs, tubes EDTA.
- Plaque d'opaline.
- Micropipettes de 50µl.
- Plateau.
- Portoirs pour tubes.
- Réfrigérateur.

4.2.2.2 Technique sur cartes gel

1. Principe du test : le test associe les principes d'agglutination et de filtration sur gel. La réaction est obtenue et lue après centrifugation de la carte gel, les globules rouges non agglutinés sont collectés au fond du microtube, tandis que les agglutinats sont retenus dans la hauteur de gel en fonction de leur taille. Leur position dans le gel détermine l'intensité de la réaction.

2. Matériel et réactifs utilisés

- Cartes gel pour groupage ABO (Ortho Biovue, d'Ortho Clinical Diagnostic)
- Centrifugeuse et incubateur de cartes gel, (ORTHOWORKSTATION).
- Micropipettes réglables.
- Hématies test-A et B préparées localement (suspension de 05%).

3. Réalisation et interprétation du test

- Identifier la carte par le nom ou le numéro de l'échantillon correspondant.
- Retirer la languette d'aluminium des cartes avec précaution pour éviter la contamination des microtubes.
- Remettre en suspension les globules rouges avant utilisation.

- Distribuer 10 µl de suspension de 05% de globules rouges à tester dans la cupule de chaque microtube de la carte.
- Pour l'épreuve sérique on met 10 µl d'hématies test A et B (suspension de 05%) avec 40 µl du plasma à tester dans les cupules correspondantes.
- Centrifuger immédiatement 05 minutes dans « orthoworkstation », lire les réactions.
- La présence d'agglutinats en surface ou dispersés dans le gel correspond à un résultat positif indiquant la présence de l'antigène et ou l'anticorps correspondant.
- Un culot érythrocytaire collecté au fond du gel correspond à un résultat négatif.
- Une réaction positive dans un des microtubes ne peut être validée que si le microtube Ctl (contrôle) est négatif.

Que l'analyse soit sur plaque ou sur carte gel, des contrôles internes de qualité du processus analytique dans son ensemble doivent obligatoirement être réalisés, ce qui permet de repérer toute anomalie et de prendre les mesures correctives adéquates. Afin de s'assurer de la qualité et de la fiabilité des résultats.



Figure 4.2 Exemple de groupage ABO sur carte gel (ORTHO BioVue ABO-RhD Combo).

4.2.3 Détermination du génotype ABO par biologie moléculaire

Le génotypage ABO a été réalisé entre le centre d'Hémodiagnostic -Transfusion Sanguine du CHU Annaba, et le laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire, Faculté de médecine, Université Salah Bounider Constantine 3, par technique de PCR-SSP, en suivant le même protocole d'étude (Figure 4.3).

4.2.3.1 Extraction de l'ADN génomique

Deux procédés ont été utilisés pour l'extraction de l'ADN basés sur des techniques d'extractions sur Kit :

- Le système d'extraction et de purification d'acide nucléique QuickGene-Mini80^(232, 234).
- Le système Maxwell® 16 Blood DNA Purification ^(235, 237).

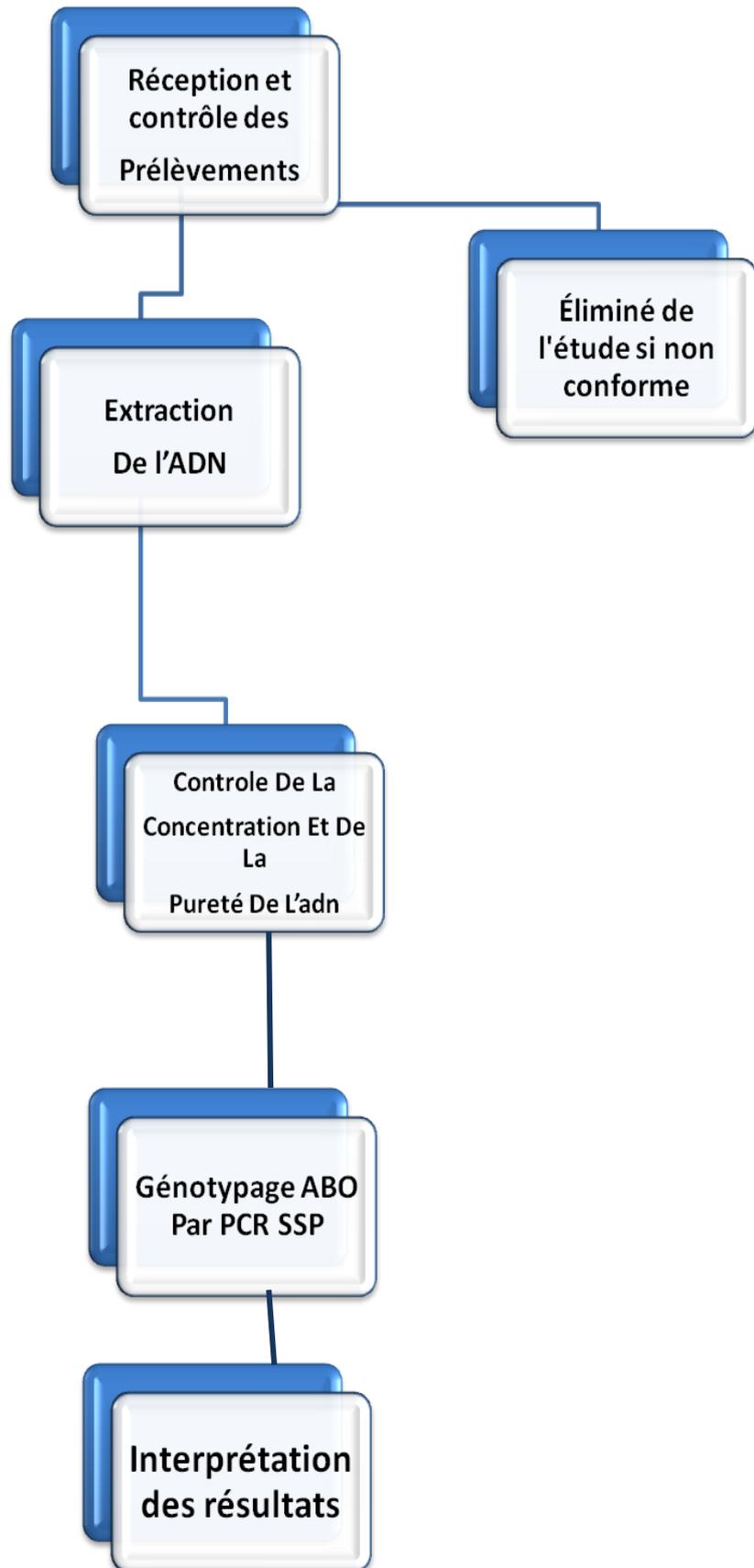


Figure 4.3 Protocole de l'étude génétique.

4.2.3.1.1. Dispositif d'isolement des acides nucléiques QuickGene-Mini80 ⁽²³²⁻²³⁴⁾

- Principe :

C'est un système semi-automatique d'extraction et de purification de l'ADN, la procédure permet à la fois l'utilisation du sang total frais ou congelé prélevé sur EDTA ou Citrate, le traitement concomitant de plusieurs échantillons, et d'avoir sans recours à la centrifugation de l'ADN purifié prêt à l'amplification grâce à une membrane ultrafine aux propriétés hydrophiles ⁽²³²⁾.

L'acide nucléique est adsorbé sur la membrane puis désorbé de la membrane en contrôlant correctement les caractéristiques de la surface de la membrane et la polarité du lysat contenant un acide nucléique et du tampon de lavage (tampon d'élution). Le processus est le suivant ^(232, 234) :

- abaissement de la polarité du lysat par addition d'un solvant organique tel que l'éthanol provoque l'adsorption de l'acide nucléique sur la membrane.
- élimination des composants autres que l'acide nucléique qui reste sur la membrane, par le lavage de la membrane avec un liquide à faible polarité avant l'élution, laissant l'acide nucléique cible adsorbé.
- le dernier processus comporte l'élution de l'acide nucléique à partir de la membrane avec un liquide de haute polarité.

- Matériel et réactifs nécessaires

Réactifs :

- Kit d'extraction d'ADN « kit Quick Gène –mini 80 ». Contenant la protéase « EDB », tampon de lyse « LDB », tampon de lavage « WDB », tampon d'élution « CDB », capuchons de cartouche, Tubes de collecte, Tubes à déchets.
- Ethanol à 99%.

Matériel :

- QG-Mini80.
- Micropipettes.
- Microtubes de 1,5 ml
- Microcentrifugeuse de paillasse
- Mélangeur Vortex (2500 tr/min ou plus)
- Bloc chauffant ou bain-marie (à 56 ° C).

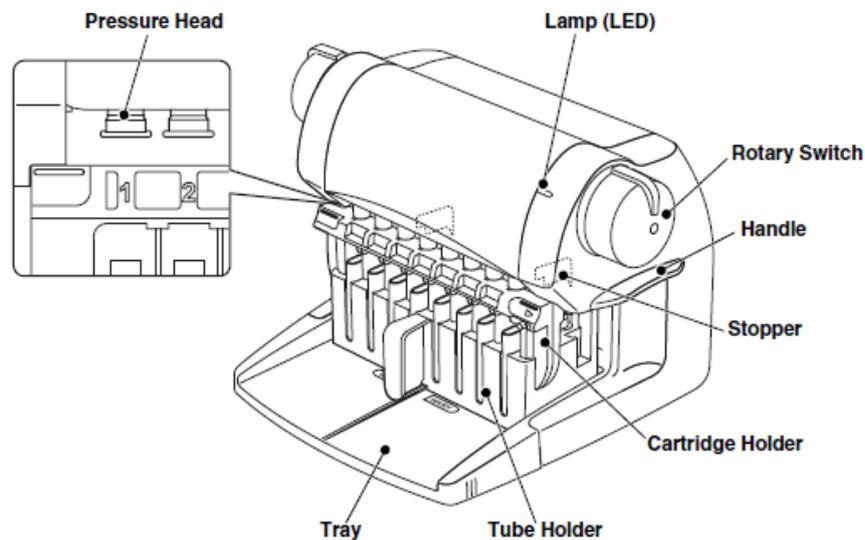


Figure 4.4 Schéma représentatif du QuickGene-Mini80 (233).



Figure 4.5 QuickGene-Mini80 et son Kit dédié (232).

- Protocole de l'extraction

Préparation du réactif (234)

- EDB (lyophilisé) : dissolvez-le complètement par 3,3 ml d'eau sans nucléase. L'EDB reconstitué est stable pendant 2 mois lorsqu'il est conservé à 4° C.
- LDB (30 ml) : Bien mélangé avant utilisation. Si les précipités se forment, dissolvez-les complètement par incubation à 37° C. Refroidissez-les à température ambiante avant utilisation.

- WDB : est fourni sous forme de concentré. Ajouter 160 ml d'éthanol à > 99% dans le flacon et mélanger en retournant doucement le flacon avant utilisation.
- CDB (100 ml) : utilisez CDB pour l'élution de l'ADN génomique.
- Remettre les réactifs à température ambiante (15-30 ° C) avant utilisation. Le dispositif permet l'extraction d'ADN génomique à partir d'un échantillon de 200µl de sang total pour chaque traitement.

La procédure comporte les étapes suivantes ⁽²³³⁾

- | | |
|---|--|
| 1- Lyse des cellules sanguines : | 3- Le lavage de la membrane. |
| 2- Fixation de l'ADN génomique à la membrane. | 4- L'élution de l'ADN génomique à partir de la membrane. |
- Après préparation du lysat comme indiquée sur la figure 4.6, allumez QG-Mini80, retirez le porte-tube et le porte-cartouche, et insérez le porte-cartouche dans la position du lavage (W) du support de tube.
 - Placez les cartouches dans le support de cartouche, appliquez le lysat sur chaque cartouche, replacez le porte-tube et le porte-cartouche dans le QuickGene-Mini80, et tournez le commutateur rotatif vers l'avant pour abaisser les têtes de pression.
 - Déposer du tampon de lavage sur chaque cartouche, et appliquer de la même façon une pressurisation, l'opération de lavage est refaite 03 fois. Lorsque les processus de lavage sont terminés, déplacer le porte-cartouche en position d'élution (E) pour effectuer le processus d'élution.
 - Mettre le tampon d'élution sur chaque cartouche, et appliquer une pressurisation, et assurez-vous qu'il ne reste aucun liquide dans les cartouches.
 - Enfin retirez le porte-tube et le porte-cartouche, et récupérer l'ADN. (le volume d'élution est de 200 µl).

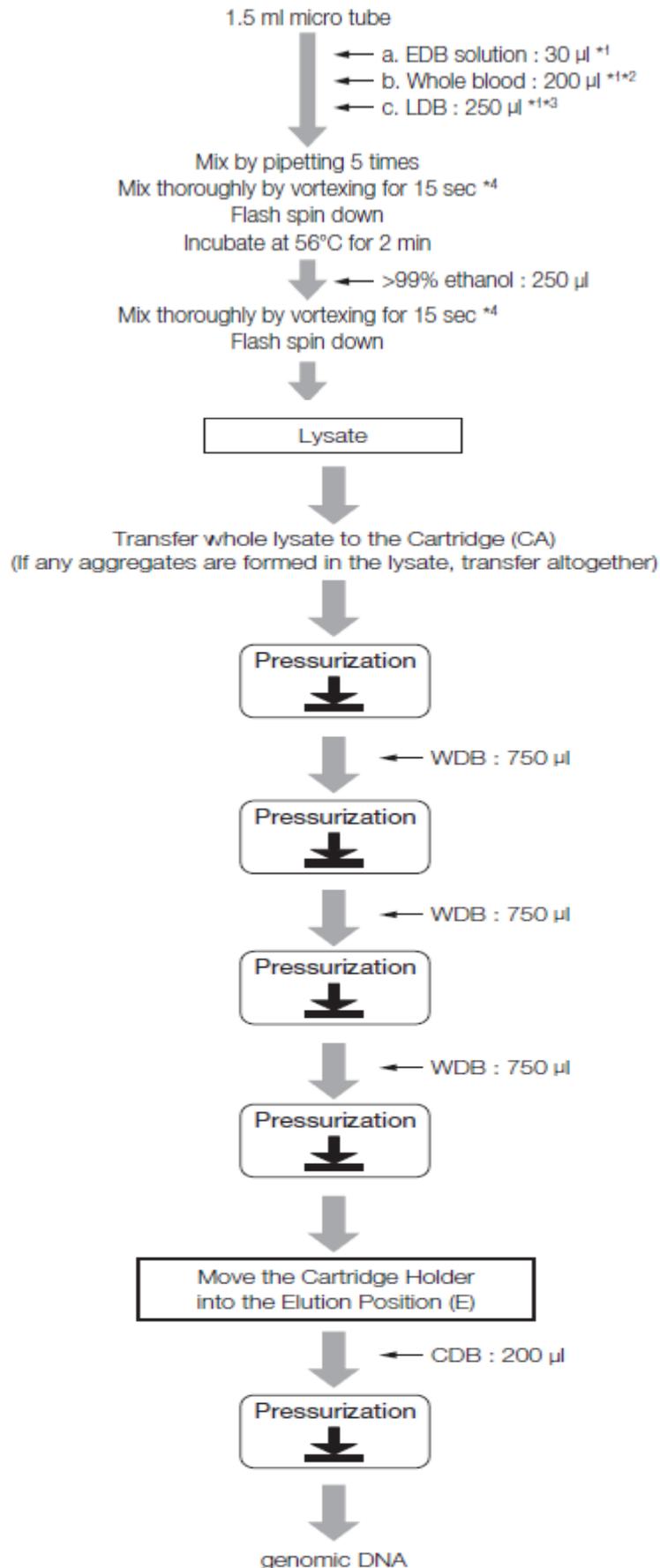


Figure 4.6 Protocole d'extraction avec le QG-Mini80 ⁽²³⁴⁾.

4.2.3.1.2. Le système Maxwell® 16 Blood DNA Purification ⁽²³⁵⁻²³⁷⁾

- Principe

C'est un système qui permet l'extraction et la purification automatisées de l'ADN à partir de couches leuco-plaquettaires ou des échantillons de sang total prélevés sur EDTA, Citrate, ou Héparine, avec l'obtention de l'ADN directement utilisable pour l'amplification par PCR⁽²³⁵⁾.

Le système Maxwell® 16 Blood DNA Purification, utilisé avec l'appareil Maxwell® 16, permet la purification automatique de l'ADN de 16 échantillons en même temps, en se basant sur la lyse cellulaire en présence d'un agent chaotropique et de détergent, ensuite la liaison de l'ADN aux particules de silice magnétisées, et après les lavages des particules liées à l'ADN de manière à éliminer les autres composants cellulaires, une élution des acides nucléiques dans un tampon pouvant être directement amplifiés par une PCR^(235, 236).



Figure 4.7 Le Maxwell® 16 Blood DNA Purification et l'appareil Maxwell®16 ⁽²³⁷⁾.

- Matériel et réactifs nécessaires

Réactifs

Maxwell® 16 Blood DNA Purification System, suffisant pour 48 isolations automatisées, à conservé entre 15 et 30°C, et qui Comprend :

- 48 cartouches Maxwell® 16 Blood DNA Cartridges.
- 50 plongeurs de purification.
- 50 tubes d'élution.
- 20 ml Tampon d'élution.

Matériel

- Maxwell® 16 MDx Instrument.
- Micropipettes et embouts de pipette pour le transfert des échantillons dans les cartouches de réactifs pré-remplies.
- Tubes de conservation pour les échantillons d'ADN purifié.

- Protocol de l'extraction ^(235, 237)

Le taux des leucocytes et le volume de l'échantillon conditionnent le rendement de l'extraction de l'ADN génomique. Un nombre de globules blancs trop élevé peut réduire le rendement et la qualité de l'ADN génomique purifié ⁽²³⁵⁾.

Les prélèvements sont effectués sur EDTA, ACD ou héparine, et peuvent être utilisés frais dans les sept jours suivant le prélèvement et à conserver à +4°C, ou congelés, dans ce cas de figure une bonne homogénéisation après décongélation est nécessaire ⁽²³⁵⁾.

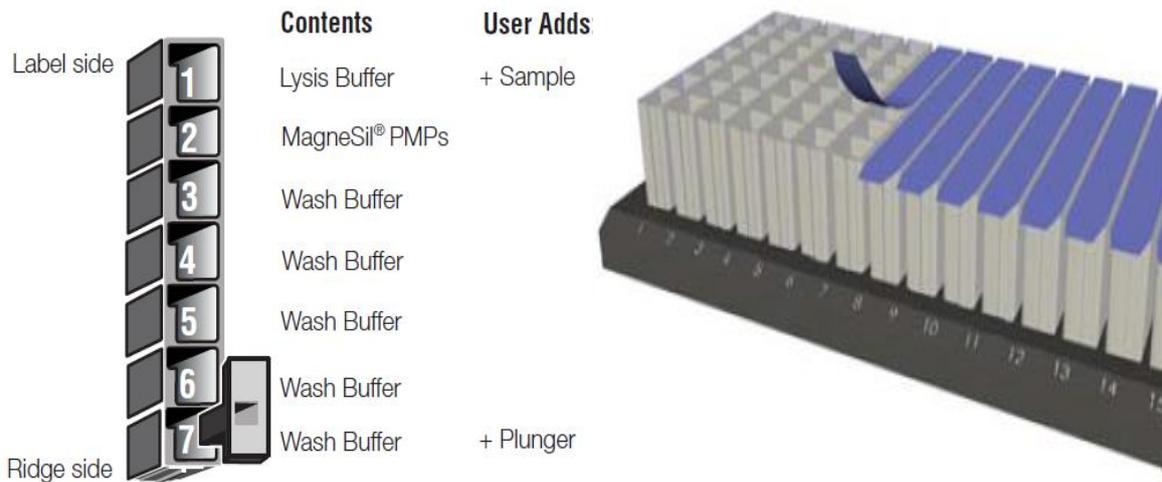


Figure 4.8 Cartouches Maxwell® 16 Blood DNA Cartridges ⁽²³⁵⁾.

- 1- Placez chaque cartouche à utiliser dans le support avec le côté strié de la cartouche orientée vers le côté numéroté du rack. Retirer le sceau de chaque cartouche.
- 2- Placer un plongeur dans le puits n°7 de chaque cartouche, en s'assurant que la partie inférieure du plongeur se trouve au fond de la cartouche (le puits n°7 est le plus proche du côté de l'arête de la cartouche).

3- Mettez 300µl de l'échantillon dans le puits n°1, en évitant leur contamination durant le transfert et à garantir qu'ils sont correctement identifiés et suivis.

4- Mettez l'appareil Maxwell® 16 IVD en marche, et sélectionnez le protocole « Sang total », ouvrez la porte au moment indiqué à l'écran, puis sélectionnez « Run/Stop ».

5- Transférer les cartouches contenant les échantillons et les plongeurs du portoir de préparation des cartouches sur la plate-forme du Maxwell® 16, et s'assurer que les cartouches sont placées dans l'appareil avec le côté à arête de la cartouche au plus près de la porte.

6- Placer un tube d'élution bleu pour chaque cartouche dans les emplacements pour tubes d'élution, à l'avant de la plate-forme, et ajouter 300 µl de tampon d'élution dans chaque tube d'élution bleu.

7- Appuyer sur le bouton « Run/Stop » (Marche/Arrêt). La plate-forme se rétracte. Fermer la porte. L'appareil Maxwell® 16 IVD commencera immédiatement le cycle de purification. L'écran affichera le temps approximatif restant dans le cycle.

8- À la fin de la méthode, suivez les instructions à l'écran pour ouvrir la porte. Vérifiez que les plongeurs sont placés dans le puits n° 7 de la cartouche à la fin du cycle. Si les plongeurs n'ont pas été retirés de la tige magnétique, retirez-les doucement à la main en poussant dessus, et appuyez sur « Run/Stop » pour faire sortir la plate-forme de l'appareil.

9- Retirer les tubes d'élution et transférer les échantillons élués dans des tubes de conservation par pipetage. Jeter les tubes d'élution bleus, et retirer les cartouches et les plongeurs de la plate-forme de l'appareil et les jeter, et suivre les instruction pour l'extinction de l'appareil^(235, 237).

4.2.3.1.3. Contrôle de la concentration et de la pureté de l'ADN génomique

Le dosage a été réalisé par spectrophotométrie au moyen d'un « NanoDrop 2000c Thermo scientific ».

La concentration de l'ADN est déterminée par mesure de la densité optique (DO) à 260 nm (A260), elle est exprimée en ng/μl selon la formule suivante :

$$[\text{ADN}] \text{ ng}/\mu\text{l} = \text{DO } 260 \times 50 \times 100.$$

Une mesure de la DO à 280 nm et le calcul du ratio A260/A280 permet de déterminer le degré de la pureté de l'ADN et son éventuel contamination par des protéines, puisque ces derniers absorbent à 280nm. Ce ratio doit être d'environ 1.8 afin de qualifier l'ADN extrait comme pur⁽²³⁸⁾.

L'ADN isolé peut être utilisé directement, ou stocké à -20°C pendant une période prolongée (supérieure à 1 an).

4.2.3.2. Génotypage ABO par PCR-SSP

4.2.3.2.1. Principe

Cette technique mise au point en 1992 par Ole Ollerup et Zetterquist ⁽²³⁹⁾. La PCR-SSP «Séquence Spécifique Primer», décrit une variante de la PCR dans laquelle seule la séquence de l'amorce à l'extrémité 3' est responsable de la spécification de l'allèle à identifier. Pour une analyse PCR-SSP complète, plusieurs amplifications sont effectuées en parallèle. Les échantillons de PCR dans lesquels l'amorce se lie à sa cible spécifique ont un amplificat spécifique après PCR; tandis que les échantillons sans cette liaison spécifique d'amorce ne le font pas. En plus des amorces spécifiques dans chaque puits, il existe également des amorces pour l'amplification d'un contrôle interne (fragment du gène *HGH*). Si aucun produit spécifique n'est présent après PCR, l'amplificat de ce contrôle interne doit être clairement détectable. L'évaluation du résultat est réalisée par électrophorèse sur gel d'agarose, dans un champ électrique, la séparation se fait en fonction de la taille. Les bandes sont visualisées par transillumination sous UV du gel qui contient du bromure d'éthidium, un agent qui s'intercale entre les bases de l'ADN, et peuvent être photographiées pour documentation ^(221, 239, 240).

Dans notre étude, nous avons utilisé le système de détection SSP par biologie moléculaire d'Inno-train, basé sur des réactions de polymérisation en chaînes, qui permet l'amplification des séquences d'ADN définies⁽²⁴¹⁾.

La séquence des glycosyltransférases spécifiques des glucides localisées sur le chromosome 9 (9q34) peuvent être identifiées par PCR. Le système est capable de distinguer clairement les allèles les plus fréquents *A1*, *A2*, *B*, *O1* et *O2*, ainsi que de différents allèles *A2*, *A3*, *A_{weak}*, *A_{bantu}*, *B3*, *B_x*, *B_{weak}*, *Bel*, *Bel/ cisAB/B(A)* et plusieurs allèles *O*^(109, 240).

Huit réactions multiplex utilisant en plus des amorces permettant l'amplification d'un contrôle interne :

- Huit amorces spécifiques pour la recherche des allèles les plus fréquents « *A1*, *A2*, *B*, *O1* et *O2* », correspondant aux polymorphismes:

- | | | |
|----------------------|----------------------|---------------------|
| - <i>261delG</i> . | - <i>802G</i> . | - <i>1061delC</i> . |
| - <i>261G</i> . | - <i>803G>C</i> . | - <i>1061C</i> . |
| - <i>802G>A</i> . | - <i>803G</i> . | |

- Et plusieurs couples d'amorces spécifiques pour la recherche des variants faibles des allèles *ABO* suivants « *Aw04/Aw11/Bw03*, *Ael02/Ax01/Ax04/B302/Bw19/O45*, *Aw08/O50*, *Aw07*, *Aw06* & *Bel03*, *Bw20*, *A302*, *O14*, *Ael01/O08*, *O15*, *A301/Bx01*, *cisAB01/ B(A)01*, *B(A)03*, *Bel04*, *Aw13*, *Aw05*, *A205/Ax10*, *A202/A203/B301/O23* » correspondant aux polymorphismes :

- | | | |
|------------------------------|---------------------------|----------------------|
| - <i>721C>T/(829G)</i> , | - <i>893C>T</i> , | - <i>965A>G</i> , |
| <i>646T>A/(829G)</i> , | <i>804dupG</i> | <i>1009A>G</i> , |
| <i>488C>T/(829G)</i> | - <i>927C>A</i> , | <i>1054C>T et</i> |
| - <i>592C>T</i> , | <i>871G>A</i> | <i>1054C>G</i> |
| <i>502C> et 502C>T</i> | - <i>(703G)/803G>C</i> | |
| - <i>815-816insG</i> , | - <i>2T>C</i> | |
| <i>829G>A / 1061delC</i> | | |

4.2.3.2.2. Matériel et réactifs nécessaires

- RBC-Ready Gene ABO et ABO Subtype Kit, contenant chacun : les mélanges

d'amorces pré-aliquotées et séchées qui se composent d'amorces de contrôle interne et spécifiques à la séquence, tampon Ready-PCR, les bandes de couverture, et les contrôles négatifs.

➤ Pour l'amplification

- Eau distillé,
- Taq Polymérase (5 U / μ l),
- Micropipettes (0,5 - 1000 μ l),
- Thermocycleur.

➤ Pour archivage du gel

- Générateur, Cuve de migration,
- Agarose, bromure d'éthidium,
- Tampon TBE (Tris, Borate, EDTA),
- Marqueur de poids moléculaire,
- Transilluminateur UV.

4.2.3.2.3. Amplification⁽²⁴⁰⁾

- Décongeler les blocs PCR, Ready-PCR et l'échantillon d'ADN.
- Avant de retirer la feuille de couverture des blocs PCR, vérifiez le numéro de lot et la date d'expiration du kit par rapport à la feuille de travail.
- Préparez le master mix (mélanger pour chaque échantillon, 72 μ l eau distillé + 36 μ l ReadyPCR + 01 μ l de la Taq polymérase), mélangez bien et pipeter 10 μ l dans le tube du contrôle négatif avant d'ajouter l'ADN.
- Ajouter 10 μ l d'ADN à 90 μ l de master mix, bien mélanger et distribuer des aliquotes de 10 μ l dans les puits du bloc PCR (de préférence en utilisant un distributeur manuel dans la moitié supérieure des tubes).
- Fermer les puits avec des bandes de couverture et transférer dans un thermocycleur.
- Vérifiez que les tubes sont scellés et démarrez la PCR (tableau 4.1).

Tableau 4.1 : Programme PCR.

1x Initial	5x Cycles	10x Cycles	20x Cycles	1x Final	Hold
94°C 2 min.	94°C 20 sec. 70°C 60 sec.	94°C 20 sec. 65°C 60 sec. 72°C 45 sec.	94°C 20 sec. 61°C 50 sec. 72°C 45 sec.	72°C 5 min.	10°C ∞

4.2.3.2.4. Détection du gel⁽²⁴⁰⁾

- Préparez un gel d'agarose à 2% avec du tampon TBE 1x ou utilisez le gel d'agarose prêt à l'emploi Inno-train.
- Faites bouillir le gel puis laissez refroidir à 50-60° C.
- Ajouter du bromure d'éthidium à une concentration finale de 0,7 µg / ml ou ajouter 3 gouttes de cette solution Inno-train prête à l'emploi pour 100ml de gel et verser le gel.
- Placez les peignes d'échantillon dans le gel liquide et laissez-le pendant 20 à 30 minutes pour la polymérisation.
- Mettez le gel dans la cuve d'électrophorèse et ajoutez du TBE 1x comme tampon de fonctionnement.
- Chargez le gel avec la quantité complète d'amplificat par fente de gel et ajoutez 3µl de marqueur de poids moléculaire à chaque rangée d'échantillon.
- Effectuer l'électrophorèse à 8-10 V/cm (200 volts pendant 20 minutes).
- Évaluation sous UV par comparaison aux formulaires du protocole fournis avec le kit

4.2.3.2.5. Interprétation ⁽²⁴⁰⁾

- Les produits PCR spécifiques du groupe sanguin et du contrôle interne deviennent visibles sous la lumière UV. L'amplificat de la séquence de contrôle interne doit être détectable sous forme de bande dans tous les échantillons qui sont négatifs dans leur

réaction spécifique. Dans les réactions spécifiques positives, la bande de contrôle interne peut échouer en raison d'effet d'amorce compétitive. Le marqueur de poids moléculaire ajouté au gel est utilisé pour déterminer la taille des fragments.

- L'évaluation commence par la documentation des produits PCR spécifiques au groupe sanguin. Pour ce faire, le modèle des bandes spécifiques est entré dans la feuille de travail. Et pour la documentation, le gel est photographié avec un appareil photo numérique ou polaroid.

4.3 Etude statistique:

- Les fréquences phénotypiques, géniques et alléliques ⁽²⁴²⁾:

$$\text{➤ Fréquence phénotypique} = \frac{\text{Nombre d'individus porteurs du phénotype}}{\text{Nombre total d'individus de la population}}$$

➤ Les fréquences géniques ont été calculées en utilisant la formule de Bernstein :

$$q' = 1 - \sqrt{F[A] + F[O]}$$

$$p' = 1 - \sqrt{F[B] + F[O]}$$

$$r' = \sqrt{F[O]}$$

Soit :

p : la fréquence de l'allèle **A**

q : la fréquence de l'allèle **B**

r : la fréquence de l'allèle **O**.

Sachant que : $p + q + r = 1$.

La somme de $(p + q + r)$ qui théoriquement devrait être égale à 1, s'en écarte légèrement, ce qui permet de définir la valeur D (correction par la déviation) dont :

$$D = 1 - (p' + q' + r')$$

Les fréquences ajustées sont données par les formules suivantes :

$$\mathbf{p} = (1 + D/2) p' \qquad \mathbf{q} = (1 + D/2) q' \qquad \mathbf{r} = (1 + D/2) (r' + D/2)$$

➤ *Fréquences génotypiques* =
$$\frac{\text{Nombre d'individus porteurs du génotype étudié}}{\text{Nombre total des individus de la population}}$$

➤ *Les fréquences alléliques* =
$$\frac{\text{Nombre d'allèles du type considéré}}{\text{Nombre total d'allèles}}$$

Les fréquences alléliques ont été déterminées par la méthode du maximum de vraisemblance, le test de χ^2 a été utilisé afin de mesurer l'écart entre les fréquences observées et les fréquences théoriques pour vérifier si nos populations d'études sont en équilibre de Hardy Weinberg.

- Les comparaisons des fréquences des allèles ABO entre les populations ont été étudiées également par le test du χ^2 réalisé par le logiciel **R**.

- Pour le degré de la signification du test du χ^2 avec un intervalle de confiance à 95%:

$P > 0.05$: une différence non significative (NS)

$P < 0.05$: une différence significative (*)

$P < 0.01$: une différence hautement significative (**)

$P < 0.001$: une différence très hautement significative (***)

- Le calcul des distances génétiques entre les populations choisies pour la comparaison des fréquences alléliques et géniques ABO, a été réalisé en utilisant le logiciel SPSS version 20.

- Les analyses en composantes principales et la classification hiérarchique ont été réalisées par le logiciel R en utilisant le package FactoMiner ^(242, 243).

Tableau 4.2 Populations choisies pour la comparaison des fréquences géniques ABO.

Abréviations	Populations	Références
O. ALG	Ouest Algérien	Débat. 2017 ⁽⁸⁷⁾
AlgT	T Algérie globale	Aireche H et al. 1994 ⁽²⁴⁴⁾
Bej	Région Bejaia	Lefevre Wintier P et al. 2006 ⁽²⁴⁵⁾
Mar1	Maroc	Benahadi A et al. 2013 ⁽²⁴⁶⁾
Mar2	Maroc (Souss)	Chadli S et al. 2007 ⁽²⁰²⁾
Tun1	Tunisie	Said N et al. 2003 ⁽²⁴⁷⁾
Tun2	Tunisie	Hmida S et al. 1994 ⁽²⁴⁸⁾
Lyb	Lybie	Fayrouz INE et al. 2012 ⁽²⁴⁹⁾
Maur	Mauritanie	Hamed C et al.2012 ⁽²⁵⁰⁾
Nig	Nigéria (North-Central)	Anifowoshe A et al. 2017 ⁽²⁵¹⁾
Cam	Cameroun	Ndoula S et al.2014 ⁽²⁵²⁾
Eth	Ethiopie	Tesfaye K et al. 2015 ⁽²⁵³⁾
Gui	Guinée	Loua A et al. 2007 ⁽²⁵⁴⁾
Irq	Irak « Baghdad »	AL-Ubadi AEM et al. 2013 ⁽²⁵⁵⁾
A.Sdt	Arabie Saoudite	Eweidah MH et al. 2011 ⁽²⁵⁶⁾
Jord	Jordanie	Hassawi DS et al. 2007 ⁽²¹⁹⁾
Kwt	Kuwait	Al-Bustan S et al. 2002 ⁽²⁵⁷⁾
Pal	Ghaza	Lamia'a S, 2013 ⁽²⁵⁸⁾
Grè	Grèce	Lialiaris T et al. 2010 ⁽²⁵⁹⁾
Tur	Istanbul	Kayiran S et al. 2012 ⁽²⁶⁰⁾
Esp1	Espagne (Alpajurras)	Fernandez-S A et al. 1999 ⁽²⁶¹⁾
Alm	Allemagne	Lang K et al.2016 ⁽¹⁰⁴⁾
Cor	Corée	Song SH et al. 2006 ⁽²⁶²⁾
Ira	Iran	Nojavan M et al. 2012 ⁽²⁶³⁾
Mar	Maroc	Fregel R et al. 2005 ⁽²⁶⁴⁾
Mau	Mauritanie	Fregel R et al. 2005 ⁽²⁶⁴⁾
Sah Occi	Sahara occidental	Fregel R et al. 2005 ⁽²⁶⁴⁾
Kwt	Kuwait	Yip S et al. 2006 ⁽²⁶⁵⁾
Chn	Chine	Zhu F et al. 2010 ⁽²⁶⁶⁾
Ita	Italie	Nishimukai et al. 2009 ⁽²⁶⁷⁾
Pol	Pologne	Umbria M et al. 2014 ⁽²⁶⁸⁾
Esp2	Espagne	Umbria M et al. 2014 ⁽²⁶⁸⁾
Esp3	Basque	Fregel R et al. 2005 ⁽²⁶⁴⁾
Ind	Inde	Ray S et al. 2014 ⁽²⁶⁹⁾
Jord	Jordanie	Irshaid et al. 2002 ⁽²⁷⁰⁾

05 : Résultats et Discussion

5.1 Étude sérologique

Cette partie traite les caractéristiques sociodémographiques ainsi que les résultats de l'étude des phénotypes ABO dans la population du Nord-Est Algérien, suivie d'une étude comparative avec d'autres populations.

5.1.1 Résultats

5.1.1.1 Description de l'échantillon sérologique

L'étude sérologique a concerné 10208 donneurs de sang, tous originaires des wilayas du Nord-Est Algérien. La tranche d'âge la plus représentée était de 37 à 45 ans, avec des extrêmes de 18 à 64 ans (Figure 5.1).

L'échantillon est composé de 8294 hommes soit (81.25%) et 1914 femmes soit (18.75%), avec un sexe ratio H/F de 4.33 (Figure 5.2).

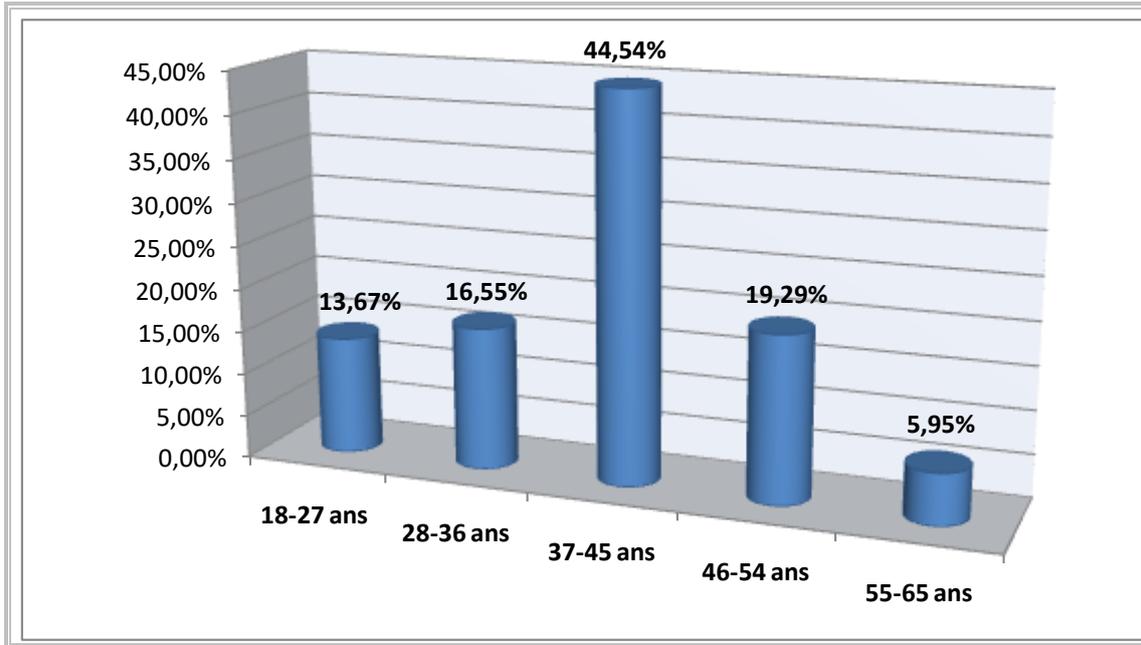


Figure 5.1 Répartition de l'échantillon de l'étude phénotypique selon l'âge.

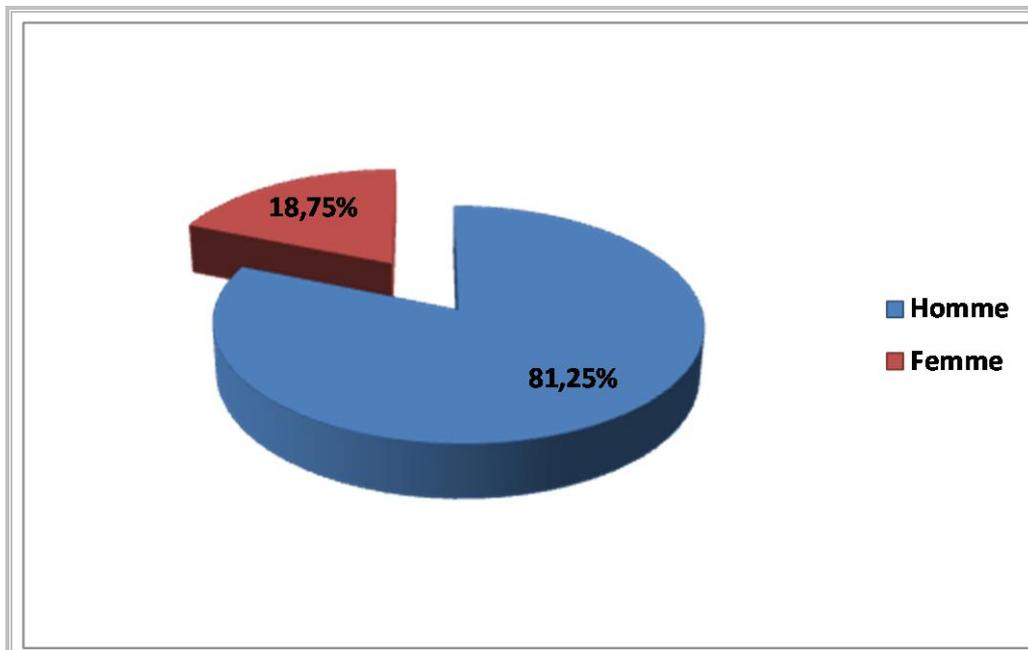


Figure 5.2 Répartition de l'échantillon de l'étude phénotypique selon le sexe.

5.1.1.2 Fréquences des phénotypes ABO dans le Nord-Est Algérien

Dans le tableau 5.1, on trouve les fréquences des phénotypes ABO dans la population globale Nord-Est Algérienne ainsi que la répartition de ces phénotypes selon la wilaya d'origine (figure 5.4).

Tableau 5.1 Distribution des phénotypes ABO dans le Nord-Est Algérien.

<i>Wilaya d'origine</i>		<i>Groupage sanguine ABO</i>				<i>Total</i>
		<i>A</i>	<i>B</i>	<i>AB</i>	<i>O</i>	
Constantine	N	1071	509	142	1577	3299
	%	32,47	15,43	4,30	47,8	100
Annaba	N	733	350	72	918	2073
	%	35,36	16,89	3,47	44,28	100
Mila	N	175	76	34	305	590
	%	29,66	12,88	5,76	51,70	100
Jijel	N	20	03	01	25	49
	%	40,82	6,12	2,04	51,02	100
Oum Bouaki	N	36	16	04	30	86
	%	41,86	18,61	4,65	34,88	100
Skikda	N	100	104	25	112	341
	%	29,33	30,50	7,33	32,84	100
Guelma	N	112	71	18	109	310
	%	36,13	22,9	5,81	35,16	100
Souk Ahras	N	28	04	08	17	57
	%	49,12	7,02	14,04	29,82	100
Sétif	N	898	398	97	1347	2740
	%	32,77	14,53	3,54	49,16	100
Batna	N	15	05	01	30	51
	%	29,41	9,81	1,96	58,82	100
Tébessa	N	11	05	04	33	53
	%	20,76	9,43	7,55	62,26	100
Msila	N	5	3	2	8	18
	%	27,78	16,67	11,11	44,44	100
El Taref	N	177	64	16	164	421
	%	42,04	15,20	3,80	38,96	100
Khenchela	N	01	01	01	01	04
	%	25	25	25	25	100
BBA	N	29	13	11	43	96
	%	30,21	13,54	11,46	44,79	100
Bejaïa	N	6	4	1	9	20
	%	30	20	05	45	100
Total	N	3417	1626	437	4728	10208
	%	33,47	15,93	4,28	46,32	100

Les fréquences des phénotypes ABO dans la population du Nord-Est Algérien sont présentées dans la figure 5.3. Le groupe O est le plus fréquent retrouvé chez 46.32%

de la population, et le phénotype AB est le moins fréquent présent chez 4.28% des individus.

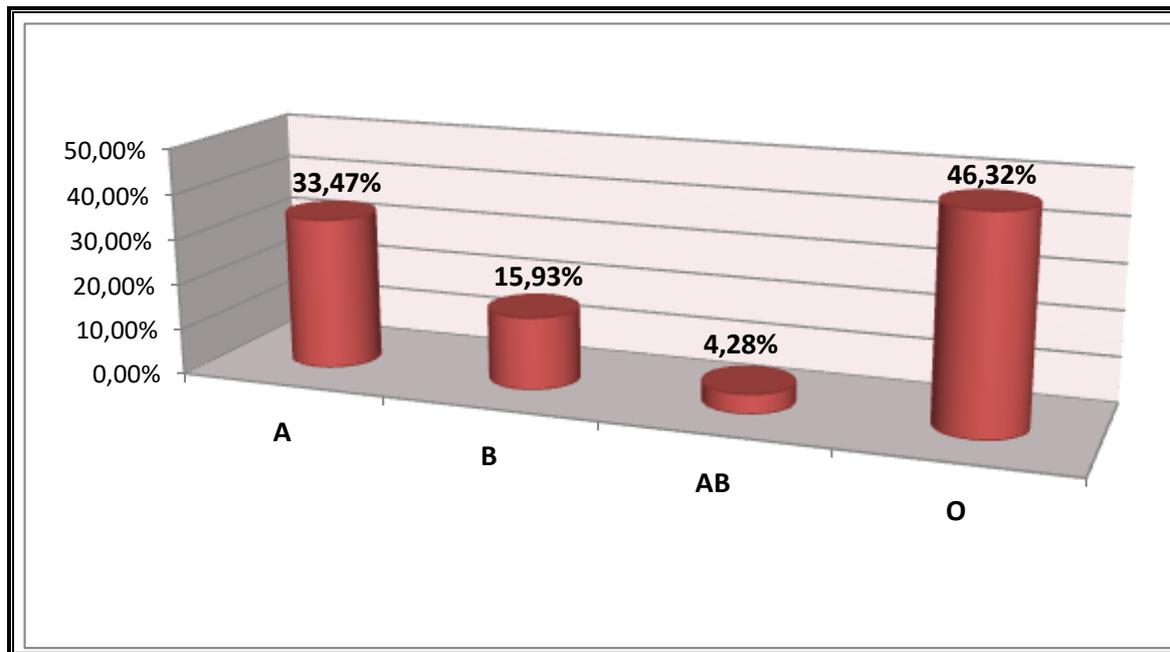


Figure 5.3 Fréquences des phénotypes ABO dans le Nord-Est Algérien.

La distribution des phénotypes ABO selon la wilaya d'origine est représentée dans la figure 5.4. La fréquence du phénotype A varie de 20,76 % (Tébessa) à 49,12 %, (Souk-Ahras) où ce phénotype est plus fréquent que le phénotype O, dont la fréquence varie de 29,82 % à 62,26 %. Les fréquences les plus élevées sont enregistrées à Tébessa (62,26 %) et à Batna (58,82 %).

Pour le phénotype B, la fréquence la plus basse a été enregistrée à Jijel soit 6,12 %, alors que la wilaya de Skikda a enregistré la fréquence la plus élevée (30,50 %), ou ce phénotype est même plus fréquent que le groupe A, et à fréquence presque égale à celle du O. Quant au phénotype AB dont la fréquence est la plus basse dans toutes les wilayas à l'exception de Souk-Ahras qui a enregistré la fréquence la plus élevée 14,04 %, et qui dépasse celle du groupe B (7.02%). La fréquence la plus basse (1,96 %) est retrouvée à Batna.

Les fréquences de Khenchela n'ont pas été prise en considération dans cette comparaison entre wilayas vu l'échantillon très réduit de cette wilaya (N=04).

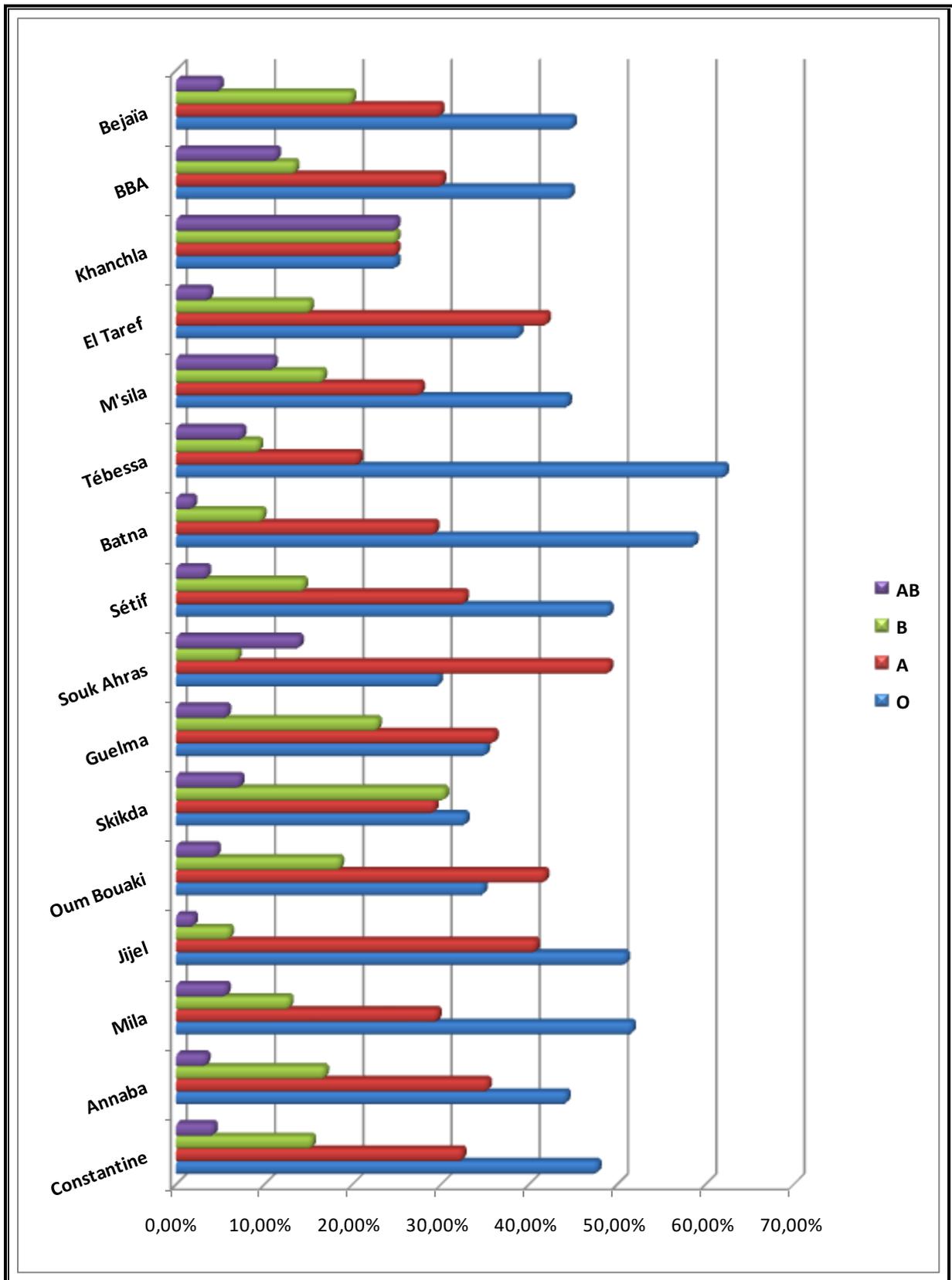


Figure 5.4 : Distribution des phénotypes ABO selon la wilaya d'origine.

5.1.1.3 Fréquences alléliques ABO dans le Nord-Est Algérien :

Les fréquences des allèles ABO de la population Nord-Est Algérienne sont représentées dans le tableau 5.2 ci-dessous.

Tableau 5.2 : Fréquences alléliques ABO dans le Nord-Est Algérien.

Allèle	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>o</i>
Fréquence	0.2112	0.1068	0.6820

p : fréquence allèle *A*

q : fréquence allèle *B*

r : fréquence allèle *O*

L'allèle *O* a enregistré la fréquence la plus élevée dans le Nord-Est Algérien, avec 68.20 %, suivi de l'allèle *A* avec 21.12% et l'allèle *B* est le moins fréquent avec 10,68 % (Figure 5.5).

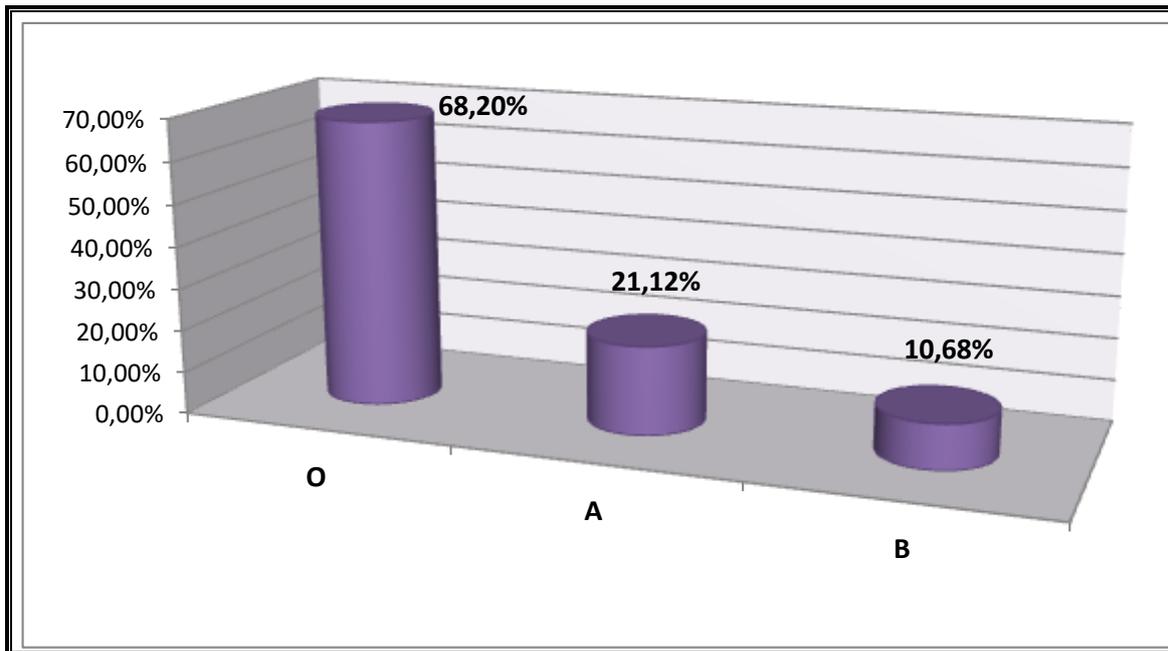


Figure 5.5 : Fréquences des allèles ABO dans la population du Nord-Est Algérien.

Vérification de la loi de Hardy Weinberg

Le tableau 5.3 montre après avoir testé les écarts entre les effectifs observés et ceux attendus, la somme de ces écarts est ($\chi^2 = 1.664$) n'a pas dépassé la valeur seuil de (3.84), donc la répartition des phénotypes ABO dans notre population d'étude est en équilibre de Hardy Weinberg.

Tableau 5.3 Loi de Hardy Weinberg.

Phénotype	Fréquences Observées	Effectifs	Fréquences Théoriques	Effectifs	(O-T) ² /T
A	0,3347	3417	0.3327 ($p^2 + 2pr$)	3396	0.129
B	0,1593	1626	0.1571 ($q^2 + 2qr$)	1604	0.301
AB	0,0428	437	0.0451 ($2pq$)	460	1.15
O	0,4632	4728	0.4651 (r^2)	4748	0.084
Total	1	10208	1	10208	1.664

p : fréquence allèle A q : fréquence allèle B r : fréquence allèle O

$\chi^2 = \sum (O-T)^2/T$. Sachant que O = Fréquence observé, et T = Fréquence attendu.

5.1.1.4 Etude comparative intra et inter-populationnelle

- Comparaison intra-populationnelle

Afin de réaliser une comparaison intra-populationnelle, nous avons réparti notre population en trois groupes en se basant sur le rapprochement géographique des wilayas :

Le groupe 01(G01) : Annaba, Taref, Skikda, Guelma et Souk-Ahras.

Le groupe 02(G02) : Constantine, Mila, Oum Bouaghi, Batna, Tébessa et Khanchla.

Le groupe 03(G03) : Sétif, Jijel, Bejaïa, Msila et Bordj Bou Arreridj.

Les résultats de la répartition des phénotypes et des allèles ABO selon les groupes

d'étude est représentés sur les tableaux 5.4 et 5.5.

Tableau 5.4 Répartition des phénotypes ABO selon les groupes d'étude

<i>Groupe d'étude</i>		<i>Groupage sanguine ABO</i>				<i>Total</i>
		<i>A</i>	<i>B</i>	<i>AB</i>	<i>O</i>	
G 01	N	1150	593	139	1320	3202
	%	35,92	18,52	4,34	41,22	100
G 02	N	1309	612	186	1976	4083
	%	32,06	14,99	4,55	48,4	100
G 03	N	958	421	112	1432	2923
	%	32,77	14,40	3,83	49	100
Total	N	3417	1626	437	4728	10208
	%	33,47	15,93	4,28	46,32	100

Les trois groupes d'étude ont conservé le même ordre de fréquence des phénotypes ABO avec O > A > B > AB. Le phénotype O est plus fréquent dans le G03 alors que le phénotype B a enregistré sa fréquence la plus élevée dans le G01.

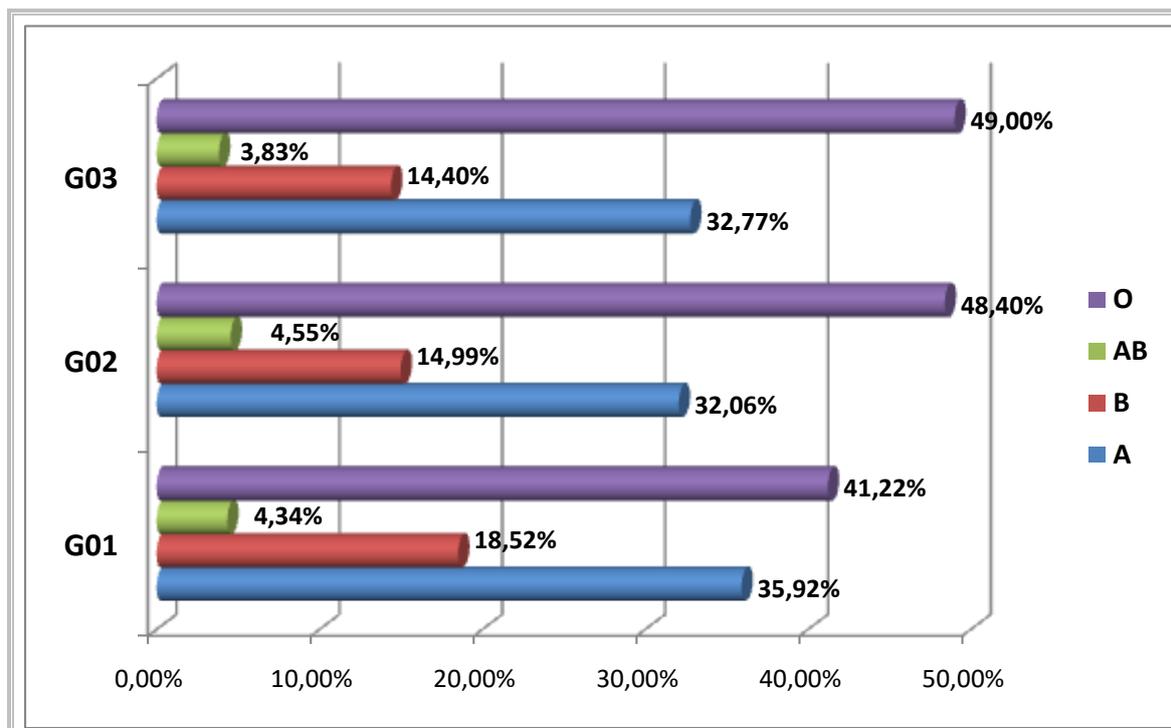


Figure 5.6 Répartition des phénotypes ABO selon les groupes d'étude.

Tableau 5.5 Répartition des fréquences des allèles ABO selon les groupes d'étude.

Population	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>O</i>
G01	0.2280	0.1222	0.6498
G02	0.2035	0.1028	0.6937
G03	0.2037	0.0957	0.7005

p : fréquence allèle *A*

q : fréquence allèle *B*

r : fréquence allèle *O*

Nous constatons ici aussi que l'ordre de fréquence des trois allèles est le même chez les trois groupes avec $O > A > B$. les allèles *A* et *B* sont plus fréquents dans le G01, et l'allèle *O* est plus fréquent dans le G03.

La comparaison de la répartition des allèles ABO entre les 03 groupes d'étude montre qu'il n'y a pas de différence significative, avec un $p > 0.05$.

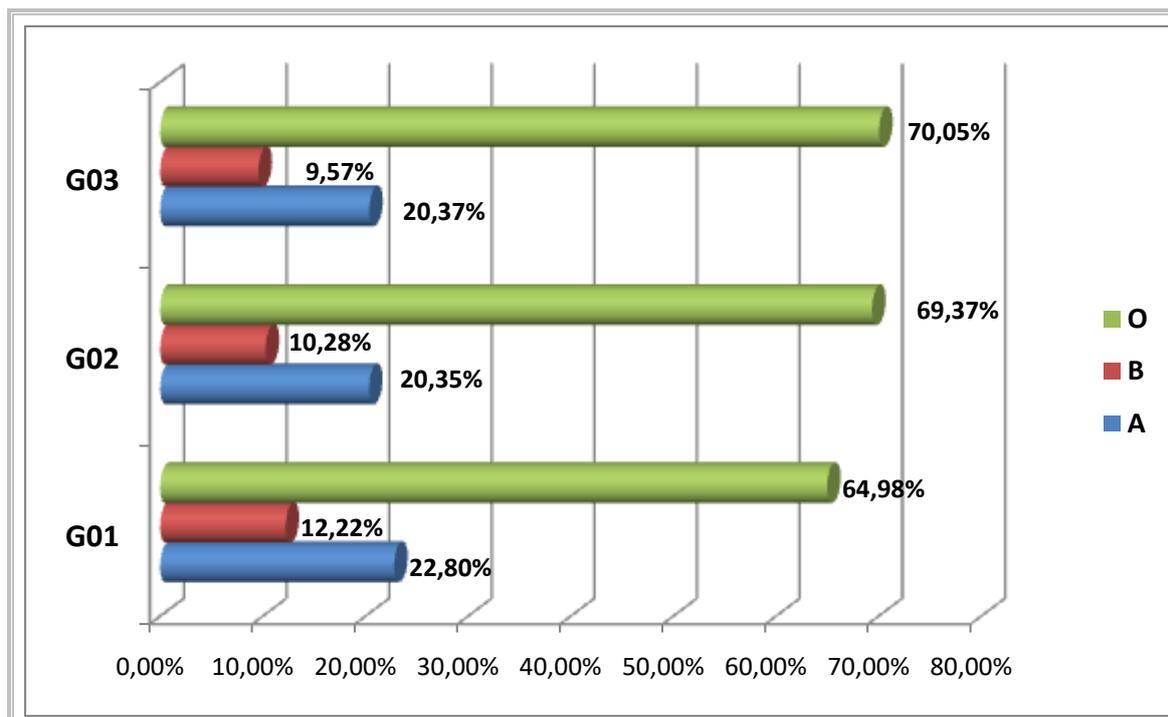


Figure 5.7 : Répartition des allèles ABO selon les groupes d'étude.

- Comparaison inter-populationnelle

Le tableau 5.6 ci-dessous liste l'ensemble des populations choisies pour les comparer à notre étude. Notre population Nord-Est Algérienne est confrontée à d'autres populations Algériennes, Maghrébines, Nord méditerranéens, du Moyen-Orient, et des populations subsahariennes.

Tableau 5.6 Comparaison des fréquences alléliques ABO du Nord-Est Algérien avec d'autres populations.

Population	N	A	B	O	Khi ²	p	Référence
N-E. ALG	10208	0.2112	0.1068	0.6820	/	/	Présente étude
O. ALG	508	0,1814	0,1111	0,707	2.66	NS	Deba T. 2017 ⁽⁸⁷⁾
AlgT	4444	0.2093	0.123	0.6677	8.14	*	Aireche H et al. 1994 ⁽²⁴⁴⁾
Bej	999	0,2222	0,1269	0,6509	9.21	*	Lefevre Wintier P et al. 2006 ⁽²⁴⁵⁾
Mar1	219287	0,2088	0,1077	0,6838	0.40	NS	Benahadi A et al. 2013 ⁽²⁴⁶⁾
Mar2	34785	0,1949	0,0925	0,7126	37.89	***	Chadli S et al. 2007 ⁽²⁰²⁾
Tun1	63375	0,195	0,12	0,685	24.83	***	Said N et al. 2003 ⁽²⁴⁷⁾
Tun2	18820	0,192	0,122	0,686	25.61	***	Hmida S et al. 1994 ⁽²⁴⁸⁾
Lyb	305	0,2145	0,094	0,699	0.70	NS	Fayrouz INE et al. 2012 ⁽²⁴⁹⁾
Maur	10116	0,1774	0,1204	0,702	40.87	***	Hamed C et al.2012 ⁽²⁵⁰⁾
Nig	9643	0,114	0,124	0,762	233.12	***	Anifowoshe A et al. 2017 ⁽²⁵¹⁾
Cam	14546	0,1605	0,1416	0,6978	144.51	***	Ndoula S et al.2014 ⁽²⁵²⁾
Eth	441	0.1884	0.1564	0.6551	11.09	**	Tesfaye K et al. 2015 ⁽²⁵³⁾
Gui	59452	0,147	0,1548	0,698	368.49	***	Loua A et al. 2007 ⁽²⁵⁴⁾
Irq	4958	0.1998	0.2064	0.5936	279.23	***	AL-Ubadi AEM et al. 2013 ⁽²⁵⁵⁾
A.Sdt	400	0,1930	0,1790	0,6280	19.75	***	Eweidah MH et al. 2011 ⁽²⁵⁶⁾
Jord	12215	0,2607	0,1341	0,605	143.02	***	Hassawi DS et al. 2007 ⁽²¹⁹⁾
Kwt	18558	0.1768	0.1554	0.6678	155.95	***	Al-Bustan S et al. 2002 ⁽²⁵⁷⁾
Pal	201	0.241	0.162	0.597	8.11	*	Lamia'a S, 2013 ⁽²⁵⁸⁾
Grè	1105	0,2597	0,1127	0,623	17.06	***	Lialiaris T et al. 2010 ⁽²⁵⁹⁾
Tur	4656	0,2982	0,1239	0,577	164.8	***	Kayiran S et al. 2012 ⁽²⁶⁰⁾
Esp1	163	0,244	0,041	0,715	8.62	*	Fernandez-S A et al. 1999 ⁽²⁶¹⁾
Alm	113367	0.2948	0.0957	0.6094	319.42	***	Lang K et al.2016 ⁽¹⁰⁴⁾
Cor	222	0.272	0.198	0.53	27.52	***	Song SH et al. 2006 ⁽²⁶²⁾
Ira	744	0.2397	0.1815	0.5788	47.97	***	Nojavan M,et al. 2012 ⁽²⁶³⁾

Nous constatons que l'allèle *O* est le plus fréquent dans toutes les populations étudiées, et la fréquence la plus élevée a été enregistrée dans la population du Nigéria⁽²⁵¹⁾ (0.762), Espagnole⁽²⁶¹⁾ (0.715) et Marocaine⁽²⁰²⁾ (Mar2; 0.7126), sa fréquence la plus basse a été enregistrée chez les Coréens⁽²⁶²⁾ (0.53). L'allèle *A* est plus fréquent dans la population Turquie⁽²⁶⁰⁾ (0.2982) et Allemande⁽¹⁰⁴⁾ (0.2948), et moins fréquent au Nigéria (0.114).

Alors que l'allèle *B* est plus fréquent en Irak (0.2064) où sa fréquence dépasse même celle de l'allèle *A*, et sa -fréquence la plus basse a été enregistrée en Espagne⁽²⁶¹⁾ (0.041).

Mis à part la population de l'Ouest Algérien, Marocaine⁽²⁰²⁾ (Mar2), et Libyenne où les différences n'étaient pas significatives ($p > 0.05$), Une différence significative a été enregistrée avec les autres populations.

Avec un ($0.05 > p > 0.01$) avec les populations Algériennes Total⁽²⁴⁴⁾ et de Bejaia⁽²⁴⁵⁾, la population Palestinienne⁽²⁵⁸⁾ et Espagnole⁽²⁶¹⁾. Un (P entre 0.01 et 0.001) avec l'Éthiopie⁽²⁵³⁾. Et une différence très hautement significative ($P < 0.001$) a été enregistrée avec les autres populations.

- Distances génétiques

L'étude des distances génétiques entre les différentes populations sélectionnées pour la comparaison, en fonction de la répartition des principaux allèles ABO (Tableau 5.7), montre que les populations Maghrébines sont les plus proches génétiquement à notre population d'étude, et essentiellement la population Marocaine (Mar1) qui est génétiquement même plus proche de notre population que les autres populations Algériennes, avec une distance génétique de (0.003). Alors que la distance génétique la plus élevée est observée avec la population Coréenne (0.187).

Cette analyse a permis de distinguer 03 groupes de populations :

- Populations ayant une distance génétique inférieure à (0.05), à savoir toutes les populations Algériennes et Maghrébines.
- Populations ayant enregistré une distance génétique entre (0.05 et 0.1), à savoir le Cameroun, l'Éthiopie, la Guinée, l'Arabie Saoudite, la Jordanie, le Koweït, la Grèce, et une population Espagnole (Esp1).
- Populations ayant une distance génétique supérieure à (0.1), à savoir ; le Nigeria, l'Irak, la Palestine, la Turquie, l'Allemagne, la Corée et l'Iran.

Tableau 5.7 Distances génétiques en fonction des fréquences des principaux allèles ABO :

	N-E. ALG	O. ALG	AlgT	Bej	Mar1	Mar2	Tun1	Tun2	Lyb	Maur	Nig	Cam	Eth	Gui	Irq	A.Sdt	Jord	Kwt	Pal	Grè	Tur	Esp1	Alm	Cor	Ira
N-E. ALG	,000																								
O. ALG	,039	,000																							
AlgT	,022	,050	,000																						
Bej	,039	,071	,022	,000																					
Mar1	,003	,036	,022	,040	,000																				
Mar2	,038	,024	,056	,076	,035	,000																			
Tun1	,021	,027	,023	,044	,019	,039	,000																		
Tun2	,025	,026	,025	,047	,022	,040	,004	,000																	
Lyb	,022	,038	,043	,059	,021	,024	,035	,038	,000																
Maur	,042	,011	,047	,068	,038	,035	,024	,022	,046	,000															
Nig	,113	,074	,122	,144	,110	,082	,100	,097	,105	,076	,000														
Cam	,063	,038	,060	,079	,061	,062	,043	,039	,072	,027	,076	,000													
Eth	,061	,069	,041	,045	,060	,086	,048	,046	,081	,060	,129	,053	,000												
Gui	,082	,056	,076	,093	,079	,080	,061	,057	,091	,046	,078	,019	,060	,000											
Irq	,134	,149	,112	,101	,134	,165	,126	,125	,155	,140	,205	,129	,080	,128	,000										
A.Sdt	,092	,105	,071	,064	,092	,121	,082	,081	,113	,096	,162	,086	,036	,087	,045	,000									
Jord	,096	,131	,082	,060	,098	,133	,104	,107	,112	,129	,204	,137	,091	,148	,095	,084	,000								
Kwt	,061	,059	,046	,056	,060	,079	,043	,041	,079	,049	,113	,037	,017	,042	,093	,049	,107	,000							
Pal	,106	,135	,087	,067	,107	,143	,108	,109	,125	,130	,204	,131	,079	,138	,061	,060	,035	,096	,000						
Grè	,077	,115	,068	,049	,079	,112	,090	,093	,090	,114	,189	,128	,090	,142	,115	,094	,028	,103	,059	,000					
Tur	,137	,175	,127	,106	,140	,173	,149	,152	,151	,174	,249	,184	,139	,196	,129	,129	,048	,155	,072	,061	,000				
Esp1	,081	,094	,101	,109	,082	,071	,098	,101	,063	,104	,141	,132	,141	,150	,210	,171	,145	,141	,169	,118	,170	,000			
Alm	,111	,150	,107	,089	,114	,144	,128	,131	,120	,152	,224	,167	,131	,182	,147	,133	,052	,145	,086	,041	,043	,129	,000		
Cor	,187	,217	,169	,149	,189	,225	,190	,191	,207	,211	,284	,209	,156	,214	,097	,127	,099	,173	,082	,127	,092	,244	,131	,000	
Ira	,131	,157	,111	,092	,132	,167	,131	,132	,151	,151	,224	,148	,095	,153	,049	,068	,058	,112	,027	,084	,082	,196	,106	,061	,000

- Analyse par Composante Principale (ACP)

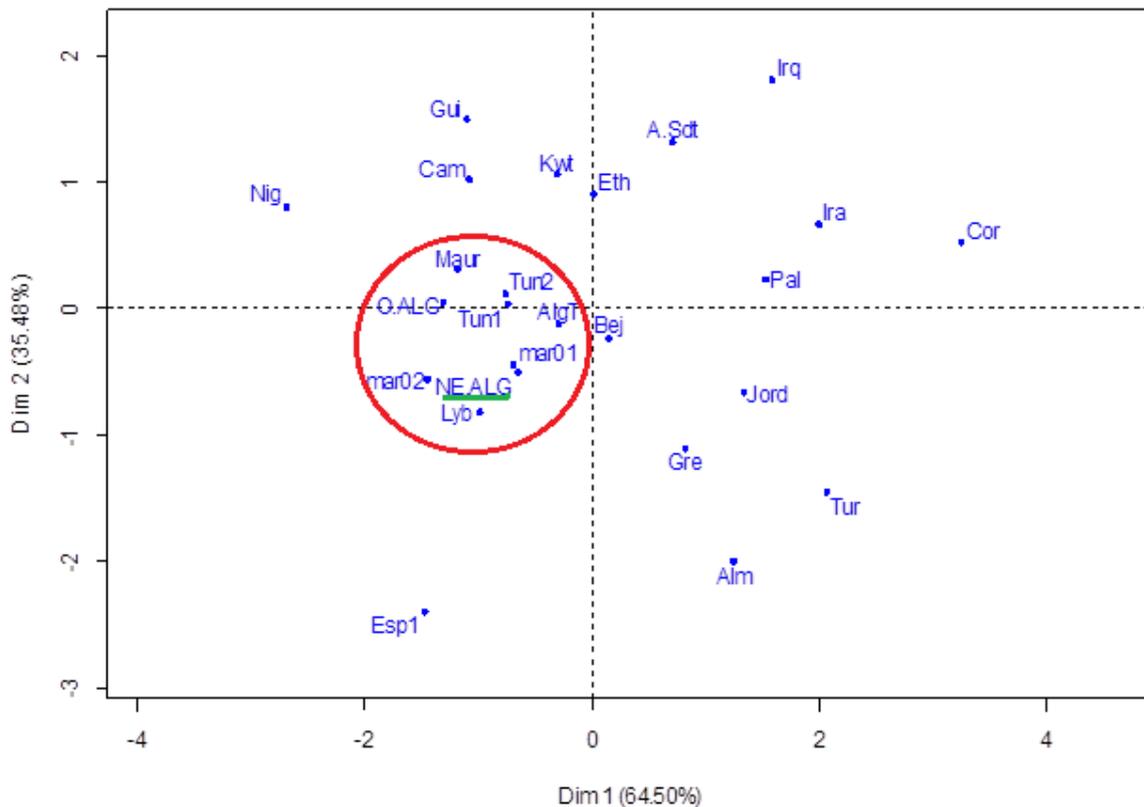


Figure 5.8 Analyse en Composante Principale de la distribution des allèles ABO.

Cette analyse a été réalisée avec toutes les populations mentionnées sur le tableau 5.6. Elle montre une variabilité globale de 99,98%, la première composante représente 64,50% de la variation, et 35,48 % pour le deuxième facteur.

On constate que le premier facteur est corrélé négativement avec l'allèle *O*, plus la population exprime cet allèle plus elle a un score bas sur l'axe 1 et par conséquent elle est positionnée à gauche. Par contre l'allèle *A* est corrélé positivement avec l'axe 1 et négativement avec l'axe 2, donc les populations qui expriment fortement cet allèle sont positionnées à droite en bas.

L'axe 1 oppose essentiellement les populations Maghrébines et Subsahariennes, des populations du Moyen-Orient, Européennes (Allemagne, Grèce, et Turquie), et de la Corée d'autre part.

L'allèle *B* est corrélé positivement avec l'axe 2 et les populations ayant une fréquence élevée de cet allèle se trouvent à droite. Cet axe oppose essentiellement les populations Subsahariennes et du Moyen-Orient, des populations Européennes, nos populations Magrébine occupent une position centrale entre ces deux composantes par rapport à cet axe.

Les populations maghrébines présentent une certaine homogénéité génétique par rapport aux autres populations confirmées par leur groupement en grappe de neuf populations (entourées en rouge), où la position génétique de notre population d'étude est bien corrélée à sa situation géographique, proche des autres populations Algériennes et au sein de ses voisins maghrébins.

Ce diagramme de dispersion montre que l'allèle *O* est un marqueur des populations Maghrébines et Subsahariennes, alors que l'allèle *B* est plus fréquent dans les populations du Moyen-Orient, et l'allèle *A* est prédominant chez les Européens.

- La classification ascendante hiérarchique

L'interprétation du Dendrogramme (Figure 5.9), obtenue à partir de la matrice des fréquences alléliques des populations retenues sur le tableau 5.6, a permis de mieux remarquer les contrastes entre les populations qui sont réparties en 03 groupes :

Le premier groupe : est composé des populations Maghrébines et Subsahariennes, et subdivisé en deux sous-groupes :

- Les populations Subsahariennes, Cameroun (Cam), Guinée (Guin), Nigeria(Nig) et l'Ethiopie(Eth), avec le Kuweit (Kwt).
- Toutes les populations Algériennes (O.Alg, NE.Alg, AlgT et Bej) et Maghrébines, Tunisiennes (Tun1 et Tun2), Marocaine (Mar1), Marocaine de Sousse (Mar2), Libye (Lyb), et Mauritanie (Maur) et la population Espagnole (Alpajurras. Esp).

Le deuxième groupe : est composé des populations Européennes, Turque (Tur), Allemande (Alm) et Grecque(Gre) et de la population Jordanienne (Jor).

Le troisième groupe : est composé des populations du Moyen-Orient, Irak (Irq), Iran (Ira), Palestine (Pal) et Arabie Saoudite (ASdt), et de la population Coréenne (Cor).

Cette répartition présente une très grande cohérence avec la localisation géographique à l'exception des populations Koweïtienne dans le premier groupe, et Jordanienne dans le deuxième groupe. Notre population d'étude située au sein des populations Maghrébines et plus proche des populations Subsahariennes par rapport aux populations Asiatiques et Européennes.

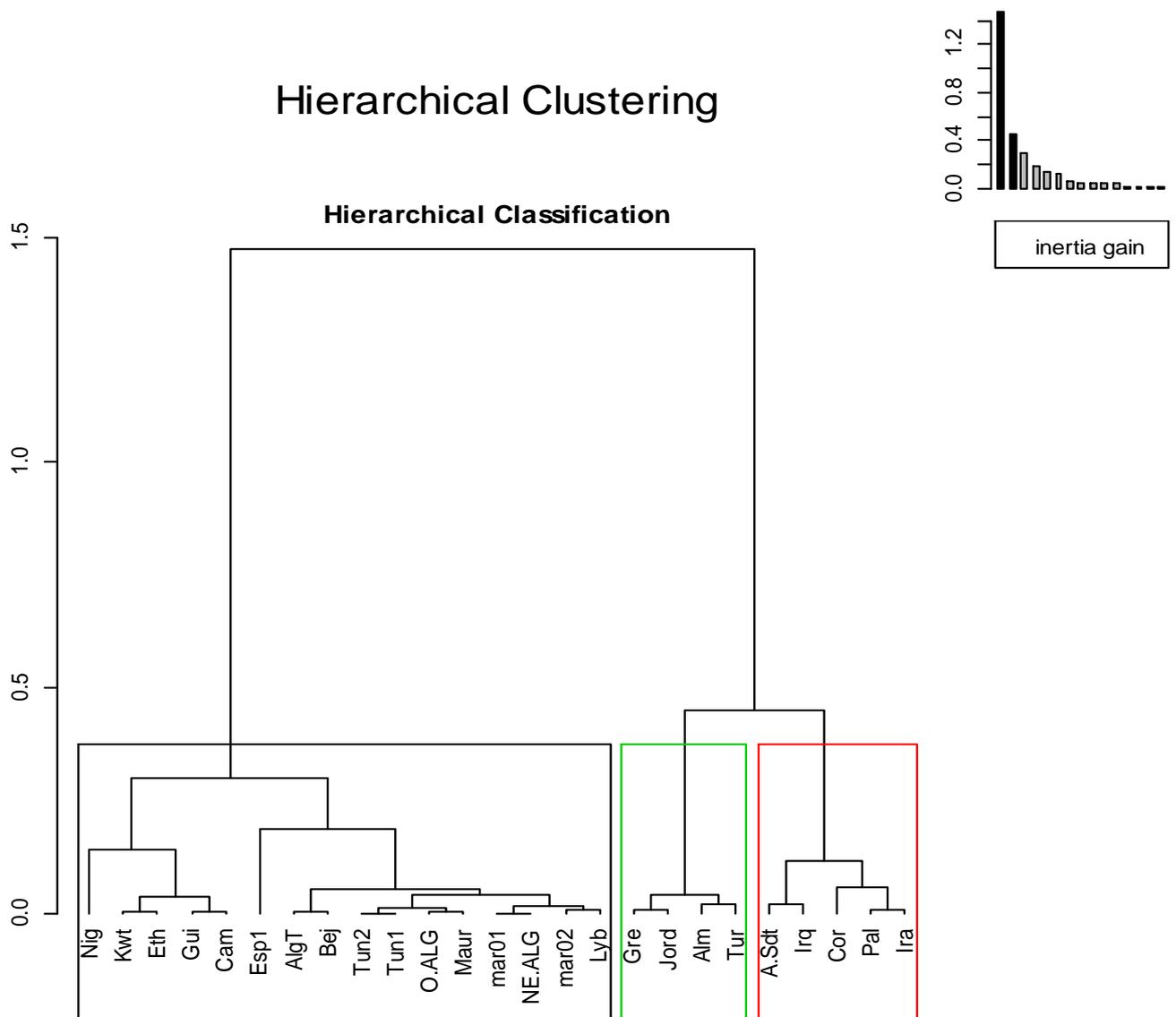


Figure 5.9 Classification Hiérarchique Ascendante des populations en fonction des fréquences alléliques ABO.

5.1.2 Discussion

Dans cette première partie de notre étude, nous avons déterminé les fréquences phénotypiques et alléliques du système ABO dans la population du Nord-Est Algérien.

Notre échantillon se compose majoritairement par des hommes avec un sexe ratio H/F de 4,33, expliqué par le fait que nous recevons plus de donneurs hommes que de femmes, et la tranche d'âge la plus représentée est celle entre 37 à 45 ans (44,54%).

Les fréquences des phénotypes ABO dans notre population d'étude sont concordantes avec les fréquences nationales ⁽²⁴⁴⁾, de 22,34% à 41,14% pour le phénotype A (33,47% dans notre étude), de 12,5% à 25,21% pour le phénotype B (15,93% dans notre étude), de 1,58% à 8,98% pour le phénotype AB (4,28% dans notre étude) et de 35,95% à 56,15% pour le phénotype O (46,32% dans notre étude). Même constatation pour les fréquences des allèles ABO, qui s'insèrent toujours dans les intervalles des variations nationales ⁽²⁴⁴⁾, de 0,1315 à 0,2721 pour l'allèle A (0,2112 dans notre étude), de 0,0849 à 0,1615 pour l'allèle B (0,1068 dans notre étude), et de 0,6054 à 0,7388 pour l'allèle O (0,6820 dans notre étude), avec prédominance de l'allèle O, suivie de l'allèle A, et l'allèle B est le moins fréquent.

L'étude des écarts entre les fréquences phénotypiques observées et attendues a montré que notre population est en équilibre de Hardy Weinberg, avec un Khi-2 de 1.664, inférieur à la valeur seuil estimée à 3.84. Cela veut dire qu'il y a une stabilité de la composition génétique de notre population d'étude, et que les fréquences alléliques ABO seront inchangées à la génération suivante.

La répartition de notre population en trois groupes en se basant sur le rapprochement géographique des wilayas, n'a pas démontré de grandes différences dans la distribution des fréquences phénotypiques ni des fréquences des allèles ABO entre ces trois groupes de populations, qui étaient semblables, et qui ont montrés des résultats toujours similaires aux intervalles des variations nationales ⁽²⁴⁴⁾.

Le groupe 01(G01) : Annaba, Taref, Skikda, Guelma et Souk-Ahras.

Le groupe 02(G02) : Constantine, Mila, Oum Bouaghi, Batna, Tébessa et Khanchla.

Le groupe 03(G03) : Sétif, Jijel, Bejaia, Msila et Bordj Bou Arreridj.

Tandis que l'ordre des fréquences des phénotypes et des allèles étaient conservés chez les trois groupes de populations $O>A>B>AB$ pour les phénotypes, et $O>A>B$ pour les allèles.

La comparaison des fréquences alléliques ABO de notre population du Nord-Est Algérien avec d'autres populations Algériennes, Maghrébines, et mondiales a montré des différences significatives dans les fréquences des allèles ABO avec la majorité des populations sélectionnées pour la comparaison.

En comparant notre population avec d'autres populations algériennes nous constatons qu'il n'y a pas de différence significative enregistrée avec la population Ouest-Algérienne⁽⁸⁷⁾, par contre une différence significative a été enregistrée avec la population de Bejaia⁽²⁴⁵⁾ (Bej) et la population Algérienne globale⁽²⁴⁴⁾ (AlgT). Avec une p- value entre (0.05 et 0.001) pour les deux populations.

En ce qui concerne les populations Maghrébine, pas de différence significative enregistrée avec l'une des populations Marocaines⁽²⁴⁶⁾ (Mar1) et libyenne⁽²⁴⁹⁾ (Lib) avec une (p-value >0.05), en revanche, des différences très hautement significatives (p<0.001) ont été enregistrées avec l'autre population Marocaine étudiée⁽²⁰²⁾ (Mar2), les deux populations Tunisiennes (Tun1⁽²⁴⁷⁾ et Tun2⁽²⁴⁸⁾) et la population Mauritanienne⁽²⁵⁰⁾ (Maur).

Des différences très hautement significatives de la répartition des fréquences des allèles ABO ont été observées avec les populations Africaines, moins prononcées avec l'Ethiopie⁽²⁵³⁾ (P entre 0.001 et 0.01), même constatation qu'avec les populations Moyen-Orientales et Européennes où les différences sont très hautement significatives avec notre population, moins remarquée avec la Palestine⁽²⁵⁸⁾ (Pal) et l'Espagne⁽²⁶¹⁾ (Esp1) (P entre 0.05 et 0.01)

L'allèle *O* est le plus fréquent des allèles ABO dans toutes les populations étudiées, cet allèle est plus fréquent dans les populations Africaines en général (Maghrébines et Subsaharienne) que dans les populations du Moyen-Orient et Européennes, à

l'exception de la population Espagnole⁽²⁶¹⁾ qui a enregistré une fréquence équivalente à celle des populations du Nord Afrique. La fréquence la plus élevée de cet allèle a été enregistrée dans la population Nigérienne⁽²⁵¹⁾ (Nig) et la plus basse chez les Coréens⁽²⁶²⁾ (Cor).

L'allèle *A* contrairement à l'allèle *O*, est plus fréquent dans les populations Européennes, essentiellement l'Allemagne (0.2948) et la Turquie (0.2982), des fréquences élevées ont été aussi enregistrées en Corée (0,272) et en Jordanie (0,2607), et la fréquence la plus basse de cet allèle a été enregistrée chez les Nigériens (0.13).

Quant à l'allèle *B*, il prédomine dans les populations du Moyen-Orient et Africaines ou sa fréquence peut dépasser celle de l'allèle *A*, que dans les populations Maghrébines et Européennes, sa fréquence la plus élevée est enregistrée en Irak⁽²⁵⁵⁾ (0.2064) et la plus basse en Espagne⁽²⁶¹⁾ (0.041).

En analysant les résultats de la distribution des fréquences des allèles ABO dans ces différentes populations Algériennes, Maghrébines, Subsahariennes et Européennes, nous concluons que notre population d'étude Nord-Est Algérienne est fidèle à sa localisation géographique, au sein des autres populations Algériennes et Maghrébines, en occupant une position intermédiaire entre les populations Subsahariennes et du Moyen-Orient d'une part et les populations Européennes d'autre part en ce qui concerne l'expression de l'allèle *B*, qui présente un gradient de fréquence croissant nord - sud.

Tandis que la distribution des fréquences de l'allèle *O*, garde toujours la position de notre population d'étude au sein des populations Algériennes et Maghrébines, et oppose les populations Africaines (Subsahariennes et Maghrébines) aux populations Européennes et du Moyen-Orient. Enfin la répartition des fréquences de l'allèle *A*, situe les populations Maghrébines et du Moyen-Orient en position intermédiaire entre les populations Africaines et Européennes.

Une grande similitude entre notre population d'étude du Nord-Est Algérien est observée avec les autres populations Algériennes et Maghrébines et même si des

différences sont observées, elles restent insignifiantes comparées avec les autres populations Africaines et mondiales.

Les ressemblances observées entre notre population d'étude et les populations Subsahariennes dans l'expression de l'allèle *O*, sont en relation avec une contribution génétique Africaine dans notre population, résultant des contacts entretenus entre ces populations à partir des routes du commerce développées dans cette région.

D'un autre côté, les conquêtes islamiques entre le 7^{ième} et le 11^{ième} siècle, accompagnées par des flux migratoires de la péninsule Arabique vers le nord de l'Afrique, est le principal vecteur de la composante génétique Arabe et Moyen-Orientale développée chez notre population.

Notre population est un grand creuset entre les populations déjà citées et les populations euro-méditerranéennes essentiellement envahissantes, mais aussi compte tenu des échanges économiques effectués avec l'autre rive de la Méditerranée, qui est à l'origine de la composante génétique Européenne de notre population d'étude.

La localisation géographique de notre population d'étude et les différents mouvements démographiques qu'a connus l'Afrique du Nord, ont facilités tout au long de l'histoire le brassage avec des populations originaires d'Afrique Subsaharienne, d'Europe, et du Moyen Orient, et a contribué à la détermination de l'identité génétique de la population Algérienne en général et du Nord-Est Algérien en particulier.

5.2 Étude génétique

Cette partie traite les caractéristiques sociodémographiques de l'échantillon génétique ainsi que les résultats de l'étude du génotype ABO par biologie moléculaire dans la population du Nord-Est Algérien, et une étude comparative avec d'autres populations.

5.2.1 Résultats

5.2.1.1 Description de l'échantillon génétique

L'étude génétique par biologie moléculaire a concerné 117 donneurs de sang, tous originaires des wilayas du Nord-Est Algérien. L'âge moyen de notre échantillon est de 36.02 ans avec des extrêmes de 19 à 52 ans, la tranche d'âge la plus représentée est entre 37 à 45 ans (Figure 5.10). L'échantillon est composé de 101 hommes soit (86.32%) et 16 femmes soit (13.68%), avec un sex ratio H/F de 6.31 (Figure 5.11). Le phénotype A est présent chez 39 sujets, 20 sujets sont de phénotype B, 06 individus AB et le phénotype O est présent chez 52 sujets.

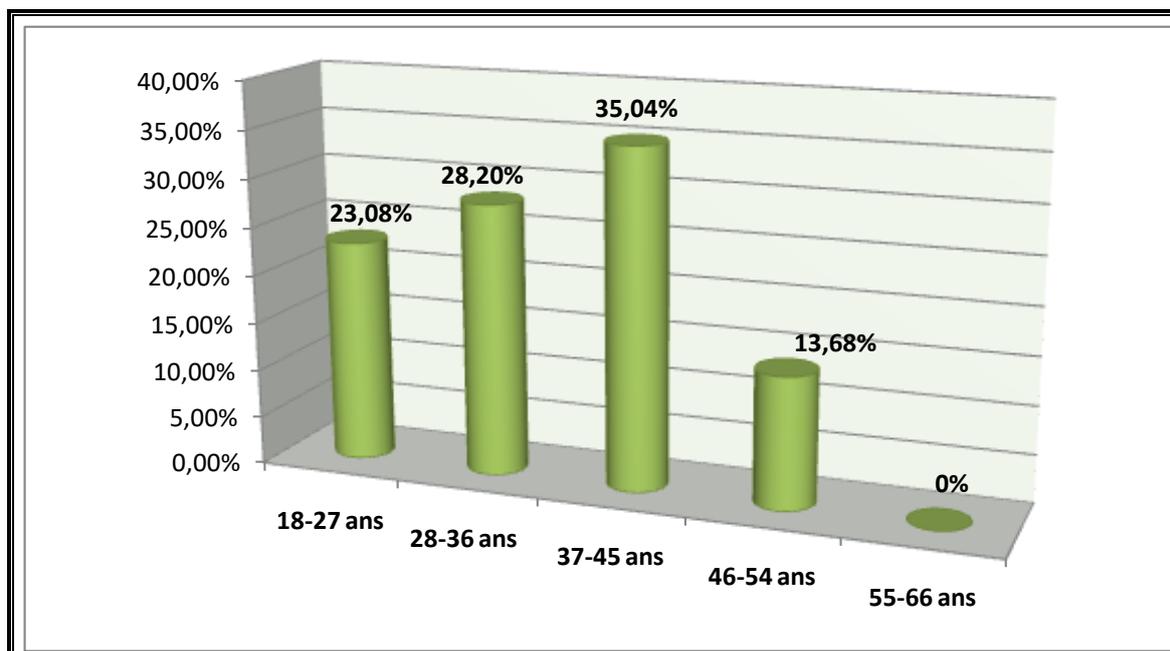


Figure 5.10 Répartition de l'échantillon de l'étude génotypique selon l'âge.

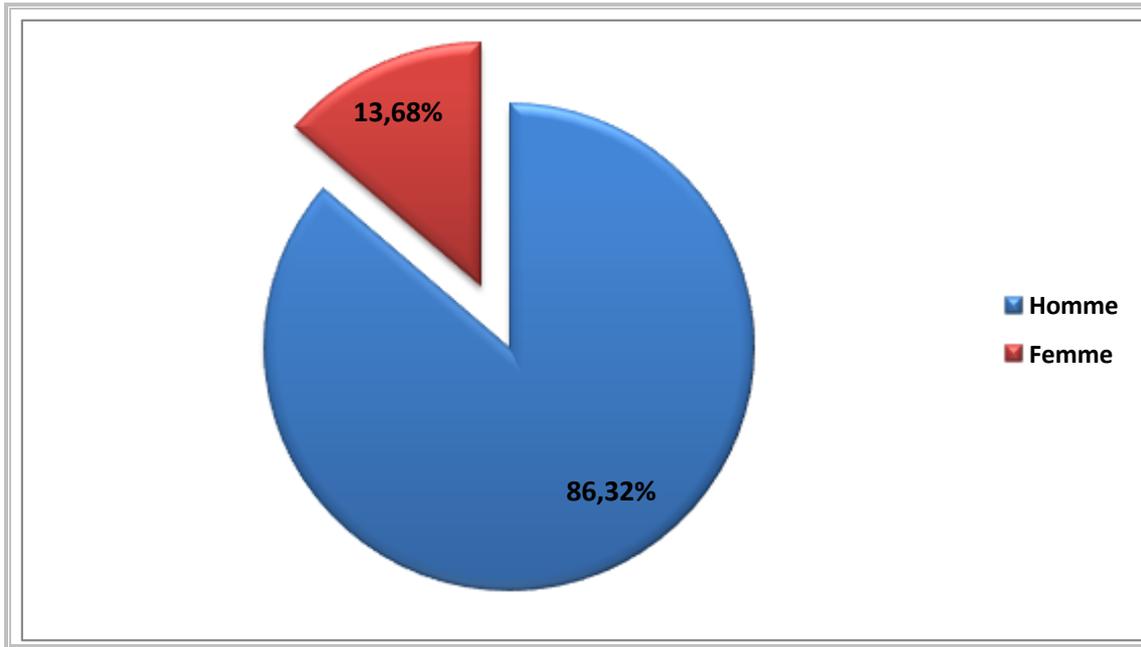


Figure 5.11 Répartition de l'échantillon de l'étude génotypique selon le sexe.

5.2.1.2 Fréquence des génotypes ABO dans le Nord-Est Algérien déterminées par biologie moléculaire

L'analyse par PCR-SSP multiplex, en se basant sur 08 réactions de PCR indépendantes utilisant en plus du contrôle interne, 08 amorces à la recherche des génotypes ABO courants (Figure 5.12), et 08 autres réactions de PCR qui utilisent aussi en plus du contrôle interne, plusieurs couples d'amorces à la recherche des variants ABO rares.

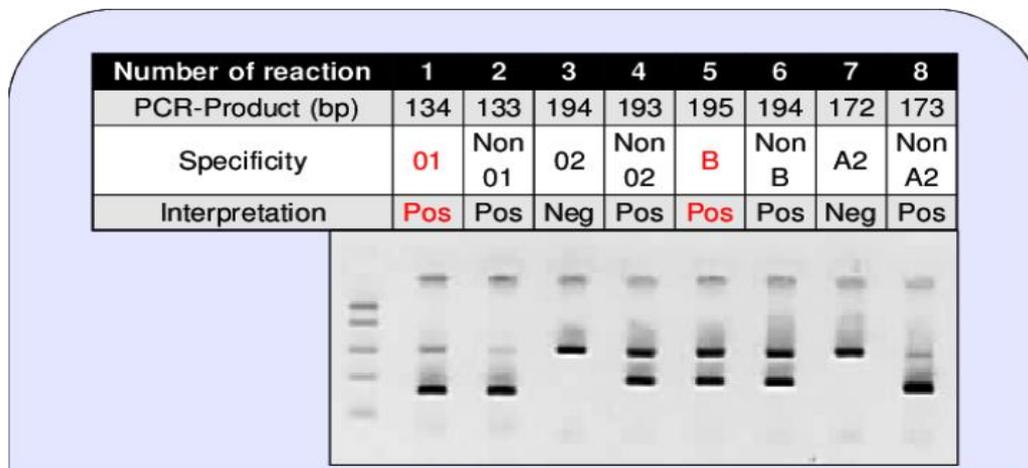


Figure 5.12 Profil électrophorétique des génotypes ABO (le génotype est O₁B)⁽²⁷¹⁾.

Les fréquences observées suite à l'étude des génotypes ABO par biologie moléculaire sur la population du Nord-Est Algérien présentées sur le tableau 5.8, sont A_1A_1 (5.99%), A_1A_2 (4.27%), A_1O_1 (11,12%), A_1O_2 (1,71%), A_2O_1 (7,7%), les génotypes A_2A_2 , A_2O_2 , et O_2O_2 , n'ont pas été détectés dans cette étude, par contre A^*O_1 (2,56%), A^* correspond à des allèles A autres que A_1 et A_2 qui vont être étudiés en détail lors de la discussion de l'étude génétique. Pour le groupe B le génotype BB représente (1.71%) des génotypes, BO_1 (14.53%), BO_2 (0.85%). Concernant le groupe AB le génotype A_1B représente (4.27%) et A_2B (0.85%) de tous les génotypes. Enfin les génotypes O_1O_1 (35,90%), O_1O_2 (8,54%) alors qu'aucun génotype O_2O_2 n'a été mis en évidence dans cette étude.

A partir de ces résultats, on constate que dans notre population d'étude le génotype O_1O_1 est le plus fréquent, suivi par les génotypes BO_1 et A_1O_1 , alors que les génotypes les moins fréquents détectés sont les génotypes O_2B et A_2B .

Dans notre étude 43,6% des individus sont homozygotes pour les allèles étudiés, dont 5.99% A_1A_1 , 1,71% BB et 35,90 % O_1O_1 . Alors que 56,4% sont hétérozygotes.

Tableau 5.8 Fréquences des génotypes ABO déterminées par biologie moléculaire :

Phénotypes	N	Génotypes	n	%
A	39	A_1A_1	07	5.99
		A_1A_2	05	4.27
		A_1O_1	13	11.12
		A_1O_2	02	1.71
		A_2O_1	09	7.7
		A_2O_2	00	00
		A_2A_2	00	00
		A^*O_1	03	2,56
B	20	BB	02	1.71
		BO_1	17	14.53
		BO_2	01	0.85
AB	06	A_1B	05	4.27
		A_2B	01	0.85
O	52	O_1O_1	42	35.90
		O_1O_2	10	8.54
		O_2O_2	00	00
Total	117	Total	117	100

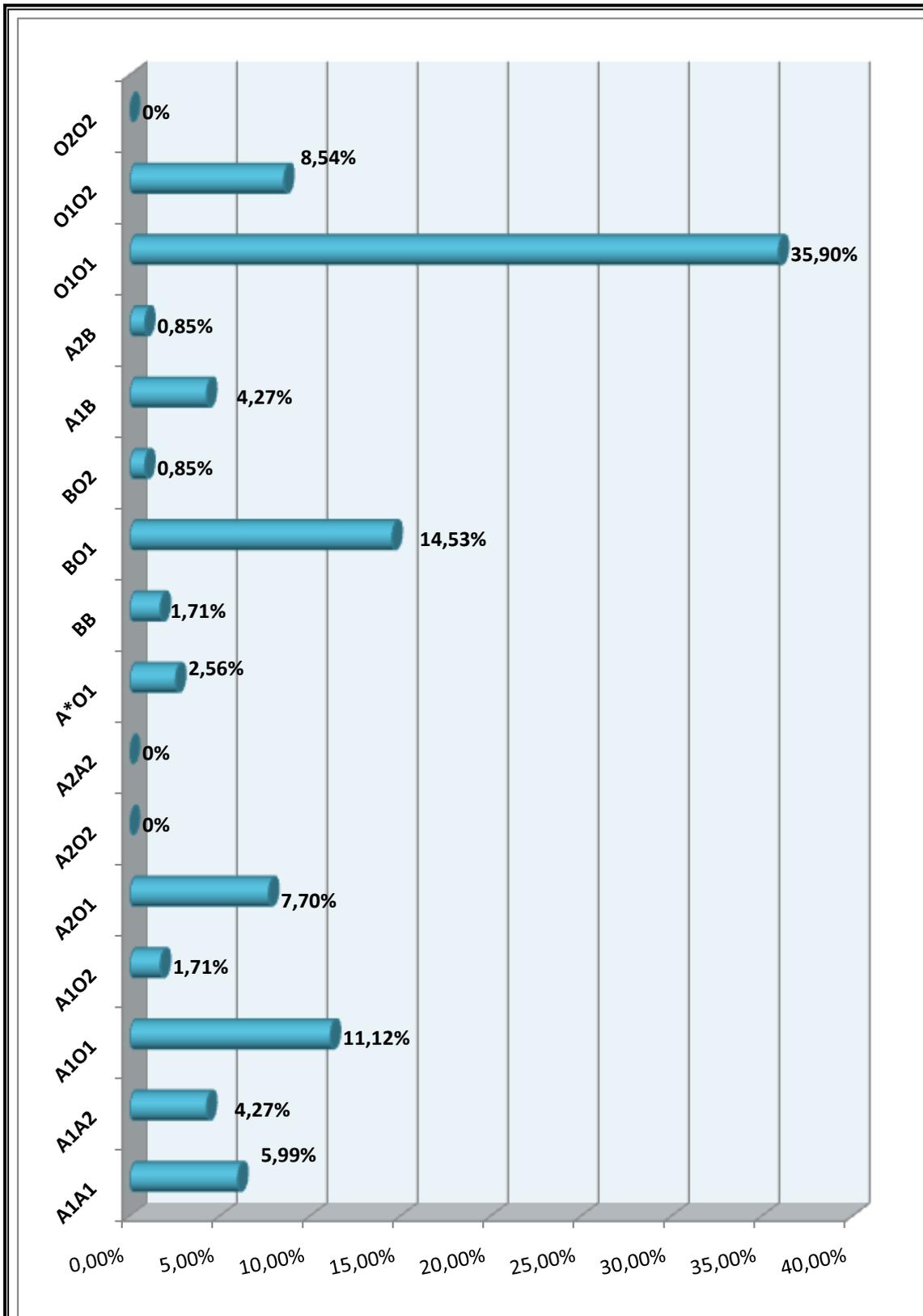


Figure 5.13 Répartition des génotypes dans la population du NE-Algérien selon les allèles ABO

Dans notre population d'étude, la fréquence du génotype *AA* est estimée à 10.26%, *AO* (23,08%), le génotype *BB* qui est le moins fréquent des génotypes observés sa fréquence est de 1.71%, (15,38%) pour le génotype *BO*, 5.13% pour *AB*, et 44.44% pour le génotype *OO* le plus fréquent des génotypes observés.

La comparaison entre les génotypes observés et calculés (Tableau 5.9), n'a pas montrée de différence significative avec une $P\text{-value} = 0.512 > 0.05$, donc notre population est en équilibre de Hardy Weinberg.

Tableau 5.9 Fréquences des génotypes observés et calculés.

Génotype	Observés		Calculés	
	N	%	N	%
<i>AA</i>	12	10.26	5.22	4.46
<i>AO</i>	27	23.08	33.71	28.81
<i>BB</i>	2	1.71	1.33	1.14
<i>BO</i>	18	15.38	17.05	14.57
<i>AB</i>	6	5.13	5.28	4.51
<i>OO</i>	52	44.44	54.41	46.51
Total	117	100	117	100

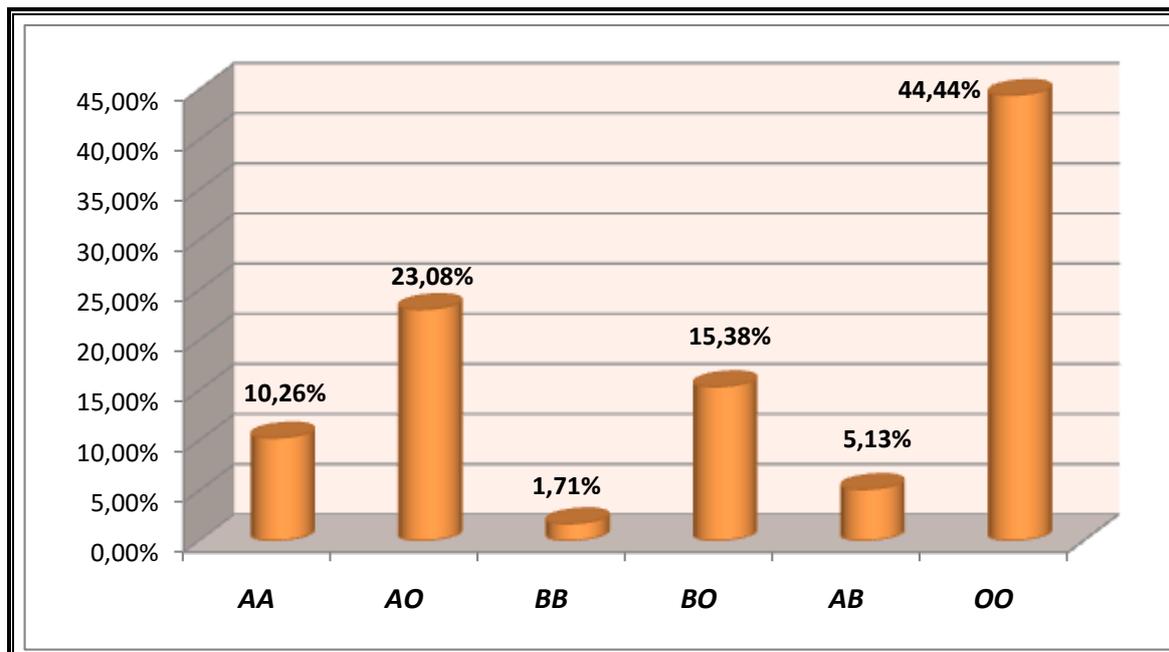


Figure 5.14 Fréquences des génotypes ABO dans la population du NE-Algérien.

5.2.1.3 Fréquence des allèles ABO déterminée par biologie moléculaire

En plus des cinq allèles courants qui ont pu être mis en évidence dans notre étude, ABO^*A_1 , ABO^*A_2 , ABO^*B_1 , $ABO^*O.O_1$ et $ABO^*O.O_2$, d'autres allèles rares ont été rencontrés dans la population du Nord-Est Algérien, essentiellement des variants de l'allèle A (tableau 5.10).

Tableau 5.10 Fréquences des allèles ABO déterminées par biologie moléculaire :

Allèles	N	%
A_1	39	16.67
A_2	15	6.41
A^*	03	1.28
B	28	11.97
O_1	136	58.12
O_2	13	5.55
Total	234	100

Dans notre population d'étude l'allèle O_1 est le plus fréquent (58,12 %), suivi de l'allèle A_1 (16,67%), de l'allèle B (11,97%), puis de l'allèle A_2 (6,41%), et l'allèle O_2 est le moins fréquent (5.55%). En revanche nous avons mis en évidence 03 allèles A autre que A_1 et A_2 . Donc l'ordre de fréquence des allèles identifiés est le suivant : $O_1 > A_1 > B > A_2 > O_2$.

Ces résultats montrent que l'allèle O est largement majoritaire dans cette population avec une fréquence globale de (63,67%), suivie par l'allèle A (24,36%), et enfin l'allèle B le moins fréquent (11,97%).

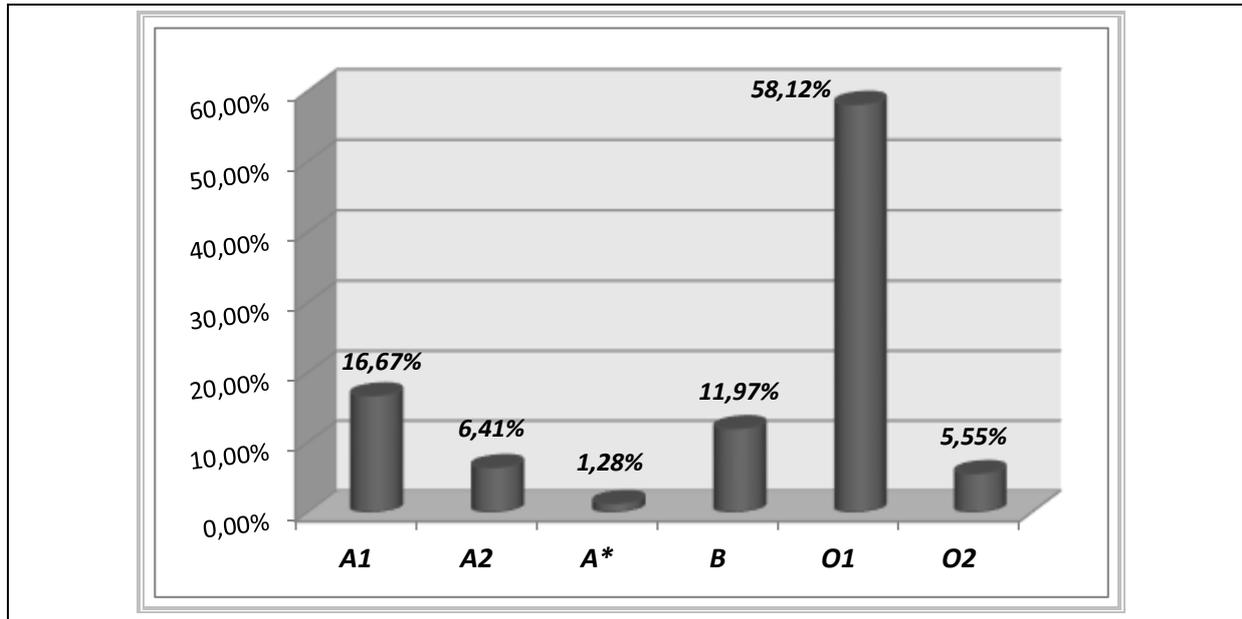


Figure 5.15 Fréquences des allèles ABO déterminées par biologie moléculaire.

5.2.1.3 Comparaison avec d'autres populations

Tableau 5.11 Comparaison des fréquences géniques ABO avec d'autres populations.

Population	N	A ₁	A ₂	B	O ₁	O ₂	Autres	Références
N-E. ALG	117	0.1667	0.0641	0.1197	0.5812	0.0555	0.0128	Présente étude
Mar	69	0.145	0.072	0.145	0.594	0.022	0.022	Fregel R et al. 2005 ⁽²⁶⁴⁾
Mau	30	0.117	0.067	0.133	0.633	0.017	0.033	Fregel R et al. 2005 ⁽²⁶⁴⁾
Sah Occi	66	0.152	0.076	0.152	0.599	0.015	0.008	Fregel R et al. 2005 ⁽²⁶⁴⁾
Kwt	166	0.1296	0.0301	0.1627	0.5603	00	0.1175	Yip S et al. 2006 ⁽²⁶⁵⁾
Chn	834	0.2134	0.0024	0.2086	0.5731	0,0012	0.0012	Zhu F et al. 2010 ⁽²⁶⁶⁾
Alm	113367	0.2063	0.0687	0.095	0.3662	0.2208	0.043	Lang K et al.2016 ⁽¹⁰⁴⁾
Cor	222	0.2725	00	0.1982	0.5293	00	00	Song SH et al. 2006 ⁽²⁶²⁾
Ita	232	0.142	0.023	0.153	0.650	0.015	0.017	Nishimukai et al. 2009 ⁽²⁶⁷⁾
Pol	170	0.223	0.041	0.168	0.544	0.023	00	Umbria M et al. 2014 ⁽²⁶⁸⁾
Esp2	108	0.273	0.019	0.088	0.583	0.037	00	Umbria M et al. 2014 ⁽²⁶⁸⁾
Esp3	165	0.194	0.024	0.027	0.693	0.009	0.052	Fregel R et al. 2005 ⁽²⁶⁴⁾
Ind	201	0.165	0.02	0.2650	0.455	0.095	0.005	Ray S et al. 2014 ⁽²⁶⁹⁾
Jord	150	0.220	0.05	0.130	0.600	0	0	Irshaid et al. 2002 ⁽²⁷⁰⁾

La comparaison des fréquences des allèles ABO de notre population d'étude avec d'autres populations Maghrébines, Africaines et mondiales (tableau 5.11), montre que l'allèle A₁, est moins fréquent chez les populations Maghrébines par rapport aux populations Asiatiques et Européennes. Sa fréquence la plus élevée est enregistrée

dans la population Espagnole⁽²⁶⁸⁾ (Esp2) (27,30%), et Coréenne⁽²⁶²⁾ (27,25%). Alors que la fréquence la plus faible a été enregistrée en Mauritanie ⁽²⁶⁴⁾ (11,70%). Quant à l'allèle A_2 , nos résultats montrent qu'il est généralement plus fréquent chez les Maghrébins par rapport aux populations Asiatiques et Européennes à l'exception de l'Allemagne⁽¹⁰⁴⁾ qui a enregistré la fréquence la plus élevée (6,87%) après le Sahara Occidentale⁽²⁶⁴⁾ (7.6%), et le Maroc⁽²⁶⁴⁾ (7,2%), tandis que la fréquence la plus basse a été enregistrée chez la population Espagnole⁽²⁶⁸⁾ (Esp2) (1,9%), et aucun allèle A_2 n'a été mis en évidence chez la population Coréenne⁽²⁶²⁾ étudiée.

La fréquence la plus élevée de l'allèle O_1 a été enregistrée dans la population Espagnole⁽²⁶⁴⁾ (Esp3) avec (69,30%), la fréquence la moins élevée a été observée chez les Allemands⁽¹⁰⁴⁾ (36,62%), alors que cette population allemande a enregistré une fréquence particulièrement élevée de l'allèle O_2 (22,08%) par rapport aux autres populations ou cet allèle est parfois indétectable, notamment en Corée⁽²⁶²⁾ et au Kuweit⁽²⁶⁵⁾.

- Distances génétiques

L'étude des distances génétiques entre notre population d'étude et les populations choisies pour la comparaison (Tableau 5.12), montre que notre population d'étude est génétiquement très proche des populations maghrébines avec une distance moyenne de (0.064), notamment le Maroc (0.05), le Sahara Occidentale (0.058) et la Mauritanie (0.085), et les populations les plus éloignées sont les populations Européennes avec une distance moyenne de (0.1492) à savoir, la population Allemande (0.277), et Basque (Esp3) (0.165), et la distance moyenne de notre population avec les populations Asiatiques est de (0.1436).

Tableau 5.12 Matrice des distances génétiques selon la distribution des allèles ABO.

	NE,ALG	Mar	Mau	Socc	Kwt	Chn	Alm	Cor	Ita	Pol	Esp2	Esp3	Ind	Jord
NE,ALG	,000													
Mar	,050	,000												
Mau	,085	,051	,000											
Socc	,058	,020	,059	,000										
Kwt	,137	,114	,123	,128	,000									
Chn	,131	,122	,155	,115	,154	,000								
Alm	,277	,313	,350	,323	,322	,332	,000							
Cor	,166	,172	,212	,166	,193	,074	,311	,000						
Ita	,099	,075	,059	,075	,137	,122	,365	,186	,000					
Pol	,093	,103	,149	,098	,153	,067	,281	,076	,137	,000				
Esp2	,122	,153	,181	,151	,205	,141	,299	,129	,163	,105	,000			
Esp3	,165	,172	,152	,176	,211	,225	,398	,256	,147	,215	,160	,000		
Ind	,202	,206	,246	,208	,211	,169	,241	,176	,240	,162	,251	,352	,000	
Jord	,082	,086	,116	,078	,158	,096	,327	,122	,102	,072	,085	,153	,229	,000

- Analyse par Composante Principale

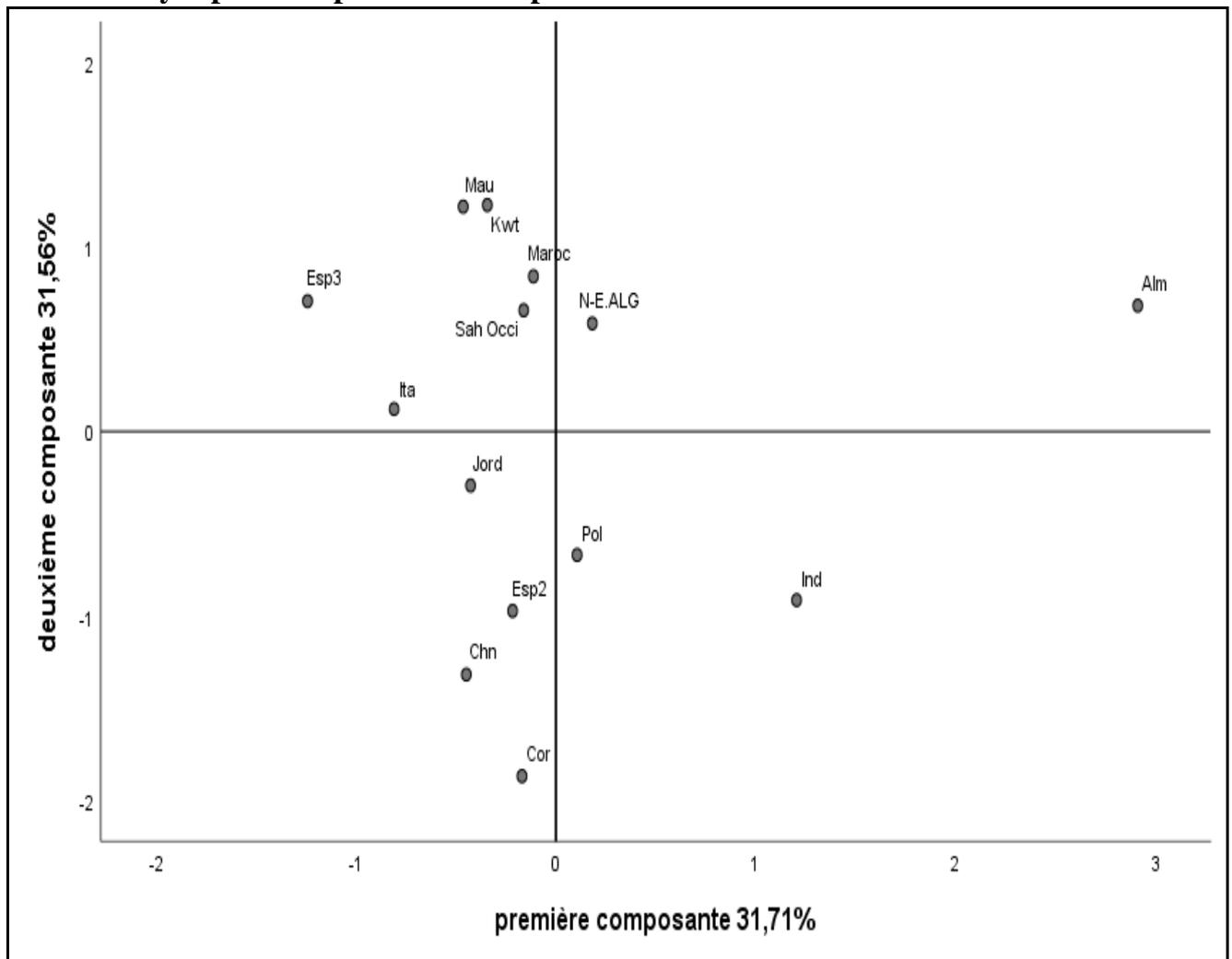


Figure 5.16 Analyse par Composante Principale.

Les résultats de l'ACP présentés sur la (figure 5.16), illustre la comparaison de notre population avec d'autres populations Maghrébines et mondiales, réalisée à partir des fréquences des allèles ABO A_1 A_2 B O_1 O_2 , et autres allèles. Cette étude montre une variabilité globale de 63,27%, et que le premier composant représentant 31,71% de la variation, est principalement déterminé par l'allèle O_2 qui est corrélé positivement à cet axe, mais aussi par l'allèle O_1 qui est corrélé négativement à cet axe, la population qui exprime plus d'allèle O_2 et moins d'allèle O_1 , est positionnée davantage à la droite de ce vecteur, cela a fait que la population Basque (Esp3) est en extrême gauche, vu que c'est la population qui exprime le plus l'allèle O_1 , tandis que la position de la population Allemande qui est à l'extrême droite par rapport à cet axe, et liée essentiellement au fait que cette population exprime une fréquence particulièrement élevée de l'allèle O_2 , et que c'est la population qui présente la fréquence la plus faible de l'allèle O_1 . Cet axe oppose notre population d'étude, avec la population Allemande, Indienne et polonaise aux autres populations étudiées.

La deuxième composante explique 31,56% de la variation, et est corrélée positivement avec l'allèle A_2 , alors que l'allèle A_1 semble avoir une corrélation négative avec le deuxième axe, leur distribution au niveau des populations étudiées explique en grande partie leur positionnement par rapport à cet axe, qui oppose l'ensemble des populations Maghrébines en plus du Koweït regroupées dans la partie positive en haut du deuxième vecteur, aux populations Asiatiques, on constate aussi que l'Allemagne qui exprime fortement l'allèle A_2 , est positionnée au niveau de la partie positive de cet axe, les autres populations Européennes ont pris des positions divergentes de part et d'autre de cet axe, comme l'Italie et la population Basque (Esp3) qui sont positionnées sur la partie positive de cette composante, alors que la population Espagnole (Esp2) et polonaise (Pol) sont positionnées au niveau de la partie négative.

- La classification hiérarchique ascendante

L'analyse du dendrogramme (Figure 5.17) obtenu suite à la classification hiérarchique ascendante, nous a permis de constater le regroupement des populations choisies pour la comparaison en trois clusters essentiels selon leur rapprochement en fonction de la distribution des allèles ABO, à savoir :

- Le premier cluster regroupe l'Italie, le Koweït, la population Basque (Esp3), et l'ensemble des populations Maghrébines.
- Le deuxième cluster regroupe la Pologne, l'Espagne et l'ensemble des populations Asiatiques à l'exception de l'Inde.
- Le troisième cluster regroupe l'Allemagne, et l'Inde.

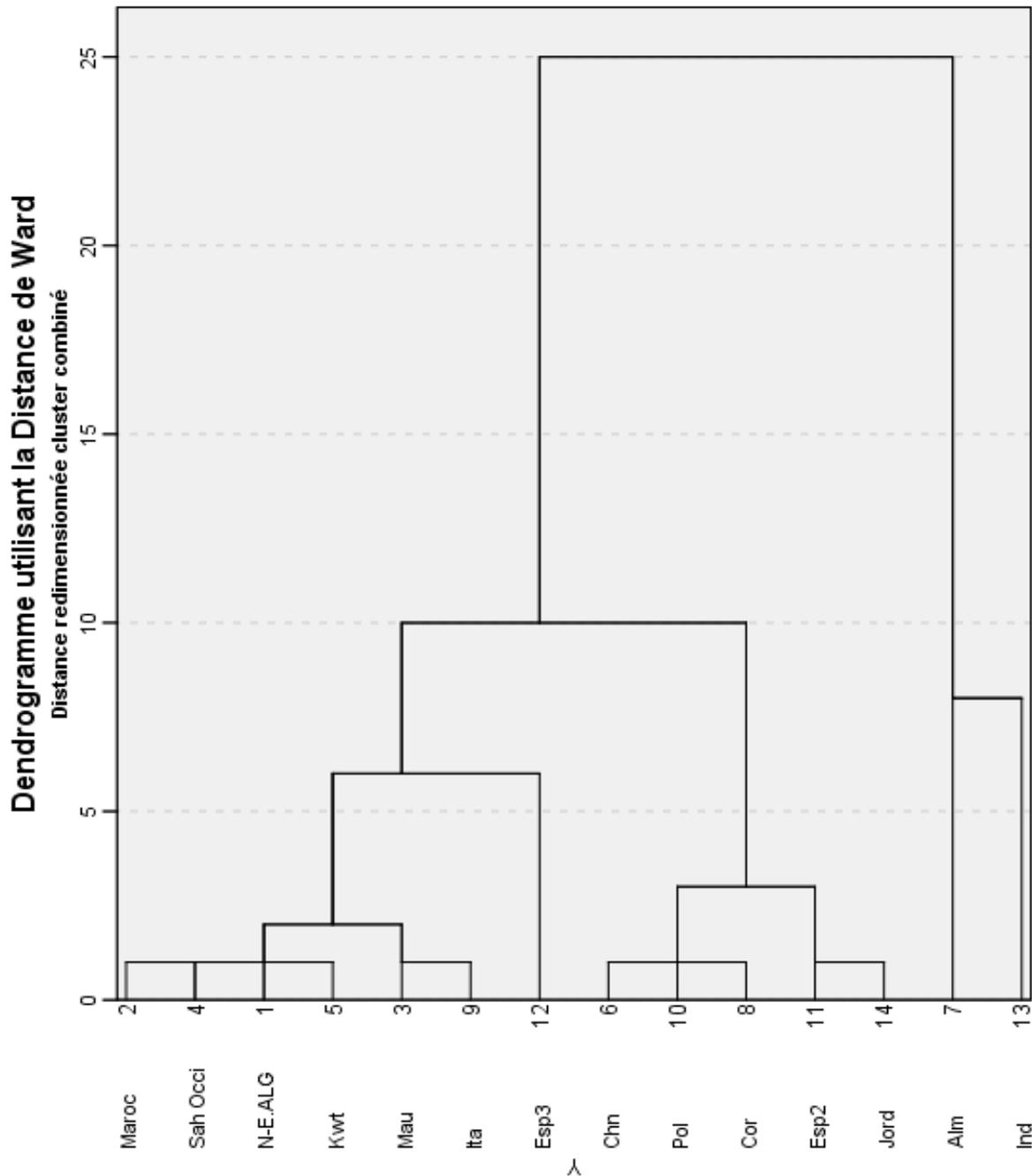


Figure 5.17 Classification Hiérarchique Ascendante de la distribution des allèles ABO.

5.2.2 Discussion

L'étude du polymorphisme génétique ABO par biologie moléculaire au moyen de la technique de PCR-SSP, qui nous a permis de mettre en évidence en plus des allèles A_1 , A_2 , B , O_1 , et O_2 , d'autres variants rares des allèles ABO.

Nos résultats montrent qu'il n'y a pas de différence significative ($p > 0.05$) entre les fréquences des génotypes observées et ceux calculées à partir des fréquences alléliques de l'échantillon sérologique. L'ordre de fréquences des génotypes observées dans notre population est le suivant : $OO > AO > BO > AA > AB > BB$, cela ne concorde pas avec les génotypes observés dans la population de l'Ouest Algérien Deba T⁽⁸⁷⁾, où l'ordre des fréquences était $OO > AO > BO > AB > AA > BB$, et le génotype AA soit (2,23%) était moins fréquent que le génotype AB soit (3%) contre respectivement (10,26%) et (5,13%) dans notre population d'étude. Même constatation avec les autres populations comparées où le génotype AB est plus fréquent que le génotype AA, le Kuweit⁽²⁶⁵⁾ AB (13,86%), AA (3,97%), Palestine⁽²⁵⁸⁾ AB (7,5%), AA (4,5%), en Chine⁽²⁶⁶⁾ AB (8,86%), AA (5,27%), en Pologne⁽²⁶⁸⁾ AB (10,5%), AA (7,1%), en Espagne⁽²⁶⁸⁾ (Esp2) AB (8,3%), AA (7,4%), en Inde ⁽²⁶⁹⁾ AB (10%), AA (03%) et en Jordanie⁽²⁷⁰⁾ AB (14%), AA (05%). Cette constatation est liée en grande partie à la forte fréquence de l'allèle A et la faible fréquence de l'allèle B dans notre population par rapport aux autres populations étudiées, à l'exception de la population Espagnole⁽²⁶⁸⁾ (Esp2) où les deux allèles A et B sont plus fréquents que dans notre population, mais avec plus de génotype AO et OO et AB que AA que dans notre population.

Les fréquences des génotypes observées dans notre population en fonction des allèles ABO déterminés par PCR-SSP, montrent que le génotype O_1O_1 est le plus fréquent et représente (35,90) % des génotypes, cela est lié essentiellement à la grande fréquence de l'allèle O_1 qui dépasse les autres allèles étudiés, alors que le BO_2 et A_2B sont les moins fréquents avec 0,85%, sachant qu'aucun génotype A_2A_2 , A_2O_2 ou O_2O_2 n'a été observé chez notre population d'étude.

Quant aux fréquences des allèles ABO, l'ordre des fréquences est :

$ABO*O1 > ABO*A1 > ABO*B > ABO*A2 > ABO*O2$. En plus de ces allèles, d'autres allèles plus rares ont été mis en évidence, dont l'un est un $ABO*A_{w13}$, le deuxième est aussi un variant de l'allèle A qui est probablement un *Aweak* (à ne pas éliminer un $ABO*A_{3,04}$), le dernier est soit un variant rare de l'allèle A qui n'agglutine pas les sérums anti-A et anti-AB, ou un variant de l'allèle O, le polymorphisme de ces variants sera mieux précisé par le séquençage du gène *ABO*.

- Interprétation des résultats des allèles rares observés dans notre étude

Cas numéro 01 : Il s'agit d'une difficulté de groupage ; la sérologie sur plaque (Figure 5.18) montre une agglutination avec le sérum anti-A presque inaperçue, et d'une façon contradictoire une très faible agglutination avec l'Hématie-A aussi presque invisible, négatif avec le sérum anti-B, fortement positif avec l'Anti-D, et très faible avec le sérum anti-AB, est une positivité normale avec l'hématie-B.

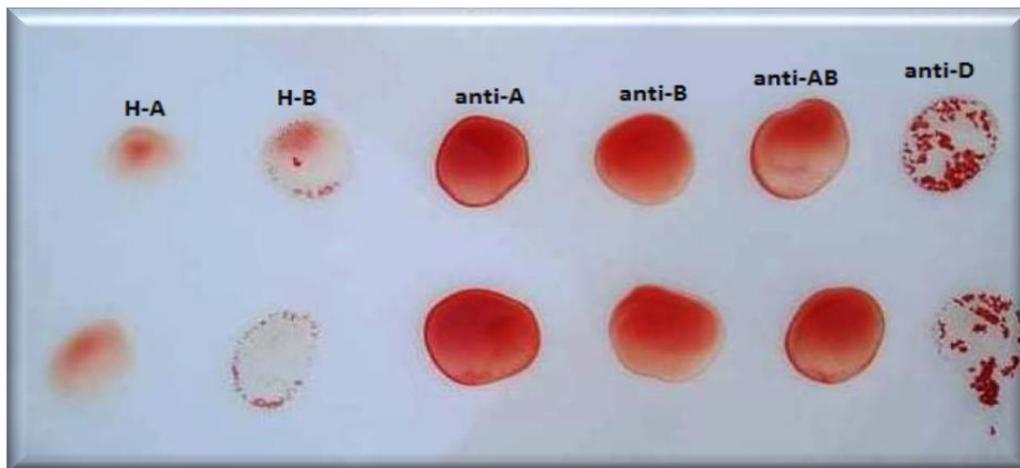


Figure 5.18 Groupage du cas numéro 01 sur plaque en double détermination. (Les agglutinations tellement faibles avec anti-A et hématie-A sont presque invisibles sur photos)

Le même aspect a été observé sur carte gel, avec une faible agglutination avec sérum anti-A et avec l'hématie-A (Figure 5.19).



Figure 5.19 Groupage du cas numéro 01 sur carte gel

Cette intensité d'agglutination est largement plus faible que celle du groupe A_2 , et même plus faible que celle du phénotype A_3 . Il s'agit très probablement d'un variant A faible. Les caractéristiques sérologiques de ce cas confrontées aux caractéristiques sérologiques principales des phénotypes A faible (Tableau 1.3). Oriente vers l'un des phénotypes suivants : A_x , A_{end} , A_{bantou} , A_{finn} (à ne pas éliminer un A_3). Le génotypage par biologie moléculaire a donné le profil suivant :

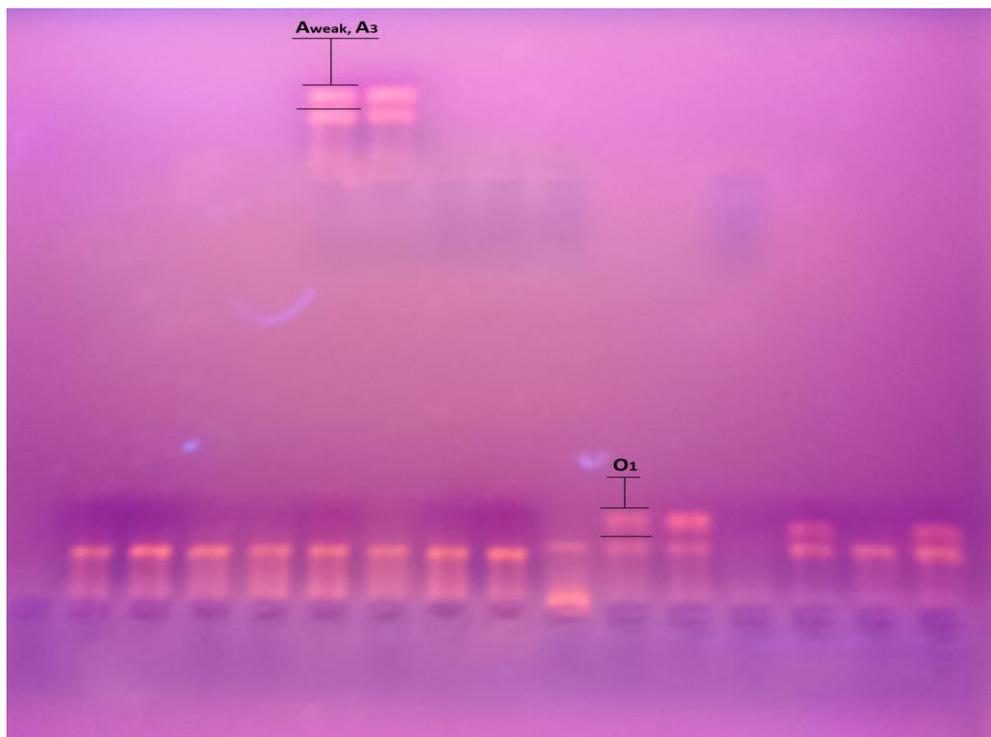


Figure 5.20 profil du génotype du cas numéro 01.

En interprétant le profil de ce sujet on constate que l'un des allèles est un O_1 et l'autre est l'un des allèles suivants :

(ABO^*A_3), ou un (ABO^*A_{Weak}) correspondant à l'un des trois phénotypes suivants (A_3 , A_{weak} , ou A_{Bantu}), et présentant le polymorphisme 1061delC.

Donc en confrontant les résultats de la sérologie avec celles de la biologie moléculaire, on conclut qu'il s'agit très probablement d'un allèle A_{weak} , à ne pas éliminer un allèle A_3 plus précisément un $ABO^*A_{3.04}$.

Cas numéro 02 : concernant cet individu, la sérologie montre un sujet du groupe O sans particularité avec une concordance entre l'épreuve sérique et globulaire. Le donneur est consentant pour l'étude génotypique par biologie moléculaire, et à ce moment-là son génotype (Figure 5.21) montre la présence d'un allèle O_1 avec la présence d'un autre allèle non O_1 et non O_2 , et qu'il s'agit probablement d'un variant rare de l'allèle A responsable d'un phénotype qui n'agglutine pas avec les sérums anti-A et anti-B, ou d'un variant de l'allèle O autre que O_1 et O_2 .

La recherche des allèles rares ABO par biologie moléculaire a montré qu'il s'agit bien d'un allèle A_{weak} et plus probablement un $ABO^*A_{W.13}$ (Figure 25) présentant le polymorphisme 2T>C.

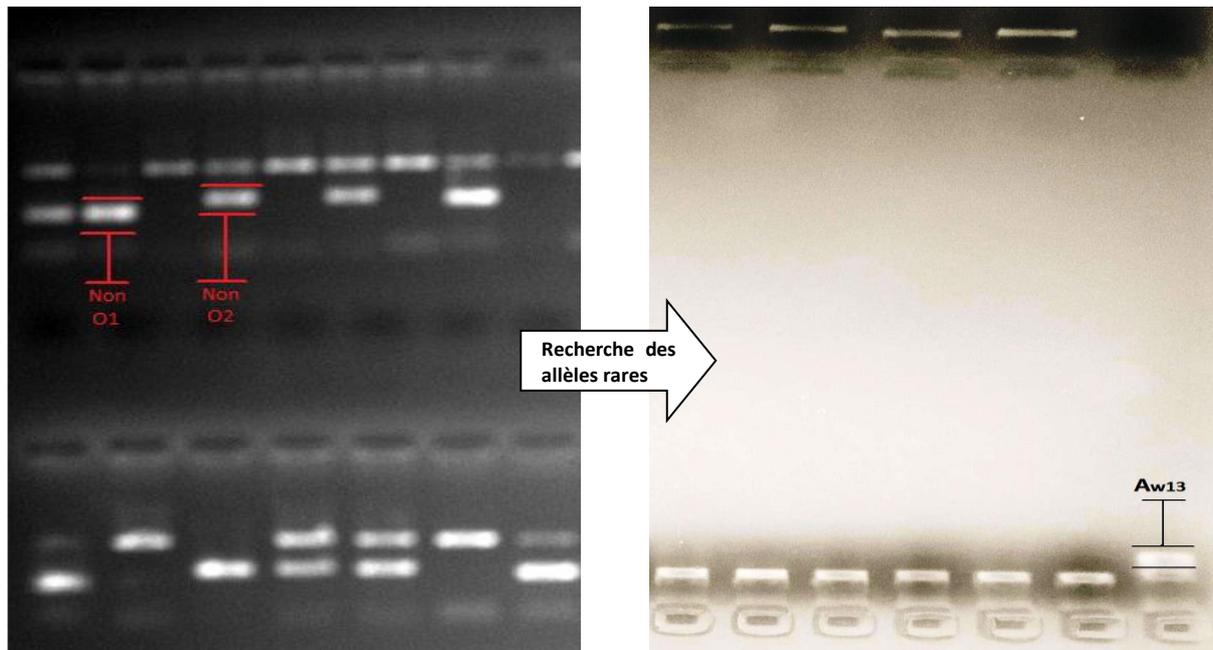


Figure 5.21 Génotype du cas numéro 02 avec la mise en évidence d'un allèle ABO rare.

Cas numéro 03 : il s'agit d'un sujet avec une sérologie qui montre un phénotype O avec une concordance entre l'épreuve sérique et globulaire, et un génotype, qui a permis de mettre en évidence un allèle O_1 et un autre allèle non O_1 , autre que O_2 , A_1 , B et A_2 , et qui présente les polymorphismes suivants : 261G, 802G, 803G, 1061C.

La recherche de certains allèles rares est revenue négative, en confrontant la sérologie à la biologie moléculaire, on a conclu qu'il s'agit soit d'un polymorphisme répertorié mais qui n'est pas détecté par notre réactif, soit d'un polymorphisme spécifique de notre population d'étude qui n'est pas encore répertorié, à rechercher par un séquençage de l'ADN (Figure 5.22).

Il peut s'agir d'un variant rare de l'allèle A responsable d'un phénotype qui n'agglutine pas avec les sérums anti-A et anti-AB, ou un variant de l'allèle O (non O_1 et non O_2), autre que les allèles si-dessous recherchés et revenus négatifs :

Les allèles recherchés et revenus négatifs pour les variants A rares :

*ABO*A_{W.04/11/43}, ABO*A_{EL.02}, ABO*A_{W.30.01/02}, ABO*A_{W.08}, ABO*A_{W.07}, ABO*A_{W.06}, ABO*A_{3.02}, ABO*A_{W.25}, ABO*A_{EL.01}, ABO*A_{EL.08}, ABO*A_{3.01}, ABO*A_{W.13}, ABO*A_{W.05}, ABO*A_{2.05}, ABO*A_{W.34}, ABO*A_{2.02}, et ABO*A_{2.03}.*

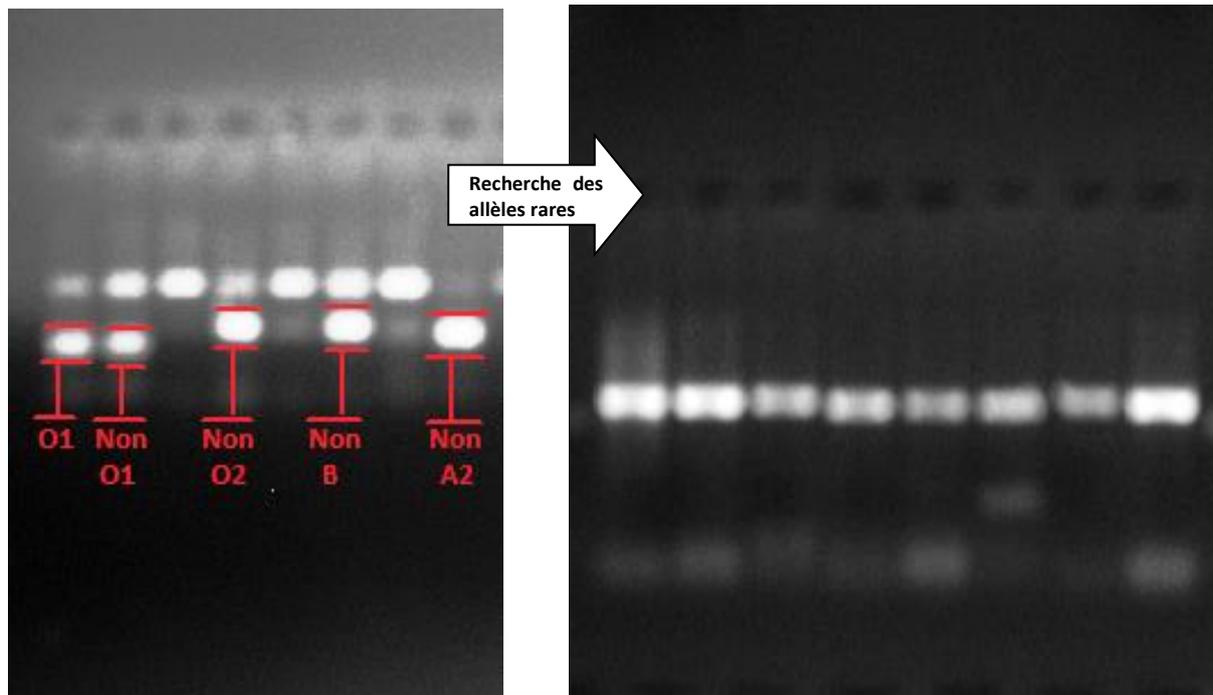


Figure 5.22 Génotype du cas numéro 03 avec la négativité de certains allèles ABO rares.

Les allèles recherchés et revenus négatifs pour les variants O rares :

*ABO*O.01.45(O₄₅)*, *ABO*O.02.04(O₅₀)*, *ABO*O.07(O₁₄)*, *ABO*O.03(O₀₈)*, *ABO*O.08 (O₁₅)*,
*ABO*O.01.23(O₂₃)*.

Le séquençage de l'ADN permettra la confirmation avec précision des polymorphismes des allèles mis en évidence dans les trois cas étudiés.

- Comparaison inter-populationnelle

La comparaison des fréquences des allèles ABO entre les différentes populations mondiales sélectionnées, a montré que l'allèle A_1 est plus fréquent chez les Asiatiques et les Européens par rapport aux populations Maghrébines, sa fréquence la plus élevée est enregistrée chez la population Espagnole⁽²⁶⁸⁾ (Esp2) et Coréenne⁽²⁶²⁾ avec respectivement (27,30%) (27,25%). Alors que la fréquence la plus faible a été enregistrée en Mauritanie⁽²⁶⁴⁾ (11,70%). Quant à l'allèle A_2 , nos résultats montrent

qu'il est généralement plus fréquent chez les Maghrébins par rapport aux autres populations Mondiales (0,076 au Sahara Occidentale⁽²⁶⁴⁾ et 0,072 au Maroc⁽²⁶⁴⁾). Seule la population Allemande⁽¹⁰⁴⁾ a exprimé une fréquence relativement élevée de cet allèle par rapport aux autres populations Européennes (0.0687).

Notre étude montre que l'allèle A_2 semble être un marqueur des populations Maghrébines qui l'expriment avec une fréquence moyenne de (0.0698%), et qui dépasse toutes les fréquences des autres populations sélectionnées pour la comparaison, avec une moyenne d'expression de (0.0351) chez les Européens et de (0.0205) chez les Asiatiques. Et la forte expression de cet allèle explique le fait que les populations Maghrébines occupent une position particulière suite à l'ACP essentiellement par rapport au deuxième axe en comparaison avec les autres populations.

La population Basque⁽²⁶⁴⁾ (Esp3) exprime fortement l'allèle O_1 avec (69,30%), alors que la population Allemande⁽¹⁰⁴⁾ a enregistré la fréquence la plus faible de l'allèle O_1 (36,62%), mais elle a exprimé l'allèle O_2 avec une fréquence exceptionnellement élevée à savoir (22,08%), sachant que l'Inde⁽²⁶⁹⁾ a enregistré la deuxième fréquence la plus élevée de cet allèle et qui n'a même pas dépassé les 10%, à savoir (9,5%). Cet allèle O_2 semble être un marqueur génétique de la population Allemande.

Cette comparaison témoigne que notre population est génétiquement fidèle à sa position géographique, constaté par un faible niveau d'hétérogénéité génétique avec les populations Maghrébines par rapport aux autres populations étudiées, et une distance moyenne de (0.064). La population Marocaine⁽²⁶⁴⁾ est la plus proche de la notre avec une distance génétique de (0.05). Cette constatation a été mieux illustrée par l'ACP (Figure 5.16), qui montre un regroupement des populations Maghrébines, qui ont pris des positions rapprochées par rapport aux deux axes, et les arbres obtenus par classification hiérarchique (Figure 5.17) consolident aussi cette constatation avec des nœuds entre les populations Maghrébines dont les hauteurs sont relativement plus proches.

Alors que les Européens sont les plus éloignés par rapport à notre population, la population Allemande⁽¹⁰⁴⁾ est la plus éloignée de la notre avec une distance génétique de (0.277), suivie par la population Basque⁽²⁶⁴⁾ (0.165) lié aux caractéristiques anthropologiques de ces populations responsables de leur singularité, et marquées par leur forte endogamie, partage de langue unique, de traditions et de religion, avec peu de contacts avec les populations Maghrébines, même résultat observé dans l'étude de Fregel R et al⁽²⁶⁴⁾. contrairement à la population Espagnole⁽²⁶⁸⁾ totale, les populations Italienne⁽²⁶⁷⁾ et polonaise⁽²⁶⁸⁾, cette dernière considérée selon notre étude comme la population européenne la plus proche génétiquement de notre population avec une distance génétique de 0,093, cela est en rapport avec plus de brassage historique de ces trois populations avec les populations Maghrébines, en comparaison avec les populations Basque et Allemande.

La Jordanie⁽²⁷⁰⁾ est la population Asiatique la plus proche de notre population avec une distance génétique de (0.082). Alors que l'Inde⁽²⁶⁹⁾ représente la population Asiatique la plus éloignée de la notre (0.202), essentiellement du fait de sa très forte expression de l'allèle *B* qui dépasse celle de toutes les autres populations étudiées.

Cela montre que les mouvements populationnels et les mixtions entre les populations Maghrébines en général et notre population d'étude en particulier, étaient plus prononcés avec certains pays des continents européen et asiatique par rapport à d'autres pays appartenant aux mêmes continents, ce qui a fait que les distances génétiques ne sont pas parfaitement corrélées aux distances géographiques, mais beaucoup plus à d'autres facteurs historiques comme les colonisations, les échanges commerciaux, les conquêtes Islamique...etc. et cela est bien démontré dans le dendrogramme de la classification hiérarchique ascendante, ou l'éloignement des hauteurs des nœuds entre les populations est la composition des trois groupes constituant cet arbre, n'est pas parfaitement corrélé à l'éloignement géographique, à l'exception du groupe 01 (Figure 5.17) composé des populations Maghrébines en plus de l'Italie, le Koweït et les Basques.

En l'absence d'études génétiques sur les populations subsahariennes et Africaines en général, nous n'avons pas pu positionner notre population d'étude et estimer les distances génétiques par rapport aux populations du continent Africain.

Des variants rares des allèles ABO, autres que les allèles révélés par cette étude (A_1 , A_2 , B , O_1 , O_2), ont pu être mis en évidence dans notre population Nord-Est Algérienne, et la détermination avec précision des bases moléculaires de leurs polymorphismes nécessite un séquençage direct du gène *ABO*.

Conclusion et perspectives

Notre travail consiste en l'étude du polymorphisme génétique ABO par biologie moléculaire sur la population du Nord-Est Algérien, afin de déterminer les fréquences phénotypiques, alléliques, et pour la première fois géniques de ce système dans cette population. Selon nos résultats, le groupe O est le plus fréquent avec 46.32% de la population, et le phénotype AB est le moins fréquent avec 4.28% des individus, l'ordre des fréquences des allèles ABO est $O > A > B$ avec respectivement 0.6820, 0.2112, 0.1068. Alors que l'ordre de fréquence des génotypes ABO déterminés par biologie moléculaire est $OO > AO > BO > AA > AB > BB$ avec respectivement des fréquences de: 44.44% > 23.08% > 15.38% > 10.26% > 5.13% > 1.71%. La comparaison entre les fréquences des phénotypes observés et attendus, et entre les fréquences des génotypes observés et attendus, ont montré que notre population est en équilibre de Hardy Weinberg.

En plus des allèles ABO, A_1 , A_2 , B , O_1 et O_2 mis en évidence par biologie moléculaire, dont les fréquences sont respectivement : 16.67%, 6.41%, 11.97%, 58.12%, 5.55%, trois variants ont été mis évidence, dont deux variants rares de l'allèle A, et un troisième variant qui pourra être un variant de l'allèle A qui ne donne pas d'agglutination avec le sérum anti-A, ou un variant de l'allèle O, le polymorphisme de ces variants sera mieux précisé par séquençage du gène ABO. Dans notre étude aucun des génotypes A_2A_2 , O_2O_2 ou A_2O_2 n'a été mis en évidence.

Ces résultats nous ont permis à la fois d'enrichir nos connaissances sur la diversité génétique à l'échelle de cette région en particulier et à l'échelle nationale d'une manière générale, et de mieux caractériser le patrimoine génétique de notre population. Mais aussi d'estimer les distances génétiques entre notre population d'étude et d'autres populations nationales, Maghrébines, et mondiales.

A travers l'étude comparative avec d'autres populations, nous avons constaté que notre population d'étude est très proche génétiquement des autres populations Algériennes, mais aussi des populations maghrébines, qui en plus du rapprochement géographique, partagent un fonds historique, culturelle et linguistique, avec un héritage religieux musulman pour la grande majorité du peuple de cette région. Les différences génétiques étaient moins prononcées avec les populations Subsahariennes, qu'avec les populations Européennes et Asiatiques, ces distances génétiques ne sont pas toujours bien corrélées aux distances géographiques, et qui sont influencées par d'autres facteurs engendrant plus de mixtions avec certaines populations qu'avec d'autres.

La localisation géographique de notre population aux portes de l'Afrique, et sur la rive sud de la Méditerranée, associé à plusieurs évènements historiques comme les envahissements, les échanges commerciaux, et les conquêtes Islamiques, ont été à l'origine de beaucoup de mouvements et de brassages populationnels qu'a connu notre région, et contribuant ainsi à la complexité et à l'identité génétique de notre population.

Notre travail sera poursuivi, par une étude sur un échantillon plus large, pour mieux estimer les fréquences génotypiques, mettre en évidence plus de variants des allèles ABO, cumuler les connaissances sur la variation génétique de notre population. Et établir les différentes associations entre système ABO et certaines maladies. Un séquençage du gène *ABO* permettrait de mieux préciser le polymorphisme génétique des allèles ABO.

Bibliographie

- [1]. Chiaroni J, Ferrera V, Dettori I, Roubinet F. Groupes sanguins érythrocytaires. EMC - Hématologie. 2005 2005/06/01/;2(2):53-112.
- [2]. Landsteiner K. Agglutination phenomena in normal human blood. Wien Klin Wochenschr. 1901;14:1132-4.
- [3]. Giraud C, Korach J, Andreu G, Lacaze C, Vaicle M. Les bases immunologiques de la transfusion. Transfusion clinique et biologique (Paris). 2002;9(3):163-7.
- [4]. Lefrère J-J, Rouger P. Pratique nouvelle de la transfusion sanguine: Elsevier Masson; 2011.
- [5]. Oriol R, Le Pendu J, Sparkes RS, Sparkes MC, Crist M, Gale RP, et al. Insights into the expression of ABH and Lewis antigens through human bone marrow transplantation. Am J Hum Genet. 1981;33(4):551-60.
- [6]. Bailly P, Chiaroni J, Roubinet F. Les groupes sanguins érythrocytaires: John Libbey Eurotext; 2015.
- [7]. Peumery J-J. Les Origines de la Transfusion Sanguine. I. Brill Rodopi; 1974.
- [8]. Daniels G, Reid ME. Blood groups: the past 50 years. Transfusion. 2010;50(2):281-9.
- [9]. Lefrère J-J, Berche P. Karl Landsteiner découvre les groupes sanguins. Transfusion clinique et biologique. 2010;17(1):1-8.
- [10]. Daniels G. Human blood groups: John Wiley & Sons; 2013.
- [11]. Decastello A, Von Sturli A. Über die isoagglutine im serumgesunder und kranker menschen. Munchen Med Wochenschr. 1902;49:1090-5.
- [12]. Epstein AA, Ottenberg R, editors. Simple method of performing serum reactions. Proc NY Pathol Soc; 1908.
- [13]. Von Dungern E, Hirschfeld L. Ueber Vererbung gruppenspezifischer Strukturen des Blutes, II. Z Immun Exp Ther. 1910;1:284-92.
- [14]. Von Dungern E, Hirschfeld L. Ueber gruppenspezifische Strukturen des Blutes III. Zeitschrift für Immunologische Forschung. 1911;8:526-62.
- [15]. Daniels G. Human blood groups: John Wiley & Sons; 2008.
- [16]. Bernstein F. Ergebnisse einer biostatistischen zusam-menfassenden betrachtung über die erblichen blutstrukturen des menschen. Klinische Wochenschrift. 1924;3(33):1495-7.
- [17]. Bernstein F. Zusammenfassende Betrachtungen über die erblichen Blutstrukturen des Menschen. Z Indukt Abstamm-Vererb lehre. 1925;37(1):223-70.
- [18]. Thomsen O, Friedenreich V, Worsaae E. Über die Möglichkeit der Existenz zweier neuer Blutgruppen; auch ein Beitrag zur Beleuchtung sogenannter Untergruppen. Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica. 1930;7(1-2):157-90.
- [19]. Schiff F, Sasaki H. Der Ausscheidungstypus, ein auf serologischem Wege nachweisbares mendelndes Merkmal. Klinische Wochenschrift. 1932;11(34):1426-9.
- [20]. Morgan WTJ. The Croonian Lecture A contribution to human biochemical genetics; the chemical basis of blood-group specificity. Proceedings of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences. 1960;151(944):308-47.
- [21]. Bhende Y, Deshpande C, Bhatia H, Sanger R, Race R, Morgan W, et al. A "new" blood group character related to the ABO system. Lancet (London, England). 1952;1(6714):903.
- [22]. Allderdice P, Kaita H, Lewis M, McAlpine P, Wong P, Anderson J, et al. Segregation of marker loci in families with an inherited paracentric insertion of chromosome 9. Am J Hum Genet. 1986;39(5):612.
- [23]. Clausen H, White T, Takio K, Titani K, Stroud M, Holmes E, et al. Isolation to homogeneity and partial characterization of a histo-blood group A defined Fuc alpha 1-2Gal alpha 1-3-N-

- acetylgalactosaminyltransferase from human lung tissue. *Journal of Biological Chemistry*. 1990;265(2):1139-45.
- [24]. Yamamoto F-i, Marken J, Tsuji T, White T, Clausen H, Hakomori S-i. Cloning and characterization of DNA complementary to human UDP-GalNAc: Fuc alpha 1-2Gal alpha 1-3GalNAc transferase (histo-blood group A transferase) mRNA. *Journal of Biological Chemistry*. 1990;265(2):1146-51.
- [25]. Yamamoto F-i, Clausen H, White T, Marken J, Hakomori S-i. Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system. *Nature*. 1990;345(6272):229-33.
- [26]. Larsen RD, Ernst LK, Nair RP, Lowe JB. Molecular cloning, sequence, and expression of a human GDP-L-fucose: beta-D-galactoside 2-alpha-L-fucosyltransferase cDNA that can form the H blood group antigen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1990;87(17):6674-8.
- [27]. Szulman AE. The ABH blood groups and development. *Current topics in developmental biology*. 14: Elsevier; 1980. p. 127-45.
- [28]. Szulman AE. The ABH antigens in human tissues and secretions during embryonal development. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 1965;13(8):752-4.
- [29]. Le Pendu J, Lemieux RU, Lambert F, Dalix AM, Oriol R. Distribution of H type 1 and H type 2 antigenic determinants in human sera and saliva. *Am J Hum Genet*. 1982;34(3):402-15.
- [30]. Oriol R. ABO, Hh, Lewis, and secretion. *Molecular Basis of Human Blood Group Antigens*: Springer; 1995. p. 37-73.
- [31]. Mollicone R, Caillard T, Le Pendu J, Francois A, Sansonetti N, Villarroya H, et al. Expression of ABH and X (Lex) antigens on platelets and lymphocytes. *Blood*. 1988;71(4):1113-9.
- [32]. Dunstan RA. Status of major red cell blood group antigens on neutrophils, lymphocytes and monocytes. *British journal of haematology*. 1986;62(2):301-9.
- [33]. Ito N, Hirota T. Histochemical and cytochemical localization of blood group antigens. *Progress in histochemistry and cytochemistry*. 1992;25(2):III-82.
- [34]. Ito N, Tabata S, Kawahara S, Hirano Y, Nakajima K, Uchida K, et al. Histochemical analysis of blood group antigens in human sublingual glands and pancreas. An application of high-performance liquid chromatography to estimate the quantity of galactose liberated from tissue sections by α -galactosidase digestion. *The Histochemical journal*. 1993;25(3):242-9.
- [35]. Economidou J, Hughes-Jones N, Gardner B. Quantitative measurements concerning A and B antigen sites. *Vox sanguinis*. 1967;12(5):321-8.
- [36]. Clausen H, Hakomori Si. ABH and Related Histo-Blood Group Antigens; Immunochemical Differences in Carrier Isotypes and Their Distribution. *Vox sanguinis*. 1989;56(1):1-20.
- [37]. Golovkina L, Kalandarov R, Stremoukhova A, Kalmykova O, Pushkina T, Surin V, et al. Differentiation of the A1 and A2 subgroups of the ABO system: Biological background and serological strategy. *Russian journal of hematology and transfusiology*. 2019;64(4):504–15.
- [38]. Yoshida A, Davé V, Branch DR, Yamaguchi H, Okubo Y. An enzyme basis for blood type A intermediate status. *Am J Hum Genet*. 1982;34(6):919-24.
- [39]. Salmon C, Cartron J, Rouger P. Paternité. *Les groupes sanguins chez l'homme*: Masson Paris; 1991. p. 487-508.
- [40]. Mannessier L, Chiaroni J, Roubinet F, Lejealle A. Les difficultés du groupage sanguin ABO. *Hématologie*. 2002;8(5):370-5.
- [41]. Yamaguchi H. A review of cis AB blood. *Jinrui Idengaku Zasshi*. 1973;18:1-9.
- [42]. Cho D, Kim SH, Jeon MJ, Choi KL, Kee SJ, Shin MG, et al. The serological and genetic basis of the cis-AB blood group in Korea. *Vox sanguinis*. 2004;87(1):41-3.
- [43]. Seyfried H, Walewska I, WERBLIŃSKA B. Unusual inheritance of ABO group in a family with weak B antigens. *Vox sanguinis*. 1964;9(3):268-77.
- [44]. YAMAGUCHI H, OKUBO Y, HAZAMA F. An A2B3 phenotype blood showing atypical mode of inheritance. *Proceedings of the Japan Academy*. 1965;41(4):316-20.
- [45]. Beck ML, Yates AD, Hardman J, Kowalski MA. Identification of a subset of group B donors reactive with monoclonal anti-A reagent. *American journal of clinical pathology*. 1989;92(5):625-9.

- [46]. Voak D, Sonneborn H, Yates A. The A1 (B) phenomenon: a monoclonal anti-B (BS-85) demonstrates low levels of B determinants on A1 red cells. *Transfusion Medicine*. 1992;2(2):119-27.
- [47]. Cameron C, Graham F, Dunsford I, Sickles G, Macpherson C, Cahan A, et al. Acquisition of a B-like antigen by red blood cells. *Br Med J*. 1959;2(5140):29.
- [48]. Daniels G, Bromilow I. *Essential guide to blood groups*: Wiley Online Library; 2014.
- [49]. Gerbal A, Ropars C. L'antigène B acquis. *Revue Française de Transfusion et Immunohématologie*. 1976;19(1):127-44.
- [50]. Berman H, Smarto J, Issitt C, Issitt P, Marsh W, Jensen L. Tn-activation with acquired A-like antigen. *Transfusion*. 1972;12(1):35-45.
- [51]. Salmon C, Cartron J. Le renforcement allélique. *Revue Française de Transfusion et Immunohématologie*. 1976;19(1):145-55.
- [52]. Hrubisko M. Exemple d'une interaction allélique chez l'homme: interaction entre une variante du gène B (Bx ou B20) et A2. *Nouv Rev franç Hémat*. 1968;8:278.
- [53]. Hrubisko M, Mergancová O, Prodanov P, Hammerová T, Racková M. Interallelic competition and complementation in the ABO blood group system. *Immunological communications*. 1980;9(2):139-53.
- [54]. Lopez M, Le Meud J. MESURES D'AGGLUTINATION QUANTITATIVE DES PHENOTYPESB FAIBLES. 1973.
- [55]. Gillespie E, Gold E. Weakening of the B-antigen by the presence of A1 as shown by reactions with Fomes fomentarius (anti-B) extract. *Vox sanguinis*. 1960;5(5):497-502.
- [56]. Downie D, DM D. An evaluation of salmon anti-B reagent in manual and automated blood grouping. 1977.
- [57]. Fernandez-Cabadi Y. Interaction entre allèles normaux A1 ou A2 et B chez l'hétérozygote AB: Étude comparative portant sur des familles européennes et africaines. *Revue Française de Transfusion et Immunohématologie*. 1980;23(6):661-74.
- [58]. Morel P, Watkins W, Greenwell P, editors. GENOTYPE-A1B EXPRESSED AS PHENOTYPE-A2B IN A BLACK-POPULATION. *Transfusion*; 1984: AMER ASSOC BLOOD BANKS 8101 GLENBROOK RD, BETHESDA, MD 20814-2749.
- [59]. Yoshida A. The existence of atypical blood group galactosyltransferase which causes an expression of A2 character in A1B red blood cells. *Am J Hum Genet*. 1983;35(6):1117.
- [60]. Watkins W, Greenwell P, editors. Molecular basis of human red cell antigens. *Proceedings of the 10th International Congress of the Society for Forensic Haemogenetics Schmitt & Meyer, Würzburg*; 1983.
- [61]. Yoshida A. Identification of A1B and A2B blood types in paternity tests. *Transfusion*. 1984;24(2):183.
- [62]. Voak D, Lodge T, Stapleton R, Fogg H, Roberts H. The Incidence of H Deficient A2 and A2B Bloods and Family Studies on the AH/ABH Status of an Aint, and Some New Variant Blood Types (Aint H↓ A1, A2↑ HwA1, A. 2↑ BHA1B and A2↓ BHA2B. *Vox sanguinis*. 1970;19(1):73-84.
- [63]. Lin-Chu M, Broadberry RE, Chiou PW. The B3 phenotype in Chinese. *Transfusion*. 1986 Sep-Oct;26(5):428-30. PubMed PMID: 3765036. Epub 1986/09/01. eng.
- [64]. Ogasawara K, Yabe R, Uchikawa M, Bannai M, Nakata K, Takenaka M, et al. Different alleles cause an imbalance in A2 and A2B phenotypes of the ABO blood group. *Vox sanguinis*. 1998;74(4):242-7.
- [65]. Yoshida A, Dave V, Hamilton H. Imbalance of blood group A subtypes and the existence of superactive B gene in Japanese in Hiroshima and Nagasaki. *Am J Hum Genet*. 1988;43(4):422.
- [66]. Jacques C, Francis R, Pascal B. *Les analyses immunohématologiques et leurs applications cliniques*: John Libbey Eurotext; 2011.
- [67]. Nijenhuis L, Bratlie K. ABO antibodies in twins. *Vox sanguinis*. 1962;7(2):236-8.
- [68]. Grundbacher F. Genetics of anti-A and anti-B levels. *Transfusion*. 1976;16(1):48-55.
- [69]. Springer GF, Horton RE, Forbes M. ORIGIN OF ANTI-HUMAN BLOOD GROUP B AGGLUTININS IN WHITE LEGHORN CHICKS. *Journal of Experimental Medicine*. 1959;110(2):221-44.

- [70]. Owen RD. Heterogeneity of antibodies to the human blood groups in normal and immune sera. *The Journal of Immunology*. 1954;73(1):29-39.
- [71]. Solish G, Gershowitz H, Behrman S. Occurrence and titer of isohemagglutinins in secretions of the human uterine cervix. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1961;108(3):645-9.
- [72]. Bell Jr C, Fortwengler H. Salivary anti-A and anti-B activity of group O males. *Vox sanguinis*. 1971;21(6):493-508.
- [73]. Sokol R, Booker D, Stamps R, Windle J. Autoimmune haemolysis and red cell autoantibodies with ABO blood group specificity. *Haematologia*. 1995;26(3):121-9.
- [74]. Blackler RJ, Gagnon SM, Polakowski R, Rose NL, Zheng RB, Letts JA, et al. Glycosyltransfer in mutants of putative catalytic residue Glu303 of the human ABO (H) A and B blood group glycosyltransferases GTA and GTB proceeds through a labile active site. *Glycobiology*. 2017;27(4):370-80.
- [75]. Hosseini Maaf B. Genetic characterisation of human ABO blood group variants with a focus on subgroups and hybrid alleles: Lund University; 2007.
- [76]. Sébahoun G. *Hématologie clinique et biologique*: Wolters Kluwer France; 2005.
- [77]. Karhi KK, Gahmberg CG. Identification of blood group A-active glycoproteins in the human erythrocyte membrane. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure*. 1980;622(2):344-54.
- [78]. Anstee D, Tanner M. Separation of ABH, I, Ss antigenic activity from the MN-active sialoglycoprotein of the human erythrocyte membrane. *Vox sanguinis*. 1975;29(5):378-89.
- [79]. Moore S, Green C. The identification of specific Rhesus-polypeptide-blood-group-ABH-active-glycoprotein complexes in the human red-cell membrane. *Biochemical Journal*. 1987;244(3):735-41.
- [80]. Oriol R, Mollicone R, Coullin P, Dalix A-M, Candelier J-J. Genetic regulation of the expression of ABH and Lewis antigens in tissues. *APMIS Supplementum*. 1992;27:28.
- [81]. Rouger P. Influence des antigènes de groupes sanguins en transplantation. *Transfusion clinique et biologique*. 2005;12(5):403-8.
- [82]. Clausen H, Hakomori Si. ABH and Related Histo-Blood Group Antigens; Immunochemical Differences in Carrier Isotypes and Their Distribution 1. *Vox sanguinis*. 1989;56(1):1-20.
- [83]. Gane P, Rouger P. Les épitopes cibles des anticorps monoclonaux dirigés contre les structures ABH. *Revue Française de Transfusion et d'Hémodiologie*. 1992 1992/07/01/;35(4):255-93.
- [84]. Alfaro JA, Zheng RB, Persson M, Letts JA, Polakowski R, Bai Y, et al. ABO (H) blood group A and B glycosyltransferases recognize substrate via specific conformational changes. *Journal of Biological Chemistry*. 2008;283(15):10097-108.
- [85]. Gagnon SM, Meloncelli PJ, Zheng RB, Haji-Ghassemi O, Johal AR, Borisova SN, et al. High resolution structures of the human ABO (H) blood group enzymes in complex with donor analogs reveal that the enzymes utilize multiple donor conformations to bind substrates in a stepwise manner. *Journal of Biological Chemistry*. 2015;290(45):27040-52.
- [86]. Hara A, Imamura A, Ando H, Ishida H, Kiso M. A New Chemical Approach to Human ABO Histo-Blood Group Type 2 Antigens. *Molecules*. 2014;19:414-37.
- [87]. Tahria D. Etude du Génotype du Système ABO dans la population de l'Ouest Algerien: thèses.univ-oran1.dz; 2017.
- [88]. Letizia G. Mise au point du séquençage des gènes *FUT1* et *FUT2* et applications au centre national de référence pour les groupes sanguins: thèses-universite du droit et de la sante-Lille 2.fr, Faculté de médecine Henri Warembourg; 2015.
- [89]. Eric Paul Bennett RS, Henrik Clausen Daniel Olde Weghuis, Kessel AGv. Genomic cloning of the human histo-blood group ABO locus. *Biochemical And Biophysical Research Communications*. 1995;206(1).
- [90]. Yamamoto F-i, McNeill PD, Hakomori S-i. Genomic organization of human histo-blood group ABO genes. *Glycobiology*. 1995;5(1):51-8.
- [91]. Pasternak JJ. *Génétique moléculaire humaine: une introduction aux mécanismes des maladies héréditaires*: De Boeck Supérieur; 2003.

- [92]. Rummel SK, Ellsworth RE. The role of the histoblood ABO group in cancer. *Future science OA*. 2016;2(2).
- [93]. Ogasawara K, Bannai M, Saitou N, Yabe R, Nakata K, Takenaka M, et al. Extensive polymorphism of ABO blood group gene: three major lineages of the alleles for the common ABO phenotypes. *Human Genetics*. 1996;97(6):777-83.
- [94]. Anbukarsu A. Absence of 1061C deletion in A2 blood subgroup validated through gene sequencing in the Malaysian population. *Life Sciences, Medicine and Biomedicine*. 2019;3(8).
- [95]. Yamamoto F-i, McNeill PD, Hakomori S-i. Human histo-blood group A2 transferase coded by A2 allele, one of the A subtypes, is characterized by a single base deletion in the coding sequence, which results in an additional domain at the carboxyl terminal. *Biochemical and biophysical research communications*. 1992;187(1):366-74.
- [96]. Rouquier S, Lowe JB, Kelly RJ, Fertitta AL, Lennon GG, Giorgi D. Molecular cloning of a human genomic region containing the h blood group α (1, 2) fucosyltransferase gene and two h locus-related dna restriction fragments isolation of a candidate for the human secretor blood group locus. *Journal of Biological Chemistry*. 1995;270(9):4632-9.
- [97]. Reguigne-Arnould I, Couillin P, Mollicone R, Faure S, Fletcher A, Kelly R, et al. Relative positions of two clusters of human α -L-fucosyltransferases in 19q (FUT1–FUT2) and 19p (FUT6–FUT3–FUT5) within the microsatellite genetic map of chromosome 19. *Cytogenetic and Genome Research*. 1995;71(2):158-62.
- [98]. Lowe JB. Biochemistry and biosynthesis of ABH and Lewis antigens. *Molecular Basis of Human Blood Group Antigens*: Springer; 1995. p. 75-115.
- [99]. Kelly RJ, Ernst LK, Larsen RD, Bryant JG, Robinson JS, Lowe JB. Molecular basis for H blood group deficiency in Bombay (Oh) and para-Bombay individuals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1994;91(13):5843-7.
- [100]. Koda Y, Soejima M, Johnson PH, Smart E, Kimura H. Missense Mutation of FUT1 and Deletion of FUT2 Are Responsible for Indian Bombay Phenotype of ABO Blood Group System. *Biochemical and biophysical research communications*. 1997;238(1):21-5.
- [101]. Koda Y, Soejima M, Wang B, Kimura H. Structure and Expression of the Gene Encoding Secretor-Type Galactoside 2- α -L-fucosyltransferase (FUT2). *European Journal of Biochemistry*. 1997;246(3):750-5.
- [102]. Kelly RJ, Rouquier S, Giorgi D, Lennon GG, Lowe JB. Sequence and Expression of a Candidate for the Human Secretor Blood Group α (1, 2) Fucosyltransferase Gene (FUT2) Homozygosity For An Enzyme-Inactivating Nonsense Mutation Commonly Correlates with the non-Secretor Phenotype. *Journal of Biological Chemistry*. 1995;270(9):4640-9.
- [103]. Matzhold EM, Wagner T, Drexler C, Schonbacher M, Kormoczi GF. Aberrant ABO B Phenotype with Irregular Anti-B Caused by a Para-Bombay FUT1 Mutation. *Transfusion medicine and hemotherapy : offizielles Organ der Deutschen Gesellschaft fur Transfusionsmedizin und Immunhamatologie*. 2020 Feb;47(1):94-7.
- [104]. Lang K, Wagner I, Schone B, Schofl G, Birkner K, Hofmann JA, et al. ABO allele-level frequency estimation based on population-scale genotyping by next generation sequencing. *BMC genomics*. 2016 May 20;17:374.
- [105]. Yip SP. Sequence variation at the human ABO locus. *Annals of human genetics*. 2002;66(1):1-27.
- [106]. Veldhuisen B, Van Der Schoot CE, De Haas M. Blood group genotyping: from patient to high-throughput donor screening. *Vox sanguinis*. 2009;97(3):198-206.
- [107]. Flegel WA, Gottschall JL, Denomme GA. Implementing mass-scale red cell genotyping at a blood center. *Transfusion*. 2015;55(11):2610-5.
- [108]. Huh JY, Park G, Jang SJ, Moon DS, Park YJ. A Rapid Long PCR-Direct Sequencing Analysis for ABO Genotyping. *Annals of Clinical & Laboratory Science*. 2011;41(4).
- [109]. Prager M. Molecular genetic blood group typing by the use of PCR-SSP technique. *TRANSFUSION*. 2007;47:54S-9S.

- [110]. Ying YL, Hong XZ, Xu XG, Chen S, He J, Zhu FM, et al. Molecular Basis of ABO Variants Including Identification of 16 Novel ABO Subgroup Alleles in Chinese Han Population. *Transfusion medicine and hemotherapy : offizielles Organ der Deutschen Gesellschaft fur Transfusionsmedizin und Immunhamatologie*. 2020 Apr;47(2):160-6.
- [111]. Yamamoto F. Molecular genetics of ABO. *Vox sanguinis*. 2000;78:91.
- [112]. Chester MA, Olsson ML. The ABO blood group gene: a locus of considerable genetic diversity. *Transfusion medicine reviews*. 2001;15(3):177-200.
- [113]. Storry J, Olsson ML. The ABO blood group system revisited: a review and update. *Immunohematology*. 2009;25(2):48.
- [114]. Blumenfeld OO, Patnaik SK. Allelic genes of blood group antigens: a source of human mutations and cSNPs documented in the Blood Group Antigen Gene Mutation Database. *Human mutation*. 2004;23(1):8-16.
- [115]. Patnaik SK, Helmsberg W, Blumenfeld OO. BGMUT: NCBI dbRBC database of allelic variations of genes encoding antigens of blood group systems. *Nucleic Acids Res*. 2012;40(D1):D1023-D9.
- [116]. Patnaik SK, Helmsberg W, Blumenfeld OO. BGMUT database of allelic variants of genes encoding human blood group antigens. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2014;41(5):346-51.
- [117]. Ogasawara K, Yabe R, Uchikawa M, Nakata K, Watanabe J, Takahashi Y, et al. Recombination and gene conversion-like events may contribute to ABO gene diversity causing various phenotypes. *Immunogenetics*. 2001;53(3):190-9.
- [118]. Yip SP. Single-tube multiplex PCR-SSCP analysis distinguishes 7 common ABO alleles and readily identifies new alleles. *BLOOD*. 2000;95(4):1487.
- [119]. L. Olsson M, Chester MA. A rapid and simple ABO genotype screening method using a novel B/O2 versus A/O2 discriminating nucleotide substitution at the ABO locus. *Vox sanguinis*. 1995;69(3):242-7.
- [120]. Ogasawara K, Yabe R, Uchikawa M, Saitou N, Bannai M, Nakata K, et al. Molecular genetic analysis of variant phenotypes of the ABO blood group system. *Blood*. 1996;88(7):2732-7.
- [121]. Yamamoto Fi, McNeil PD, Yamamoto M, Hakomori Si, Harris T, Judd WJ, et al. Molecular genetic analysis of the ABO blood group system: 1. Weak subgroups: A3 and B3 alleles. *Vox sanguinis*. 1993;64(2):116-9.
- [122]. Yamamoto Fi, McNeill PD, Yamamoto M, Hakomori Si, Bromilow IM, Duguid JK. Molecular genetic analysis of the ABO blood group system: 4. Another type of O allele. *Vox sanguinis*. 1993;64(3):175-8.
- [123]. Olsson ML, Thuresson B, Chester MA. An Ael allele-specific nucleotide insertion at the blood group ABO locus and its detection using a sequence-specific polymerase chain reaction. *Biochemical and biophysical research communications*. 1995;216(2):642-7.
- [124]. Huang H, Jin S, Liu X, Wang Z, Lu Q, Fan L, et al. Molecular genetic analysis of weak ABO subgroups in the Chinese population reveals ten novel ABO subgroup alleles. *Blood Transfus*. 2019;17(3):217-22.
- [125]. Deng Z-H, Yu Q, Lian Y-L, Wu G-G, Su Y-Q, Zhang X. Identification of a novel B variant allele at the ABO locus in Chinese Han individuals with B subgroup. *Annals of Clinical & Laboratory Science*. 2005;35(3):265-9.
- [126]. Yazer MH, Olsson ML, Palcic MM. The cis-AB Blood Group Phenotype: Fundamental Lessons in Glycobiology. *Transfusion medicine reviews*. 2006 2006/07/01;20(3):207-17.
- [127]. Yamaguchi H. A review of cis AB blood. *Jpn J Human Genet*. 1973;18:1-9.
- [128]. Yamamoto Fi, McNeill PD, Kominato Y, Yamamoto M, Hakomori Si, Ishimoto S, et al. Molecular genetic analysis of the ABO blood group system: 2. cis-AB alleles. *Vox sanguinis*. 1993;64(2):120-3.
- [129]. Fukumori Y, Ohnoki S, Yoshimura K, Nagao N, Shibata H, Tomita T, et al. Rapid detection of the cisAB allele consisting of a chimera of normal A and B alleles by PCR-RFLPs. *Transfusion Medicine*. 1996;6(4):337-44.
- [130]. Yazer M, Zheng R, Seto N, Rose N, Cho D, Palcic M. Kinetic studies on Korean serum cis-AB enzymes reveal diminished A and B transferase activities. *Vox sanguinis*. 2005;89(3):161-7.

- [131]. Mifsud NA, Watt JM, Condon JA, Haddad AP, Sparrow RL. A novel cis-AB variant allele arising from a nucleotide substitution A796C in the B transferase gene. *Transfusion*. 2000;40(10):1276-7.
- [132]. Yang S-J, Won EJ, Cho D, Shin M-G, Ryang D-W. The cis-AB01 Allele Originated From the A105 Allele, and not From the A102 Allele. *Annals of laboratory medicine*. 2015;35(2):279.
- [133]. Cho D, Lee SY, Ryang DW. ABO subgroup studies in Korea. *ISBT Science Series*. 2015;10(S1):332-5.
- [134]. Tzeng CH, Chen YJ, Lyou JY, Chen PS, Liu HM, Hu HY, et al. A novel cis-AB allele derived from a unique 796C> A mutation in exon 7 of ABO gene. *Transfusion*. 2005;45(1):50-5.
- [135]. Yamamoto Fi, McNeill PD, Yamamoto M, Hakomori Si, Harris T. Molecular Genetic Analysis of the ABO Blood Group System: 3. Ax and B (A) Alleles. *Vox sanguinis*. 1993;64(3):171-4.
- [136]. Yu L-C, Lee H-L, Chan Y-S, Lin M. The molecular basis for the B (A) allele: an amino acid alteration in the human histoblood group B α -(1, 3)-galactosyltransferase increases its intrinsic α -(1, 3)-N-acetylgalactosaminyltransferase activity. *Biochemical and biophysical research communications*. 1999;262(2):487-93.
- [137]. Olsson ML, Chester MA. Frequent occurrence of a variant O1 gene at the blood group ABO locus. *Vox sanguinis*. 1996;70(1):26-30.
- [138]. Hosseini-Maaf B, Hellberg Å, Rodrigues MJ, Chester MA, Olsson ML. ABO exon and intron analysis in individuals with the A weak B phenotype reveals a novel O 1v-A 2 hybrid allele that causes four missense mutations in the A transferase. *BMC genetics*. 2003;4(1):17.
- [139]. Yazer M, Olsson M. The O2 allele: questioning the phenotypic definition of an ABO allele. *Immunohematology*. 2008;24(4):138-47.
- [140]. Olsson ML, Chester MA. Evidence for a new type of O allele at the ABO locus, due to a combination of the A2 nucleotide deletion and the Ael nucleotide insertion. *Vox sanguinis*. 1996;71(2):113-7.
- [141]. Hult AK. *Studies of the ABO and FORS histo-blood group systems: Focus on flow cytometric and genetic analysis*: Lund University; 2013.
- [142]. Goudemand M, Salmon C. *Immuno-hématologie et immunogénétique*: Flammarion Médecine-Sciences; 1980.
- [143]. Muller J-Y, Chiaroni J, Garraud O. *Sécurité immunologique des transfusions*. La Presse Médicale. 2015;44(2):200-13.
- [144]. Janeway Jr CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. *The destruction of antibody-coated pathogens via Fc receptors. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease 5th edition*: Garland Science; 2001.
- [145]. Andreu G, Vasse J, Tardivel R, Semana G. Transfusion de plaquettes: produits, indications, dose, seuil, efficacité. *Transfusion clinique et biologique*. 2009;16(2):118-33.
- [146]. HAS, Ansm. *Transfusion de plaquettes: produits, indications*. 2015 [updated 2015 Nov 18; cited 2020 Sep 18]. Available from: <http://www.has-sante.fr>.
- [147]. Shanwell A, Andersson TM, Rostgaard K, Edgren G, Hjalgrim H, Norda R, et al. Post-transfusion mortality among recipients of ABO-compatible but non-identical plasma. *Vox sanguinis*. 2009 May;96(4):316-23. PubMed PMID: 19254234. Epub 2009/03/04. eng.
- [148]. *Guide pratique de la transfusion sanguine*: Centre Hospitalier de Beauvais; 2019 [updated 2019 Jan 15; cited 2021 Jan 22]. Available from: <http://www.ch-beauvais.fr/guideanalyse/guidetransf/index.html>.
- [149]. ROSENFELD RE, EISINGER F. A-B Hemolytic Disease of the Newborn : Analysis of 1480 Cord Blood Specimens, with Special Reference to the Direct Antiglobulin Test and to the Group O Mother. *Blood*. 1955;10(1):17-28.
- [150]. Bricca P, Guinchard E, Guitton Bliem C. Prise en charge des allo-immunisations fœto-maternelles antiérythrocytaires. *Transfusion Clinique et Biologique*. 2011 2011/04/01/;18(2):269-76.
- [151]. Lehlmi M, El Korchi Z, Chemsî M, Badre A, Habzi A, Benomar S. L'incompatibilité fœto-maternelle dans le système ABO. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*. 2020.

- [152]. Ahlen MT, Husebekk A, Killie MK, Kjeldsen-Kragh J, Olsson ML, Skogen B. The development of severe neonatal alloimmune thrombocytopenia due to anti-HPA-1a antibodies is correlated to maternal ABO genotypes. *Clinical and Developmental Immunology*. 2012.
- [153]. Fressy P. Rôle du système ABO dans les transplantations et greffes. *Revue Française de Transfusion et d'Hémodiologie*. 1992 1992/10/01/;35(5):363-77.
- [154]. Worel N, Greinix HT, Supper V, Leitner G, Mitterbauer M, Rabitsch W, et al. Prophylactic red blood cell exchange for prevention of severe immune hemolysis in minor ABO-mismatched allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation after reduced-intensity conditioning. *Transfusion*. 2007;47(8):1494-502.
- [155]. Stussi G, Buser A, Holbro A. Red Blood Cells: Exchange, Transfuse, or Deplete. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2019;46(6):407-16.
- [156]. Siddon AJ, Tormey CA. Hematopoietic Stem Cell Donor Selection and Graft-Versus-Host Disease. *Chimerism: Springer*; 2018. p. 105-17.
- [157]. HADAYA K. Transplantation rénale ABO incompatible. *Revue médicale suisse*. 2012;8(346):1310-3.
- [158]. Abboud I, Peraldi M-N, Glotz D. Transplantation rénale ABO incompatible. *Lebanese Medical Journal*. 2015;103(2280):1-5.
- [159]. Kleinclauss F, Frontczak A, Terrier N, Thuret R, Timsit MO. Aspects immunologiques et immunosuppression en transplantation rénale, transplantations rénales ABO et HLA-incompatibles. *Progrès en Urologie*. 2016 2016/11/01/;26(15):977-92.
- [160]. Lynch RJ, Platt JL. Accommodation in renal transplantation: unanswered questions. *Curr Opin Organ Transplant*. 2010;15(4):481-5. PubMed PMID: 20613524. eng.
- [161]. Guillon P, Clément M, Sébille V, Rivain J-G, Chou C-F, Ruvoën-Clouet N, et al. Inhibition of the interaction between the SARS-CoV spike protein and its cellular receptor by anti-histo-blood group antibodies. *Glycobiology*. 2008;18(12):1085-93.
- [162]. Berger S, Young N, Edberg S. Relationship between infectious diseases and human blood type. *European journal of clinical microbiology and infectious diseases*. 1989;8(8):681-9.
- [163]. Zhao J, Yang Y, Huang H, Li D, Gu D, Lu X, et al. Relationship between the ABO Blood Group and the COVID-19 Susceptibility. *medRxiv*. 2020.
- [164]. Cserti CM, Dzik WH. The ABO blood group system and Plasmodium falciparum malaria. *Blood*. 2007;110(7):2250-8.
- [165]. Rowe JA, Handel IG, Thera MA, Deans A-M, Lyke KE, Koné A, et al. Blood group O protects against severe Plasmodium falciparum malaria through the mechanism of reduced rosetting. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007;104(44):17471-6.
- [166]. Rowe JA, Claessens A, Corrigan RA, Arman M. Adhesion of Plasmodium falciparum-infected erythrocytes to human cells: molecular mechanisms and therapeutic implications. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2009;11:e16. Epub 05/26.
- [167]. Igbeneghu C, Olisekodiaka JM. Associations between ABO Blood group, secretor status and malaria infection in Osogbo, Southwestern Nigeria. *International Journal of Research in Applied, Natural and Social Sciences*. 2014;2:17-24.
- [168]. Chakrani Z, Robinson K, Taye B. Association Between ABO Blood Groups and Helicobacter pylori Infection: A Meta-Analysis. *Scientific Reports*. 2018 2018/12/04;8(1):17604.
- [169]. Kanbay M, Gür G, Arslan H, Yilmaz U, Boyacıoğlu S. The Relationship of ABO Blood Group, Age, Gender, Smoking, and Helicobacter pylori Infection. *Digestive Diseases and Sciences*. 2005 2005/07/01;50(7):1214-7.
- [170]. Lindesmith L, Moe C, Marionneau S, Ruvoen N, Jiang X, Lindblad L, et al. Human susceptibility and resistance to Norwalk virus infection. *Nature medicine*. 2003;9(5):548-53.
- [171]. Ruvoën-Clouet N, Pendu JL. Fixation des norovirus sur des glycanes : conséquences biologiques et perspectives prophylactiques. *Virologie*. 2004 11/01;8(6):425-34.
- [172]. Thorven M, Grahn A, Hedlund KO, Johansson H, Wahlfriid C, Larson G, et al. A homozygous nonsense mutation (428G-->A) in the human secretor (FUT2) gene provides resistance to

- symptomatic norovirus (GGII) infections. *Journal of virology*. 2005 Dec;79(24):15351-5. PubMed PMID: 16306606. Pubmed Central PMCID: 1315998.
- [173]. Czako R, Atmar RL, Opekun AR, Gilger MA, Graham DY, Estes MK. Serum hemagglutination inhibition activity correlates with protection from gastroenteritis in persons infected with Norwalk virus. *Clinical and vaccine immunology : CVI*. 2012 Feb;19(2):284-7. PubMed PMID: 22190401. Pubmed Central PMCID: 3272916.
- [174]. Batool Z, Durrani SH, Tariq S. Association of ABO and Rh blood group types to hepatitis B, hepatitis C, HIV and Syphilis infection, a five year'experience in healthy blood donors in a tertiary care hospital. *Journal of Ayub Medical College Abbottabad*. 2017;29(1):90-2.
- [175]. Harris JB, Khan AI, LaRocque RC, Dorer DJ, Chowdhury F, Faruque AS, et al. Blood group, immunity, and risk of infection with *Vibrio cholerae* in an area of endemicity. *Infection and immunity*. 2005 Nov;73(11):7422-7. PubMed PMID: 16239542. Pubmed Central PMCID: 1273892.
- [176]. Telesmanich N, Koliakina A, IuM L, Men'shikova E, Mironova A. Characterization of the adhesive activity of cholera vibriions in mammalian red blood cells as an additional test for assessment of their epidemic significance. *Klinicheskaiia Laboratornaia Diagnostika*. 2008 (7):45-8.
- [177]. Blackwell CC, Dundas S, James VS, Mackenzie DAC, Braun JM, Alkout AM, et al. Blood Group and Susceptibility to Disease Caused by *Escherichia coli* O157. *The Journal of Infectious Diseases*. 2002;185(3):393-6.
- [178]. Aird I, Bentall HH, Roberts JAF. A relationship between cancer of stomach and the ABO blood groups. *Br Med J*. 1953;1(4814):799-801. PubMed PMID: 13032504. eng.
- [179]. Wang Z, Liu L, Ji J, Zhang J, Yan M, Zhang J, et al. ABO blood group system and gastric cancer: a case-control study and meta-analysis. *International journal of molecular sciences*. 2012;13(10):13308-21.
- [180]. Wolpin BM, Chan AT, Hartge P, Chanock SJ, Kraft P, Hunter DJ, et al. ABO Blood Group and the Risk of Pancreatic Cancer. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 2009;101(6):424-31.
- [181]. Wolpin BM, Kraft P, Xu M, Steplowski E, Olsson ML, Arslan AA, et al. Variant ABO Blood Group Alleles, Secretor Status, and Risk of Pancreatic Cancer: Results from the Pancreatic Cancer Cohort Consortium. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 2010;19(12):3140-9.
- [182]. Ahmed S, Kagu M, Ibrahim U. ABO blood group distribution among endemic Burkitt's lymphoma patients in Nigeria: Further evidence for the aetiological role of malaria. *Journal African du Cancer/African Journal of Cancer*. 2015;7(1):3-7.
- [183]. LE PENDU J, MARIONNEAU S, CAILLEAU-THOMAS A, LE MOULLAC-VAIDYE JRB, CLEMENT M. ABH and Lewis histo-blood group antigens in cancer. 2001.
- [184]. Hussey DJ, Bianco-Miotto T, Day TK, O'Keefe DS, Dobrovic A. DNA Methylation of the ABO Promoter Underlies Loss of ABO Allelic Expression in a Significant Proportion of Leukemic Patients. 2009.
- [185]. Al-Fartosi KGW. The association between ABO blood group and spontaneous abortion. *basrah journal of science*. 2008;26(1B english):1-10.
- [186]. Bottini E. Interaction between adenosine deaminase and ABO system polymorphisms: effects on intrauterine survival and reproduction. *Exp Clin Immunogenet*. 1985 1985;2(2):70-6.
- [187]. Sidhu SS, Kimber SJ. Hormonal control of H-type α (1-2) fucosyltransferase messenger ribonucleic acid in the mouse uterus. *Biology of reproduction*. 1999;60(1):147-57.
- [188]. Franchini M, Crestani S, Frattini F, Sissa C, Bonfanti C. ABO blood group and von Willebrand factor: biological implications. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2014;52(9):1273-6.
- [189]. Casari C, Lenting P, Wohner N, Christophe O, Denis C. Clearance of von Willebrand factor. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2013;11:202-11.
- [190]. Antoni G, Oudot-Mellakh T, Dimitromanolakis A, Germain M, Cohen W, Wells P, et al. Combined analysis of three genome-wide association studies on vWF and FVIII plasma levels. *BMC Medical Genetics*. 2011 2011/08/02;12(1):102.
- [191]. Merikas G, Christakopoulos P, Petropoulos E. Distribution of ABO blood groups in patients with ulcer disease. *The American journal of digestive diseases*. 1966;11(10):790-5.

- [192]. Tregouet D-A, Heath S, Saut N, Biron-Andreani C, Schved J-F, Pernod G, et al. Common susceptibility alleles are unlikely to contribute as strongly as the FV and ABO loci to VTE risk: results from a GWAS approach. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2009;113(21):5298-303.
- [193]. Gallinaro L, Cattini MG, Sztukowska M, Padrini R, Sartorello F, Pontara E, et al. A shorter von Willebrand factor survival in O blood group subjects explains how ABO determinants influence plasma von Willebrand factor. *Blood*. 2008;111(7):3540-5.
- [194]. Morelli V, De Visser M, Vos H, Bertina R, Rosendaal F. ABO blood group genotypes and the risk of venous thrombosis: effect of factor V Leiden. *Journal of thrombosis and haemostasis*. 2005;3(1):183-5.
- [195]. de Visser MC, Rosendaal FR, Bertina RM. A Reduced Sensitivity for Activated Protein C in the Absence of Factor V Leiden Increases the Risk of Venous Thrombosis. *Blood*. 1999;93(4):1271-6.
- [196]. Varadi K, Rosing J, Tans G, Pabinger I, Keil B, Schwarz H. Factor V enhances the cofactor function of protein S in the APC-mediated inactivation of factor VIII: influence of the factor VR506Q mutation. *Thrombosis and haemostasis*. 1996;75(02):208-14.
- [197]. Bugert P, Rink G, Kemp K, Klüter H. Blood group ABO genotyping in paternity testing. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2012;39(3):182-6.
- [198]. Mazières S, Chiaroni J. Approche anthropologique des groupes sanguins érythrocytaires. John Libbey Eurotext 2015.
- [199]. Deshpande O, Batzoglou S, Feldman MW, Luca Cavalli-Sforza L. A serial founder effect model for human settlement out of Africa. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2009;276(1655):291-300.
- [200]. Malécot G. Probabilités et hérédité: Presses universitaires de France; 1966.
- [201]. Sanchez-Mazaz A, Pellegrini B. Polymorphismes Rhésus, Gm et HLA et histoire de l'Homme moderne. *Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris*. 1990;2(1):57-75.
- [202]. Chadli S, Brakez Z, Belhachmi A, Izaabel H. Gradient de distribution des allèles du système ABO au Maroc: polymorphisme du système ABO dans la population du Sous. *Antropo*. 2007 (15):49-53.
- [203]. Cavalli-Sforza LL, Cavalli-Sforza L, Menozzi P, Piazza A. The history and geography of human genes: Princeton university press; 1994.
- [204]. Chakraborty S, Motsinger-Reif A. Linkage Disequilibrium between ABO and Rh Loci in Barak Valley Populations vis-à-vis a Few Exotic Populations. *Notulae Scientia Biologicae*. 2011;3(2):07-11.
- [205]. Bernard J, Ruffié J. Hématologie géographique: Masson et Cie; 1966.
- [206]. Bauduer F. Histoire de l'anthropologie biologique de la population basque: De l'empirisme à la génétique moléculaire. *Histoire des sciences médicales*. 2008;42(2):123-30.
- [207]. Clavier B. Le groupage sanguin en question: actualité et perspectives. *Revue Francophone des Laboratoires*. 2012 2012/02/01/;2012(439, Part 1):43-8.
- [208]. Takada N, Mori C, Iida M, Takai R, Takayama T, Watanabe Y, et al. Development of an indirect competitive ELISA for the detection of ABO blood group antigens. *Legal Medicine*. 2014;16(3):139-45.
- [209]. Gane P. La cytométrie en flux en immunohématologie. *Transfusion Clinique et Biologique*. 2002 2002/10/01/;9(4):271-9.
- [210]. Aki K, Izumi A, Hosoi E. The evaluation of histo-blood group ABO typing by flow cytometric and PCR-amplification of specific alleles analyses and their application in clinical laboratories. *The Journal of Medical Investigation*. 2012;59.
- [211]. Maeda K, Nakamura S, Murakami C, Irie W, Sasaki C, Furukawa M, et al. New rapid ABO genotyping using direct extraction kit. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*. 2011;3(1):e359-e60.
- [212]. Lane WJ, Westhoff CM, Gleadall NS, Aguad M, Smeland-Wagman R, Vege S, et al. Automated typing of red blood cell and platelet antigens: a whole-genome sequencing study. *The Lancet Haematology*. 2018;5(6):241-51.
- [213]. Ameziane N. Principes de biologie moléculaire en biologie clinique.

- [214]. Bienvenu T, Meunier C, Bousquet S, Chiron S, Richard L, Gautheret-Dejean A, et al. Les techniques d'extraction de l'ADN à partir d'un échantillon sanguin. *Annales de Biologie Clinique*. 1999;57(1):77-84.
- [215]. Cloux BSp. Développement de PCRs multiplexes pour le diagnostic: microarrays analytiques: Université Claude Bernard-Lyon I; 2015.
- [216]. Olsson ML, Chester M. Polymorphism and recombination events at the ABO locus: a major challenge for genomic ABO blood grouping strategies. *Transfusion Medicine*. 2001;11(4):295-313.
- [217]. Stroncek D, Konz R, Clay M, Houchins J, McCullough J. Determination of ABO glycosyltransferase genotypes by use of polymerase chain reaction and restriction enzymes. *Transfusion*. 1995;35(3):231-40.
- [218]. Tournamille C. Les technologies de biologie moléculaire en immunohématologie. *Transfusion clinique et biologique*. 2013;20(2):72-9.
- [219]. Hassawi DS. Allele frequency and molecular genotypes of ABO blood group system in a Jordanian population. *J Med Sci*. 2007;7(1):51-8.
- [220]. Gassner C, SchmarDA A, Nussbaumer W, Schönitzer D. ABO Glycosyltransferase Genotyping by Polymerase Chain Reaction Using Sequence-Specific Primers. *Blood*. 1996;88(5):1852-6.
- [221]. Newton CR, Graham A, Heptinstall LE, Powell SJ, Summers C, Kalsheker N, et al. Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS). *Nucleic Acids Res*. 1989;17(7):2503-16.
- [222]. Chen Y, Chen P, Liu H, Lyou J, Hu H, Lin J, et al. Novel polymorphisms in exons 6 and 7 of A/B alleles detected by polymerase chain reaction–single strand conformation polymorphism. *Vox sanguinis*. 2005;90:119-27.
- [223]. Honda K, Nakamura T, Tanaka E, Yamazaki K, Tun Z, Misawa S, editors. Graphic SSCP analysis of ABO genotypes for forensic application. *International Congress Series*; 2004.
- [224]. Lee HY, Park MJ, Kim NY, Yang WI, Shin KJ. Rapid direct PCR for ABO blood typing. *Journal of forensic sciences*. 2011;56:S179-S82.
- [225]. Pearson SL, Hessner MJ. A1, 2BO1, 2 genotyping by multiplexed allele-specific PCR. *British journal of haematology*. 1998;100(1):229-34.
- [226]. Poitras E, Houde A. La PCR en temps réel: principes et applications. *Reviews in biology and biotechnology*. 2002;2(2):2-11.
- [227]. Muro T, Fujihara J, Imamura S, Nakamura H, Kimura-Kataoka K, Toga T, et al. Determination of ABO genotypes by real-time PCR using allele-specific primers. *Legal Medicine*. 2012;14(1):47-50.
- [228]. Lamoril J, Ameziane N, Deybach JC, Bouizegarène P, Bogard M. DNA sequencing technologies: A revolution in motion. Part one. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*. 2008;23(5):260-79.
- [229]. Séquençage de l'ADN: Wikipédia; 2006 [updated 2020 Oct 4; cited 2021 Jan 12]. Available from: https://fr.wikipedia.org/wiki/Séquençage_de_l'ADN
- [230]. Institute NHGR. DNA sequencing, interferogram: Wikipédia; 2007 [updated 2014 Dec 06; cited 2021 Jan 12]. Available from: https://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:DNA_sequencing_interferogram.png.
- [231]. Freeworldmaps. Carte de l'Algérie, Wilayas d'Algérie: Internet; 2019 [updated 2019; cited 2020 Nov 05]. Available from: <https://www.freeworldmaps.net/fr/algerie/algerie-wilayas-hd.jpg>.
- [232]. Mori T, Iwaki Y, Hando R, Komazawa H, Otomo H, Sasaki T, et al. QuickGene series: Rapid and simple system for DNA/RNA extraction which uses a polymer porous membrane. *Japanese Journal Of Clinical Chemistry*. 2007;36(1):33.
- [233]. Nucleic Acid Isolation Device, QuickGene-Mini80 User's Manual 3ed: FUJIFILM Corporation, Life Science Products Division; 2007.
- [234]. Nucleic Acid Isolation System QuickGene, application guide. FUJIFILM Corporation, Life Science; 2013.
- [235]. Maxwell E. Maxwell® 16 DNA Purification Kits. Promega Corporation; 2010.

- [236]. Khokhar SK, Mitui M, Leos NK, Rogers BB, Park JY. Evaluation of Maxwell® 16 for automated DNA extraction from whole blood and formalin-fixed paraffin embedded (FFPE) tissue. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2012;50(2):267.
- [237]. Maxwell® 16 MDx, Instrument Operating Manual. Promega Corporation; 2015.
- [238]. Somma M, Querci M. The Analysis of Food Samples for the Presence of Genetically Modified Organisms. Session 4. Extraction and Purification of DNA. European Commission Joint Research Centre. 2004.
- [239]. Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue antigens*. 1992;39(5):225.
- [240]. RBC Ready Gene - Instructions for Use. Inno-train Diagnostik GMBH; 2019.
- [241]. Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in enzymology*. 155: Elsevier; 1987. p. 335-50.
- [242]. Serre J-L. Génétique des populations: Dunod; 2006.
- [243]. Duby C, Robin S. Analyse en composantes principales. Institut National Agronomique, Paris-Grignon. 2006;80.
- [244]. Aireche H, Benabadji M. Les fréquences géniques dans les systèmes ABO P et Luthéran en Algérie. *Transfusion clinique et biologique*. 1994;1(4):279-89.
- [245]. Lefevre-Witier P, Aireche H, Benabadji M, Darlu P, Melvin K, Sevin A, et al. Genetic structure of Algerian populations. *American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Association*. 2006;18(4):492-501.
- [246]. Benahadi A, Alami R, Boulahdid S, Adouani B, Laouina A, Mokhtari A, et al. Distribution of ABO and Rhesus D blood antigens in Morocco. *The Internet Journal of Biological Anthropology*. 2013;6(1):1-6.
- [247]. Said N, Ahmed FB, Doghri A, Ghazouani E, Layouni S, Gritli N, et al. Polymorphisme ABO dans une population de donneurs de sang tunisiens. *Transfusion clinique et biologique*. 2003;10(5):331-4.
- [248]. Hmida S, Maamar M, Mojaat N, Abid S, Midouni B, Boukef K. Polymorphisme du système ABO dans la population tunisienne. *Transfusion clinique et biologique*. 1994;1(4):291-4.
- [249]. Fayrouz INE, Farida N, Irshad A. Relation between fingerprints and different blood groups. *Journal of forensic and legal medicine*. 2012;19(1):18-21.
- [250]. Hamed C, Bollahi M, Abdelhamid I, Med Mahmoud M, Ba B, Ghaber S, et al. Frequencies and ethnic distribution of ABO and Rh (D) blood groups in Mauritania: results of first nationwide study. *International journal of immunogenetics*. 2012;39(2):151-4.
- [251]. Anifowoshe AT, Owolodun OA, Akinseye KM, Iyiola OA, Oyeyemi BF. Gene frequencies of ABO and Rh blood groups in Nigeria: A review. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 2017;18:205-10.
- [252]. Ndoula S, Noubiap J, Nansseu J, Wonkam A. Phenotypic and allelic distribution of the ABO and Rhesus (D) blood groups in the Cameroonian population. *International journal of immunogenetics*. 2014;41(3):206-10.
- [253]. Tesfaye K, Petros Y, Andargie M. Frequency distribution of ABO and Rh (D) blood group alleles in Silte Zone, Ethiopia. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 2015;16(1):71-6.
- [254]. Loua A, Lamah M, Haba N, Camara M. Frequency of blood groups ABO and rhesus D in the Guinean population. *Transfusion Clinique et Biologique*. 2007;14(5):435-9.
- [255]. AL-Ubadi AEM. Genetic analysis of ABO and Rh (D) blood groups in Arab Baghdadi ethnic groups. *Al-Mustansiriyah Journal of Science*. 2013;24(1):37-46.
- [256]. Eweidah MH, Rahiman S, Ali MDH, Al-Shamary AMD. Distribution of ABO and Rhesus (RHD) Blood Groups in Al-Jouf Province of the Saudi Arabia. *The Anthropologist*. 2011 2011/04/01;13(2):99-102.
- [257]. Al-Bustan S, El-Zawahri M, Al-Azmi D, Al-Bashir A-A. Allele frequencies and molecular genotyping of the ABO blood group system in a Kuwaiti population. *International journal of hematology*. 2002;75(2):147-53.

- [258]. Lamia'a S, Sharif FA. Allele and Genotype Frequencies of the ABO Blood Group System in a Palestinian Population. *Asian Journal of Pharmacy, Nur-sing and Medical Sciences*. 2013;1(4).
- [259]. Lialiaris T, Digkas E, Kareli D, Pouliliou S, Asimakopoulos B, Pagonopoulou O, et al. Distribution of ABO and Rh blood groups in Greece: an update. *International journal of immunogenetics*. 2011;38(1):1.
- [260]. Kayiran S, Oktem O, Kayiran P, Paloglu E, Gurakan B. Frequency of ABO and rhesus blood groups among neonates born at a private hospital in Istanbul. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*. 2012;43(2):467-70.
- [261]. Fernandez-Santander A. Genetic Relationships Between Southeastern Spain and Morocco: New Data on ABO, RH, MNSs, and DUFFY Polymorphisms. *AMERICAN JOURNAL OF HUMAN BIOLOGY*. 1999;11:745-52.
- [262]. Song SH, Chang HE, Ryu KC, Lee HJ, Park KU, Song J, et al. Analysis for eight ABO alleles in Korean population. *The Korean Journal of Laboratory Medicine*. 2006;26(5):374-9.
- [263]. Nojavan M, Shamsasenjan K, Movassaghpour AA, Akbarzadehlaleh P, Torabi SE, Ghojzadeh M. Allelic prevalence of ABO blood group genes in Iranian Azari population. *BiolImpacts: BI*. 2012;2(4):207.
- [264]. Fregel R, Maca-Meyer N, Cabrera VM, González AM, Larruga JM. Description of a simple multiplex PCR-SSCP method for ABO genotyping and its application to the peopling of the Canary Islands. *Immunogenetics*. 2005;57(8):572-8.
- [265]. Yip SP, Choi PS, Lee SY, Leung KH, El-Zawahri MM, Luqmani YA. ABO blood group in Kuwaitis: detailed allele frequency distribution and identification of novel alleles. *Transfusion*. 2006;46(5):773-9.
- [266]. Zhu F, Tao S, Xu X, Ying Y, Hong X, Zhu H, et al. Distribution of ABO blood group allele and identification of three novel alleles in the Chinese Han population. *Vox sanguinis*. 2010;98(4):554-9.
- [267]. Nishimukai H, Fukumori Y, Tsujimura R, Okiura T, Tanabe R, Orimoto C, et al. Rare alleles of the ABO blood group system in two European populations. *Legal Medicine*. 2009;11:S479-S81.
- [268]. Umbria M, Cantons J, Bruguera C, Minias A, de Duró CB, Catalano G, et al. Molecular polymorphism of the ABO blood group: A study in Poland, Spain, and Andorra. *American Journal of Human Biology*. 2014;26(4):556-8.
- [269]. Ray S, Gorakshakar AC, Vasantha K, Nadkarni A, Italia Y, Ghosh K. Molecular genotyping of ABO blood groups in some population groups from India. *The Indian journal of medical research*. 2014;139(1):105.
- [270]. Irshaid N, Ramadan S, Wester E, Olausson P, Hellberg Å, Merza J, et al. Phenotype prediction by DNA-based typing of clinically significant blood group systems in Jordanian blood donors. *Vox sanguinis*. 2002;83(1):55-62.
- [271]. Meyer S, Sigurdardottir S, Neuenschwander K, Frey B, Gassner C. Presence of del261G (O1) and 803C (B) On One Hybrid Allele - a potential cause for misinterpretation of PCR-SSP results. 14th Swiss Symposium on Transfusion Medicine, 6 - 7 septembre Bâle, Suisse 2012.

Annexes

Annexe A : Nomenclature des allèles du groupe sanguin ABO (ISBT 001) v1. 1 171023.

Names for ABO (ISBT 001) Blood Group Alleles

General description: The ABO system was discovered as in 1900 and is considered the first and clinically most important system. The *ABO* gene and its 7 coding exons give rise to one of two principally different glycosyltransferases. The A glycosyltransferase (GTA) catalyzes the addition of a donor substrate, UDP-*N*-acetylgalactosamine, to an acceptor substrate known as the H antigen. The B glycosyltransferase (GTB) differs by only four amino-acid substitutions from GTA and performs the same enzymatic reaction but uses UDP-galactose as donor substrate. In this way, genetic polymorphism gives rise to two related antigens in this system. Any polymorphism or mutation that changes the activity or specificity of the encoded enzyme may therefore alter the ABO phenotype. Alterations that completely abolish enzymic activity give rise to the blood group O phenotype, in which the H antigen remains unconverted and no A or B antigen can be detected. If the genetic alteration decreases the activity of the enzyme, or alters its subcellular location and thereby decreases conversion of H to A or B, a weak A or B subgroup phenotype can result. Furthermore, certain polymorphisms result in promiscuous enzymes that can synthesize both A and B antigen, thereby resulting in the so-called cisAB or B(A) phenotypes. The A phenotype is divided into A₁ and A₂. The former is more prevalent in all populations and has approximately 5 times more A epitopes per red cell. The GTA₁ is also better than GTA₂ at synthesizing certain forms of A, .e.g. A type 3 and 4. In addition to the A and B antigens, two other antigens are included in the ABO system, namely A,B and A1. The former is a joint epitope on A or B antigen and is therefore present in both A, B and AB phenotypes. The exact biochemical nature of the A1 antigen has been more controversial but has been proposed to represent A type 4.

Gene name:	<i>ABO</i>
Number of exons:	7
Initiation codon:	Within exon 1
Stop codon:	Within exon 7
Entrez Gene ID:	28
LRG sequence:	NG_006669.1 (genomic) NM_020469.2 (transcript)
Reference allele:	<i>ABO*AI.01</i> (shaded)

Molecular bases associated with the A₁, A₂ and weak A phenotypesReference allele *ABO**A1.01 encodes A glycosyltransferase that synthesizes A antigen.

Phenotype	Allele name	Nucleotide change	Exon	Predicted amino acid change
A ₁	<i>ABO</i> *A1.01			
A ₁	<i>ABO</i> *A1.02	c.467C>T	7	p.Pro156Leu
A ₂	<i>ABO</i> *A2.01	c.467C>T; c.1061delC	7	p.Pro156Leu; p.Pro354Argfs*23
A ₂	<i>ABO</i> *A2.02	c.1054C>T	7	p.Arg352Trp
A ₂	<i>ABO</i> *A2.03	c.1054C>G	7	p.Arg352Gly
A ₂	<i>ABO</i> *A2.04	c.297A>G; c.526C>G; c.657C>T; c.703G>A; c.771C>T; c.829G>A	6 7	p.Arg176Gly; p.Gly235Ser; p.Val277Met
A ₂	<i>ABO</i> *A2.05	c.467C>T; c.1009A>G	7	p.Pro156Leu; p.Arg337Gly
A ₂	<i>ABO</i> *A2.06	c.1061delC	7	p.Pro354Argfs*23
A ₂	<i>ABO</i> *A2.07	c.539G>C	7	p.Arg180Pro
A ₂	<i>ABO</i> *A2.08	c.467C>T; c.539G>C	7	p.Pro156Leu; p.Arg180Pro
A ₂	<i>ABO</i> *A2.09	c.467C>T; c.527G>A; c.1061delC	7	p.Pro156Leu; p.Arg176His; p.Pro354Argfs*23
A ₂	<i>ABO</i> *A2.10	c.268T>C; c.467C>T	6 7	p.Trp90Arg; p.Pro156Leu
A ₂	<i>ABO</i> *A2.11	c.266C>T; c.467C>T	6 7	p.Pro89Leu; p.Pro156Leu
A ₂	<i>ABO</i> *A2.12	c.190G>A; c.527G>A; c.1061delC	4 7	p.Val64Ile; p.Arg176His; p.Pro354Argfs*23
A ₂	<i>ABO</i> *A2.13	c.467C>T; c.742C>T	7	p.Pro156Leu; p.Arg248Cys
A ₂	<i>ABO</i> *A2.16	c.106G>T; c.188G>A; c.189C>T; c.467C>T; c.1061delC	3 4 7	p.Val36Phe; p.Arg63His; p.Pro156Leu; p.Pro354Argfs*23
A ₂	<i>ABO</i> *A2.17	c.407C>T; c.467C>T	7	p.Thr136Met; p.Pro156Leu
A ₂	<i>ABO</i> *A2.18	c.467C>T; c.722G>A	7	p.Pro156Leu; p.Arg241Gln
A ₂	<i>ABO</i> *A2.19	c.467C>T; c.778G>A	7	p.Pro156Leu; p.Glu260Lys

Phenotype	Allele name	Nucleotide change	Exon	Predicted amino acid change
A ₂	<i>ABO*A2.20</i>	c.467C>T; c.829G>A	7	p.Pro156Leu; p.Val277Met
A ₃	<i>ABO*A3.01</i>	c.871G>A	7	p.Asp291Asn
A ₃	<i>ABO*A3.02</i>	c.829G>A; c.1061delC	7	p.Val277Met; p.Pro354Argfs*23
A ₃	<i>ABO*A3.03</i>	c.838C>T	7	p.Leu280Phe
A ₃	<i>ABO*A3.04</i>	c.467C>T; c.539G>A; c.1061delC	7	p.Arg180His; p.Pro156Leu; p.Pro354Argfs*23
A ₃	<i>ABO*A3.05</i>	c.820G>A	7	p.Val274Met
A ₃	<i>ABO*A3.06</i>	c.467C>T; c.820G>A	7	p.Pro156Leu; p.Val274Met
A ₃	<i>ABO*A3.07</i>	c.467C>T; c.745C>T	7	p.Pro156Leu; p.Arg249Trp
A _{weak}	<i>ABO*AW.01</i>	c.407C>T; c.467C>T; c.1061delC	7	p.Thr136Met; p.Pro156Leu; p.Pro354Argfs*23
A _{weak}	<i>ABO*AW.02</i>	c.350G>C; c.467C>T; c.1061delC	6 7	p.Gly117Ala; p.Pro156Leu; p.Pro354Argfs*23
A _{weak}	<i>ABO*AW.03</i>	c.203G>C; c.467C>T; c.1061delC	4 7	p.Arg68Thr; p.Pro156Leu; p.Pro354Argfs*23
A _{weak}	<i>ABO*AW.04</i>	c.721C>T	7	p.Arg241Trp
A _{weak}	<i>ABO*AW.05</i>	c.965A>G	7	p.Glu322Gly
A _{weak}	<i>ABO*AW.06</i>	c.502C>G	7	p.Arg168Gly
A _{weak}	<i>ABO*AW.07</i>	c.467C>T; c.592C>T; c.1061delC	7	p.Pro156Leu; p.Arg198Trp; p.Pro354Argfs*23
A _{weak}	<i>ABO*AW.08</i>	c.220C>T; c.297A>G; c.488C>T; c.526C>G; c.802G>A	5 6 7	p.Pro74Ser; p.Thr163Met; p.Arg176Gly; p.Gly268Arg
A _{weak}	<i>ABO*AW.09</i>	c.46G>A; c.106G>T; c.188G>A; c.220C>T; c.467C>T; c.1061delC	2 3 4 5 7	p.Ala16Thr; p.Val36Phe; p.Arg63His; p.Pro74Ser; p.Pro156Leu; p.Pro354Argfs*23
A _{weak}	<i>ABO*AW.10</i>	c.784G>A	7	p.Asp262Asn
A _{weak}	<i>ABO*AW.11</i>	c.523G>A; c.721C>T	7	p.Val175Met; p.Arg241Trp

Names for ABO (ISBT 001) blood group alleles v1.1 171023

Phenotype	Allele name	Nucleotide change	Exon	Predicted amino acid change
A _{weak}	ABO*AW.12	c.467C>T; c.556A>G	7	p.Pro156Leu; p.Met186Val
A _{weak}	ABO*AW.13	c.2T>C	1	p.Ala2_Met20del
A _{weak}	ABO*AW.14	c.467C>T; c.699C>A	7	p.Pro156Leu; p.His233Gln
A _{weak}	ABO*AW.15	c.374+4A>T	Intron 6	Altered splicing
A _{weak}	ABO*AW.16	c.1A>G; c.467C>T; c.1061delC	1 7	p.Ala2_Met20del; p.Pro156Leu; p.Pro354Argfs*23
A _{weak}	ABO*AW.17	c.236C>T; c.467C>T; c.1061delC	5 7	p.Pro79Leu; p.Pro156Leu; p.Pro354Argfs*23
A _{weak}	ABO*AW.18	c.347T>C; c.467C>T; c.1061delC	6 7	p.Ile116Thr; p.Pro156Leu; p.Pro354Argfs*23
A _{weak}	ABO*AW.19	c.434A>G; c.467C>T; c.1061delC	7	p.His145Arg; p.Pro156Leu; p.Pro354Argfs*23
A _{weak}	ABO*AW.20	c.467C>T; c.607G>A; c.1061delC	7	p.Pro156Leu; p.Glu203Lys; p.Pro354Argfs*23
A _{weak}	ABO*AW.21	c.467C>T; c.607G>C; c.1061delC	7	p.Pro156Leu; p.Glu203Gln; p.Pro354Argfs*23
A _{weak}	ABO*AW.22	c.467C>T; c.634G>A; c.1061delC	7	p.Pro156Leu; Val212Met; p.Pro354Argfs*23
A _{weak}	ABO*AW.23	c.467C>T; c.722G>A; c.1061delC	7	p.Pro156Leu; p.Arg241Gln; p.Pro354Argfs*23
A _{weak}	ABO*AW.24	c.467C>T; c.742C>T; c.1061delC	7	p.Pro156Leu; p.Arg248Cys; p.Pro354Argfs*23
A _{weak}	ABO*AW.25	c.467C>T; c.829G>A; c.1061delC	7	p.Pro156Leu; p.Val277Met; p.Pro354Argfs*23
A _{weak}	ABO*AW.26	c.467C>T; c.527G>A; c.1061delC	7	p.Pro156Leu; p.Arg176His; p.Pro354Argfs*23
A _{weak}	ABO*AW.27	c.527G>A; c.1061delC	7	p.Arg176His; p.Pro354Argfs*23
A _{weak}	ABO*AW.28	c.98+2T>C	Intron 1	Altered splicing
A _{weak}	ABO*AW.29	c.311T>A	6	p.Ile104Asn
A _x /A _{weak}	ABO*AW.30.01	c.646T>A	7	p.Phe216Ile
A _x /A _{weak}	ABO*AW.30.02	c.646T>A; c.681G>A	7	p.Phe216Ile

Phenotype	Allele name	Nucleotide change	Exon	Predicted amino acid change
A _x /A _{weak}	<i>ABO*AW.31.01</i>	c.297A>G; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	6 7	p.Phe216Ile; p.Val277Met
A _x /A _{weak}	<i>ABO*AW31.02-05</i>	c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	7	p.Phe216Ile; p.Val277Met
A _x /A _{weak}	<i>ABO*AW.32</i>	c.996G>A	7	p.Trp332Ter
A _x /A _{weak}	<i>ABO*AW.33</i>	c.467C>T; c.543G>T	7	p.Pro156Leu; p.Trp181Cys
A _x /A _{weak}	<i>ABO*AW.34</i>	c.467C>T; c.829G>A; c.1009A>G	7	p.Pro156Leu; p.Val277Met; p.Arg337Gly
A _x /A _{weak}	<i>ABO*AW.35</i>	c.467C>T; c.860C>T	7	p.Pro156Leu; p.Ala287Val
A _x /A _{weak}	<i>ABO*AW.36</i>	c.607G>A	7	p.Glu203Lys
A _x /A _{weak}	<i>ABO*AW.37</i>	c.940A>G	7	p.Lys314Glu
A _x /A _{weak}	<i>ABO*AW.38</i>	c.426G>C	7	p.Met142Ile
A _x /A _{weak}	<i>ABO*AW.39</i>	c.385T>C	7	p.Phe129Leu
A _x /A _{weak}	<i>ABO*AW.40</i>	c.499G>T	7	p.Gly167Cys
A _x /A _{weak}	<i>ABO*AW.41</i>	c.370A>G	6	p.Lys124Glu
A _x /A _{weak}	<i>ABO*AW.42</i>	c.467C>T; c.905A>G	7	p.Pro156Leu; p.Asp302Gly
A _x /A _{weak}	<i>ABO*AW.43</i>	c.467C>T; c.721C>T	7	p.Pro156Leu; p.Arg241Trp
A _{finn} /A _{weak}	<i>ABO*AW.44</i>	c.374+4A>G	Intron 6	Altered splicing
A _{bantu} /A _{weak}	<i>ABO*AW.45</i>	c.203+1delG; c.467C>T; c.1061delC	Intron 4 7	Altered splicing
A _m	<i>ABO*AM.01</i>	c.467C>T; c.761C>T	7	p.Pro156Leu; p.Ala254Val
A _m	<i>ABO*AM.02</i>	c.664G>A	7	p.Val222Met
A _{el}	<i>ABO*AEL.01</i>	c.804dupG	7	p.Phe269Valfs*124
A _{el}	<i>ABO*AEL.02</i>	c.467C>T; c.646T>A; c.681G>A	7	p.Pro156Leu; p.Phe216Ile
A _{el}	<i>ABO*AEL.03</i>	c.804delG	7	p.Phe269Serfs*20
A _{el}	<i>ABO*AEL.04</i>	c.374+5G>A	Intron 6	Altered splicing
A _{el}	<i>ABO*AEL.05</i>	c.467C>T; c.767T>C	7	p.Pro156Leu; p.Ile256Thr
A _{el}	<i>ABO*AEL.06</i>	c.425T>C; c.467C>T	7	p.Met142Thr; p.Pro156Leu
A _{el}	<i>ABO*AEL.07</i>	c.467C>T; 681G>A; 771C>T; c.829G>A	7	p.Pro156Leu; p.Val277Met

Phenotype	Allele name	Nucleotide change	Exon	Predicted amino acid change
A _{el}	<i>ABO*AEL.08</i>	c.467C>T; c.804dupG	7	p.Pro156Leu; p.Phe269Valfs*124

The *A103-A107* alleles in dbRBC do not give rise to an altered amino acid sequence compared to other alleles, and so are not included here. *A108* and *A109* are listed as unpublished, and had no phenotype registered in dbRBC. *A214* and *A215* represent the same coding sequence as *ABO*A2.01*, but have been registered under other names due to intron polymorphisms. Also, their phenotypes are not given in dbRBC. Some alleles listed above are unpublished, but have been submitted to GenBank/dbRBC.

It is also noteworthy that many of the alleles registered as associated with the rare A₂ phenotype in Asia (e.g. *A2.08*, *A2.13*, *A2.17*, *A2.18* and *A2.20*) cause amino acid substitutions that have been associated with weaker A subgroups in other studies. In the case of *A2.18* and *A2.19*, the phenotype was given as A, not A₂.

Molecular bases associated with the B and weak B phenotypes

The seven B-associated polymorphisms are only shown for the first allele but are present in all the others except *ABO*BEL.04*, which uses *A1.01*. Differences compared to *ABO*B.01*, that encodes B glycosyltransferase, are given.

Phenotype	Allele name	Nucleotide change	Exon	Predicted amino acid change
B	<i>ABO*B.01</i>	c.297A>G; c.526C>G; c.657C>T; c.703G>A; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A	6 7	p.Arg176Gly; p.Gly235Ser; p.Leu266Met; p.Gly268Ala
B	<i>ABO*B.02</i>	c.892G>T	7	p.Ala298Ser
B	<i>ABO*B.03</i>	c.559C>T	7	p.Arg187Cys
B ₃	<i>ABO*B3.01</i>	c.1054C>T	7	p.Arg352Trp
B ₃	<i>ABO*B3.02</i>	c.646T>A	7	p.Phe216Ile
B ₃	<i>ABO*B3.03</i>	c.155+5G>A	Intron 3	Altered splicing
B ₃	<i>ABO*B3.04</i>	c.247G>T	6	p.Asp83Tyr
B ₃	<i>ABO*B3.05</i>	c.425T>C	7	p.Met142Thr
B ₃	<i>ABO*B3.06</i>	c.547G>A	7	p.Asp183Asn
B ₃	<i>ABO*B3.07</i>	c.410C>T	7	p.Ala137Val
B ₃	<i>ABO*B3.08</i>	c.938A>C	7	p.His313Pro
B _x /B _{weak}	<i>ABO*BW.01</i>	c.871G>A	7	p.Asp291Asn
B _{weak}	<i>ABO*BW.02</i>	c.873C>G	7	p.Asp291Glu
B _{weak}	<i>ABO*BW.03</i>	c.721C>T	7	p.Arg241Trp
B _{weak}	<i>ABO*BW.04</i>	c.548A>G	7	p.Asp183Gly
B _{weak}	<i>ABO*BW.05</i>	c.539G>A	7	p.Arg180His
B _{weak}	<i>ABO*BW.06</i>	c.1036A>G	7	p.Lys346Glu
B _{weak}	<i>ABO*BW.07</i>	c.1055G>A	7	p.Arg352Gln
B _{weak}	<i>ABO*BW.08</i>	c.863T>G	7	p.Met288Arg
B _{weak}	<i>ABO*BW.09</i>	c.1037A>T	7	p.Lys346Met
B _{weak}	<i>ABO*BW.10</i>	c.556A>G	7	p.Met186Val
B _{weak}	<i>ABO*BW.11</i>	c.695T>C	7	p.Leu232Pro
B _{weak}	<i>ABO*BW.12</i>	c.278C>T	6	p.Pro93Leu

Names for ABO (ISBT 001) blood group alleles v1.1 171023

Phenotype	Allele name	Nucleotide change	Exon	Predicted amino acid change
B _{weak}	<i>ABO*BW.14</i>	c.523G>A	7	p.Val175Met
B _{weak}	<i>ABO*BW.15</i>	c.565A>G	7	p.Met189Val
B _{weak}	<i>ABO*BW.16</i>	c.575T>C	7	p.Ile192Thr
B _{weak}	<i>ABO*BW.17</i>	c.784G>A	7	p.Asp262Asn
B _{weak}	<i>ABO*BW.18</i>	c.802G>A	7	p.Gly268Thr
B _{weak}	<i>ABO*BW.19</i>	c.646T>A; c.681G>A	7	p.Phe216Ile
B _{weak}	<i>ABO*BW.20</i>	c.815_816insG	7	p.Ser273Valfs*?
B _{weak}	<i>ABO*BW.21</i>	c.688G>C	7	p.Gly230Arg
B _{weak}	<i>ABO*BW.22</i>	c.503G>T	7	p.Arg168Leu
B _{weak}	<i>ABO*BW.23</i>	c.743G>C	7	p.Arg248Pro
B _{weak}	<i>ABO*BW.24</i>	c.558G>T	7	p.Met186Ile
B _{weak}	<i>ABO*BW.25</i>	c.103G>A; c.619C>G	3 7	p.Gly35Arg; p.Leu207Val
B _{weak}	<i>ABO*BW.26</i>	c.53G>T	2	p.Arg18Leu
B _{weak}	<i>ABO*BW.27</i>	c.905A>G	7	p.Asp302Gly
B _{weak}	<i>ABO*BW.28</i>	c.541T>C	7	p.Trp181Arg
B _{weak}	<i>ABO*BW.29</i>	c.588C>G	7	p.Cys196Trp
B _{weak}	<i>ABO*BW.30</i>	c.976G>T	7	p.Asp326Tyr
B _{weak}	<i>ABO*BW.31</i>	c.900G>C	7	p.Trp300Cys
B _{weak}	<i>ABO*BW.32</i>	c.808T>A	7	p.Phe270Ile
B _{weak}	<i>ABO*BW.33</i>	c.550G>A	7	p.Val184Met
B _{weak}	<i>ABO*BW.34</i>	c.889G>A	7	p.Glu297Lys
B _{el}	<i>ABO*BEL.01</i>	c.641T>G	7	p.Met214Arg
B _{el}	<i>ABO*BEL.02</i>	c.669G>T	7	p.Glu223Asp
B _{el}	<i>ABO*BEL.03</i>	c.502C>T	7	p.Arg168Trp
B _{el}	<i>ABO*BEL.05</i>	c.952G>A	7	p.Val318Met
B _{el}	<i>ABO*BEL.04</i>	c.467C>T; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.796C>A; c.803G>C; c.829G>A	7	p.Pro156Leu; p.Phe216Ile; p.Leu266Met; p.Gly268Ala; p.Val277Met

Other variants of B alleles exist, but the ones listed in dbRBC are either based on: 1) lack of one

of the silent A vs. B SNPs (e.g. *B102* has 930G; *B103* has 657C); 2) silent mutations (*B109* has 498C>T); 3) intron SNPs (e.g. *B107*, *B113*, *B114*, *B116*); 4) a sequence identical to a proven *B_{weak}*; 5) unpublished (*B113-B116*).

Molecular bases associated with cisAB and B(A) phenotypesDifferences compared to *ABO*A1.01* are given.

Phenotype	Allele name	Nucleotide change	Exon	Predicted amino acid change
cisAB	<i>ABO*cisAB.01</i>	c.467C>T; c.803G>C	7	p.Pro156Leu; p.Gly268Ala
cisAB	<i>ABO*cisAB.02</i>	c.526C>G; c.657C>T; c.703G>A; c.803G>C	7	p.Arg176Gly; p.Gly235Ser; p.Gly268Ala
cisAB	<i>ABO*cisAB.03</i>	c.297A>G; c.526C>G; c.657C>T; c.700C>T; c.703G>A; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A	6 7	p.Arg176Gly; p.Pro234Ser; p.Gly235Ser; p.Leu266Met; p.Gly268Ala
cisAB	<i>ABO*cisAB.04</i>	c.467C>T; c.796C>A	7	p.Pro156Leu; p.Leu266Met
cisAB	<i>ABO*cisAB.05</i>	c.297A>G; c.526C>G; c.657C>T; c.703G>A; c.796C>A; c.930G>A	6 7	p.Arg176Gly; p.Gly235Ser; p.Leu266Met
cisAB	<i>ABO*cisAB.06</i>	c.297A>G; c.657C>T; c.703G>A; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A	6 7	p.Gly235Ser; p.Leu266Met; p.Gly268Ala
B(A)	<i>ABO*BA.01</i>	c.297A>G; c.526C>G; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A	6 7	p.Arg176Gly; p.Leu266Met; p.Gly268Ala
B(A)	<i>ABO*BA.02</i>	c.297A>G; c.526C>G; c.657C>T; c.700C>G; c.703G>A; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A	6 7	p.Arg176Gly; p.Pro234Ala; p.Gly235Ser; p.Leu266Met; p.Gly268Ala
B(A)	<i>ABO*BA.03</i>	c.297A>G; c.526C>G; c.657C>T; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A	6 7	p.Arg176Gly; p.Leu266Met; p.Gly268Ala
B(A)	<i>ABO*BA.04</i>	c.297A>G; c.526C>G; c.640A>G; c.657C>T; c.703G>A; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A	6 7	p.Arg176Gly; p.Met214Val; p.Gly235Ser; p.Leu266Met; p.Gly268Ala

Names for ABO (ISBT 001) blood group alleles v1.1 171023

Phenotype	Allele name	Nucleotide change	Exon	Predicted amino acid change
B(A)	<i>ABO*BA.05</i>	c.297A>G; c.526C>G; c.641T>C; c.657C>T; c.703G>A; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A	6 7	p.Arg176Gly; p.Met214Thr; p.Gly235Ser; p.Leu266Met; p.Gly268Ala
B(A)	<i>ABO*BA.06</i>	c.297A>G; c.526C>G; c.657C>T; c.703G>A; c.796C>A; c.930G>A	6 7	p.Arg176Gly; p.Gly235Ser; p.Leu266Met

Molecular bases associated with O (null) phenotypeDifferences compared to *ABO*A1.01* are given.

Phenotype	Allele name	dbRBC (alt.) name	Nucleotide change	Exon	Predicted amino acid change
O	<i>ABO*O.01.01</i>	O01 (<i>O</i> ¹)	c.261delG	6	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.02</i>	O02 (<i>O</i> ¹)	c.106G>T; c.188G>A; c.189C>T; c.220C>T; c.261delG; c.297A>G; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	3 4 5 6 7	p.Val36Phe; p.Arg63His; p.Pro74Ser; p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.04</i>	O04	c.261delG; c.579T>C	6	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.05</i>	O05	c.261delG; c.297A>G	6	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.06</i>	O06, O30	c.261delG; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.07</i>	O07	c.261delG; c.297A>G; c.646T>A; c.681G>A; c.721C>T; c.771C>T; c.829G>A	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.09</i>	O09	c.261delG; c.318C>T; c.467C>T	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.10</i>	O10	c.261delG; 657C>T	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.11</i>	O11	c.261delG; c.297A>G; c.542G>A; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.12</i>	O12	c.261delG; c.297A>G; c.595C>T; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.13</i>	O13	c.261delG; c.297A>G; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.22</i>	O22	c.261delG c.467C>T; c.1061delC	6 7	p.Thr88Profs*31

Names for ABO (ISBT 001) blood group alleles v1.1 171023

Phenotype	Allele name	dbRBC (alt.) name	Nucleotide change	Exon	Predicted amino acid change
O	<i>ABO*O.01.23</i>	O23	c.261delG; c.297A>G; c.646T>A; c.771C>T; c.829G>A; 1054C>T	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.24</i>	O24	c.106G>T; c.188G>A; c.189C>T; c.261delG; c.297A>G; c.526C>G; c.657C>T; c.703G>A; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A	3 4 6 7	p.Val36Phe; p.Arg63His; p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.25</i>	O25	c.261delG; c.454T>C	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.26</i>	O26	c.261delG; c.768C>A	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.27</i>	O27	c.261delG; c.318C>T; c.467C>T; c.729C>T	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.28</i>	O28	c.261delG; c.926A>G	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.29</i>	O29	c.261delG; c.318C>T	6	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.31</i>	O31	c.261delG; c.297A>G; c.529G>A; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.32</i>	O32	c.261delG; c.297A>G; c.538C>T; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.33</i>	O33	c.261delG; c.297A>G; c.498C>T; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.34</i>	O34	c.261delG; c.297A>G; c.351G>A; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	6 7	p.Thr88Profs*31

Names for ABO (ISBT 001) blood group alleles v1.1 171023

Phenotype	Allele name	dbRBC (alt.) name	Nucleotide change	Exon	Predicted amino acid change
O	<i>ABO*O.01.35</i>	O35	c.106G>T; c.188G>A; c.189C>T; c.220C>T; c.261delG; c.297A>G; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	3 4 5 6 7	p.Val36Phe; p.Arg63His; p.Pro74Ser; p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.36</i>	O36	c.106G>T; c.188G>A; c.189C>T; c.220C>T; c.261delG; c.297A>G; c.646T>A; c.681G>A; c.829G>A	3 4 5 6 7	p.Val36Phe; p.Arg63His; p.Pro74Ser; p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.39</i>	O39	c.220C>T; c.261delG; c.297A>G; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	5 6 7	p.Pro74Ser; p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.40</i>	O40	c.106G>T; c.188G>A; c.189C>T; c.261delG; c.297A>G; c.646T>A; c.681G>A; c.829G>A	3 4 6 7	p.Val36Phe; p.Arg63His; p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.41</i>	O41	c.261delG; c.297A>G; c.526C>G; c.657C>T; c.703G>A; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.44</i>	O44	c.261delG; c.297A>G; c.646T>A; c.771C>T; c.829G>A	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.45</i>	O45	c.261delG; c.646T>A; c.771C>T	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.46</i>	O46	c.261delG; c.646T>A; c.771C>T; c.829G>A	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.56</i>	O56; O70	c.261delG; c.496delA	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.57</i>	O57	c.261delG; c.802G>A	6 7	p.Thr88Profs*31

Phenotype	Allele name	dbRBC (alt.) name	Nucleotide change	Exon	Predicted amino acid change
O	<i>ABO*O.01.58</i>	O58	c.261delG; c.297A>G; c.646T>A; c.681G>A; c.687C>T; 771C>T; c.829G>A	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.61</i>	O61	c.261delG; c.743G>C	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.67</i>	O67	c.103G>A; c.106G>T; c.188G>A; c.189C>T; c.220C>T; c.261delG; c.297A>G; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	3 4 5 6 7	p.Gly35Arg; p.Val36Phe; p.Arg63His; p.Pro74Ser; p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.68</i>	O68	c.106G>T; c.188G>A; c.189C>T; c.261delG; c.297A>G; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	3 4 6 7	p.Val36Phe; p.Arg63His; p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.71</i>	O71	c.261delG; c.829G>A	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.75</i>	O75	c.106G>T; c.188G>A; c.189C>T; c.220C>T; c.261delG; c.297A>G; c.542G>A; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	3 4 5 6 7	p.Val36Phe; p.Arg63His; p.Pro74Ser; p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.76</i>	O76	c.261delG; c.579T>C; c.1046_1048delAGG	6 7	p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.82</i>		c.190G>A; c.261delG	4 6	p.Val64Ile; p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.01.83</i>		c.106G>T; c.188G>A; c.261delG; c.297A>G	3 4 6	p.Val36Phe; p.Arg63His; p.Thr88Profs*31
O	<i>ABO*O.02.01</i>	O03 (O ²)	c.53G>T; c.220C>T; c.297A>G; c.526C>G; c.802G>A	2 5 6 7	p.Arg18Leu; p.Pro74Ser; p.Arg176Gly; p.Gly268Arg

Names for ABO (ISBT 001) blood group alleles v1.1 171023

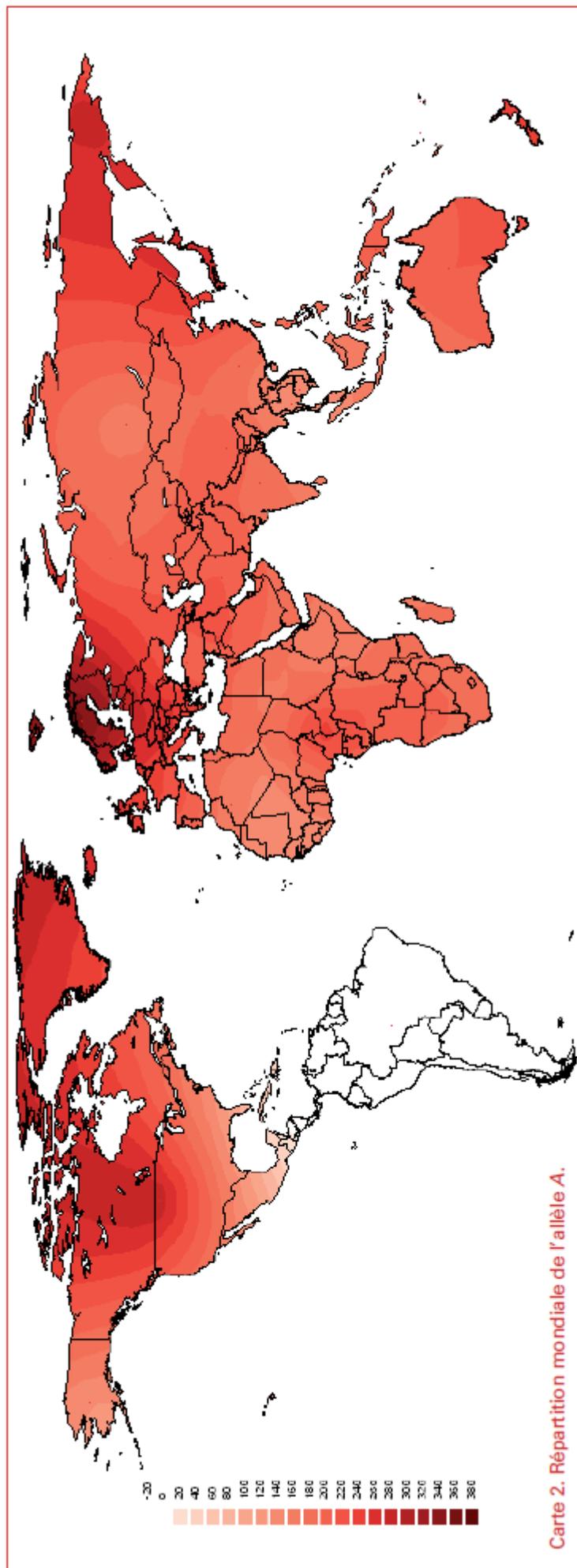
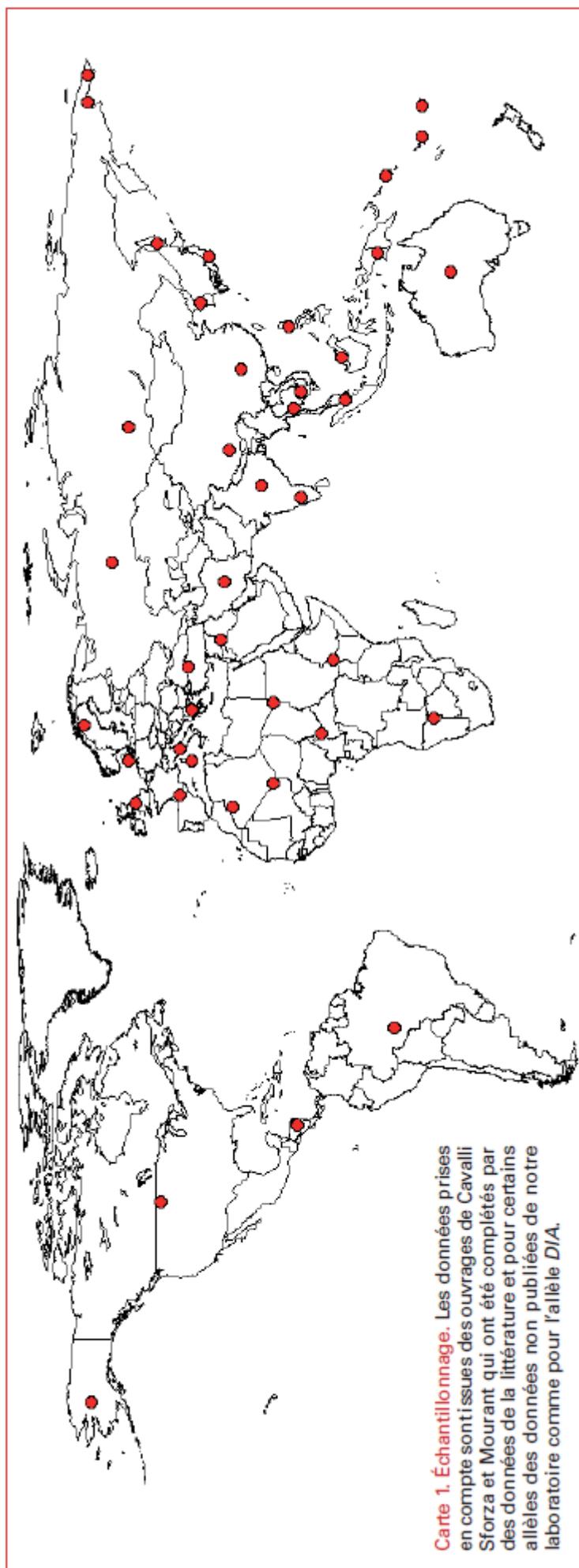
Phenotype	Allele name	dbRBC (alt.) name	Nucleotide change	Exon	Predicted amino acid change
O	<i>ABO*O.02.02</i>	O48 (<i>O</i> ²⁻²)	c.53G>T; c.220C>T; c.297A>G; c.526C>G; c.649C>T; c.689G>A; c.802G>A	2 5 6 7	p.Arg18Leu; p.Pro74Ser; p.Arg176Gly; p.Arg217Cys; p.Gly230Asp; p.Gly268Arg
O	<i>ABO*O.02.03</i>	O49 (<i>O</i> ²⁻²)	c.53G>T; c.220C>T; c.297A>G; c.526C>G; c.689G>A; c.802G>A	2 5 6 7	p.Arg18Leu; p.Pro74Ser; p.Arg176Gly; p.Gly230Asp; p.Gly268Arg
O	<i>ABO*O.02.04</i>	O50 (<i>O</i> ²⁻⁴)	c.53G>T; c.220C>T; c.297A>G; c.488C>T; c.526C>G; c.802G>A	2 5 6 7	p.Arg18Leu; p.Pro74Ser; p.Thr163Met; p.Arg176Gly; p.Gly268Arg
O	<i>ABO*O.03</i>	O08 (<i>O</i> ³)	c.467C>T; c.804dupG; c.1061delC	7	p.Pro156Leu; p.Phe269Valfs*87
O	<i>ABO*O.04.01</i>	O41 (<i>O</i> ⁴)	c.87_88insG	2	p.Val30Glyfs*27
O	<i>ABO*O.04.02</i>	O21 (<i>O</i> ⁴)	c.87_88insG; c.261delG; c.467C>T	2 6 7	p.Val30Glyfs*27
O	<i>ABO*O.05</i>	O52 (<i>O</i> ⁵)	c.322C>T	6	p.Gln108Ter
O	<i>ABO*O.06</i>	O53 (<i>O</i> ⁶)	c.542G>A	7	p.Trp181Ter
O	<i>ABO*O.07</i>	O14 (<i>O</i> ₃₀₁)	c.467C>T; c.893C>T	7	p.Pro156Leu; p.Ala298Val
O	<i>ABO*O.08</i>	O15 (<i>O</i> ₃₀₂)	c.927C>A	7	p.Tyr309Ter
O	<i>ABO*O.09.01</i>	O19 (<i>R</i> ₁₀₂)	c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	7	p.Phe216Ile; p.Val277Met
O	<i>ABO*O.09.02</i>	O20 (<i>R</i> ₁₀₃)	c.297A>G; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A	6 7	p.Phe216Ile; p.Val277Met
O	<i>ABO*O.10</i>	O72	c.66_67insG	2	p.Phe23Valfs*34

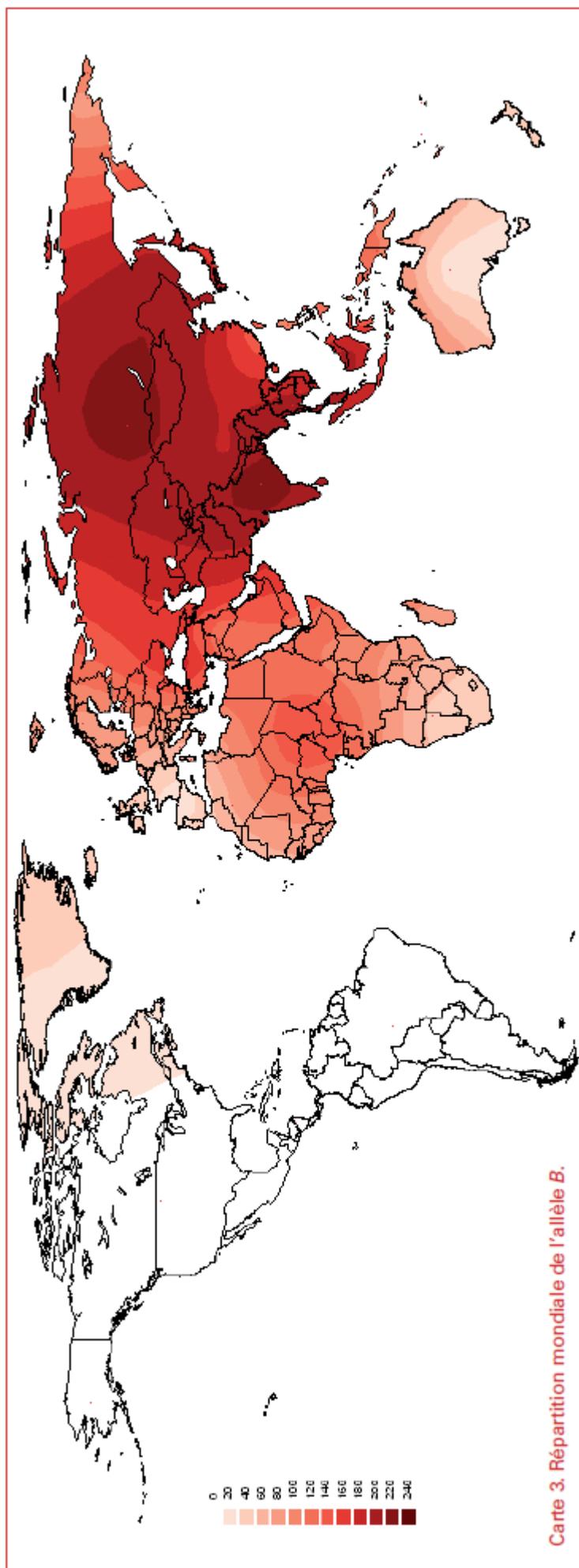
Names for ABO (ISBT 001) blood group alleles v1.1 171023

Phenotype	Allele name	dbRBC (alt.) name	Nucleotide change	Exon	Predicted amino acid change
O	<i>ABO*O.11</i>	O74	c.297A>G; c.505_507delCAG; c.526C>G; c.657C>T; c.703G>A; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A	6 7	p.Gln169del; p.Arg176Gly; p.Gly235Ser; p.Leu266Met; p.Gly268Ala
O	<i>ABO*O.12</i>	O77	c.297A>G; c.526C>G; c.563G>A; c.657C>T; c.703G>A; c.796C>A; c.803G>C; c.930G>A	6 7	p.Arg176Gly; Arg188His; p.Gly235Ser; p.Leu266Met; p.Gly268Ala
O	<i>ABO*O.13</i>	O78	c.452T>G	7	p.Val151Gly
O	<i>ABO*O.14</i>	O79	c.635T>A	7	p.Val212Glu
O	<i>ABO*O.15</i>	O81	c.793T>C	7	p.Tyr265His
O	<i>ABO*O.16</i>		c.106G>T; c.188G>A; Deletion of exons 5-7	3 4 5-7	p.?

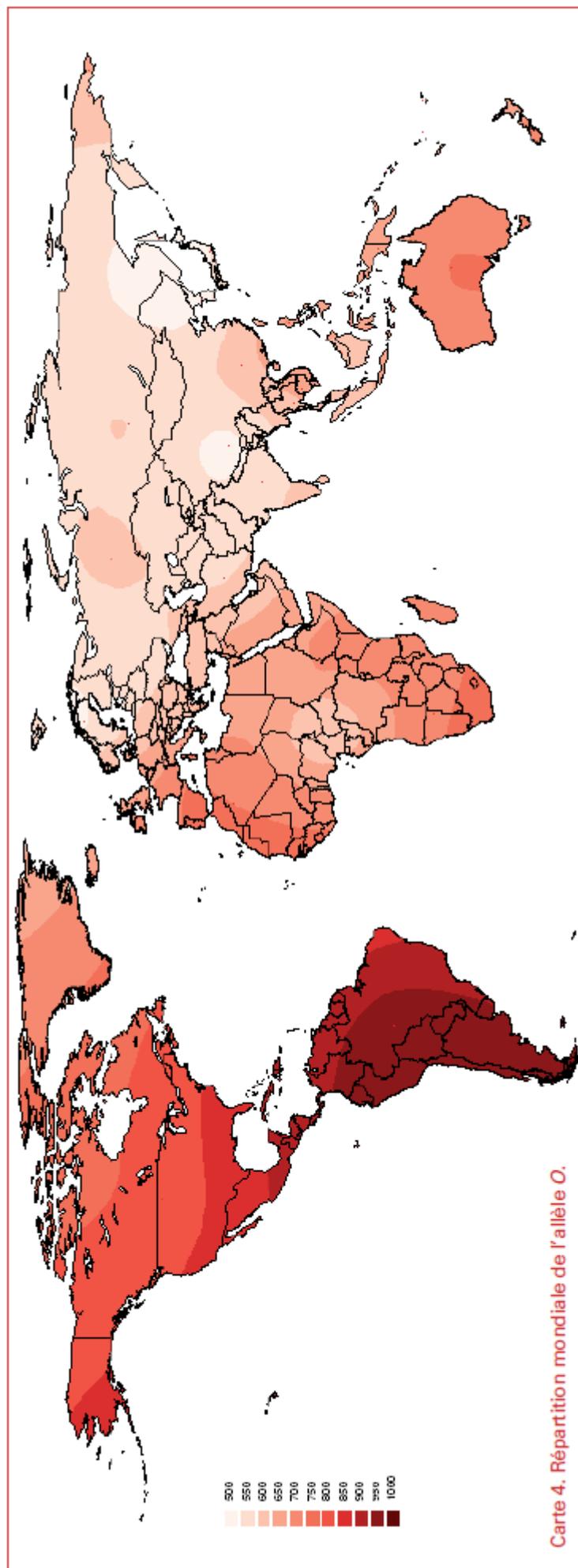
All alleles in which c.261delG occurs are numbered *ABO*O.01.XX*. Those *O* alleles that arise from a molecular basis other than c.261delG have been assigned independent *ABO*O.XX* numbers.

Annexe B : Cartes de répartition mondiale des différents allèles du groupe sanguins ABO ⁽¹⁹³⁾

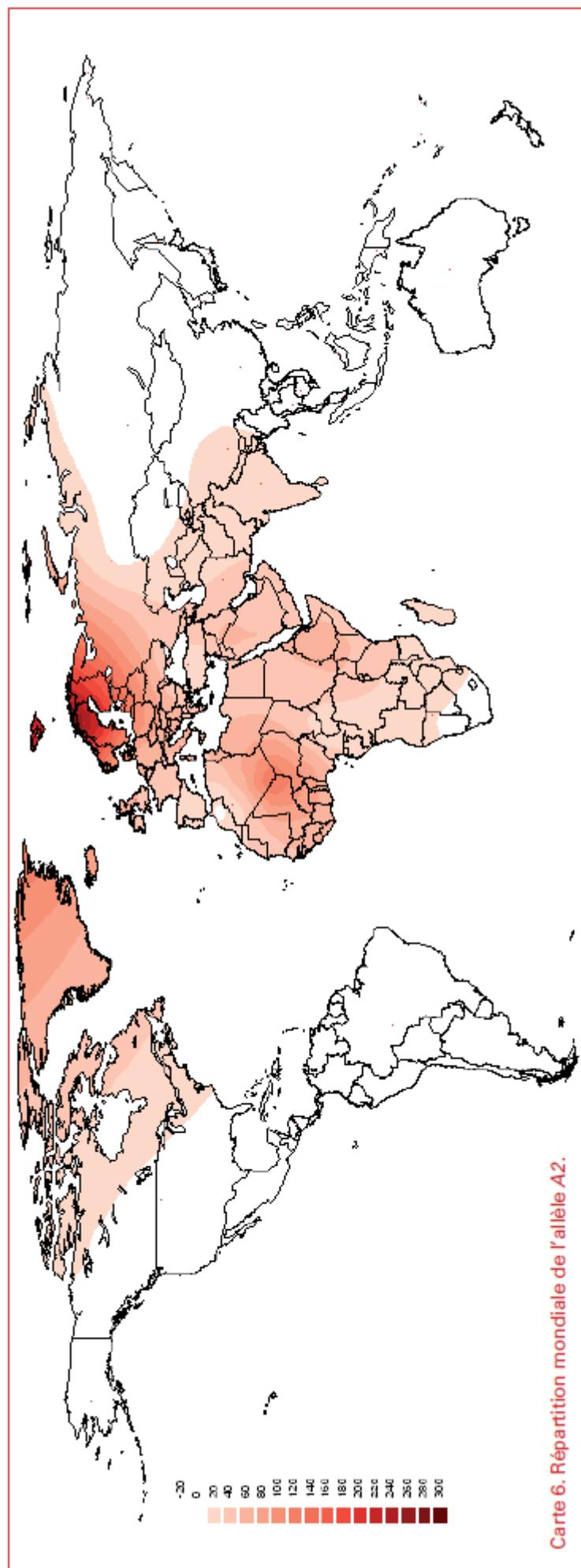
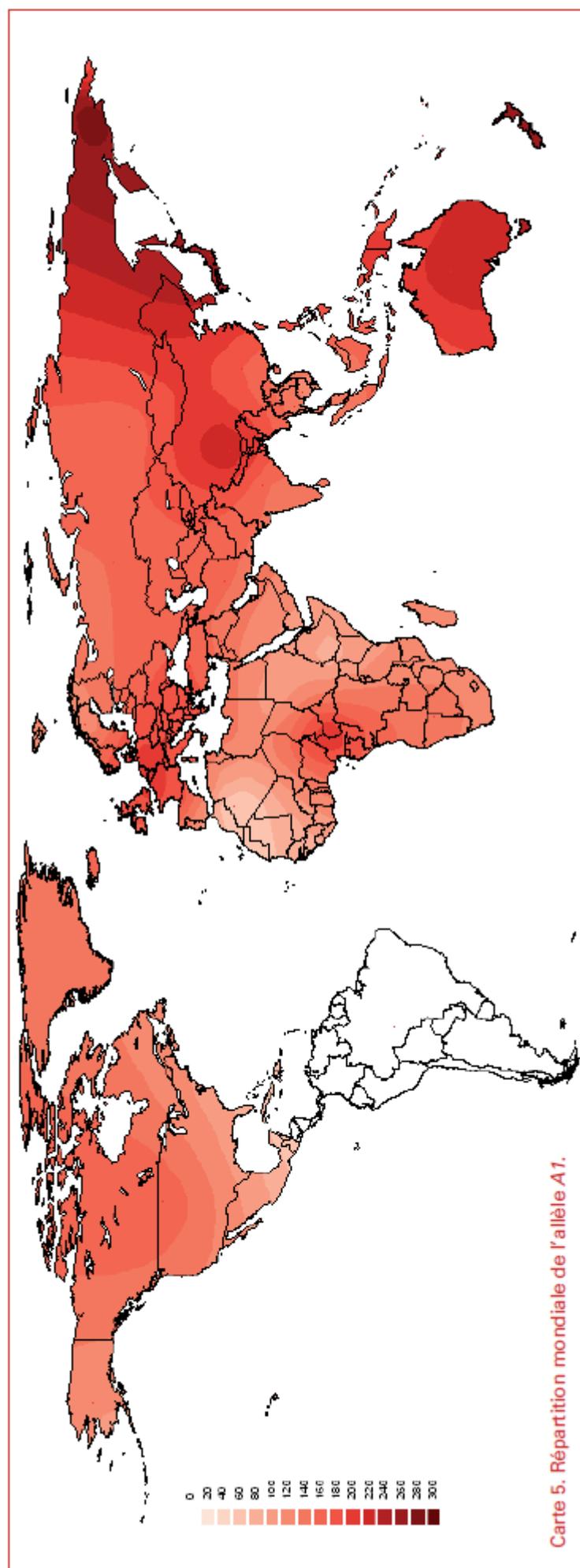




Carte 3. Répartition mondiale de l'allèle B.



Carte 4. Répartition mondiale de l'allèle O.



Annexe C : Fiche de consentement

Consentement Eclairé de participation
à une recherche scientifique sur caractérisation des groupes sanguins
 موافقة صريحة حول المشاركة في مشروع بحث علمي حول تمييز الزمر الدموية
 Personne adulte شخص راشد

Confidentiel/سري

Je soussigné(e)..... أنا المضي اسفله
 Certifie أشهد

Avoir reçu et compris l'information qui m'a été remise sur le projet de recherche et il m'a été précisé que ma participation est libre et volontaire.	تسلمت وفهمت كل المعلومات المتعلقة بمشروع البحث وعلمت أن مشاركتي حرة وتطوعية.
J'autorise l'équipe de recherche à collecter des informations sur ma famille ainsi qu'à effectuer une prise d'un échantillon de sang pour les analyses biologiques et génétiques nécessaires dans le cadre de la recherche scientifique.	أوافق على تمكين فريق العمل من جمع كل المعلومات الشخصية والجذور العائلية المتعلقة بمشروع البحث وأخذ عينة دم لجراء كل التحاليل البيولوجية والحينية اللازمة
J'ai bien noté que les données seront collectées et analysées par des outils informatiques dans le respect le plus strict de la confidentialité.	علمت أن كل المعلومات المدونة سيتم جمعها وتحليلها ومعالجتها آليا في إطار السرية التامة

Accepte librement et volontairement de participer à la recherche scientifique sur caractérisation des groupes sanguins

أوافق بصفة حرة وتطوعية للمساهمة في مشروع البحث التعلق بالعوامل النوروبولوجينية

Signature de la personne donnant son consentement (Témoin / Malade)
 إمضاء الشخص الذي أسدى بموافقتة (سليم / مريض)

Fait : حرر ب:
 Date : يوم :
 Signature : الإمضاء :

Signature de la personne qui atteste avoir pleinement expliqué à la personne signataire le but, les modalités ainsi que les finalités de la recherche.

Nom et prénom :..... Qualité :.....
 Date : Signature

Origine géographique:

Annexe D : Fiche de Renseignements

FICHE DE DON

DATE DU DON : /__ /__ /__ / NUMERO UNIQUE DU DON :

NOM : PRENOM :

NOM DE JEUNE FILLE :

DATE ET LIEU DE NAISSANCE : /__ /__ /__ / (..... ans) à

SEXE : /__/M /__/ F PROFESSION :

ADRESSE :

Tél : Email :

DONS ANTERIEURS :

- Premier don ? OUI /__/ NON /__/ N° carte /__

- Si dons antérieurs, date du dernier /__ /__ /__

- Y'a-t-il eu des incidents ? /__/ Non /__/ Oui lequel ? /__/ Malaises /__/ Problème de veine

PARTIE RESERVEE A L'ENTRETIEN PRE DON

T.A : Poids :

APTE : /__/ QUANTITE A PRELEVER : /__ / ml

PREPARATION ENVISAGEE : /__/ Avec plaquettes /__/ Sans plaquettes

INAPTE TEMPORAIRE : /__/ INAPTE DEFINITIF : /__/ CODE CI : /__

Code / Nom et signature :

PARTIE RESERVEE AU PRELEVEMENT

Heure de prélèvement : /__ /__ /__ / H /__ /__ / mn

Quantité prélevée : /__ / ml Durée prélèvement : /__ /__ / mn

TYPE DE POCHE : /__/ Double /__/ Triple /__/ Autre :

OBSERVATION : /__/ RAS /__/ Problème de veines
/__/ Malaise /__/ Pendant prélèvement /__/ Post prélèvement

CONCLUSION : /__/ Vol acceptable /__/ Vol insuffisant /__/ Vol excessif /__/ Non prélevé(e)

Code / Nom et signature du préleveur :



Nom et Prénom : Khaled BOUZENDA

Titre : Etude du polymorphisme génétique du système ABO dans la population du Nord est Algérien.

Thèse en vue de l'Obtention du Diplôme de Doctorat en Sciences Médicales en Hémodiagnostique – Transfusion sanguine

Résumé

La découverte du système ABO a permis l'entrée en existence de la science de l'immuno-hématologie, et de fonder les bases et les règles de la médecine transfusionnelle, en effet plusieurs chercheurs se sont intéressés à l'étude du polymorphisme du système ABO, notamment avec le développement des techniques de biologie moléculaire, d'une part afin d'approfondir les connaissances sur les mécanismes d'interaction de ce système avec différentes maladies dans la perspective du développement et de l'amélioration de nouvelles thérapeutiques, et d'autre part afin de participer à l'étude et à la compréhension de la diversité génétique humaine, et de retracer l'histoire migratoire et les origines des populations.

Notre travail consiste à déterminer les fréquences phénotypiques, alléliques, et géniques du système ABO sur la population du Nord-est Algérien, par techniques sérologiques, et de biologie moléculaire. L'étude phénotypique a concerné 10208 donneurs de sang, l'ordre des fréquences des allèles ABO est O>A>B avec respectivement 0.6820, 0.2112, 0.1068. Alors que l'ordre de fréquence des génotypes ABO déterminé par biologie moléculaire est : OO > AO > BO > AA > AB > BB avec respectivement : 44.44% > 23.08% > 15.38% > 10.26% > 5.13% > 1.71%. En plus des allèles ABO, A1, A2, B, O1 et O2 mis en évidence par biologie moléculaire, dont les fréquences sont respectivement : 16.67%, 6.41%, 11.97%, 58.12%, 5.55%, trois variants rares des allèles ABO ont été mis évidence. L'estimation des distances génétiques à travers l'analyse en Composantes Principales et la classification hiérarchique Ascendante entre notre population d'étude et d'autres populations nationales, Maghrébines, et mondiales, a permis de constater que notre population d'étude est très proche génétiquement aux autres populations Algériennes et maghrébines, et les différences génétiques étaient moins prononcées avec les populations subsahariennes, qu'avec les populations européennes et Asiatiques, et elles ne sont pas toujours bien corrélées aux distances géographiques, mais influencées par d'autres facteurs engendrant plus de mixtions avec certaines populations qu'avec d'autres. La localisation géographique de notre population à la porte de l'Afrique, et sur la rive sud de la Méditerranée, associé à plusieurs événements historiques comme les envahissements, les échanges commerciaux, et les conquêtes Islamiques, ont été à l'origine de beaucoup de mouvements et de brassages populationnels qu'ont connu notre région, et contribuant ainsi à l'identité génétique de notre population. Notre travail sera poursuivi, par une étude sur un échantillon plus large, et un séquençage du gène ABO pour mieux préciser les bases moléculaires du polymorphisme génétique des variants ABO.

Mots clés : ABO, Allèles, Nord-est Algérien, Phénotype, Génotype, Biologie moléculaire.

Directeur de thèse : Professeur Hanifa OUELAA – Université de Annaba

Année Universitaire : 2020-2021