



**TRANSFUSIONS DE GLOBULES ROUGES HOMOLOGUES :  
PRODUITS, INDICATIONS, ALTERNATIVES**

**ARGUMENTAIRE**

**LES DIFFERENTS TYPES DE CONCENTRES DE GLOBULES ROUGES**

## SOMMAIRE

<b>1. LES DIFFERENTS TYPES DE CONCENTRES DE GLOBULES ROUGES.....</b>	<b>1</b>
1.1. TRANSFORMATIONS APPLICABLES AUX PRODUITS ERYTHROCYTAIRES .....	3
1.1.1. Addition d'une solution supplémentaire de conservation en phase liquide .....	3
1.1.2. Déleucocytation .....	4
1.1.2.1. <i>Déleucocytation et lésions de stockage des globules rouges.....</i>	<i>5</i>
1.1.2.2. <i>Déleucocytation et réactions d'intolérance de type frissons-hyperthermie après transfusion de CGR .....</i>	<i>6</i>
1.1.2.3. <i>Déleucocytation et prévention de la transmission de micro-organismes .....</i>	<i>7</i>
1.1.2.4. <i>Déleucocytation et réactivation virale.....</i>	<i>20</i>
1.1.2.5. <i>Déleucocytation et allo-immunisation anti-HLA.....</i>	<i>21</i>
1.1.2.6. <i>Déleucocytation et effets immunosuppresseurs de la transfusion sanguine.....</i>	<i>22</i>
1.1.2.7. <i>Inconvénients de la déleucocytation .....</i>	<i>26</i>
1.1.3. Déplasmatisation.....	26
1.1.4. Cryoconservation.....	27
1.1.5. Irradiation par les rayonnements ionisants.....	28
1.1.6. Préparation pédiatrique.....	31
1.1.7. Réduction de volume .....	31
1.1.8. Sang total reconstitué.....	31
1.2. QUALIFICATIONS APPLICABLES AUX PRODUITS ERYTHROCYTAIRES.....	32
1.2.1. Phénotype.....	32
1.2.1.1. <i>Les différents types d'anticorps anti-érythrocytaires.....</i>	<i>32</i>
1.2.1.2. <i>Anticorps d'intérêt transfusionnel : nature et fréquence.....</i>	<i>33</i>
1.2.1.3. <i>Accidents hémolytiques immunologiques : fréquence et mortalité (hors incompatibilité ABO).....</i>	<i>34</i>
1.2.1.4. <i>Facteurs favorisant l'alloimmunisation anti-érythrocytaire.....</i>	<i>35</i>
1.2.1.5. <i>Indications des CGR phénotypés.....</i>	<i>35</i>
1.2.2. Compatibilité .....	36
1.2.3. Qualification « CMV Négatif ».....	37
1.3. PROPRIETES DES PRODUITS ERYTHROCYTAIRES EN FONCTION DE LEUR DUREE DE CONSERVATION (SANG « FRAIS », SANG « CONSERVE »).....	37
<b>ANNEXE - NOMENCLATURE DES ANTIGENES DE GROUPES SANGUINS.....</b>	<b>39</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>41</b>

## 1. LES DIFFERENTS TYPES DE CONCENTRES DE GLOBULES ROUGES

- *Sang total*

Le sang total a été le produit très majoritairement utilisé jusqu'à la généralisation de l'emploi des matériels plastiques de prélèvement. Par la suite, il aurait pu être considéré comme le produit sanguin labile (PSL) idéal, notamment en cas d'anémie aiguë par saignement. Néanmoins, ses indications sont à présent très limitées pour de nombreuses raisons, parmi lesquelles nous ne retiendrons que celles liées à la qualité et à la disponibilité du produit.

Au cours de la conservation du sang total, les lésions dues au stockage des constituants cellulaires (globules rouges, plaquettes) et plasmatiques sont considérablement plus importantes que lors de la conservation des produits correspondants (concentrés de globules rouges (CGR), concentrés de plaquettes (CP) et plasma frais congelé (PFC)) préparés à partir du don de sang. Ces lésions de stockage sont responsables d'une diminution de l'efficacité thérapeutique du produit transfusé (diminution de la recirculation des globules rouges et des plaquettes, diminution de la concentration des facteurs de la coagulation) :

- Dans le cas des globules rouges, les lésions de stockage du sang total conservé seulement 21 jours sont au moins équivalentes à celles du CGR conservé 42, voire 47 jours ;
- Dans le cas des plaquettes, les lésions sont considérables dès le premier jour de conservation du sang total ; la concentration des facteurs de coagulation labiles, en particulier les facteurs V et VIII, diminue également très rapidement dans le sang total, alors qu'il est préservé au-dessus de 70% de sa valeur initiale dans le PFC.

Ainsi, pour avoir la même efficacité thérapeutique que l'association d'un CGR et d'un PFC, il faudrait avoir recours à du sang total conservé moins de 24 heures après le don. Ce délai est irréaliste du fait :

- des analyses effectuées sur chaque don de sang, et notamment du dépistage génomique viral pour les virus VIH et VHC ;
- des impératifs de sélection des PSL en fonction non seulement des groupes sanguins ABO et RH1 (Rh D), mais des phénotypes RH (Rh) et KELL (Kell).

- *Concentré de globules rouges*

Un CGR est une suspension de globules rouges obtenue aseptiquement à partir d'une unité de sang total. Un CGR contient une quantité résiduelle de plasma, qui peut aller jusqu'à 100 mL, ainsi que des plaquettes (quantité non définie) et des leucocytes ( $\leq 5 \cdot 10^9$ ).

Le CGR n'est plus utilisé aujourd'hui en France, à l'exception des programmes spécifiques de transfusion pré-greffe d'organe, dont il a été établi que l'effet immunomodulateur était lié à la présence de leucocytes. En règle, il subit systématiquement deux transformations, à savoir la déleucocytation et l'ajout d'une solution supplémentaire de conservation (cf. 1.1.2.).

- *Concentré de globules rouges d'aphérèse homologue*

Le concentré de globules rouges d'aphérèse est obtenu par séparation des globules rouges et du plasma à l'aide d'un séparateur de cellules. Il est possible d'obtenir simultanément par ce moyen 2 CGR issus d'un même donneur, sous réserve du respect de critères restrictifs d'éligibilité au don (poids supérieur à 65 kg, taille supérieure à 1,65 m et concentration d'hémoglobine supérieure ou égale à  $13,5 \text{ g} \cdot \text{dL}^{-1}$ ).

Ce CGR est en tout point comparable au CGR issu de sang total [2], et peut subir les mêmes transformations. Il n'est donc pas utilisé tel quel, mais toujours après être transformé par déleucocytation et ajout d'une solution supplémentaire de conservation.

La possibilité de préparer simultanément 2 CGR issus d'un même donneur permet de réduire l'exposition de patients transfusés itératifs. Ce type de CGR peut donc être envisagé pour la prise en charge de certains transfusés itératifs [3], tels les patients porteurs de thalassémie majeure (cf. 4.3.1.1.) [4].

Comme les autres PSL, les produits érythrocytaires peuvent subir, avant leur distribution, une ou plusieurs transformation(s) ou recevoir une ou plusieurs qualification(s)<sup>1</sup> résumées dans le *Tableau I* [5].

**Tableau I** : Liste des transformations et qualifications applicables aux produits érythrocytaires.

TRANSFORMATIONS	QUALIFICATIONS
Addition d'une solution supplémentaire de conservation en phase liquide Déleucocytation Déplasmatisation Cryoconservation Irradiation par les rayonnements ionisants Préparation pédiatrique Réduction de volume Sang total reconstitué	Phénotypé Compatibilisé CMV négatif

Les principales caractéristiques des produits érythrocytaires transformés sont détaillées dans le *Tableau II*.

**Tableau II** : Principales caractéristiques des produits érythrocytaires et de leurs transformations.

Produit	Type de transformation	Contenu en hémoglobine par produit (g)			Volume (mL)			Durée de conservation (jours)		
		Min	Moy	Max	Min	Moy	Max	Système clos avec adénine		Système ouvert
								Oui	Non	
Sang total déleucocyté		40 <sup>a</sup>	-	-	350	-	563	7	7	
CGR SAGM <sup>®</sup> déleucocyté UA		40 <sup>c</sup>	54	70	225	284	400	42		1
CGR SAGM <sup>®</sup> déleucocyté UA	Déplasmatisé	35 <sup>d</sup>	51	66						6 heures
CGR SAGM <sup>®</sup> déleucocyté UA	Cryoconservé	35	43	50				7 <sup>e</sup>		1
CGR SAGM <sup>®</sup> déleucocyté UA	Irradié	40	54	70	230	280	410	42/1 <sup>f</sup>		
CGR SAGM <sup>®</sup>	Réduction de volume	40	54	70	175					1

<sup>1</sup> Une transformation est une opération qui modifie en quantité (nombre de cellules, volume, milieu de suspension) ou en qualité (déplasmatisation, irradiation, etc.) les caractéristiques du produit. Une transformation peut modifier la durée de conservation du produit avant utilisation.

Une qualification est liée aux caractéristiques du donneur lui-même. Elle ne modifie ni le contenu ni la date de péremption du produit.

Les transformations sont associables entre elles ; de même, les qualifications associées au don. Transformations et qualifications sont cumulables. Certaines transformations (addition d'une solution supplémentaire de conservation en phase liquide, déleucocytation, cryoconservation) peuvent s'appliquer aux PSL érythrocytaires autologues.

déleucocyté UA									
CGR SAGM <sup>b</sup> déleucocyté UA	Sang reconstitué	40	54	70	320				1
CGR SAGM <sup>b</sup> déleucocyté UA	Préparation pédiatrique				50 <sup>g</sup>		42		1
Sang total déleucocyté UE		22 <sup>a</sup>	-	<40	283		333	7	7
CGR déleucocyté UE		22 <sup>a</sup>	-	<40	85		240	35	21
CGR SAGM déleucocyté UE		22 <sup>a</sup>	-	<40	155		340	42	

*a : valeurs réglementaires ; PSL très rarement utilisé*

*b : issu de sang total ou d'aphérèse*

*c : données de la banque de données nationale de contrôle qualité des PSL*

*d : données d'un établissement de l'EFS (année 2001)*

*e : après décongélation et mise en solution de conservation*

*f : 42 jours après le prélèvement, si l'irradiation est faite avant le 15<sup>e</sup> jour de conservation ;*

*24 heures après l'irradiation, si elle est faite à partir du 15<sup>e</sup> jour de conservation.*

*g : chaque CGR transformé donne lieu à la préparation de plusieurs (minimum 4, maximum 8) préparations pédiatriques*

## 1.1. TRANSFORMATIONS APPLICABLES AUX PRODUITS ERYTHROCYTAIRES

### 1.1.1. Addition d'une solution supplémentaire de conservation en phase liquide

Il est de règle d'ajouter une solution supplémentaire de conservation en phase liquide à la préparation des CGR, permettant ainsi d'allonger leur durée de conservation. La réalisation systématique de cette transformation est justifiée par de très nombreuses études menées entre 1960 et 1984.

Simon [6] a été l'un des premiers à montrer que l'ajout au sang total d'adénine à la concentration de 0,5 µM.mL<sup>-1</sup> permet une conservation prolongée du produit : après conservation 42 jours, la recirculation moyenne 24 heures après transfusion était de 74% contre 49% pour les produits conservés en solution ACD simple. Cependant, lorsque des CGR étaient préparés à partir de sang total prélevé sur des solutions contenant de l'adénine, sans ajout d'une solution supplémentaire de conservation, la quantité d'adénine et de glucose dans le surnageant ne permettait pas une conservation au-delà de 35 jours [7], le facteur limitant le plus important étant l'hématocrite (Ht) du produit.

Les premiers essais de remise en suspension de CGR dans une solution de conservation à base d'adénine et de glucose remontent à 1969, mais c'est essentiellement à partir de 1978 que ce procédé est devenu réellement opérationnel. Högman [8] a le premier développé la solution SAG (Saline, Adénine, Glucose). L'emploi de cette solution aboutissait tout de même à une hémolyse excessive après 42 jours de conservation [9], réduite par l'ajout de mannitol [10]. La solution SAGM (Saline Adénine Glucose Mannitol), actuellement la plus utilisée permet, après 42 jours de conservation, une recirculation moyenne des globules rouges à 24 heures de 77,4 ± 4,7% [11].

Les solutions SAGM et ADSOL (cette dernière contient 60% de plus d'adénine et 2,5 fois plus de glucose ; elle n'est pas employée en France, mais est très utilisée aux USA) sont employées en routine depuis plus de 10 ans sans que des effets indésirables aient été décrits.

La principale crainte était la précipitation, théoriquement possible, dans les tubules rénaux de métabolites peu solubles de l'adénine, en particulier la 2,8-Dioxy-Adénine [12]. Cette toxicité n'a en fait jamais été observée en pratique clinique.

La seule situation clinique où certaines craintes persistent à l'usage de ces solutions supplémentaires de conservation est la période néonatale dans les cas de transfusion massive ( $\geq 1$  masse sanguine), ce qui conduit, du fait d'un accord professionnel, à recommander dans ce contexte des produits dits « frais », c'est-à-dire conservés 3 à 7 jours au maximum<sup>2</sup>. En fait, la quantité de solution SAGM effectivement injectée chez le nouveau-né est en règle très inférieure au seuil de toxicité estimé de ses divers composants. Une toxicité rénale de l'adénine est un risque théorique possible, mais qui n'a en pratique jamais été rapportée en raison de la faible quantité d'adénine injectée. Celle-ci est en règle générale très inférieure au seuil estimé de toxicité de ses différents métabolites, chez le nouveau-né comme chez l'adulte. Une enquête faite en Ile-de-France a montré que 75% des CGR utilisés dans les services de Néonatalogie interrogés contenaient du SAGM [13].

Le CGR avec solution supplémentaire de conservation en phase liquide (« CGR SAGM ») doit donc être considéré comme le produit érythrocytaire de base<sup>3</sup>, utilisable dans quasiment toutes les situations cliniques.

### 1.1.2. Déleucocytation

La déleucocytation des CGR est obtenue par filtration<sup>4</sup> soit du sang total, soit du CGR après séparation du plasma. En France, la déleucocytation est toujours réalisée au cours du processus de préparation du CGR et non au lit du malade transfusé. Elle a donc toujours lieu avant la période de stockage du CGR. Cette méthode permet d'assurer une déleucocytation plus efficace et une régularité des performances beaucoup plus grande que la déleucocytation au lit du patient. Il est donc important, dans l'analyse des publications relatives à la déleucocytation, de bien différencier ces deux procédés. L'utilisation des produits sanguins déleucocytés a fait l'objet de controverses dans la décennie 1980-1990 [14]. Les travaux du Groupe de Travail « PSL » de la Société Française de Transfusion Sanguine [15] sont concordants avec ceux du groupe de travail international BEST (Bio Excellence for Safer Transfusion). Bien que les valeurs « seuil » du nombre de leucocytes résiduels soient souvent difficiles à définir, il est clair que les bénéfices cliniques attendus en dépendent. Certains filtres d'écran [16] permettent de réduire la quantité de micro-agrégats responsables de certaines complications transfusionnelles (réactions fébriles non hémolytiques, infiltrats pulmonaires). Mais l'appauvrissement en leucocytes ainsi obtenu n'est pas suffisant pour prévenir d'autres complications liées aux leucocytes, telles l'infection par le cytomégalovirus (CMV), l'allo-immunisation et l'immunosuppression post-transfusionnelle.

Les CGR standard contiennent 2 000 à 5 000.10<sup>6</sup> leucocytes. Les CGR déleucocytés en contenaient moins de 5.10<sup>6</sup> en 1990 ( $\leq 3$  log de réduction) et moins de 1.10<sup>6</sup> en 1992 ( $\geq 3$  log de réduction). Cette dernière exigence est actuellement appliquée dans la réglementation française [5] : les établissements de transfusion sanguine doivent pouvoir établir par l'analyse statistique des contrôles de qualité effectués que, pour un degré de confiance de 95%, la probabilité que des CGR contiennent plus de 1.10<sup>6</sup> leucocytes concerne moins de 3% de la production [17]. Ces résultats ne sont obtenus qu'à condition d'observer une méthodologie rigoureuse et bien standardisée et de réaliser des contrôles de qualité [18]. L'analyse des contrôles de qualité sur 5 mois de production nationale ont montré que l'ensemble de la production française répondait à la norme en 1999 [19]. La mise en place d'un recueil national

---

<sup>2</sup> Le terme « produits frais » ne correspond ni à une transformation, ni à une qualification reconnue, mais à un usage de langage.

<sup>3</sup> Dans le reste de ce texte, nous utiliserons l'expression courante CGR « standard » pour parler des CGR et des CGR SAGM n'ayant subi aucune transformation (autre que l'addition d'une solution supplémentaire de conservation en phase liquide) et n'ayant reçu aucune qualification.

<sup>4</sup> L'expression usuelle CGR « filtré » doit être systématiquement abandonnée pour celle de CGR « déleucocyté ».

informatisé des données de contrôle de qualité des PSL a permis de confirmer que le pourcentage de CGR déleucocytés non conformes restait en 2001 autour de 1% de la production nationale, la médiane des leucocytes résiduels se situant autour de  $0,04 \cdot 10^6$  par CGR.

La présence de leucocytes dans les CGR peut interférer avec les lésions de conservation des globules rouges. Sur le plan clinique, les leucocytes peuvent être à l'origine de nombreux autres effets secondaires [20] :

- réactions d'intolérance immédiate à type de frissons-hyperthermie ;
- transmission directe de micro-organismes variés (virus, bactéries) ;
- réactivation virale chez le receveur ;
- stimulation allogénique dans les systèmes de groupes sanguins portés par les leucocytes ;
- réaction du greffon contre l'hôte (GVH) aiguë chez les receveurs immuno-incompétents ;
- état d'immuno-suppression post-transfusionnelle.

Les avantages attendus de cette transformation ont conduit, en 1996, le Comité du Suivi de la Sécurité Transfusionnelle à recommander la pratique systématique de la déleucocytation [21]. Il s'agit d'une obligation réglementaire en France depuis le 1<sup>er</sup> avril 1998 [22].

### 1.1.2.1. Déleucocytation et lésions de stockage des globules rouges

Il a été suggéré que des enzymes d'origine leucocytaire pouvaient avoir un effet délétère sur les globules rouges lors de la conservation des CGR [23, 24]. Högman [9] a effectivement démontré que des enzymes leucocytaires étaient à l'origine de l'hémolyse au cours de la conservation. Cependant, les enzymes des polynucléaires ne sont pas seuls en cause, et les altérations protéiques de la membrane du globule rouge peuvent également être dues à des protéases endogènes des globules rouges [25]. Une étude réalisée sur deux groupes de brûlés recevant soit des PSL filtrés avant stockage soit des PSL non filtrés a montré que la réduction leucocytaire diminuait significativement les besoins en transfusions ( $p < 0,05$ ). Dans le même temps, les quantités de différents substances bioactives augmentaient significativement ( $p < 0,05$ ) chez les patients du groupe recevant des PSL non filtrés, et, soit restaient inchangées soit diminuaient chez les patients du groupe recevant des PSL filtrés [26].

La déleucocytation, à condition d'être pratiquée précocement après le prélèvement de sang du donneur, permet de diminuer les lésions de stockage [27-29]. Dans ces trois études [27-29], la préparation et la déleucocytation des CGR étaient effectuées dans un délai inférieur à 24 heures après le don.

Angué *et al.* [28] ont comparé 24 CGR SAGM standard avec 24 CGR SAGM déleucocytés. Le contenu moyen en leucocytes était de  $3,06 \cdot 10^9$  dans les CGR non déleucocytés et de  $6 \cdot 10^6$  dans les CGR déleucocytés. Pietersz *et al.* [27] ont utilisé comme produits de référence 10 CGR SAGM appauvris en leucocytes ayant un contenu moyen en leucocytes de  $0,675 \cdot 10^9$ . La déleucocytation était effectuée dans deux conditions différentes : la purge et le rinçage du filtre étaient effectués avec une solution saline physiologique dans 14 cas, avec la solution SAGM dans 15 autres cas. Les CGR déleucocytés avaient un contenu moyen en leucocytes de  $0,7 \cdot 10^6$  dans les deux cas. Riedner *et al.* [29] ont comparé 10 prélèvements de sang total en solution CPDA et 10 prélèvements identiques filtrés dans un délai de 6 heures après le prélèvement. Cette dernière publication ne fournit pas les résultats concernant le contenu leucocytaire des produits, mais indique seulement un niveau de déplétion de 98,3%.

Ces trois études [27-29], ont permis de montrer que la déleucocytation :

- permet une meilleure préservation de la concentration d'adénosine tri-phosphate (ATP) intra-érythrocytaire ;
- n'a pas d'influence significative sur la concentration de 2,3-diphosphoglycérate (2,3-DPG) intra-érythrocytaire ;
- entraîne une diminution de la production de lactate et de la consommation de glucose dans le surnageant, ce

dernier effet étant particulièrement marqué dans les 2 premières semaines de conservation ;

- entraîne une diminution du relargage de LDH (lactico-déshydrogénase) et de potassium dans le surnageant ;
- réduit significativement l'hémolyse à 42 jours lorsque le produit de référence est le sang total prélevé sur CPDA ou le CGR SAGM. Mais, en cas de déleucocytation, l'hémolyse n'est pas différente de celle des CGR SAGM appauvris en leucocytes. Des résultats analogues ont été décrits avec des CGR en solution de conservation ADSOL [30].

D'autres travaux ont montré que l'accumulation de cytokines d'origine leucocytaire, démontrée dans le cas des produits plaquettaires [31-33], est également retrouvée dans le surnageant des CGR SAGM [34]. De surcroît, la déleucocytation permet, au moins dans certains cas, de réduire également la concentration plasmatique des fractions activées C3a et C5a du complément [35].

Deux revues sur ce sujet peuvent également être consultées, l'une relativement ancienne [36], et l'autre plus récente [37].

### *1.1.2.2. Déleucocytation et réactions d'intolérance de type frissons-hyperthermie après transfusion de CGR*

Le syndrome frissons-hyperthermie, ou réaction fébrile non hémolytique (Febrile Non Hemolytic Transfusion Reaction ou FNHTR des auteurs anglo-saxons), est défini comme une élévation thermique de 1°C ou plus, survenant en même temps que la transfusion ou à son décours immédiat, après exclusion des autres causes de fièvre.

Des études menées dans les années 50 [38-40] avaient établi une très forte corrélation entre les réactions de type frissons-hyperthermie à la suite de transfusion de sang total et la présence d'anticorps dirigés contre les leucocytes.

Un autre travail [41] mettait particulièrement en valeur le rôle de la quantité de leucocytes, évaluant, à partir d'une seule observation, à  $0,4 \cdot 10^9$  la quantité « seuil » de leucocytes capable de produire une réaction fébrile. Ces travaux étaient confortés par une autre étude sur 8 patients établissant à  $0,25 \cdot 10^9$  la quantité minimale de leucocytes capable de provoquer une réaction fébrile, et décrivant une corrélation entre la quantité de leucocytes transfusés et l'élévation thermique post-transfusionnelle [42].

En réalité, les conclusions de ces travaux ont été à tort généralisées par la suite, sans tenir compte de leur fragilité eu égard aux effectifs de patients étudiés, et sans même les relire avec attention : dans l'étude de Payne par exemple [40], il est bien précisé que seuls 32 des 49 patients (soit 65%) ayant présenté des réactions fébriles post-transfusionnelles étaient porteurs d'anticorps dirigés contre les leucocytes. De plus, les produits transfusés dans les années 50 étaient essentiellement du sang total conservé pendant peu de jours, qu'il est difficile d'assimiler aux CGR utilisés actuellement.

Il est bien établi aujourd'hui que les réactions frissons-hyperthermie sont non seulement corrélées à la présence d'anticorps anti-HLA ou anti-granuleux, et donc dans ce cas à la lyse des leucocytes présents dans les produits sanguins, mais qu'elles sont au moins aussi souvent présentes en dehors de toute immunisation. Une forte corrélation a été établie entre ces réactions et la présence de cytokines dans les produits sanguins, essentiellement l'IL-1, l'IL-6, et le TNF- $\alpha$ . Cette corrélation est bien démontrée dans le cas des produits plaquettaires [43-46], et également pour les CGR [47].

Les études cliniques publiées dans ce domaine sont peu nombreuses.



Dans le cas de CGR partiellement déleucocytés par élimination de la couche leucoplaquettaire, une étude rétrospective a analysé les réactions fébriles post-transfusionnelles [48] sur deux périodes de 2 ans (1977-1979 et 1980-1981) pour un nombre équivalent de produits transfusés (17 491 et 17 160 respectivement), les CGR appauvris en leucocytes étant utilisés au cours de la deuxième période : l'incidence de ces réactions est réduite environ de moitié (de 0,314% à 0,157%) avec les CGR appauvris en leucocytes.

Dans le cas de CGR déleucocytés par filtration, on peut relever une étude prospective randomisée [49] et deux études rétrospectives, l'une comparative [50] et l'autre non [51].

Pour Williamson [49], la déleucocytation n'affecte pas l'incidence des réactions fébriles. Dans un essai randomisé chez des patients ayant des hémopathies malignes, comparant des PSL cellulaires (CGR et CP) déleucocytés ou non, la prévalence de patients présentant des réactions fébriles au cours des transfusions est analogue dans les deux groupes : 20/59 (34%) dans le groupe recevant les produits déleucocytés et 19/51 (37%) dans le groupe recevant des produits standard. Cependant, trois aspects particuliers de cette étude doivent être pris en compte : d'une part les réactions dues aux transfusions de plaquettes et de CGR ne sont pas analysées séparément, d'autre part il y a une perte d'informations importante dans l'analyse des réactions fébriles (absence d'informations pour 19 patients sur un effectif total de 129), et, enfin, la déleucocytation est réalisée par filtration au lit du patient dans des conditions non optimales pour une bonne qualité de déleucocytation.

Dans une étude rétrospective comparant des groupes historiques chez des patients thalassémiques polytransfusés, Sirchia [50] rapporte des résultats beaucoup plus marqués. La prévalence des réactions passe de 11% en cas de transfusions utilisant des CGR appauvris en leucocytes (période 1980-1982, 3 148 transfusions) à moins de 1% en cas de transfusions utilisant des CGR déleucocytés (période 1985-1988, 3 421 transfusions). Dans les mêmes groupes, la prévalence des patients présentant des réactions transfusionnelles passe de 61% à moins de 10%. Cependant, l'incertitude méthodologique concernant notamment le relevé des réactions amoindrit la valeur de ces résultats.

Dziedzickowski [51], dans une population de patients d'onco-hématologie suivis pendant l'année 1993, relève une fréquence de réactions fébriles après transfusions de CGR déleucocytés (contenu en leucocytes inférieur à  $10^7$ ) de 2,15% (152 réactions sur 7 080 transfusions).

L'effet de la déleucocytation systématique des CGR avant stockage sur les réactions de frissons-hyperthermie chez les patients transfusés a été objectivé en situation de fonctionnement de routine par comparaison historique, montrant une réduction sensible (d'un facteur 4) de la fréquence de ces réactions [52].

### *1.1.2.3. Déleucocytation et prévention de la transmission de micro-organismes*

La transmission de virus par transfusion peut se faire soit par le plasma (virémie plasmatique), soit par des cellules infectées (leucocytes principalement) selon la phase de l'infection et la répartition des virus dans le sang. Il est établi que la déleucocytation est efficace dans la prévention de la transmission des virus intraleucocytaires stricts, tels le CMV (infectant les granulocytes et les monocytes) et probablement les virus HTLV (infectant les lymphocytes T). Mais il est possible qu'elle puisse aussi contribuer à améliorer la sécurité vis à vis des virus à la fois intra- et extracellulaires (virus des hépatites, VIH) en diminuant la charge virale. Elle pourrait alors contribuer à diminuer les risques de transmission virale liés, d'une part, à la phase des séroconversion non détectée par les tests de dépistage sur les dons, et, d'autre part, à l'absence de test de dépistage (virus HHV6 par exemple).

- *Prévention de la transmission du CMV*

Le cytomégalovirus humain (CMV ou HHV5) est un virus à ADN qui appartient au sous-groupe des beta herpesviridae. Comme tous les virus Herpès, le CMV reste présent chez l'hôte infecté toute sa vie durant. Passée la période de primo infection, il demeure sous forme latente, sa réplication étant réduite ou bloquée par le système immunitaire de l'hôte. Cependant, dans certaines circonstances, la réplication virale peut reprendre : on parle alors de réactivation. Par ailleurs, un individu déjà porteur d'un CMV peut être infecté par un nouvel isolat viral : on parle alors de réinfection.

Le CMV est exprimé en abondance sous forme libre chez l'individu en phase active d'infection dans les sécrétions (salive, urine, lait, sperme) [53] ce qui explique sa très large diffusion dans la population. En revanche, dans le sang, il n'est en règle pas présent sous forme libre et seuls les leucocytes en sont porteurs : en phase active d'infection, le virus est présent en abondance dans les polynucléaires ; en phase de latence, le génome viral est présent dans les monocytes [54-58]. Le virus peut être transmis de façon bidirectionnelle entre les monocytes et les cellules endothéliales [59]. Ces dernières sont un élément important de la dissémination virale notamment vers les polynucléaires en cas d'infection active.

Historiquement, le CMV a été identifié comme le virus responsable d'une atteinte neurologique du fœtus, la maladie des inclusions cytomégaliennes, qui lui a donné son nom, et qui correspond à la conséquence la plus grave de la primo infection de la mère en cours de grossesse. Néanmoins, le CMV peut être considéré comme un virus dont les conséquences sont en règle négligeables chez son hôte [60] : la primo infection comme les réactivations ou les réinfections sont le plus souvent inapparentes cliniquement, ou se présentent sous forme d'un syndrome mononucléosique spontanément résolutif en quelques semaines.

Ce caractère anodin de l'infection à CMV disparaît totalement dès lors que le statut immunitaire de l'hôte est altéré, soit de façon physiologique (fœtus, prématuré) [61, 62] soit de façon congénitale (déficits immunitaires combinés sévères), soit enfin de façon acquise (infection à VIH, conditionnement et traitement d'entretien après transplantation) [63, 64], sans oublier le risque d'atteinte fœtale lors d'une primo-infection chez la femme enceinte, qui est de l'ordre de 40% [65].

Dans toutes ces circonstances, l'infection à CMV peut revêtir des manifestations cliniques majeures digestives, hépatiques et surtout pulmonaires avec un risque élevé de mortalité [66].

- Transmission du CMV par transfusion sanguine

Les caractéristiques de l'infection virale décrites précédemment se retrouvent en cas de transmission par transfusion sanguine : la transmission chez le receveur avec un statut immunitaire normal est soit asymptomatique soit caractérisée par un syndrome mononucléosique sans conséquence à long terme pour le receveur [67, 68]. Cette transmission du CMV par transfusion a été décrite initialement au milieu des années 1960, après transfusion massive de sang total conservé moins de 48 heures [69-72]. Elle a ensuite été décrite dans d'autres circonstances cliniques [73, 74]. En règle, la prévalence de la transmission chez les patients immunocompétents est de l'ordre de 1 à 2% [75, 76].

A côté des receveurs de produits sanguins labiles (PSL) avec un statut immunitaire normal, les populations à risque d'infection à CMV post-transfusionnelle avec des conséquences cliniques graves ont été clairement identifiées [77, 78] :

- les nouveau-nés prématurés nés de mère non porteuse du CMV [61, 77, 79-89] ;
- les patients traités par allogreffe de cellules souches hématopoïétiques [90-101], et par extension, les patients traités pour une pathologie justifiant un traitement ultérieur par allogreffe de cellules souches hématopoïétiques [77, 102-104] ;
- les receveurs de greffes d'organe [63, 64] ;
- les femmes enceintes non porteuses du CMV, le risque étant dans ce cas pour le fœtus [62, 65] ;

- les patients splénectomisées [105, 106].

L'analyse de la transmission par transfusion du CMV a été réalisée dans ces populations à risque. Dans l'immense majorité, ces études ont concerné des patients initialement considérés comme non porteurs du CMV, avec les outils diagnostiques de l'époque, à savoir la recherche d'anticorps anti-CMV, dont la sensibilité est sans comparaison avec les techniques actuelles de diagnostic d'infection à CMV [107, 108]. A noter que, en cas de transplantation d'organe ou de greffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques, le donneur d'organe ou de cellules peut également être le vecteur de transmission du CMV [109]. Les études chez ces patients ont donc considéré les situations où donneur et receveur d'allogreffe étaient non porteurs du CMV.

L'analyse de ces travaux montre que, chez les patients à risque d'infection grave à CMV tels que les nouveau-nés [79-81, 84, 85, 88], les leucémies aiguës [102, 103], et les allogreffes de cellules souches hématopoïétiques [91, 93-96], la transmission du CMV par transfusion sanguine touche en moyenne 22% d'entre eux (extrêmes 4,6% à 53%) en l'absence de moyen de prévention. Ces pourcentages varient considérablement d'une étude à l'autre pour les nouveau-nés (extrêmes 4,6% à 53%), et beaucoup moins pour les allogreffes de cellules souches hématopoïétiques (extrêmes 20% à 32%). Dans tous les cas, cette prévalence de la transmission chez les patients à risque est très supérieure à celle observée chez les receveurs immunocompétents, de l'ordre de 1 à 2% [75-76]. Une situation intermédiaire est observée chez les hémodialysés, avec une prévalence de 12,5% [110].

- Moyens de prévention de la transmission du CMV par transfusion sanguine

- o Sélection de donneurs non porteurs du CMV :

Les premiers travaux dans ce domaine remontent à plus de 20 ans [80, 81], et ont largement montré l'efficacité de la sélection de donneurs supposés non porteurs du CMV par les tests sérologiques de recherche d'anticorps anti-CMV. Les tests adéquats pour optimiser cette sélection doivent être en mesure de détecter non seulement les anticorps IgG présents de façon stable chez l'individu porteur du CMV sous sa forme latente, mais également les premiers anticorps de nature IgM formés lors d'une primo infection. En pratique, il existe à ce jour de nombreux tests ELISA, et un test d'agglutination passive au latex qui répondent à ces critères.

Bien que nous ne disposions que de peu d'études avec d'authentiques séries comparatives, l'accumulation de données relatives aux études menées avec la transfusion de PSL issus de dons CMV négatifs nous semble informative. L'analyse de 13 études [76, 77, 79-81, 86, 91-96] montre que le pourcentage de patients contaminés décroît, toutes pathologies confondues, de 23% en moyenne (extrêmes 5%-53%) à 1,5% (extrêmes 0%-14%) (*Tableau III*).

Les résultats des études cliniques et la meilleure compréhension des conditions contribuant à l'infektivité du CMV indiquent néanmoins que cette méthode de sélection des donneurs a des limites difficiles à réduire.

Les causes d'échec de la sélection de dons CMV négatifs sont de plusieurs types, la part de chacune d'entre elles étant difficile à évaluer.

#### *Fenêtre sérologique :*

Comme pour toute infection virale, il existe une période muette sérologiquement après le contage, au cours de laquelle le virus est déjà présent, et le PSL contaminant.

Ce mécanisme joue sûrement un rôle essentiel dans les échecs de la prévention par la sélection sérologique seule. Il n'est pas possible actuellement de calculer de façon rigoureuse le risque correspondant à la fenêtre sérologique pour le CMV car d'une part nous ne connaissons pas avec précision la durée de la fenêtre sérologique, et d'autre part il n'y a pas de données disponibles sur les cas incidents dans les établissements de transfusion sanguine. Cependant, il peut être intéressant d'en faire une estimation en France, où la prévalence des donneurs CMV positifs

est de l'ordre de 50 à 60% selon les régions, et où l'incidence de ce marqueur peut être évaluée entre 0,5 et 1% [76] :

- En considérant les années 1996-1998, on peut estimer à partir des statistiques de l'AFS et de l'EFS le nombre de dons homologues à 13 500 000. Parmi ces dons, 11 500 000 sont issus de donneurs réguliers. En considérant que 40% des dons sont CMV négatifs et que chaque donneur régulier a donné en moyenne 3 fois en 2 ans, on peut estimer le nombre de dons CMV négatifs à 4 600 000 correspondant à environ 1 530 000 donneurs CMV négatifs. Dans cette hypothèse, et pour un taux d'incidence de 0,5%, on peut évaluer le nombre de cas incidents sur la période à 23 000.
- La durée de la fenêtre sérologique du CMV n'est pas connue. Néanmoins, en faisant l'hypothèse qu'elle est de 40 jours (comprise entre 25 et 90 jours) et en appliquant la formule de Schreiber [111], en utilisant l'estimation du paramètre personne-années pour la période 1996-1998 à 2 405 000 [112] on peut évaluer le risque de transfuser un don séronégatif pendant la fenêtre sérologique à 1 pour 954 PSL (extrêmes : 1/1545-1/419).
- Sachant que certains patients à risque tels les receveurs d'allogreffe de cellules souches reçoivent en moyenne 20 PSL, la probabilité qu'un don transmetteur du CMV soit transfusé est de l'ordre de 2,1%.

La fréquence d'observation de transmission du CMV chez les patients pris en charge de cette façon est de 1,51% (Tableau III) ; elle est compatible avec cette évaluation.

#### *Difficulté de fourniture de PSL :*

Il n'est pas toujours possible de disposer de PSL sélectionnés CMV négatifs qui répondent aux qualifications nécessaires pour un patient donné, qu'il s'agisse d'un CGR ou d'un CP. Par exemple, en cas de présence d'un alloanticorps, la disponibilité du phénotype compatible sera prioritaire par rapport à la qualification CMV négatif.

Une analyse complète de ces difficultés dans un grand centre de greffe de cellules souches hématopoïétiques, le Fred Hutchinson Cancer Research Center, a été réalisée chez 107 patients recevant en moyenne 19 concentrés de globules rouges et 105 concentrés de plaquettes [90, 91] :

- D'emblée, 3 d'entre eux ne peuvent pas être pris en charge par des produits séronégatifs pour des motifs immunologiques : 2 d'entre eux ont un anticorps anti-érythrocyte et le troisième, réfractaire aux transfusions de plaquettes est transfusé prioritairement par des concentrés HLA compatibles.
- Pour les 104 autres patients :
  - 14 ont finalement reçu au moins un PSL séropositif au cours de leur traitement : parmi eux, 3 infections à CMV sont observées, dont une avec pneumopathie interstitielle ;
  - Les 90 patients restant ont tous reçu des produits séronégatifs tout au long de leur aplasie post-greffe : parmi eux, une infection à CMV est observée.

Les résultats de la recherche d'ADN viral chez les donneurs séropositifs sont très hétérogènes dans la littérature : 0/100 [113], 0/155 [114], 7/86 [115], 8/101 [116], 60/145 [56], et 250/252 [117].

Les techniques initialement développées étaient non quantitatives, leur sensibilité mal établie, leurs méthodes d'extraction et d'amplification étaient très hétérogènes et leur reproductibilité interlaboratoire était faible [105]. Nous disposons à présent de techniques quantitatives avec une bonne reproductibilité [54, 118], et cependant le même phénomène est retrouvé.

#### *La détection de l'ADN du CMV est inconstante chez les donneurs porteurs d'anticorps :*

Dans quelques études [54, 56], il a été montré que chez certains donneurs séropositifs sans ADN viral décelable initialement, l'ADN viral peut être détecté lorsque la recherche est répétée dans le temps.

Des données particulièrement informatives sont fournies par l'étude de Dumont [54] : au cours de deux années consécutives, une recherche d'ADN viral par technique quantitative (QA-PCR) a été effectuée sur des cohortes de donneurs de sang séropositifs pour le CMV dans deux localités différentes des USA, Norfolk et Denver. Le taux de

résultats positifs a varié de 0 à 95%, les positivités étant pratiquement toutes observées pendant une période très courte de l'ordre d'un mois, et correspondant exactement avec la période de présence maximale de pollen (avril à Norfolk et juillet à Denver). Le même phénomène a été observé au cours des deux années consécutives, 1998 et 1999. Des études complémentaires seront nécessaires pour comprendre mieux cette relation, mais à partir de ces résultats, ainsi que de ceux de Larson [56], il est clair qu'un donneur de sang séropositif pour le CMV et donc porteur latent peut ne pas être détecté par la recherche de l'ADN viral.

Si l'on considère que la quantité d'ADN viral est un facteur important de la transmission du CMV par les PSL, on peut donc retenir qu'un donneur séropositif n'est sans doute pas constamment susceptible de transmettre le CMV, mais que nous ne disposons d'aucun moyen simple pour détecter les périodes pendant lesquelles il est plus susceptible de le transmettre.

*L'ADN du CMV est détecté chez des donneurs apparemment dépourvus d'anticorps :*

Le développement des méthodes de recherche directe d'ADN viral par PCR a permis de mettre en évidence que beaucoup d'individus non porteurs d'anticorps anti-CMV étaient en fait porteurs de virus [56, 105, 115, 119].

Ces cas peuvent être considérés comme des séroréversions, où l'absence prolongée de réplication virale conduit à la diminution des anticorps en dessous du seuil de détection.

Ces données laissent donc à penser qu'une proportion de l'ordre de 15% [56] à 35% [115], des sujets trouvés séronégatifs seraient en fait porteurs du virus. Elles indiquent clairement l'une des faiblesses de la sélection des dons CMV négatifs par la recherche classique d'anticorps. Cependant, il faut noter que dans ces cas, comme dans celui de la majorité des porteurs du CMV sous forme latente, la quantité de leucocytes circulants porteurs d'ADN viral est probablement très faible et que chaque leucocyte concerné contient un nombre restreint de copies de génome viral. Cependant, nous ne disposons pas d'information sur le suivi à long terme de ces sujets ni sur leur dynamique de formation d'anticorps en cas de réactivation virale. En tout état de cause, nous devons les considérer de façon pragmatique comme des individus susceptibles de transmission du CMV, au moins à l'occasion d'une réactivation virale, le cycle de production de virus durant 48 à 72 heures [120], et donc devant la réponse immunitaire secondaire.

*La quantité d'ADN du CMV dans le sang peut être importante au cours de la séroconversion :*

Au moment de la primo-infection, l'ADN du CMV est présent en grande quantité dans les leucocytes. Il peut être détecté en quantité beaucoup plus faible dans le plasma, y compris dans des cas de séroconversion asymptomatique, et en l'absence d'anticorps décelable.

Dans une étude récente, sur 33 donneurs de sang séropositifs testés 250 fois, l'ADN du CMV n'a jamais été détecté dans le plasma ; en revanche, chez 168 donneurs analysés à 336 reprises au cours de leur séroconversion, de l'ADN de CMV a été retrouvé dans le plasma chez 3 d'entre eux, une fois avant l'apparition d'anticorps, et deux fois simultanément à l'apparition d'anticorps [121]. Cette étude illustre bien l'existence de la fenêtre sérologique et le risque de transmission résiduel malgré la sélection des PSL séronégatifs.

En tout état de cause, on conçoit aisément que la non disponibilité de PSL serait considérablement aggravée si les techniques de détection d'ADN viral étaient mises en œuvre par défaut de sensibilité des tests sérologiques.

- Déleucocytation :

Le rôle des leucocytes comme vecteur quasi exclusif du CMV dans les PSL a été identifié il y a plus de 20 ans, les monocytes représentant le réservoir de virus en phase d'infection latente, les autres leucocytes, notamment les polynucléaires, jouant un rôle de dissémination virale en cas de primo-infection ou de réactivation [58].

La première démonstration de l'efficacité de la déleucocytation est venue de l'utilisation des CGR congelés / décongelés, dont il a été bien établi, sur un nombre cumulé de plus de 200 patients, que l'efficacité pour la prévention de la transmission du CMV est au moins analogue à celle des PSL CMV négatifs [84, 85, 110, 122, 123]. Ces produits ont un contenu leucocytaire moyen inférieur à 5 millions de leucocytes, et qui peut atteindre exceptionnellement de 10 à 15 millions de leucocytes [124].

Les techniques de filtration mises en oeuvre au début des années 1980 ont permis d'atteindre des performances de déleucocytation supérieures, sous réserve d'être convenablement réalisées.

Une série importante d'études entreprises avec des PSL déleucocytés (*Tableau IV*) a permis de documenter l'efficacité de la méthode sur un effectif cumulé -toutes études et toutes pathologies confondues- de plus de 600 patients [77, 84, 85, 88, 93, 96-101, 103, 104, 110, 122, 123, 125].

Une seule étude comparant la sélection des donneurs CMV négatifs et la déleucocytation a été réalisée [95] :

- Dans une première analyse ne prenant pas en compte les infections CMV survenues dans les 3 premières semaines après transplantation (pour éliminer toute cause d'infection non transfusionnelle) et étudiant la période du 21<sup>ème</sup> au 100<sup>ème</sup> jour post-greffe, aucune différence significative n'a été notée entre les deux groupes : 2/252 dans le groupe CMV négatif et 3/250 dans le groupe déleucocytation.
- Cependant, en prenant en compte secondairement les 5 patients (2 dans le groupe CMV négatif et 3 dans le groupe déleucocytation) qui avaient développé une infection à CMV au cours des 3 premières semaines après transplantation, et en considérant ceux qui avaient développé des symptômes liés à l'infection à CMV, à savoir 0/4 dans le groupe CMV négatif et 3/6 dans le groupe déleucocytation, l'incidence de la transmission n'était toujours pas significativement différente entre les deux groupes, mais l'incidence de la maladie CMV le devenait :  $p = 0,03$ .
- Enfin, en poursuivant l'analyse au-delà du 100<sup>ème</sup> jour, 2 maladies CMV étaient observées chez les 4 receveurs de PSL CMV négatifs, la situation des receveurs de PSL déleucocytés demeurant inchangée avec 3 maladies CMV chez 6 patients, la différence entre les deux groupes n'étant significative ni pour l'incidence de l'infection ni pour celle de la maladie à CMV.

Cette étude peut être considérée comme exemplaire sur le plan de la méthode d'investigation clinique (tirage au sort, patients comparables entre les deux groupes). On peut en revanche la considérer comme discutable, voire médiocre en terme de méthode de déleucocytation (*cf infra* : causes d'échec de la déleucocytation), la méthode utilisée étant la déleucocytation au lit du patient.

- Causes d'échec de la déleucocytation :

#### *Qualité de la déleucocytation :*

C'est la première cause d'échec identifiable sans ambiguïté dans toutes les études qui ont eu recours aux techniques de déleucocytation au lit du patient. Cette pratique qui a été longtemps la règle dans certains pays (Italie, USA) cumule les risques de transfusion d'une quantité importante de leucocytes. En effet, les filtres qui étaient utilisés jusqu'à une période toute récente pour les CGR avaient une meilleure efficacité de filtration à des températures proches de +4°C, et à des débits de filtration de l'ordre de 30 à 50 mL.min<sup>-1</sup> [126, 127]. Ces deux conditions sont très loin de celles d'une transfusion au lit du malade, où le débit de perfusion est de l'ordre de 5 à 10 mL.min<sup>-1</sup>, et où la température du PSL est proche de la température de la chambre. De surcroît, il n'était pas rare, lorsque la filtration avait lieu au lit du patient, que le filtre soit rincé en fin de transfusion avec une solution saline, conduisant à l'éluion d'une grande quantité de leucocytes.

Les auteurs préconisant l'utilisation de la filtration au lit du patient ont eux-mêmes identifié et documenté les défauts de cette méthode : Sirchia décrit, dans ces conditions, 17% de CGR contenant plus de  $2.10^6$  leucocytes et 5% de CGR contenant plus de  $5.10^6$  leucocytes, avec des valeurs allant de 12 à  $233.10^6$  leucocytes résiduels [128, 129]. Ces données sont à comparer avec celles actuellement disponibles en France, où dans le cadre d'une enquête nationale réalisée en 1998-1999, seuls 6 CGR sur 1 000 contenaient plus de  $2.10^6$  et 1,7 CGR sur 1 000 plus de  $5.10^6$  résiduels [19], et où, dans les données du premier trimestre 2001 de l'ensemble des laboratoires contrôles qualité des établissements de l'EFS, 2 CGR sur 1 000 contenaient plus de  $2.10^6$  et 0,5 CGR sur 1 000 plus de  $5.10^6$  résiduels.

Enfin, si l'on examine de façon critique les publications quant à la technique de déleucocytation, on peut constater que les transmissions identifiées de CMV correspondent toutes à l'utilisation de la filtration au lit du patient (*Tableau V*).

#### *Réservoir cellulaire du CMV dans le sang :*

A la phase latente de l'infection le réservoir de virus dans le sang est exclusivement constitué d'une fraction des monocytes [54, 56, 57, 130, 131]. L'analyse de la formule leucocytaire des PSL déleucocytés est rendue difficile par leur faible concentration, en général inférieure à 200 par mL. Néanmoins, certaines études ont permis de montrer qu'il n'y avait pas d'augmentation relative de la concentration en monocytes [132, 133] : dans les concentrés de plaquettes d'aphérèse déleucocytés, que ce soit par filtration ou par le processus de traitement du sang dans le séparateur de cellules, les monocytes représentent 0 à 12% des leucocytes résiduels.

#### *Présence de virus dans le plasma :*

Au moment de la primo-infection la multiplication virale est intense, non seulement dans les sécrétions, mais aussi dans les nombreuses cellules leucocytaires, monocytes, mais aussi granulocytes [54, 59]. La charge virale est très supérieure à celle observée lors de la phase de latence.

Il est donc possible, à ce stade, que des virus libres [121] soient présents dans le plasma, et donc échappent au processus de déleucocytation.

Si cette hypothèse était confirmée, il serait possible d'en conclure que les deux techniques de prévention, recherche d'anticorps et déleucocytation, peuvent être prises en défaut au même stade d'évolution de l'infection chez les donneurs de sang.

Néanmoins, nous savons à présent que les techniques habituelles d'obtention de plasma n'éliminent pas totalement les leucocytes. L'hypothèse alternative pourrait être que la faible quantité d'ADN CMV détectée dans le plasma correspond à la présence d'une petite quantité de cellules infectées résiduelles. Si cette hypothèse était confirmée, il serait possible de conclure que l'amélioration des techniques de déleucocytation pourrait contribuer à réduire ce risque.

Des travaux complémentaires sont indispensables pour étayer ces hypothèses.

- Apport de la biologie moléculaire pour la connaissance de l'efficacité de la déleucocytation :

Quelques études ont été réalisées recherchant la présence d'ADN de CMV dans les PSL déleucocytés.

Certaines, qui ne mettent pas en évidence d'ADN de CMV après déleucocytation [134], méritent un examen critique en terme de sensibilité. En effet, en cas d'utilisation de technique sensible et quantitative, il est possible de détecter cet ADN : 7/32 cas dans l'étude de Dumont [54], si l'on considère le seuil de détection extrêmement sensible de 4 équivalent-génome/mL.

Rappelons ici brièvement les données suivantes :

- De l'ADN de CMV peut être détecté chez 15 à 35% des donneurs de sang dépourvus d'anticorps anti-CMV décelable [56, 117] ;
- De l'ADN de CMV peut être détecté dans le plasma en faible quantité en cours de séroconversion [121].

La première donnée indique clairement que l'on peut transfuser du sang séronégatif pour le CMV et contenant tout de même de l'ADN de CMV, et la deuxième montre que la faille éventuelle dans la prévention de la transmission du CMV par déleucocytation concerne la phase très brève au cours de la séroconversion où des particules virales peuvent être présentes de façon extra-cellulaire.

En conclusion, l'hétérogénéité des études, l'absence fréquente de population témoin, ou la présence d'un contrôle historique, rendent difficile d'entreprendre une méta-analyse pour rechercher une différence entre les deux méthodes de prévention de la transmission du CMV par transfusion sanguine que sont l'utilisation de PSL CMV négatifs ou la simple déleucocytation. La présentation des résultats telle qu'elle est indiquée dans les *Tableaux III à V* se veut pragmatique :

- 22% de transmission (extrêmes 4,6 à 53%) en l'absence de sélection sérologique et sans déleucocytation ;
- 1,44% de transmission (extrêmes 0 à 14%) avec sélection de PSL CMV négatifs sans déleucocytation ;
- 0,7% de transmission (extrêmes 0 à 3,1%) avec utilisation de PSL déleucocytés quelle que soit la technique et sans sélection sérologique ;
- 0% de transmission avec utilisation de PSL déleucocytés en excluant la méthode (non utilisée en France) de filtration au lit du patient, et sans sélection sérologique.

L'interprétation de ces données au regard de l'amélioration des connaissances et, notamment de l'apport de la biologie moléculaire, tend à identifier que les failles des deux méthodes ne sont pas complémentaires, et donc que leur utilisation conjointe n'a pas d'impact en pratique.

Il serait possible de progresser dans le domaine de la recherche des donneurs porteurs de CMV en introduisant la recherche d'ADN viral. Néanmoins, dans l'hypothèse de choix d'une technique réellement efficace [116], la très grande rareté des donneurs répondant à ces critères, inférieure à 20% de l'ensemble de la population de donneurs, rendrait très difficile l'organisation des transfusions des patients à risque, déjà complexe et souvent en défaut avec la sélection à partir des tests sérologiques cliniques [91, 92].

C'est donc plus par l'optimisation de la déleucocytation que les efforts peuvent être poursuivis. Les progrès dans ce domaine sont particulièrement sensibles et, même en l'absence de modification de la norme, on peut observer l'amélioration constante des dispositifs de déleucocytation au cours de ces dernières années.

Il est possible de surcroît que la déleucocytation réduise le risque de réactivation du CMV consécutif aux transfusions. En effet, la stimulation allogénique liée aux leucocytes semble jouer un rôle important dans les réactivations virales, tant *in vitro* que dans des modèles expérimentaux [135]. Pour le cas particulier du CMV, des données expérimentales anciennes chez la souris [136] et plus récentes chez le rat [137] indiquent bien que le conflit allogénique joue un rôle primordial dans l'induction de la production virale et dans la transmission transfusionnelle du CMV. Le même phénomène a été également décrit *in vitro* chez l'Homme : il est possible d'induire une production virale significative à partir de leucocytes de sujets en phase de latence, par stimulation allogénique *in vitro* [130]. Un autre moyen de provoquer la production de CMV à partir de monocytes où le virus est présent sous forme latente est l'induction de la différenciation des monocytes en macrophages [138].

La susceptibilité de l'hôte à l'infection en fonction de son statut immunitaire doit être prise en compte pour la mise en oeuvre d'une politique de prévention de la transmission du CMV : c'est probablement le facteur le plus déterminant pour la transmission de ce virus. Au regard de l'expérience clinique, il est tentant de penser que la quantité de génomes viraux nécessaire à la transmission transfusionnelle diminue parallèlement à la compétence immunitaire du patient : 1,1% de transmission transfusionnelle chez l'adulte immunocompétent [75, 76], 12,5% chez les hémodialysés [123], 13,5% chez les nouveau-nés [79-89], 16,1% chez les patients traités pour leucémie aiguë [102, 104], et 27% chez les patients traités par greffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques en situation apparentée [90-102]. Indépendamment du facteur transfusionnel, il a été montré récemment [139] que les facteurs de risque d'augmentation de l'antigénémie pp65 chez les patients traités par greffe de cellules souches hématopoïétiques, étaient le traitement par corticoïdes à forte dose (risque relatif = 4,3) le conditionnement par



irradiation corporelle totale (risque relatif = 3,4) et la situation de greffe non apparentée (risque relatif = 3,1), toutes conditions correspondant à une altération supplémentaire de la compétence immunitaire chez ces patients.

Enfin, les procédés d'inactivation virale, longtemps réservés aux médicaments dérivés du sang, puis au plasma, s'étendent à présent aux CP et aux CGR [140]. Ils intègrent tous, dans ce cas, une étape préalable de déleucocytation et les données disponibles laissent penser qu'ils sont actifs sur les Herpès virus. C'est probablement sur ce terrain que le dilemme actuel sera tranché définitivement.

En 10 ans, les performances de la déleucocytation ont connu de constants progrès analysés par les contrôles de qualité, dont le suivi est à présent assuré de façon nationale par l'EFS. A ce jour en France, quelle que soit la technique autorisée utilisée, la norme de déleucocytation est effectivement respectée. Etant dans l'ignorance de la quantité (ou plus exactement de la quantité en fonction du statut immunitaire) de génomes CMV susceptibles de provoquer une infection chez le receveur, et prenant en compte les données existantes, il n'est pas encore possible de préconiser de substituer la simple déleucocytation des PSL à la sélection des PSL issus de dons séronégatifs chez les patients à risque tels que les nouveau-nés [141], les hémopathies malignes, les receveurs de greffe d'organe et les receveurs d'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques en situation apparentée.

La Commission d'AMM a estimé, sur proposition du Groupe de Travail « Sécurité Virale », qu'il était prématuré de modifier le libellé des recommandations usuelles de l'ANAES en 1997 dans ce domaine en l'absence d'étude prospective avec un effectif important de patients permettant de conclure à l'efficacité de la simple déleucocytation.

En raison de la faible fréquence des donneurs CMV négatifs, il apparaît cependant important de hiérarchiser ces indications.

Les allogreffes de cellules souches hématopoïétiques en situation où donneur et receveur sont CMV négatifs constituent l'indication privilégiée à la transfusion de CGR CMV négatifs.

Les allogreffes de cellules souches hématopoïétiques en situation non apparentée représentent le seul cas particulier de risque majoré d'infection à CMV [138] manifestement lié à un statut immunitaire très précaire, pour lequel, en l'attente d'étude et de documentation spécifique, une politique de sélection sérologique peut être maintenue en supplément à la déleucocytation.

Dans la limite des produits disponibles, les indications suivantes peuvent être retenues :

- femmes enceintes CMV négatives,
- prématurés de moins de 32 semaines d'âge gestationnel, lorsque la mère est séronégative pour le CMV,
- receveurs de greffe de poumon, quel que soit leur statut sérologique vis-à-vis du CMV.

D'autres indications ne font pas l'objet d'un accord professionnel :

- patients CMV négatifs en situation d'attente de greffe, afin de préserver leurs chances de rester CMV négatifs,
- receveurs CMV négatifs de greffe autre que celles de cellules souches hématopoïétiques ou de poumon, lorsque le donneur est CMV positif,
- receveurs de greffe CMV positifs.

**Tableau III** : Résultats des études cliniques de prévention de la transmission transfusionnelle du CMV par utilisation de PSL issus de dons sélectionnés CMV négatifs par recherche d'anticorps anti-CMV.

POPULATION ETUDIEE	PSL CMV NEGATIFS (Nombre de patients)		PSL STANDARD (Nombre de patients)	
	Infection CMV	Total	Infection CMV	Total
NOUVEAU-NES				
Luthardt, 1971 [80]	0	20	8	15
Kumar, 1980 [79]	1	7	1	3
Yeager, 1981 [81]	0	90	10	74
Lamberson, 1988 [86]	0	30	4	86
Andreu, 1991 [77]	0	46	5	32
GREFFES DE MOELLE				
Bowden, 1986 [91]	1	32	8	25
Bowden, 1987 [92]	1	90	58	208
Miller, 1991 [94]	2	45	14	44
* Verdonck, 1987 [96]	0	29	2	10
** Bowden, 1995 [95]	4	252		
*** Bowden, 1991 [93]	0	35	7	30
TOTAL	9	676	117	527
% TRANSMISSION CMV	1,33%		22,2%	

\* CGR déleucocytés et concentrés de plaquettes CMV négatifs

\*\* déleucocytation au lit du patient

\*\*\* CGR séronégatifs et CP déleucocytés par centrifugation

**Tableau IV : Résultats des études cliniques de prévention de la transmission transfusionnelle du CMV par utilisation de PSL déleucocytés.**

POPULATION ETUDIEE	PSL DELEUCOCYTES (Nombre de patients)		Technique de déleucocytation	PSL STANDARD (Nombre de patients)	
	Infection CMV	Total		Infection CMV	Total
<b>HEMODIALYSES</b>					
Tolkoff-Rubin, 1978 [123]	0	21	Décongélation CGR	10	80
Betts, 1979 [110]	0	39	Décongélation CGR		
<b>LEUCEMIES AIGUES</b>					
Graan-Hentzen, 1989 [103]	0	61	Filtration CGR et centrifugation CP		
Murphy, 1988 [104]	0	11	Filtration CGR et CP	6	43
Andreu, 1991 [77]	0	8	Filtration CGR et CP		
<b>NOUVEAU-NES</b>					
Brady, 1984 [122]	0	106	Décongélation CGR		
Taylor, 1986 [85]	0	17	Décongélation CGR	3	9
* Simon, 1987 [84]	0	26	Décongélation CGR	2	16
Gilbert, 1989 [88]	0	30	Filtration CGR	9	42
Eisenfeld, 1992 [125]	0	48	Filtration CGR		
<b>GREFFES DE MOELLE</b>					
** Verdonck, 1987 [96]	0	29	Filtration CGR et CP CMV négatifs	2	10
*** Bowden, 1995 [95]	6	250	Filtration		
**** Bowden, 1991 [93]	0	35	Centrifugation	7	30
De Witte, 1990 [97]	0	28	Filtration		
Bacigalupo, 1992 [98]	0	17	Filtration		
Van Prooijen, 1994 [99]	0	56	Filtration		
Narvios, 1998 [100]	1	45	Filtration		
Pamphilon, 1999 [101]	0	62	Filtration		
<b>TOTAL</b>	<b>7</b>	<b>889</b>		<b>39</b>	<b>230</b>
<b>% TRANSMISSION CMV</b>	<b>0,79%</b>			<b>17,0%</b>	

\* une infection à CMV observée, liée à l'existence d'une primo-infection chez la mère

\*\* CGR déleucocytés et concentrés de plaquettes CMV négatifs

\*\*\* déleucocytation au lit du patient

\*\*\*\* CGR séronégatifs et CP déleucocytés par centrifugation

**Tableau V : Résultats des études cliniques de prévention de la transmission transfusionnelle du CMV par utilisation de PSL déleucocytés, en excluant les études ayant eu recours à la filtration au lit du patient.**

POPULATION ETUDIEE	PSL DELEUCOCYTES (Nombre de patients)		Technique de déleucocytation	PSL STANDARD (Nombre de patients)	
	Infection CMV	Total		Infection CMV	Total
HEMODIALYSES					
Tolkoff-Rubin, 1978 [123]	0	21	Décongélation CGR	10	80
Betts, 1979 [110]	0	39	Décongélation CGR		
LEUCEMIES AIGUES					
Graan-Hentzen, 1989 [103]	0	61	Filtration CGR et centrifugation CP		
Murphy, 1988 [104]	0	11	Filtration CGR et CP	6	43
Andreu, 1991 [77]	0	8	Filtration CGR et CP		
NOUVEAU-NES					
Brady, 1984 [122]	0	106	Décongélation CGR		
Taylor, 1986 [85]	0	17	Décongélation CGR	3	9
* Simon, 1987 [84]	0	26	Décongélation CGR	2	16
Gilbert, 1989 [88]	0	30	Filtration CGR	9	42
Eisenfeld, 1992 [125]	0	48	Filtration CGR		
GREFFES DE MOELLE					
** Verdonck, 1987 [96]	0	29	Filtration CGR et CP CMV négatifs	2	10
De Witte, 1990 [97]	0	28	Filtration		
Bacigalupo, 1992 [98]	0	17	Filtration		
Van Prooijen, 1994 [99]	0	56	Filtration		
Narvios, 1998 [100]	1	45	Filtration		
Pamphilon, 1999 [101]	0	62	Filtration		
<b>TOTAL</b>	<b>0</b>	<b>559</b>		<b>32</b>	<b>200</b>
<b>% TRANSMISSION CMV</b>	<b>0%</b>			<b>16,0%</b>	

\* une infection à CMV observée, liée à l'existence d'une primo-infection chez la mère

\*\* CGR déleucocytés et concentrés de plaquettes CMV négatifs

- *Déleucocytation et transmission du virus Epstein-Barr (EBV)*

Le virus EBV est exclusivement contenu dans les lymphocytes B. Il est probable que la déleucocytation réduise le risque de transmission, mais aucune étude prospective n'a été réalisée sur ce thème. L'infection post-transfusionnelle par l'EBV est exceptionnellement symptomatique, excepté chez les sujets immunodéprimés.

- *Déleucocytation et transmission des virus HTLV*

Dans le sang, les virus HTLV I et II sont exclusivement contenus dans les lymphocytes T. La probabilité de transmission effective est de l'ordre de 40% pour les produits conservés moins de 5 jours ; elle est beaucoup plus faible, de l'ordre de 10%, pour les produits conservés entre 6 et 10 jours. Il n'y a qu'un seul exemple connu de transmission par un produit conservé plus de 10 jours. Dans tous les cas décrits de transmission, il s'agissait de produits sanguins cellulaires non déleucocytés. Il existe au moins une observation où des produits sanguins déleucocytés conservés moins de 10 jours et provenant d'un donneur contaminant n'ont pas transmis le virus HTLV-I [142]. Bien que le virus ne soit parfois plus détectable *in vitro* après déleucocytation par filtration [143], la preuve

n'est pas définitivement établie que cette mesure soit suffisante pour prévenir totalement la transmission [144]. Si la déleucocytation est insuffisante pour éliminer complètement le virus elle contribue certainement à diminuer l'incidence de la transmission. Comme pour le CMV, il est établi que le PFC n'est pas transmetteur [145, 146].

- *Déleucocytation et transmission du VIH*

Plusieurs études expérimentales *in vitro* [147, 148], utilisant des techniques de coculture et d'amplification génomique, ont établi que la déleucocytation permettrait une réduction de la charge virale en VIH d'un produit initialement contaminé par une inoculation expérimentale ou obtenu à partir du sang d'un donneur infecté. La réduction d'infectiosité est variable selon les études, de 2,7 à 5,9 log. Rawal [148] a montré *in vitro* que la filtration retient les cellules mais laisse passer les débris et les particules libres, ce qui laisse entendre que la déleucocytation doit être précoce.

- *Déleucocytation et transmission du Parvovirus B19*

Le parvovirus B19 est présent dans les granulocytes pendant la phase de réplication virale [149]. La déleucocytation pourrait contribuer à la réduction de sa transmission, mais cela n'est pas prouvé.

- *Déleucocytation et transmission de Yersinia enterocolitica*

*Yersinia enterocolitica*, bacille gram négatif ubiquitaire de la famille des enterobactéries, est à l'origine de septicémies mortelles [150, 151]. Le risque post-transfusionnel a été évalué aux États-Unis à 1/1 000 000 produits [152]. Plusieurs équipes ont étudié le développement de *Yersinia enterocolitica* dans les produits conservés à +4°C pendant 42 jours. Sazama [153] a réalisé une revue très complète de toute la littérature publiée en langue anglaise sur le risque de contamination bactérienne. Jusqu'à présent, approximativement 32 cas d'infection à *Yersinia enterocolitica* ont été publiés en langue anglaise dont 1 cas en France, ainsi qu'1 cas avec des CGR autologues : 59% de ces cas ont été mortels.

La température de conservation habituelle du sang à 4°C n'empêche pas la production de l'endotoxine [150]. Au cours de la bactériémie, certaines bactéries peuvent être phagocytées par les leucocytes et restées actives 2 à 4 jours après le prélèvement. Puis le globule blanc se désagrège et la bactérie relâchée se multiplie de façon extrêmement rapide. Gong *et al.* [154] ont montré que *Yersinia enterocolitica* ne pousse pas dans le plasma ou les CGR après élimination de la couche leuco-plaquettaire.

Le rôle de la déleucocytation dans la prévention de cette complication de la transfusion de CGR a été abordé dans au moins cinq études. Après inoculation délibérée dans des globules rouges à des doses inférieures ou égales à 98,8 germes par mL, *Yersinia enterocolitica* n'est pas retrouvée après filtration réalisée après 7 heures d'incubation à température ambiante [155]. Dans une seconde étude, des prélèvements de sang total inoculés par des doses de 10, 50, 100 ou 150 germes par mL sont filtrés dans un délai de 3 heures après le prélèvement et l'inoculation, le sang étant conservé à température ambiante [156]. *Yersinia enterocolitica* n'est pas retrouvée après 42 jours de conservation dans les prélèvements inoculés par 50 germes par mL ou moins et filtrés ; la bactérie est en revanche présente dans 3 produits sur 4 inoculés à 100 et 150 germes par mL. Dans une troisième étude, 10 prélèvements de sang total inoculés par une dose de 100 germes par mL sont filtrés dans un délai de 5 heures après le prélèvement et l'inoculation, le sang étant conservé à température ambiante [157] : aucune pousse n'est observée à 42 jours de conservation. Kim [158] réalise une expérience très proche, avec un inoculum de 65 germes par mL et retrouve des bactéries présentes à 42 jours dans 2 cas sur 10. Enfin, Pietersz *et al.* [159] conservent 20 heures à température ambiante les prélèvements après inoculation de doses croissantes de 20, 100, 300, 3 000 et 30 000 germes par mL de *Yersinia enterocolitica* : aucune pousse bactérienne n'est notée à 42 jours pour les doses inférieures ou égales à

300 germes par mL, 1 produit sur 10 a une culture positive parmi ceux inoculés à 3 000 germes par mL, et les 5 produits inoculés massivement à 30 000 germes par mL ont une culture positive à 42 jours.

Le maintien à température ambiante pendant quelques heures après le prélèvement est indispensable, car il permet aux leucocytes d'exercer leur fonction de phagocytose. Ces études montrent qu'un délai de 3 heures n'est sans doute pas aussi efficace que 20 heures. Pietersz [159] s'est intéressé à une stratégie de déleucocytation des CGR après conservation du sang total à 20°C pendant 16 à 20 heures, et a montré que ce délai ne nuit pas à la qualité de la préparation des CGR et des CP. La déleucocytation est indispensable pour permettre l'élimination physique des bactéries, tous les prélèvements inoculés par 10 germes par mL ou plus et non filtrés étant trouvés contaminés au 42<sup>ème</sup> jour.

Sans qu'il soit possible de prévenir tout cas de contamination par *Yersinia enterocolitica*, la déleucocytation, pratiquée entre 6 heures et 24 heures après le prélèvement, en diminue le risque.

- *Transmissions d'autres infections bactériennes*

Les données relatives à *Yersinia enterocolitica* ne sont pas applicables à toutes les espèces bactériennes. Plusieurs études ont montré que tous les germes ne sont pas éliminés avec la même efficacité [154, 160-, 161, 162].

#### 1.1.2.4. Déleucocytation et réactivation virale

- *Réactivation du VIH*

L'hypothèse que les transfusions homologues pouvaient jouer un rôle dans l'activation et la dissémination d'une infection endogène à VIH a été émise dès le début des années 1990. Busch [135] a montré, en réalisant des cocultures *in vitro*, que les leucocytes homologues stimulent l'expression du VIH dans des cellules infectées de façon dose-dépendante. Cette activation virale n'est pas observée lorsque les cellules contaminées par le VIH sont cocultivées avec des globules rouges, des plaquettes ou du plasma à la place des leucocytes. C'est donc la stimulation allogénique de type « culture mixte lymphocytaire » qui est responsable de la réactivation virale. Lee [163] a mis en évidence *in vivo* chez l'homme et dans un modèle canin la probable traduction de cette réaction allogénique post-transfusionnelle, à savoir une décroissance rapide dans le sang du receveur des leucocytes en provenance du donneur, mais aussi une prolifération ( $\times 10$ ) de ces derniers entre le troisième et le cinquième jour après la transfusion. Cependant les conséquences cliniques de cette observation restent à déterminer.

L'hypothèse du rôle des leucocytes transfusés dans la progression de la maladie due au VIH est controversée [164]. L'utilisation de CGR déleucocytés chez les patients atteints de SIDA n'est pas très fréquente, tout au moins aux USA [165]. Un essai multicentrique randomisé a débuté en décembre 1994 aux USA, visant à comparer l'utilisation de produits sanguins déleucocytés ou standard chez les patients VIH positifs. Ses résultats ont été publiés en 2001 [166] : 531 patients ont reçu après tirage au sort des transfusions de globules rouges déleucocytés ( $n = 259$ ) ou non ( $n = 262$ ). Les deux groupes étaient comparables avant transfusion. En comparaison avec le CGR standard, la déleucocytation n'a eu aucun effet appréciable sur l'évolution de la maladie (temps avant apparition d'une infection opportuniste, charge virale VIH ou CMV, concentration en lymphocytes CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup>, ou activation de cytokines dans le sang). Les auteurs concluent donc que la déleucocytation n'est pas justifiée dans la prise en charge des patients porteurs du VIH.

Dans une étude complémentaire menée par le même groupe [167], les auteurs montrent que des leucocytes allogéniques circulants peuvent être détectés (5 cas sur 47 étudiés) pendant 1 à 2 semaines après transfusion de CGR standard, alors qu'aucun leucocyte n'est détecté dans 46 cas étudiés de transfusion de CGR déleucocyté.

- *Réactivation du CMV*

La réactivation du CMV par la présence de leucocytes allogéniques est bien démontrée dans des modèles expérimentaux. Chez l'homme, elle est probablement fréquente, mais rarement démontrée. Dans une étude randomisée réalisée chez des patients opérés pour pontage coronarien et séropositifs pour le CMV, Adler [168] a montré, en comparant la transfusion de CGR « CMV négatifs » (patients du groupe A) et de CGR non testés pour le CMV (patients du groupe B), que le taux des anticorps anti-CMV augmentait de manière identique dans les deux groupes de patients (10,8% dans le groupe A et 14,6% dans le groupe B). Cette étude suggère fortement l'existence d'une réactivation liée à la transfusion de CGR, sans montrer que les leucocytes en étaient effectivement responsables. Dans une revue, Miller [169] cite deux études publiées sous forme de résumé et réalisées chez des patients transplantés cardiaques séropositifs pour le CMV, qui montrent une diminution de l'infection par le CMV en transfusant des produits déleucocytés (0% d'infection avec les produits déleucocytés contre 43% avec des produits non déleucocytés).

#### *1.1.2.5. Déleucocytation et allo-immunisation anti-HLA*

L'allo-immunisation contre les antigènes leucocytaires est définie comme la formation d'anticorps contre les antigènes HLA de classe 1 présents sur les cellules nucléées et les plaquettes. La fréquence de l'immunisation anti-HLA est difficile à évaluer parce que la susceptibilité à développer une allo-immunisation est liée à de multiples facteurs (nombre de leucocytes transfusés, antécédents transfusionnels et de grossesses, âge, pathologies associées, etc.).

Les conséquences de l'allo-immunisation sont la survenue :

- de réactions fébriles non hémolytiques,
- d'un état réfractaire aux transfusions de plaquettes.

De nombreuses études [170-180] ont évalué l'effet de la déleucocytation sur l'incidence de l'allo-immunisation et de l'état réfractaire aux transfusions de plaquettes. Leur analyse se heurte à leurs limites méthodologiques : diversité des matériels utilisés et des filtres étudiés, performance des méthodes de comptage des leucocytes résiduels, grande hétérogénéité des produits étudiés et des patients (critères d'inclusion et d'exclusion, traitements immunosuppresseurs, nombre de transfusions, nombre de leucocytes résiduels).

Cinq essais cliniques comparatifs [175, 176, 178-180] ont démontré l'efficacité de la déleucocytation à l'aide de filtres de 3<sup>ème</sup> génération pour prévenir l'allo-immunisation contre les antigènes HLA et l'état réfractaire aux transfusions de plaquettes chez des patients d'oncologie, recevant des transfusions multiples de CGR et de CP. Les résultats obtenus sont meilleurs que ceux des études antérieures [171, 172, 174]. Cependant la plus grande de ces études ne comportent que 34 patients [176]. Trois des études incluent des populations de patients hétérogènes [175, 176, 178].

Une revue de synthèse [181] a été effectuée en 1994 à partir de 33 études, dont une étude randomisée en chirurgie [170]. La fréquence de l'allo-immunisation anti-HLA après transfusion de produits standard (CGR et/ou CP) est de 39% en moyenne (de 20 à 71%) sur près de 3 000 patients transfusés. Dix-neuf études, dont deux séries personnelles, ont été identifiées concernant la fréquence de l'allo-immunisation après déleucocytation. Ces études, qui incluent plus de 900 patients, montrent une réduction de la fréquence de l'immunisation par transfusion de produits sanguins déleucocytés à 15% en moyenne (0 à 28%). Malgré la disparité des techniques de déleucocytation et de comptage des leucocytes, la diminution de l'allo-immunisation est significative pour un nombre de leucocytes résiduels inférieur à  $10^7$  par produit déleucocyté. Dans cette revue [181], une méta-analyse est effectuée sur 10 études randomisées publiées. Le risque relatif de développer des anticorps anti-HLA est 3,7 fois (IC 95% : 2,2 - 5,2)

plus élevé avec des produits standard qu'avec des produits déleucocytés. Quel que soit le type de produit transfusé, l'allo-immunisation observée après transfusion est significativement plus élevée en cas d'antécédents de stimulations allogéniques par transfusions et/ou grossesses antérieures. L'utilisation de produits déleucocytés est plus efficace pour prévenir l'allo-immunisation primaire que la réponse secondaire.

Dans un essai multicentrique randomisé portant sur 129 patients ayant des hémopathies malignes, Williamson [49] a étudié le développement d'anticorps anti-HLA après transfusion de produits standard ou filtrés au lit du patient. Chez les 123 patients analysables, des anticorps anti-HLA sont retrouvés chez 37,5% (21/56 patients) des sujets ayant reçu des produits non filtrés contre 22% (15/67 patients) chez ceux ayant reçu des produits filtrés. La différence n'est pas significative ( $p = 0,07$ ). Les auteurs reconnaissent que des biais méthodologiques peuvent interférer avec leurs conclusions, en particulier l'incertitude sur le nombre de leucocytes résiduels effectivement transfusés du fait de la méthode utilisée de filtration au lit du malade.

En dépit de variations dans les méthodes et les analyses statistiques, toutes ces études montrent donc un effet favorable de la déleucocytation pour la prévention de la survenue de l'allo-immunisation anti-HLA et de l'état réfractaire aux transfusions de plaquettes. Cette prévention est cependant incomplète.

#### *1.1.2.6. Déleucocytation et effets immunosuppresseurs de la transfusion sanguine*

Les effets immunosuppresseurs de la transfusion, bénéfiques pour la survie des greffons rénaux, sont connus [182] depuis près de 20 ans. A l'inverse, de nombreux auteurs ont étudié les effets délétères des transfusions homologues sur la rechute des cancers, coliques en particulier [183], sur la fréquence des infections post-opératoires [184] et l'activation de virus latents.

- *Incidence sur la récurrence des tumeurs solides*

De nombreuses études ont suggéré une association entre les transfusions péri-opératoires et le risque de récurrence de tumeurs solides. Les études cliniques les plus nombreuses concernent le cancer colo-rectal. La disparité des études et leurs conclusions contradictoires rendent l'analyse de la littérature très difficile. Plusieurs revues de synthèse [169, 185, 186] les ont recensées. La majorité des études rétrospectives retrouvent une corrélation positive entre l'incidence des récurrences du cancer et les transfusions péri-opératoires ; environ un tiers des études n'aboutit pas à cette conclusion.

Bordin [186] a retrouvé 30 études sur la récurrence des cancers colo-rectaux opérés, dont 18 montrent un effet de la transfusion sur les récurrences tumorales. Parmi ces 30 études, seules 6 d'entre elles [187-192] sont prospectives, dont 2 seulement sont randomisées et comparent transfusion homologue et autologue [190, 192]. Parmi les 6 études prospectives, seulement 3 [189, 190, 192] retrouvent cet effet. Tartter [189] a suivi une cohorte de 339 patients opérés de cancer colorectal et observé un taux plus élevé de récurrences en cas de transfusion de CGR : 44% des 110 patients transfusés ont eu une récurrence tumorale contre 22% des 229 non transfusés ( $p < 0,0001$ ). L'extension initiale de la tumeur et la transfusion étaient les deux seules variables indépendantes influençant la survie.

L'influence de la transfusion sur la récurrence et la survie des patients ont été analysées dans une grande variété d'autres processus tumoraux. Les conclusions ne sont pas plus claires : Bordin [186] relève 63 études rétrospectives et 7 études prospectives (les 6 précédemment citées au cours du cancer colo-rectal et une [193] au cours du cancer de la prostate). Parmi les 7 études prospectives, 3 mettent en évidence des effets défavorables de la transfusion, et, de même, 40 sur 63 études rétrospectives.



Deux méta-analyses ont essayé de résoudre ce problème [183, 194]. Chung en 1993 [194] a réalisé, avec la méthode de Mantel-Haentzel-Peto, une méta-analyse sur la récurrence et la survie des cancers colo-rectaux après transfusion ou non, à partir de 18 études rétrospectives et 2 prospectives non randomisées, publiées de 1982 à 1990, incluant 5 236 patients. En comparant les patients transfusés aux non transfusés, l'odds ratio était significatif pour le risque de récurrence (1,80 ; IC 95% : 1,30 - 2,51), pour le risque de décès par cancer (1,76 ; IC 95% : 1,15 - 2,66) et le risque de décès en général (1,63 ; IC 95% : 1,12 - 2,38). Cette méta-analyse était donc en faveur d'une association significative des transfusions péri-opératoires avec le risque de récurrence ou de décès. Cependant, dans la mesure où elle était réalisée sur des études non randomisées, rétrospectives pour la plupart et hétérogènes, on ne peut en fait conclure à la responsabilité de la transfusion péri-opératoire sur ces résultats défavorables. Les conclusions du second groupe d'investigateurs [183], également publiées en 1993, allaient dans le même sens : la transfusion allogénique paraissait associée à une augmentation de 37% du risque de récurrence ou de décès de cancer. Vamvakas [183] soulignait la probable présence de facteurs confondants dans ce résultat.

En effet, la véritable question est de déterminer s'il s'agit d'une relation de cause à effet ou si l'association est indirecte, la transfusion n'étant que le témoin d'un ensemble de variables associées à un mauvais pronostic. Ainsi, dans l'étude de Eickhoff [195], dans une population de 148 patients opérés pour carcinome prostatique, 38% d'entre eux avaient reçu une transfusion de CGR. L'analyse des facteurs de risque pour le taux de survie a montré que les patients recevant une transfusion avaient en fait une maladie plus grave que les autres patients non transfusés. Le facteur transfusion n'était pas un facteur indépendant de récurrence ou de décès.

En 1995, Vamvakas [196] a repris les données actualisées de la littérature dans ce domaine et réalisé une nouvelle méta-analyse sur 60 études, la plupart rétrospectives, publiées de 1982 à 1994, concernant les cancers colo-rectaux, de la prostate, du sein, du poumon, de l'estomac et en ORL. Le but de cette nouvelle étude était d'identifier si des facteurs confondants pouvaient fausser l'interprétation des résultats. En analyse univariée, Vamvakas notait à nouveau des risques relatifs significatifs en faveur d'un effet délétère propre de la transfusion, sauf en cas de cancer du sein. En fait, les études concernant les cancers colo-rectaux et gastriques n'étaient pas homogènes entre elles, et toute méta-analyse était donc discutable. Pour le cancer colo-rectal, alors que l'effet délétère de la transfusion paraissait significatif à partir des études rétrospectives, il ne l'était plus sur les sept études prospectives retrouvées. Cette revue [196] met en évidence toute la fragilité des conclusions des études actuellement disponibles.

La réponse à cette importante question nécessite des essais randomisés comparant plusieurs régimes transfusionnels, incluant un très grand nombre de patients, et convenablement ajustées sur les facteurs connus comme pouvant interférer, indépendamment des transfusions, avec la récurrence de tumeur (stade évolutif, traitement préalable, etc.).

Trois études [190, 192, 193] ont comparé transfusion autologue et homologue de CGR. Ness [193] a étudié un groupe homogène de 309 patients ayant subi une chirurgie de la prostate par le même chirurgien et ayant reçu des CGR soit autologues, soit homologues (étude comparative, non randomisée). Il ne retrouve pas de différence entre les deux groupes. Heiss [190], dans une étude randomisée chez 120 patients opérés d'un cancer colo-rectal et suivis en moyenne 22 mois (8 à 48 mois), a retrouvé, en analyse multivariée, comme facteurs de risque de récurrence indépendants, l'atteinte ganglionnaire (N1/2/3 versus NO), l'extension tumorale (T3/4 versus T1/2) et la réalisation de transfusion homologue. Par contre, dans une étude randomisée sur 475 patients opérés pour cancer colo-rectal, Busch [192] n'a pas retrouvé de différence en termes de récurrence après transfusion autologue ou homologue. Chez les patients transfusés (transfusion autologue comme homologue), la survie à 4 ans était diminuée comparativement aux patients non transfusés : la nécessité de transfuser est donc un facteur péjoratif. Les facteurs pronostiques étaient dans cette étude le stade du cancer (stade de Duke) et l'âge.

Une conclusion analogue a été apportée par Houbiers [197] dans une étude randomisée comparant la transfusion de CGR appauvris en leucocytes et de CGR déleucocytés chez 871 patients opérés pour cancer colo-rectal, dont 697

ayant eu une intervention curative (446 patients transfusés). En terme de survie, de survie sans maladie et de rechute du cancer, il n'y avait pas de différence selon le type de CGR transfusé. En revanche, parmi les 697 ayant eu une intervention curative, la survie à 3 ans était moindre en cas de transfusion (69% *vs* 81%,  $p = 001$ ). Par contre, la rechute du cancer n'était pas influencée par la transfusion péri-opératoire. Les patients de cette étude ont été suivis avec un recul de 5 ans [198], confirmant l'absence de différence entre les deux groupes transfusés pour la survie (63,6% *vs* 65,3%) et la rechute (27,8% *vs* 27,9%), et la différence significative entre transfusés et non transfusés pour la survie (59,6% *vs* 72,9%). En revanche, pour les rechutes, la différence observée (29,8% *vs* 24,3%) n'est pas significative.

Le travail expérimental sur l'animal de Blajchman [199] montre que la transfusion allogénique favorise la croissance tumorale, alors que la transfusion de sang allogénique déleucocyté n'a pas cet effet facilitant. Dans les modèles animaux étudiés (souris et lapins), la déleucocytation des CGR avant leur stockage annule l'effet des CGR sur la croissance tumorale. Bordin [200] étudie le nombre de nodules métastatiques pulmonaires 28 jours après l'inoculation de cellules tumorales (fibrosarcome) à des souris transfusées (globules rouges syngéniques ou allogéniques déleucocytés ou allogéniques non déleucocytés) au 4 et 9<sup>ème</sup> jour ou au 9 et 11<sup>ème</sup> jour après l'inoculation. Le nombre de métastases est plus faible dans le groupe de souris ayant reçu des globules rouges syngéniques que dans le groupe de souris ayant reçu des globules rouges allogéniques non déleucocytés. Par contre le nombre de métastases est identique dans le groupe de souris ayant reçu des globules rouges allogéniques déleucocytés. Les mêmes résultats sont retrouvés sur une expérience similaire menée chez les lapins. La déleucocytation n'est pas efficace si elle a lieu après le stockage des CGR [200] : elle doit être réalisée au préalable.

Les résultats de ces études animales ne peuvent pas être extrapolés directement à l'homme. Des études cliniques doivent confirmer ces résultats et définir le moment optimal de la déleucocytation, avant de recommander la déleucocytation systématique des CGR pour transfuser les patients bénéficiant d'une chirurgie curatrice d'une tumeur solide. La réponse ne pourrait finalement être apportée que par des essais randomisés comparant transfusion autologue et homologue déleucocytée ou non.

- *Diminution de l'incidence des infections post-opératoires*

De nombreuses études suggèrent que la transfusion de CGR standard majore le risque d'infection post-opératoire. Plusieurs auteurs ont également tenté d'en réaliser la synthèse [169, 186, 201]. Miller [169] note que 18 études sur 24 objectivent une association entre transfusion de CGR et infection post-opératoire. Cependant les différences observées au cours d'études rétrospectives peuvent être imputables à de multiples facteurs confondants. La nécessité de transfuser des CGR peut être elle-même un marqueur de sévérité de la maladie et de plus grand risque d'infection.

Agarwal [202] a rapporté les résultats d'une étude rétrospective menée sur 5 434 patients traumatisés, dans 8 hôpitaux de l'état de New York et du Connecticut. Les patients ont été stratifiés en fonction de leur indice de gravité ; 25% des patients ont été transfusés. La transfusion de CGR est apparue comme un facteur de risque indépendant pour l'infection. Cependant plusieurs critiques peuvent être formulées. La transfusion d'autres PSL, comme le plasma ou les plaquettes, susceptibles de modifier également l'immunité n'ont pas été pris en compte. La sévérité des infections n'a pas été prise en compte. Cependant dans chaque groupe stratifié selon l'indice de gravité, le taux d'infection était proportionnel au nombre de CGR transfusés.

Un autre travail effectué par Carson [203] a étudié la relation existant entre la transfusion et la survenue d'une infection bactérienne sévère. Cette étude rétrospective incluait 9 598 malades consécutifs âgés de plus de 60 ans, opérés d'une fracture du col du fémur. L'objectif primaire de l'étude était la survenue d'une infection bactérienne sévère définie comme une bactériémie, une pneumonie, une infection de la plaie opératoire, une arthrite septique ou

une ostéomyélite. Les objectifs secondaires incluaient deux infections particulières, les pneumonies et les infections urinaires, ainsi que le coût de l'infection. Au total, 58% des malades de la cohorte ont reçu une transfusion sanguine. Une infection bactérienne sévère est survenue chez 437 malades (4,6%) dont 28,8% sont décédés au cours de l'hospitalisation. Une pneumonie a été observée chez 361 malades (3,8%) et une infection urinaire chez 1 157 malades (12,1%). Le risque de survenue d'une infection bactérienne sévère est associé de manière statistiquement significative à la transfusion sanguine, l'odds ratio est de 1,35 (IC 95%, 1,10 – 1,66). L'odds ratio pour la survenue d'une pneumonie est également statistiquement significatif 1,52 (IC 95%, 1,21 – 1,91). En revanche, le risque de survenue d'une infection urinaire n'est pas modifié par la transfusion. Une relation significative entre le nombre de CGR transfusés et la probabilité de survenue d'une infection sévère ou d'une pneumonie a été établie. Le coût de l'hospitalisation était significativement plus élevé chez les malades ayant développé une infection sévère que chez les malades non infectés. Les auteurs concluent que la transfusion sanguine est associée à une augmentation de 35% du risque d'infection sévère et de 52% le risque de pneumonie.

Plusieurs essais prospectifs ont comparé transfusion autologue et homologue. Tartter [204], dans une étude prospective portant sur 343 patients subissant une chirurgie colo-rectale, a comparé le taux d'infection post-opératoire chez les patients ayant reçu une transfusion homologue (24,6%) et chez les non transfusés (4,3%). Cependant le groupe non transfusé ne constitue pas un groupe témoin satisfaisant. Dans l'étude prospective randomisée de Heiss [205] incluant 120 patients subissant une chirurgie colo-rectale pour cancer, ceux qui ont reçu des CGR homologues ont eu un taux d'infection post-opératoire plus élevé (27%) que ceux qui ont reçu des CGR autologues (12% ;  $p = 0,036$ ). L'incidence des autres complications post-opératoires est identique dans les deux groupes. Une analyse multivariée indique que l'odds ratio d'infection post-opératoire après transfusion de CGR homologues par rapport à la transfusion de CGR autologues est de 2,84 (IC 95% : 1,02-7,98).

Murphy [206], dans une étude rétrospective chez 84 patients opérés pour prothèse totale de hanche entre 1986 et 1987, a retrouvé des résultats superposables : le taux d'infection post-opératoire était plus faible chez les patients ayant reçu des CGR autologues (3%) que chez les patients ayant reçu des CGR homologues (32% ;  $p = 0,0029$ ). Par contre, Vamvakas [207], également dans une étude rétrospective de 420 prothèses totales de hanche mises en place entre 1986 et 1993, n'a pas trouvé d'effet favorisant des transfusions homologues sur la survenue d'infections post-opératoires (homologues 9,5% et autologues 6,4% ;  $p = 0,226$ ).

Jensen [208] a la première évalué spécifiquement le rôle de la déleucocytation sur la prévention des infections postopératoires en comparant les effets de produits déleucocytés à ceux des produits standard. Cette étude prospective randomisée en chirurgie colo-rectale a inclus 48 patients transfusés par du sang total déleucocyté par filtration et 56 recevant du sang total standard. Une infection post-opératoire a été observée chez 29% des patients recevant du sang total non déleucocyté contre 2% chez les patients recevant du sang total déleucocyté ; 2% d'infections ont été observés également dans un groupe témoin non transfusé. Les auteurs ont observé aussi une diminution prolongée, supérieure à 1 mois, de l'activité des cellules NK (Natural Killer) dans le groupe recevant du sang total non déleucocyté. Dans le groupe témoin, la diminution de cette activité a été transitoire, maximale au 8<sup>ème</sup> jour post-opératoire, avec un retour à la normale à 1 mois.

D'autres études [192, 209] ne permettent pas de retrouver ces résultats. Busch [192] ne signale pas de différence significative pour le taux d'infection post-opératoire entre les sujets recevant des produits autologues et ceux recevant des produits homologues. Pertilă [209] compare les effets de la transfusion de CGR autologues et de CGR déleucocytés à ceux de la transfusion de CGR standard, dans une étude randomisée chez 24 sujets immuno-compétents subissant un pontage coronarien. Concernant les infections, aucune différence n'est observée entre les deux groupes, mais l'effectif de cette étude est petit pour conclure.

Jensen [210] a publié une étude randomisée chez 589 patients opérés pour un cancer colo-rectal, en comparant la transfusion de GCR appauvris en leucocytes (299 patients tirés au sort, 142 effectivement transfusés) et de CGR déleucocytés (290 patients tirés au sort, 118 effectivement transfusés). Le taux de leucocytes résiduels était inférieur à  $5.10^6$  après déleucocytation. Les 142 patients transfusés en CGR appauvris en leucocytes ont eu significativement plus d'infections que les patients du même groupe non transfusés (abcès de paroi : 12% contre 1%,  $p < 0,0001$  ; abcès intra-abdominal : 5% contre 0%,  $p = 0,005$ ). Ces mêmes patients ont eu plus d'infections que les 118 patients transfusés en CGR déleucocytés (abcès de paroi : 12% contre 0%,  $p < 0,0001$  ; abcès intra-abdominal : 5% contre 0%,  $p = 0,017$ ). Ces patients ont également eu plus de pneumonies post-opératoires : 23% comparativement à 3% chez les patients non transfusés du même groupe ( $p < 0,0001$ ), et 23% contre 3% chez les patients transfusés avec des CGR déleucocytés ( $p < 0,001$ ). Le taux de mortalité entre les deux groupes était identique.

Van de Watering [211] a comparé trois groupes de patients de chirurgie cardiaque recevant par tirage au sort soit des CGR dépourvus de couche leuco-plaquettaire ( $n = 306$ ), soit des CGR déleucocytés avant conservation dans les 24 heures après le prélèvement ( $n = 305$ ) ou déleucocytés au moment de la transfusion ( $n = 303$ ). Il n'y a pas de différence entre les trois groupes pour la durée de séjour à l'hôpital. Il y a une tendance non significative à plus d'infection dans le premier groupe (23 vs 16,9 et 17,9% respectivement). Le point le plus intéressant est la mortalité à 60 jours, qui est de 7,8% dans le premier groupe comparée à 3,6 et 3,3 dans les deux autres ( $p = 0,015$ ). Cette mortalité élevée ne peut être expliquée que partiellement par la plus forte incidence d'infection chez les patients du premier groupe.

Tartter [212] a comparé deux groupes de patients admis en chirurgie digestive, et transfusés en CGR standard vs déleucocytés. En pratique, le tirage au sort ayant lieu avant intervention, seuls 59 patients sur 227 ont reçu des transfusions. L'incidence des infections est de 11% chez les non transfusés, 16% chez les receveurs de CGR déleucocytés et 44% chez les receveurs de CGR standard ( $p < 0,001$ ). Les durées de séjour à l'hôpital sont également statistiquement différentes : 9 vs 12 vs 18 jours respectivement. Les auteurs concluent à l'efficacité de la déleucocytation pour réduire l'incidence des infections post opératoires.

Dans une revue critique récente et très complète, Vamvakas et Blajchman [213] concluent que l'effet immunomodulateur est probablement présent, mais sans doute à un degré plus modeste au regard des infections post-opératoires que celui suggéré par les premières études de Jensen.

### *1.1.2.7. Inconvénients de la déleucocytation*

La perte en hémoglobine (Hb) est le facteur limitant le plus important. Les établissements de transfusion sanguine doivent assurer un contenu minimum des CGR déleucocytés de 40 g d'Hb contre 43 g pour les CGR appauvris en leucocytes et 45 g pour les CGR standard. La sélection du matériel est un facteur important. Cette perte ne devrait pas dépasser 10% pour 90% des CGR [18]. Des pertes supérieures à 20% peuvent survenir et entraîner l'augmentation du nombre de CGR transfusés et l'exposition des receveurs à des produits provenant d'un plus grand nombre de donneurs.

### 1.1.3. Déplasmatisation

Les CGR déplasmatisés sont des concentrés contenant moins de  $0,5 \text{ g.L}^{-1}$  de protéines plasmatiques. Ils sont indiqués chez les sujets intolérants aux protéines plasmatiques.

Les réactions cliniques d'expression allergique sont beaucoup plus fréquemment observées avec les produits contenant une grande quantité de plasma, PFC ou CP, qu'avec les CGR : 3,7% contre 0,5% dans une analyse rétrospective [51].

En règle générale, à la suite de transfusion de CGR, les réactions de type allergique sont mineures (urticaire, rash cutané) et isolées. Elles justifient un simple traitement symptomatique. Lorsque ces réactions sont répétées et non prévenues par l'utilisation d'antihistaminiques, l'utilisation de CGR réduits en volume ou déplasmatisés peut être discutée. Beaucoup plus rarement, des réactions anaphylactiques majeures (urticaire étendu, bronchospasme et œdème de Quincke, choc anaphylactique) sont observées, justifiant dès la transfusion suivante l'utilisation de CGR déplasmatisés.

Il est exceptionnel que l'antigène responsable des réactions anaphylactiques mineures soit identifié. Parmi les causes de réactions majeures, et en particulier de chocs anaphylactiques, il est important de rechercher chez le patient un déficit en IgA sérique et, dans ce cas, la présence d'anticorps anti-IgA. Plus de 30 cas de chocs anaphylactiques liés à la présence d'anticorps anti-IgA ont été publiés [214-226]. Du sang total était impliqué dans 13 cas, des CGR dans 7 cas, des CP dans 3 cas et du PFC dans 7 cas. Tous les rapports indiquent que la déplasmatisation est en règle efficace pour prévenir la survenue d'accidents lors de transfusions ultérieures.

Une autre complication transfusionnelle exceptionnelle justifie l'emploi de CGR déplasmatisés : le purpura post-transfusionnel ou syndrome de Schulman, survenant en règle chez des patientes ayant eu une immunisation primaire contre un antigène plaquettaire lors d'une grossesse, et développant une réponse secondaire lors de la transfusion d'un produit sanguin cellulaire, CGR ou CP. Le tableau clinique consiste en l'apparition d'une thrombopénie brutale 1 à 2 semaines après la transfusion. L'accident révélateur n'est en pratique pas prévisible, mais toute transfusion ultérieure éventuelle de CGR doit être effectuée avec des CGR dépourvus de plaquettes. En pratique, les conditions techniques de la déplasmatisation permettent une déplétion en plaquettes suffisante pour prévenir la récurrence.

Enfin, il avait autrefois été recommandé d'utiliser des CGR déplasmatisés pour la transfusion de patients atteints d'hémoglobinurie paroxystique nocturne. La justification théorique était de ne pas apporter au receveur de fraction du complément, susceptible de provoquer la lyse des propres globules rouges du patient. Cette attitude, qui était peut-être justifiée dans le cas de la transfusion de sang total, s'est avérée par la suite non justifiée dans le cas de transfusion de CGR.

#### 1.1.4. Cryoconservation

La cryopréservation [227] permet la conservation à long terme de globules rouges viables et fonctionnels. Selon la température de conservation (-30°C, -80°C, -130°C), la durée de stockage est de 4 mois à plus de 20 ans. Après décongélation et déglycérolisation, le CGR doit être transfusé dans les 24 heures. Si la décongélation et la déglycérolisation sont réalisées à l'aide d'un système fonctionnellement clos avec addition d'une solution supplémentaire de conservation, le délai maximal entre décongélation et l'utilisation du CGR est de 7 jours.

Des réserves de sang de groupes rares peuvent être ainsi constituées afin de pouvoir transfuser des sujets de phénotypes exceptionnels ou des patients ayant développé un grand nombre d'allo-anticorps anti-érythrocytes nécessitant une sélection complexe de CGR compatibles dans de nombreux groupes sanguins.

D'autres avantages sont directement liés aux procédés de préparation par action combinée de la glycérolisation, la congélation-décongélation et le lavage :

- les suspensions ainsi obtenues ont une concentration de protéines plasmatiques réduite ( $< 0,5 \text{ g.L}^{-1}$ ) analogue à celle des CGR déplasmatisés;
- il y a un faible taux résiduel de plaquettes et de leucocytes ( $< 10^6$ ).

Cette amélioration qualitative du produit est certainement à l'origine des observations rapportant une prévention des infections post-transfusionnelles dues au CMV : dans 6 études, aucune transmission de CMV n'est notée sur plus de 250 patients recevant des produits cryoconservés [84, 85, 110, 122, 228]. Une diminution de l'incidence des hépatites B post-transfusionnelles a également été évoquée, puis contestée. Une étude menée chez 59 patients drépanocytaires polytransfusés, rapporte une incidence de 3,4% d'hépatite C contre 25% de séroconversion dans le groupe témoin ne recevant pas des CGR cryoconservés [229]. Enfin, le procédé de préparation permettrait une réduction modérée de la charge virale VIH [147].

La cryoconservation pourrait donc théoriquement permettre la sécurisation des CGR. Les trois principaux obstacles de l'utilisation à grande échelle de cette technique de sécurisation sont le coût du stockage des produits et les difficultés de distribution en urgence et de fidélisation des donneurs de sang. Outre le fait qu'elle n'est absolument pas opérationnelle à grande échelle, il faut rappeler que la sécurisation ne permet de contrôler que les agents infectieux connus.

#### 1.1.5. Irradiation par les rayonnements ionisants

Cette transformation s'applique à l'ensemble des produits sanguins thérapeutiques, cellulaires ou susceptibles de contenir des cellules lorsque ces produits ont été soumis à une dose de rayonnements ionisants de 25 à 45 Gy (réglementation française [5]). Elle est indiquée dans la prévention de la GVH post-transfusionnelle.

- *La GVH post-transfusionnelle*

Les principales manifestations de la GVH sont la fièvre et les signes cutanés. Le rash cutané débute par un érythème puis une éruption maculo-papuleuse. Celle-ci initialement centrale, s'étend aux extrémités, réalisant parfois un érythème généralisé avec formation de bulles. Les autres manifestations incluent l'anorexie, les nausées, les vomissements, des diarrhées aqueuses ou sanglantes. Elles s'accompagnent ou non d'une cytolysé hépatique, d'une hyperbilirubinémie et d'une pancytopenie 1 à 9 semaines après la transfusion [230]. L'issue de la GVH post-transfusionnelle est fatale dans plus de 90% des cas, en quelques semaines [230, 231].

Son incidence n'est pas encore bien définie [230, 232, 233]. Elle est probablement sous-estimée, le diagnostic n'étant pas toujours fait ou confondu avec des infections virales ou des accidents de toxicité médicamenteuse [234]. Anderson [230] et Greenbaum [232] ont recensé les cas rapportés depuis la première description en 1965 afin d'identifier les groupes de patients à risque.

Le premier groupe est constitué par les receveurs immuno-déprimés, du fait d'une maladie congénitale ou acquise, en particulier la maladie de Hodgkin [235], et de traitements chimio- ou radiothérapeutique. Aucun cas n'a été décrit chez les patients atteints de SIDA [230, 232, 234].

Si la GVH survient essentiellement chez les patients immuno-déprimés, ces derniers ne sont pas les seuls concernés. Le premier cas de GVH post-transfusionnelle chez un patient immunocompétent, opéré d'un anévrysme de l'aorte, a été décrit en 1986 [236]. Depuis de nombreux autres cas sont rapportés chez des receveurs présumés immunocompétents [14, 230, 234, 237-244] transfusés par des donneurs apparentés ou non, particulièrement au Japon [231, 236, 245] et en Israël [246] au cours de divers type de chirurgie.

Au Japon, une enquête rétrospective portant sur 340 hôpitaux [231] en chirurgie cardiaque, sur la période 1981-1986, a identifié 96 cas d'érythrodermie post-opératoire chez des patients tous considérés comme immunocompétents parmi les 63 257 patients ayant bénéficié de ce type de chirurgie. L'incidence est de 1/659. Ce syndrome décrit par les Japonais est cliniquement et histologiquement identique à la GVH post-transfusionnelle. Thaler [246] rapporte, en Israël, 2 cas de GVH post-transfusionnelle après chirurgie cardiaque chez des sujets immunocompétents ayant reçu du sang total frais, non irradié. Dans chaque cas, un des donneurs est homozygote pour un des haplotypes HLA du receveur. Sheehan [247] décrit un cas chez une femme de 22 ans souffrant d'une éclampsie d'intensité modérée, non immunodéficente, qui avait reçu 2 CGR après la délivrance. Arsura [237] rapporte un cas de GVH diagnostiquée par biopsie cutanée à la suite d'un pontage coronarien chez un patient de 63 ans présumé immunocompétent ayant reçu 2 unités de sang frais.

D'autres cas continuent d'être rapportés. Une recherche Medline des nouveaux cas publiés entre 1990 et 1995 montre 79 observations dans 52 publications. Quarante cas sont survenus à la suite d'intervention chirurgicale, dont 3 greffes d'organes (rein, coeur, foie). Dix-sept sont survenus chez des patients traités pour hémopathie maligne : 5 maladies de Hodgkin, 4 leucémies aiguës myéloïdes, 4 lymphomes non hodgkiniens, 3 leucémies lymphoïdes chroniques, et 1 myélodysplasie. Huit cas pédiatriques sont rapportés : 3 nouveau-nés prématurés et 5 déficits immunitaires congénitaux. Trente-six cas concernent des patients japonais. Les cas résolutifs sont exceptionnels : 3/38 documentés. Des dons familiaux sont impliqués dans 6 cas : 4 dons d'un enfant à un parent, 1 don d'un parent à son enfant, et 1 don intrafamilial au deuxième degré. Parmi les produits sanguins impliqués, 4 patients ont reçu des CGR déleucocytés [248-251] et 2 ont reçu des produits irradiés à la dose de 15 Gy [252, 253].

La GVH post-transfusionnelle est une pathologie liée à la transfusion de cellules lymphoïdes histocompatibles. Elle est la manifestation d'une réponse immunologique qui peut survenir lorsque des lymphocytes transfusés viables ne sont pas reconnus comme étranger par le receveur. Ces lymphocytes T immunocompétents persistent chez le receveur et entraînent une GVH. Un des facteurs déterminants est donc une semi-identité des phénotypes HLA entre donneur et receveur [246]. Dans cette situation, le receveur ne peut pas reconnaître comme étranger le phénotype HLA du donneur et ne développe pas de réaction de rejet contre les lymphocytes du donneur. Cette condition peut survenir en cas d'immunodéficience, mais également lors de la transfusion d'un PSL cellulaires provenant d'un donneur identique au receveur pour un des haplotypes HLA [242, 254].

Petz *et al.* [243] ont analysé 39 cas rapportés chez des patients présumés immunocompétents dont 79% de patients japonais. Parmi 16 documentés, 9 sont des cas où donneur et receveur ne sont pas apparentés, 6 où ils sont apparentés au premier degré et 1 où ils sont apparentés au second degré. Trois facteurs favorisant peuvent être retenus : l'existence d'un haplotype HLA commun au donneur et au receveur, le caractère « frais » du sang transfusé (< 96 h) et un facteur de prédisposition génétique supposé dans la population japonaise.

Seul un petit nombre de patients [236, 242] a bénéficié d'un typage HLA permettant de mieux comprendre la pathogénie de la maladie. Nagumo [255] rapporte un cas survenu chez un patient japonais recevant à la suite d'une hémorragie digestive, un seul concentré provenant d'un donneur non apparenté. Le typage HLA du donneur et du receveur permet de montrer une parenté antigénique pour une allèle dans chacun des systèmes de classe I (HLA A) et de classe II (HLA DP). Ito [256] rapporte le typage HLA d'un homme de 53 ans, ne recevant ni chimiothérapie ni radiothérapie, opéré d'un cancer de l'oesophage et transfusé en période peri-opératoire. Son typage HLA est modifié vers la 18<sup>ème</sup> heure, les lymphocytes du donneur ayant remplacé ceux du receveur, bien que ce patient ne puisse pas être considéré *a priori* comme immunodéprimé.

Finalement, les patients immunocompétents à risque, sont les sujets qui ont un haplotype HLA identique au donneur, ce dernier étant homozygote. Ceci peut survenir au cours de dons intra-familiaux ou dans des populations où un haplotype est très fréquent (Japon, Israël).

La probabilité pour qu'un donneur HLA homozygote rencontre un receveur semi-identique a été estimé à 1/7 174 chez les blancs au USA, à 1/16 835 en France et à 1/874 au Japon [241]. Cela devrait correspondre à 1 500 à 22 000 cas annuels aux Etats-Unis. Dix millions de CGR sont transfusés chaque année dont un tiers avec des dons provenant des sujets apparentés au premier degré : 8 000 cas de GVH post-transfusionnelle sont donc attendus chaque année. Or, la GVH est beaucoup plus rare [244]. Pour expliquer ces résultats, la première hypothèse est que l'homozygotie des haplotypes HLA a été largement surestimée aux Etats-Unis. C'est ce que démontre Wagner [257] en construisant un nouveau modèle mathématique. L'autre hypothèse est que des facteurs encore inconnus modulent le phénomène. Van der Mast [258] étudie *in vitro* 62 combinaisons de donneurs et receveurs avant et à différents moments après la transfusion. La réactivité du donneur contre l'hôte serait progressivement inhibée par les lymphocytes T du receveur et diminuerait proportionnellement avec le temps.

La majorité des cas survenus chez des patients immunocompétents a été décrite au décours de chirurgie cardiaque. Aussi il a été suggéré que ces patients subissant une chirurgie sous circulation extra-corporelle (CEC) ne peuvent pas être considérés strictement comme immunocompétents. Des lymphopénies sont rapportées avec une incidence plus importante que dans d'autres types de chirurgie. A l'encontre de l'hypothèse d'immunodéficience de ces patients, Preiksaitis [259] ne retrouve pas de différence pour le risque d'infection post-opératoire à CMV entre la chirurgie cardiaque et d'autres types de chirurgie majeure.

- *Prévention de la GVH post-transfusionnelle par l'irradiation des produits*

Il est clairement établi que l'irradiation des PSL cellulaires et donc des produits érythrocytaires est la méthode de choix pour la prévention de la GVH. Une dose d'irradiation évitant la prolifération des lymphocytes et la moins toxique possible pour les globules rouges doit être utilisée. La dose de 15 Gy permet de réduire par  $10^5$  à  $10^6$  fois la réponse mitogène des lymphocytes par rapport à des PSL non irradiés [260]. Cependant pour cette dose, longtemps employée aux USA, un petit pourcentage de lymphocytes persiste. Drobyski [260] rapporte une GVH pour une dose de 20 Gy. Deux autres cas de GVH post-transfusionnelle ont été décrits dans lesquels les patients ont reçu des produits irradiés à la dose de 15 Gy [252, 253]. Ces données indiquent qu'à ces doses quelques lymphocytes sont susceptibles de survivre. La dose réglementaire [5] en France (25 à 45 Gy) donne de meilleures garanties. Jusqu'à présent aucune GVH post-transfusionnelle n'a été décrite chez des patients recevant des produits irradiés dans ces conditions.

Anderson [261] rapporte les résultats d'une évaluation, réalisée par le *Transfusion Practice Committee of the American Association of Blood Bank*, sur les possibilités d'irradiation, le matériel, les modalités, les indications retenues et l'incidence de la GVH post-transfusionnelle pendant l'année 1989. L'étude porte sur 64,2% des 2 250 instituts américains et 9 397 068 produits ont été transfusés : 10,1% étaient irradiés par des doses de 15 à 50 Gy, et 96,8% des instituts utilisaient des doses entre 15 et 35 Gy. La majorité des centres irradiaient les produits destinés aux receveurs de moelle osseuse allogénique (88%) ou autologue (81,4%) et aux patients ayant un déficit immunitaire congénital (68,4%).

Les patients ayant une tumeur solide ou un sida ne recevaient des dons irradiés que dans une minorité des centres (respectivement 24,5 et 20%). Une majorité des instituts irradiait les dons provenant de donneurs apparentés au premier degré. Une minorité le faisait également pour les dons provenant des autres membres de la famille. La grande majorité des instituts (90%) n'irradiait pas les dons provenant de donneurs non apparentés. Pendant cette période, 3,2% des institutions ont rapporté au total 40 GVH post-transfusionnelles, dont 4 seulement dans le cadre de la chirurgie (2 au cours de pontage coronarien et 2 au cours d'autres chirurgies cardiaques). A noter 2 cas de GVH post-transfusionnelle sont survenus chez des patients ayant reçu une greffe allogénique de moelle osseuse, pour lesquels tous les dons avaient été irradiés.



L'irradiation présente l'inconvénient de favoriser le relargage de potassium lors de la conservation des globules rouges irradiés [262]. Cette observation a conduit certains [261] à recommander d'irradier peu de temps avant la transfusion. Ramirez *et al.* [263] constatent une concentration de potassium 3 fois plus élevée dans les CGR stockés après irradiation (à 30 Gy) réalisée immédiatement après prélèvement. Cependant Rivet *et al.* [264] observent que le stockage augmente la concentration de potassium à la fois dans les CGR irradiés et non irradiés. De toutes façons, si cet effet peut être délétère en pédiatrie [265, 266], il n'a pas de conséquence perceptible chez l'adulte [266]. Hillyer *et al.* [267] évaluent les conséquences de l'irradiation de CGR préalablement déleucocytés et ne trouvent des altérations modérées qu'au décours de la conservation.

Pour prévenir la GVH post-transfusionnelle, aucune autre méthode que l'irradiation n'a fait la preuve de son efficacité. Les rayons ultraviolets B [268, 269] permettraient de diminuer le risque de GVH et leur effet a été évalué sur un modèle canin. Deeg *et al.* [270] étudient 10 chiens immunodéprimés par une irradiation suivie d'une autogreffe de moelle osseuse. Quatre de ces chiens reçoivent des leucocytes non irradiés de donneurs histocompatibles et développent une GVH. Deux des 3 chiens ayant reçu des leucocytes faiblement irradiés par des ultraviolets (20 mj.cm<sup>-2</sup>) développent une GVH, et aucun dans le dernier groupe ayant reçu des leucocytes irradiés avec 1 000 mj.cm<sup>-2</sup>. En pratique transfusionnelle, ce procédé pourrait être efficace pour les produits plaquettaires, mais n'est malheureusement pas utilisable pour les produits contenant des globules rouges, en raison d'une absorption importante des ultraviolets B par l'Hb.

De même, la déleucocytation par filtration n'a pas fait la preuve de son efficacité. Bien au contraire, Hayashi *et al.* [271] rapportent un cas de GVH survenant après transfusion de sang non irradié, après 7 jours de conservation, en dépit de la déleucocytation. Quatre autres cas semblables sont relevés dans les 5 dernières années [248-251]. Si l'évolution des performances de la filtration permettra peut-être une réévaluation de son efficacité dans l'avenir, il doit être clairement dit aujourd'hui que la déleucocytation ne prévient pas toujours le risque de GVH.

#### 1.1.6. Préparation pédiatrique

La transformation « préparation pédiatrique » consiste à diviser aseptiquement un CGR en plusieurs unités qui peuvent être transfusées successivement, en cas de besoin, au même receveur. Elle permet une diminution du nombre de donneurs nécessaires à la transfusion des nouveau-nés.

#### 1.1.7. Réduction de volume

La « réduction de volume » consiste à éliminer aseptiquement une partie du milieu de suspension d'un CGR par centrifugation. L'Ht est compris entre 70 et 85%. Cette transformation est parfois utilisée en néonatalogie :

- lorsque le contrôle des volumes injectés doit être rigoureusement respecté ;
- en cas de transfusion massive, lorsqu'on désire éliminer la majeure partie de la solution de conservation en phase liquide.

#### 1.1.8. Sang total reconstitué

La reconstitution de sang total, réalisée par le site transfusionnel, consiste à mélanger aseptiquement un CGR, soit avec de l'albumine à 4%, soit avec un PFC sécurisé ou viro-atténué après décongélation.

Elle est essentiellement indiquée pour la réalisation d'ex sanguino-transfusion, d'AREC (Assistance Respiratoire Extra-Corporelle) et d'ECMO (Extra-Corporeal Membrane Oxygenation) chez le nouveau-né.

## 1.2. QUALIFICATIONS APPLICABLES AUX PRODUITS ERYTHROCYTAIRES

### 1.2.1. Phénotypage<sup>5</sup>

La qualification phénotypé s'applique à toutes les préparations thérapeutiques de globules rouges pour lesquelles cinq antigènes sont déterminés systématiquement (RH2, RH3, RH4, RH5 du système RH et KEL1 du système KELL, anciennement C, E, c, e et K), et qui sont antigéno-compatibles avec le receveur pour ces cinq antigènes, sans préjuger de la détermination d'autres antigènes.

Le phénotypage est dit « étendu » lorsqu'il prend en compte les antigènes des autres systèmes (Duffy, Kidd, MNS, Lewis, etc.), et qu'ils sont antigéno-compatibles avec le receveur.

L'indication de la qualification phénotypé répond à deux objectifs :

- la prévention des accidents hémolytiques transfusionnels chez les receveurs ayant ou ayant eu des anticorps anti-érythrocytaires ;
- la prévention de l'allo-immunisation anti-érythrocytaire chez les receveurs à risque.

L'analyse de la littérature permet d'identifier les antigènes en causes, la fréquence des anticorps ainsi que les groupes à risque.

#### 1.2.1.1. Les différents types d'anticorps anti-érythrocytaires

La recherche d'anticorps anti-érythrocytaires irréguliers (RAI) permet la détection des anticorps dans d'autres systèmes que le système ABO. Ces anticorps sont de deux types : naturels et immuns.

- *Anticorps naturels*

Les anticorps naturels sont indépendants de toute stimulation fœto-maternelle ou transfusionnelle. Ils sont présents dans le sérum de 2 à 3% de la population.

Les plus fréquents sont les anti-Sda, anti-Vw et anti-WR1 (anti-Wra), qui sont actifs *in vitro*, mais ne sont pas responsables d'accidents hémolytiques, car ils ont un optimum thermique d'activité inférieur à 37°C. Il en est de même de la grande majorité des anti-P1, anti-MNS1 (anti-M) et anti-MNS2 (anti-N). Dans ce cas, le laboratoire peut indiquer la mention « sans intérêt transfusionnel ».

Les anticorps du système Lewis, anti-LE1 (anti-Le<sup>a</sup>), -LE2 (-Le<sup>b</sup>) et -Le<sup>x</sup>, sont présents chez près de 0,5% de la population. Tous ne sont pas susceptibles d'induire un accident hémolytique. Certains anticorps anti-Lewis actifs à 37°C sont dangereux [272, 273] et nécessitent une sélection phénotypique du sang à transfuser dès la première transfusion.

Enfin, certains anticorps du système RH sont naturels, en particulier anti-RH3 (anti-E) et beaucoup plus rarement anti-RH1 (anti-D). Là encore, ces anticorps doivent être pris en compte, car ils peuvent être responsables d'une hémolyse des globules rouges incompatibles transfusés [274].

---

<sup>5</sup> La nouvelle nomenclature des antigènes de groupes sanguins est utilisée dans ce texte ; l'ancienne nomenclature est mise entre parenthèses pour des raisons didactiques. La correspondance entre les deux nomenclatures se trouve en *Annexe*.

- *Anticorps immuns*

Les anticorps immuns apparaissent après stimulation. L'allo-immunisation concerne les patients transfusés, les femmes ayant eu des grossesses et les femmes enceintes. Ils concernent principalement les systèmes RH, KELL, Duffy, Kidd et MNS. Quelques mois ou années après leur apparition, et en l'absence de nouvelle stimulation allogénique, ces anticorps peuvent ne plus être décelables. Trois études permettent de documenter la non détection d'anticorps irréguliers au cours du temps [275-277] : entre 1 et 5 ans après leur première détection, 25% des anticorps ne sont plus détectés ; ce pourcentage passe à 39% entre 5 et 10 ans, et à 45% au-delà de 10 ans.

- *Antigènes publics et privés*

De très rares sujets dépourvus d'un antigène de grande fréquence, dit antigène « public » (par exemple phénotype Bombay, p, pK, etc.), sont porteurs d'anticorps naturels (ou anticorps « anti-publics ») dangereux (anti-H, anti-Tja, ...) et nécessitent impérativement des globules rouges du même groupe sanguin « public négatif » que le leur.

D'autres sujets dépourvus d'un antigène « public » (par exemple U négatif) ne possèdent pas d'anticorps naturel, mais peuvent développer des anticorps « anti-publics » immuns. Ils doivent également recevoir des globules rouges du même groupe sanguin « public négatif » que le leur. En pratique, ces CGR de groupes rares sont cryoconservés et leur attribution est du ressort du Centre National de Référence sur les Groupes Sanguins.

Les anticorps anti-privés sont dirigés contre des antigènes de très faible fréquence dans la population (antigènes « privés »). Certains sont rattachés à des systèmes de groupe sanguin connus, et d'autres n'appartiennent à aucun système identifié. Ils apparaissent essentiellement par stimulation fœto-maternelle.

#### *1.2.1.2. Anticorps d'intérêt transfusionnel : nature et fréquence*

Dans les études les plus anciennes, l'antigène RH1 (D) du système RH a le plus fort indice d'immunogénéicité : plus de 80% des patients RH : -1 (Rh D nég) recevant des globules rouges RH : 1 (Rh D pos) développent un anticorps anti-RH1 (anti-D) [278, 279], ce qui justifie la prise en compte systématique à titre préventif de cet antigène.

En dehors de RH1 (D), arrivent par ordre décroissant, KEL1 (K), RH3 (E), RH4 (c), FY1 (Fya) (système Duffy), JK1 (Jka) (système Kidd), MNS3 (S) (système MNSs), indépendamment du nombre des transfusions. Ces cinq systèmes sont concernés par plus de 70% des anticorps [275, 276, 280-283]. Les autres antigènes ont une incidence plus faible qui rend plus aléatoire la prévention de situations d'incompatibilité.

Walker [284] détermine l'incidence des allo-anticorps anti-érythrocytaires d'intérêt clinique entre 1970 et 1988 sur 321 200 patients. L'incidence globale est de 0,8%, avec par ordre de fréquence anti-RH1 (anti-D) (30%), -KEL1 (-K) (21%), -RH3 (-E) (15%), -RH1+RH2 (-D+C) (10%), -FY1 (-Fy<sup>a</sup>) (6%), -JK1 (-Jk<sup>a</sup>) (4%), -RH4 (-c) (4%), -RH2 (-C) (2%). L'étude la plus récente de Hoeltge [285] inclut, sur la période 1985-1993, 159 262 patients ; 6 996 anticorps sont détectés chez 4 700 patients (2,9%) et 60,5% des anticorps ainsi détectés ont une signification clinique. Par ordre de fréquence, il retrouve des anticorps anti-KEL1 (-K1) (23%), -RH3 (-E) (17,6%), -RH1 (-D) (12,4%), -LE1 (-Le<sup>a</sup>) (7,3%), -RH1+RH2 (-D+C) (6,3%), -FY1 (-Fy<sup>a</sup>) (5,7%), -RH4 (-c) (4,4%). Un seul anticorps est trouvé chez 69,3% des patients. Il existe une forte corrélation entre le nombre de transfusions et le nombre d'anticorps détectés.

La fréquence des anticorps anti-érythrocytes varie de 1,7 à 35% selon les populations de patients étudiées. Cependant peu d'études concernent la chirurgie. En transplantation hépatique, une analyse rétrospective (1981 - 1987) de 1 000 transplantations consécutives [276] a montré une fréquence des anticorps d'intérêt transfusionnel de 14% chez 496 adultes ayant des antécédents fréquents de transfusion : 6,3% étaient détectés avant transfusion et 7,5% supplémentaires après transfusion dans un délai de 1 à 5 semaines, malgré le traitement immunosuppresseur. En transplantation rénale, une fréquence de 9,5% (91 immunisés parmi 958 patients receveurs) a été rapportée [286]

avec 3,5% de mélanges d'anticorps de spécificité différente. En chirurgie cardiaque, l'incidence des anticorps post-transfusionnels était de 2% chez 530 suivis prospectivement [287], mais la durée de suivi est très courte (7 jours).

Les autres études disponibles concernent les patients de cancérologie [170], d'hématologie [288, 289], ayant des hémoglobinopathies [290], ainsi qu'une insuffisance rénale chronique [281].

### *1.2.1.3. Accidents hémolytiques immunologiques : fréquence et mortalité (hors incompatibilité ABO)*

Pineda [282] documente 23 cas d'hémolyse retardée (8,6/100 000 CGR transfusés) survenus à la Mayo Clinic entre 1964 et 1974, avec une mortalité de 13%. Quatre patients ont eu une oligurie et un patient une CIVD. Tous avaient des antécédents de transfusion ou de grossesse. Les anticorps anti-JK1 (anti-Jk<sup>a</sup>) représentaient un tiers des cas.

Juron-Dupraz [280] rapporte 150 cas (7,15/100 000 CGR transfusés) de conflits érythrocytaires dont le Centre de Transfusion de Lyon a eu connaissance en 24 ans (1955 - 1985) pour 2 098 045 unités de CGR et de sang total distribués. Trente-trois conflits sont dus à des anticorps irréguliers autres que anti-RH1 (anti-D) (1,6 cas pour 100 000 unités), leur fréquence augmentant avec le temps. Aucun décès n'a été recensé.

Ramsey [276], dans le cadre de la transplantation hépatique, retrouve une incidence d'hémolyse retardée faible, mais peu de patients restent évaluables et la cause de décès n'est pas précisée. Quatorze patients ont des allo-anticorps détectés par un bilan immuno-hématologique. Un seul patient a eu une hémolyse clinique due à des anticorps anti-JK1 (anti-Jk<sup>a</sup>).

Sazama [283] étudie 256 dossiers parmi les 355 décès post-transfusionnels déclarés à la FDA (Food and Drug Administration) sur une période de 9 ans (1976 - 1985). Un total de 100 millions de CGR ont été transfusés à 30 millions de patients. Parmi les décès survenus après transfusion, l'hémolyse aiguë représente la cause principale (51,2%), dans un contexte chirurgical pour 29% des cas ; l'hémolyse retardée représente 10% des décès. Les décès par hémolyse liée à des anticorps irréguliers représentent un total de 35 cas (13,7%) : 9 cas (3,5%) d'hémolyse aiguë (5 anti-KEL1 (anti-K), 1 anti-JK2 (anti-Jk<sup>b</sup>), 1 anti-FY1 (anti-Fy<sup>a</sup>) et 2 mélanges anti-JK1+JK2+JK3 (anti-Jk<sup>a</sup>+Jk<sup>b</sup>+Jk<sup>3</sup>), anti-RH3+KEL1+P1 (-E+K+P1)) et 26 décès attribuables à une hémolyse retardée liée à des anticorps isolés ou multiples (16 cas). Au total, des anticorps multiples étaient présents chez la moitié des patients décédés.

Dans l'étude de Ness [291] seulement 20% des patients transfusés ayant une réponse immune anamnestic et des anticorps d'intérêt clinique (0,66% des patients) développent une réaction hémolytique.

Pinkerton [292] observe en 8 ans 4 réactions hémolytiques retardées et 18 réactions sérologiques retardées parmi 10 146 patients transfusés avec 54 725 CGR ou sang total non phénotypés.

Le risque d'accidents mortels a été documenté essentiellement avant 1985, lorsque la sélection de CGR phénotypés n'était pas toujours réalisée. Le risque d'accident hémolytique par anticorps irrégulier est bien établi, mais sa fréquence et sa mortalité demandent à être réévaluées. Il existe en effet des biais et limites méthodologiques. Les données anglo-saxonnes ne sont pas directement transposables en France car les stratégies de surveillance immunologique des transfusions de CGR ne sont pas les mêmes. Les méthodes de détection des anticorps irréguliers ont considérablement évolué ainsi que la prise en charge des accidents. Les réactions hémolytiques retardées sont rarement fatales mais sont à l'origine d'une chute de la concentration en hémoglobine ([Hb]) qui pourrait nécessiter des transfusions supplémentaires.

Le Groupe de Travail Immuno-hématologie de la Société Française de Transfusion Sanguine a recensé 101 accidents et incidents post-transfusionnels notifiés entre le 1er octobre 1991 et le 17 novembre 1993 par 17 Centres de Transfusion ; 26 incompatibilités dues à des anticorps irréguliers ont été analysées dont 3 associées à un décès du receveur. Les causes principales comportaient l'absence de prise en compte ou la non prescription de la RAI.

Les données de l'hémovigilance en France de février 1994 à juin 1995 relèvent 26 accidents d'incompatibilité érythrocytaire en dehors du système ABO, qui sont dus à des anticorps dirigés contre les systèmes Duffy et Kidd dans 17 cas, et les systèmes RH et KELL dans 6 cas. On peut interpréter cette proportion réduite d'anticorps dirigés contre des antigènes des systèmes RH et KELL (moins de 25% des cas rapportés) comme la conséquence de l'emploi croissant en France au cours des dernières années de CGR phénotypés dans les deux systèmes RH et KELL.

#### *1.2.1.4. Facteurs favorisant l'alloimmunisation anti-érythrocytaire*

Le rôle des antécédents de grossesse et de transfusion est bien établi [275, 281, 282, 290, 292, 293]. Une étude rétrospective de l'immunisation au cours de 17 568 grossesses [45] a montré que la prévalence de production d'un nouvel anticorps ayant une incidence transfusionnelle était de 0,24% (IC 95% : 0,17 - 0,32). Les femmes [293] s'immunisent deux fois plus vite que les hommes, indépendamment du rôle de la grossesse.

La prévention de la majorité des maladies hémolytiques du nouveau-né induites par des transfusions antérieures de la mère repose sur le respect des phénotypes RH1 (Rh D) et KELL pour tous les receveurs de sexe féminin jusqu'à la ménopause. En effet, cette maladie résultait jusqu'à ces dernières années, dans plus de 95% des cas, d'une immunisation foëto-maternelle contre l'antigène RH1 (Rh D). Plus rarement étaient en cause les antigènes RH3, RH4, RH2 et RH5, KEL1 (anciennement E, c, C et e, K), exceptionnellement FY1, JK1, MNS3 (anciennement Fya, Jka, S). L'origine de ces immunisations est le plus souvent transfusionnelle pour les anticorps anti-RH4 (anti-c), anti-RH3 (anti-E), anti-KEL1 (anti-K), anti-FY1 (anti-Fy<sup>a</sup>) [294].

L'immunisation est plus fréquente dans certaines maladies en particulier au cours des cirrhoses [276, 293]. Elle est plus fréquente (22%) au cours des cirrhoses biliaires primitives (12%). Dans la drépanocytose [290], la fréquence atteint 34% chez l'adulte avec des réactions hémolytiques retardées cliniques de l'ordre de 11%. Les différences d'origine raciale entre donneur et receveur majorent le risque d'allo-immunisation multiple [290], ce qui peut bloquer toute possibilité d'effectuer une transfusion sanguine sans danger.

#### *1.2.1.5. Indications des CGR phénotypés*

Le règlement relatif aux bonnes pratiques de distribution des PSL [295] mentionne que l'utilisation de CGR phénotypés est indiquée chez :

- les patients ayant ou ayant eu des allo-anticorps anti-érythrocytaires, afin de prévenir les accidents hémolytiques transfusionnels ;
- les femmes, de la naissance jusqu'à la fin de la période procréatrice, pour lesquelles l'apparition d'un allo-anticorps anti-érythrocytaire représente un risque supplémentaire d'accident hémolytique foëto-maternel en cas de grossesse ;
- les patients susceptibles de recevoir des transfusions itératives.

L'utilisation de CGR phénotypés doit tenir compte des conditions de réalisation des transfusions, et notamment du niveau d'urgence.

Les CGR phénotypés RH et KELL sont :

- formellement indiqués chez :
  - les patients ayant ou ayant eu un (des) allo-anticorps anti-érythrocytaire(s) à l'exclusion de ceux jugés sans intérêt transfusionnel, afin de prévenir les accidents hémolytiques transfusionnels ;
  - les patients de sexe féminin, de la naissance jusqu'à la fin de la période procréatrice, afin de prévenir l'apparition d'allo-anticorps anti-érythrocytaires, qui représentent un risque supplémentaire d'accident hémolytique foëto-maternel en cas de grossesse.
- recommandés chez les patients atteints d'affections chroniques dont la survie prolongée est conditionnée par des transfusions itératives de CGR, afin de prévenir l'apparition d'allo-anticorps anti-érythrocytaires.
- souhaitables pour tout patient, quel que soit le sexe, ayant une espérance de vie raisonnable.

Ils ne sont pas indiqués chez les patients dont la RAI (Recherche d'Agglutinines Irrégulières) est négative et dont l'espérance de vie est faible.

Utilisation de CGR phénotypés et urgence vitale :

- En situation d'urgence vitale sans résultats valides disponibles et dans l'ignorance des besoins ultérieurs, il est recommandé de réaliser le phénotype RH et KELL du patient et d'utiliser des CGR phénotypés en attendant le résultat de la RAI, qui conditionnera la conduite ultérieure.
- En situation d'urgence vitale immédiate sans résultats valides disponibles et en contexte obstétrical, il est recommandé de distribuer immédiatement des CGR de groupe O RH :-1, KEL :-1 (anciennement O Rh D nég KELL nég).
- En situation d'urgence vitale immédiate avec des résultats disponibles de groupe sanguin RH1 (Rh D) et en contexte obstétrical, il est recommandé de distribuer immédiatement des CGR de groupe KEL :-1 (KELL nég) dans tous les cas, et RH :-1 (Rh D nég) si le phénotype de la patiente est RH :-1 (Rh D nég) ou RH : 1 (Rh D pos) (RH :-3,-4 (anciennement E-, c-)) si le phénotype de la patiente est RH : 1 (Rh D pos).

Indications des CGR de phénotype étendu :

- La décision de respecter le phénotype étendu à un ou plusieurs antigènes de groupe sanguin autre que ABO, RH et KELL est fonction de la nature des anticorps, détectés chez les patients immunisés. Il est souhaitable dans ce cas de respecter également les phénotypes RH et KELL à titre préventif.
- Le respect du phénotype étendu, en particulier aux antigènes FY1 (Fy<sup>a</sup>), JK1 (Jk<sup>a</sup>) et S (MNS3), peut éventuellement être proposé à titre préventif chez les patients dépendants à long terme de transfusions de CGR, en particulier les patients drépanocytaires et les thalassémiques.

### 1.2.2. Compatibilité

L'épreuve directe de compatibilité (EDC) au laboratoire de CGR phénotypés RH-KELL doit obligatoirement être effectuée pour tout patient à transfuser présentant, ou ayant présenté, ou suspecté de présenter un ou plusieurs allo-anticorps anti-érythrocytaires.

Cette disposition, qui figure dans le règlement relatif aux bonnes pratiques de distribution des PSL [295], est justifiée par la fréquente difficulté d'être certain, lors de la RAI, que l'anticorps présent n'en masque pas un autre, et, par le fait,

que le risque d'apparition d'un allo-anticorps supplémentaire n'est pas négligeable. Le délai maximal de validité d'une EDC au laboratoire est de 3 jours. Il doit être logiquement ramené à 1 jour en cas de transfusion récente.

A côté de cette indication indiscutable, la réalisation de l'EDC au laboratoire en plus de la RAI relève de choix d'organisation du travail et de protocoles à élaborer par concertation entre les médecins prescripteurs et le site transfusionnel correspondant.

Les CGR « compatibles » doivent porter les mentions suivantes [296] :

- identité du receveur : nom patronymique, nom marital, prénom, date de naissance ;
- date de réalisation de l'EDC ;
- durée de validité de l'EDC.

### 1.2.3. Qualification « CMV Négatif »

La qualification CMV négatif s'applique aux PSL cellulaires homologues à usage thérapeutique provenant de donneurs chez lesquels la recherche d'anticorps dirigés contre le CMV est négative au moment du prélèvement. Le but de cette qualification est de prévenir l'infection par le CMV et en particulier la primo-infection, et de réduire la morbidité et la mortalité de l'infection par le CMV dans les groupes à risque.

Une analyse actualisée de la prévention des infections à CMV chez les patients à risque par cette qualification et par la déleucocytation des produits sanguins labiles cellulaires figure dans le chapitre 1.1.3.2.

### 1.3. PROPRIETES DES PRODUITS ERYTHROCYTAIRES EN FONCTION DE LEUR DUREE DE CONSERVATION (SANG « FRAIS », SANG « CONSERVE »)

Plusieurs revues de la littérature ont récemment fait le point sur les modifications biochimiques et cellulaires que subissent les globules rouges (GR) durant leur stockage [297-299]. Les modifications associent une diminution de la concentration d'adénosine triphosphate (ATP) et de 2,3-DPG, une vésiculation de la membrane cellulaire [300-302] avec peroxydation lipidique [303] et perte de déformabilité [298, 304, 305].

La diminution de la concentration de 2,3-DPG est très bien décrite et est un des éléments les mieux répertoriés du vieillissement des globules rouges. Cependant, sa conséquence clinique reste débattue. Il a été démontré à plusieurs reprises chez l'homme et chez le primate qu'après transfusion de CGR appauvris en DPG, la valeur de la P50 diminue significativement (témoignant de l'augmentation de l'affinité de l'hémoglobine pour l'O<sub>2</sub>) puis retrouve sa valeur initiale entre 24 heures et plusieurs jours [306, 307]. Les conséquences de la transfusion de globules rouges vieillissants sur la délivrance en O<sub>2</sub> n'ont pas été étudiées correctement, quoique plusieurs auteurs se soient prononcés sur l'intérêt de transfuser des globules rouges non vieillissants, en particulier chez les patients transfusés massivement. Dans ces circonstances, il a en effet été avancé que la transfusion de grandes quantités de sang pauvre en 2,3-DPG pourrait avoir des conséquences fâcheuses sur un équilibre apport-consommation en O<sub>2</sub> précaire [308-311].

Durant le stockage des globules rouges, il existe une diminution progressive du pH, une augmentation de la concentration en potassium plasmatique et une libération d'hémoglobine libre à partir des globules rouges lysés [312]. Les conséquences cliniques immédiates induites par la transfusion de ces produits de stockage sont probablement limitées (excepté chez les nouveau-nés) dans la mesure où les receveurs sont capables de tamponner, diluer ou supprimer les produits de dégradation des globules rouges lysés. Cependant, les effets à long terme ne sont pas connus. Il faut également noter la présence, dans le milieu de conservation des globules rouges,

d'une production de cytokines [32] et d'autres substances bioactives [313], incluant l'histamine, le complément [314, 315], et des dérivés phospholipidiques [316]. Les conséquences cliniques de ces substances lors de la transfusion restent incertaines, mais pourraient avoir des effets indésirables chez les patients en état critique, en particulier en réanimation ou dans le contexte d'une chirurgie très hémorragique ou au cours de polytraumatisme.

La diminution de la capacité des globules rouges vieillissants à améliorer l'oxygénation tissulaire dans un modèle d'hémorragie chez l'animal a été observée dans plusieurs études [317, 318]. Les effets de la transfusion sont appréciés au cours d'une hémodilution isovolémique atteignant une valeur critique d'hémoglobémie s'accompagnant d'une dépendance de la consommation en O<sub>2</sub> à l'égard du transport de l'O<sub>2</sub> (situation qualifiée de « dysoxie » tissulaire ou d'anaérobiose marquée par une acidose cellulaire avec production de lactate). A ce niveau d'hémodilution, « vieux » et « jeunes » globules rouges peuvent être comparés en termes d'oxygénation tissulaire sur des éléments objectifs de consommation en O<sub>2</sub> et de lactatémie. Avec ce modèle, il a été démontré que la transfusion de globules rouges vieillissants (conservés pendant 28 jours) s'accompagne d'une altération de l'oxygénation tissulaire, ce qui n'est pas observé avec des globules rouges ayant moins de 5 jours de conservation [318]. D'autres observations ont montré que même une période de stockage courte (5 à 7 jours) peut s'accompagner d'une diminution de l'efficacité de la délivrance en O<sub>2</sub> par les globules rouges quand on la compare à celle de globules rouges de moins de 24 heures [319].

Ces études animales démontrent le caractère éventuellement limité de la transfusion à satisfaire l'objectif thérapeutique principal d'augmentation du transport en O<sub>2</sub>. Les études cliniques testant cette hypothèse n'ont cependant pas permis de réponse définitive. Quatorze études ont ainsi mesuré transport et consommation d'O<sub>2</sub> avant et après transfusion homologue. Dans seulement cinq études, une élévation de la consommation d'O<sub>2</sub> a pu être observée, ce qui peut témoigner d'une transfusion inefficace en raison d'un seuil de « dysoxie » non atteint chez les patients transfusés (amenant donc à discuter le bien-fondé de la décision de transfusion), ou d'une inefficacité des globules rouges à délivrer l'O<sub>2</sub> vers les tissus [320, 321]. L'importance du vieillissement des globules rouges dans ce contexte n'a pas été précisée. On peut cependant citer une étude qui a montré que la transfusion de globules rouges stockés de plus de 15 jours s'accompagne d'une altération de la perfusion tissulaire au niveau de la muqueuse gastro-intestinale [322].

Trois études ont également évalué rétrospectivement l'association entre l'âge du sang transfusé et la durée du séjour en soins intensifs [323] ou entre l'âge du sang transfusé et la mortalité [324] et la morbidité [325]. Martin *et al.* [323] ont mis en évidence une association statistiquement significative entre la transfusion de globules rouges de plus de 14 jours et la durée de séjour en soins intensifs ( $p = 0,003$ ) chez 698 patients de réanimation. Chez les patients transfusés, l'administration de globules rouges vieillissants était le seul facteur prédictif d'allongement de la durée de séjour ( $p < 0,0001$ ). Chez les survivants, seule la médiane de l'âge des globules rouges était prédictive de la durée de séjour ( $p < 0,0001$ ). Purdy *et al.* [324] étudiant 31 patients de réanimation avec un sepsis sévère ou un choc septique ont mis en évidence une corrélation négative ( $r = -0,73$ ) entre le nombre de globules rouges vieillissants et l'âge des globules rouges, indiquant que plus les globules rouges étaient vieillissants, plus le nombre de globules rouges transfusés était grand. Par ailleurs, ces auteurs ont montré que l'âge moyen des globules rouges était le seul paramètre différent entre survivants et non survivants au sepsis grave (âge, sexe, nombre de jours en réanimation, durée du sepsis, existence ou non d'un choc, score de gravité n'étaient pas différents). Enfin, une étude publiée récemment, évaluant l'influence de la durée de conservation des globules rouges sur l'émergence d'une pneumopathie post-opératoire après chirurgie cardiaque avec circulation extracorporelle, a démontré une augmentation du risque de pneumopathie avec l'augmentation de la durée de conservation des globules rouges ( $p < 0,005$ ) chez les patients transfusés [325].



## ANNEXE

### NOMENCLATURE DES ANTIGENES DE GROUPES SANGUINS

Pour l'appellation du phénotype, le symbole du système de groupe sanguin est suivi par deux points et les nombres représentant les spécificités sont séparés par des virgules. Un résultat positif n'est pas indiqué, un résultat négatif est indiqué en faisant précéder le nombre du signe moins. Il n'y a pas d'espace entre chaque nombre. Par exemple :

- Le phénotype Rh D+C+E-c+e+, Cw- est écrit RH : 1,2,-3,4,5,-8.
- Le phénotype KELL K-k+, Kp(a+b-) est écrit KEL : -1,2,3,-4.

Pour l'usage écrit et verbal de désignation de l'antigène, le numéro du système de groupe sanguin et le zéro placés à gauche du numéro de l'antigène peuvent être supprimés et il n'y a pas d'espace entre le symbole du système et le numéro. Par exemple RH1, RH46, KEL3.

La désignation des spécificités d'un anticorps inclut le mot « anti » suivi d'un tiret, le symbole alphabétique du système et le numéro de l'antigène sans espace entre chaque signe. Par exemple anti-E est écrit anti-RH3.

Pour les symboles des gènes et haplotypes, les caractères sont en italiques. Lorsque l'italique ne peut pas être utilisé, le symbole du système de groupe sanguin doit être souligné. Par exemple *R1/R1*, *DCe/DCe* (R1/R1, DCe/DCe) deviennent *RH : 1,2,5/1,2,5* (RH : 1,2,5/1,2,5).

Correspondance des nomenclatures	
<b>Antigènes du système Rhésus</b>	
D	RH1
C	RH2
E	RH3
c	RH4
e	RH5
<b>Antigènes du système KELL</b>	
K	KEL1
k	KEL2
<b>Antigènes du système Duffy</b>	
Fy <sup>a</sup>	FY1
Fy <sup>b</sup>	FY2
<b>Antigènes du système Kidd</b>	
Jk <sup>a</sup>	JK1
Jk <sup>b</sup>	JK2
<b>Antigènes du système MNS</b>	
M	MNS1
N	MNS2
S	MNS3
s	MNS4
<b>Antigènes du système P</b>	
P1	P1

Antigènes du système Lewis	
Le <sup>a</sup>	LE1
Le <sup>b</sup>	LE2

## BIBLIOGRAPHIE

- 2- Holme S, Dean Elfath M, Whitley P. Evaluation of in vivo and *in vitro* quality of apheresis collected RBC stored for 42 days. *Vox Sang* 1998 ; 75 : 212-7.
- 3- Shi PA, Ness PM. Two-unit red cell apheresis and its potential advantages over traditional whole-blood donation. *Transfusion* 1999 ; 39 : 218-25.
- 4- Politis C, Katsea P, Fragatou S, Gigantes ST. Double erythroapheresis improves quality and safety of blood for multi-transfused patients with thalassaemia. *Transfus Clin Biol* 2001 ; 8 Suppl 1 : S20-004, 33s.
- 5- Ministère des Affaires Sociales, de la Santé et de la Ville. Arrêté du 5 avril 1994 portant homologation du règlement de l'Agence française du sang relatif aux caractéristiques de certains produits sanguins labiles et modifiant l'arrêté du 15 novembre 1993 portant homologation du règlement de l'Agence française du sang relatif aux caractéristiques de certains produits sanguins labiles et pris en application de l'article L. 666-8 du code de la santé publique. *Journal Officiel* 1994 ; 8 mai : 6733-41.
- 6- Simon ER. Red cell preservation. Further studies with adenine. *Blood* 1962 ; 20 : 485.
- 7- Kreuger A, Akerblom O, Högman CF. A clinical evaluation of citrate-phosphate-dextrose-adenine blood. *Vox Sang* 1975 ; 29 : 81-9.
- 8- Högman CF, Hedlund K, Zetterstrom H. Clinical usefulness of red cells preserved in protein-poor mediums. *N Engl J Med* 1978 ; 299 : 1377-82.
- 9- Högman CF, Hedlund K, Akerblom O, Venge P. Red blood cell preservation in protein-poor media. I. Leukocyte enzymes as a cause of hemolysis. *Transfusion* 1978 ; 18 : 233-41.
- 10- Beutler E, West C. The storage of hard-packed red blood cells in citrate-phosphate-dextrose (CPD) and CPD-adenine (CPDA-1). *Blood* 1979 ; 54 : 280-4.
- 11- Högman CF, Akerblom O, Hedlund K, Rosen I, Wiklund L. Red cell suspensions in SAGM medium. *Vox Sang* 1983 ; 45 : 217-23.
- 12- Akerblom O, De Verdier CH, Finnson M, Garby L, Högman CF, Johansson SGO. Further studies on the effect of adenine in blood preservation. *Transfusion* 1967 ; 7 : 1-9.
- 13- Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Direction de la Prospective et de l'Information Médicale, Délégation Evaluation Médicale. Evaluation de la transfusion de produits sanguins labiles chez le nouveau-né en Ile-de-France. Paris : AP-HP ; 1995.
- 14- Anderson KC. Current trends: evolving concepts in transfusion medicine. Who should receive leukodepleted blood components? *Transfus Sci* 1992 ; 13 : 107-9.
- 15- Masse M, Andreu G, Angue M, Babault C, Beaujean F, Bidet ML, Boudart D, Calot JP, Cotte C, Follea G *et al.*

A multicenter study on the efficiency of white cell reduction by filtration of red cells.

Transfusion 1991 ; 31 : 792-7.

16- Kapadia F, Valentine S, Smith G. The role of blood microfilters in clinical practice.

Intensive Care Med 1992 ; 18 : 258-63.

17- Andreu G, Masse M, Royer SD, Tardivel R. Leukodepleted blood components: definition of a standard.

Transfus Sci 1998 ; 19 : 381-3.

18- Masse M. Contrôles de performance de la filtration.

Rev Fr Transf Hémobiol 1993 ; 36 : 243-52.

19- Chabanel A, Andreu G, Carrat F, Hervé P. Quality control of leucoreduced cellular blood components in France.

Vox Sang 2002 ; 82 : 67-71.

20- Lane TA. Leukocyte reduction of cellular blood components. Effectiveness, benefits, quality control, and costs.

Arch Pathol Lab Med 1994 ; 118 : 392-404.

21- Brun-Vézinet F, Goujard J, Hervé P. Rapport du comité du suivi de la sécurité transfusionnelle : années 1994/1995.

Paris : Comité du Suivi de la Sécurité Transfusionnelle 1996 : 65P.

22- Ministère des Affaires Sociales, de la Santé et de la Ville. Arrêté du 30 mars 1998 portant homologation du règlement de l'Agence française du sang relatif à la liste des produits sanguins labiles et pris en application de l'article L. 666-8 du code de la santé publique et modifiant l'arrêté du 5 avril 1994 modifié portant homologation du règlement de l'Agence française du sang relatif aux caractéristiques de certains produits sanguins labiles.

Journal Officiel 1998 ; 5 avril : 5331-3.

23- Arend P, Malchow H. Antigenic alteration of red cell surfaces exposed to enzymatic actions of autologous polymorphonuclear leukocytes. Leukocyte-induced antigenic alteration.

Vox Sang 1974 ; 26 : 344-60.

24- Hertfelder HJ, Süwer V, Popov-Cenić S, Tscheche H, Hanfland P. Leukocyte proteinase release during storage of red cell concentrate.

Eur J Clin Chem Clin Biochem 1994 ; 32 : 441-7.

25- De Angelis V, De Matteis MC, Orazi BM, Santarossa L, Della Toffola L, Raineri A, Vettore L. Erythrocyte endogenous proteinase activity during blood bank storage.

Vox Sang 1990 ; 59 : 73-7.

26- Nielsen HJ, Hammer JH, Krarup AL, Nielsen LM, Reimert CM, Pedersen AN, Dybkjaer E, Partoft S, Alsbjorn B. Prestorage leukocyte filtration may reduce leukocyte-derived bioactive substance accumulation in patients operated for burn trauma.

Burns 1999 ; 25 : 162-70.

27- Pietersz RN, Reesink HW, De Korte D, Dekker WJA, Van Den Ende A, Loos JA. Storage of leukocyte-poor red cell concentrates: filtration in a closed system using a sterile connection device.

Vox Sang 1989 ; 57 : 29-36.

28- Angué M, Chatelain P, Fiabane S, Domy M, Guignier F, Richaud P. Pratique transfusionnelle. Viabilité des globules rouges humains conservés pendant 35 jours après déplétion en leucocytes (étude *in vitro*).

Rev Fr Transfus Hématol 1989 ; 32 : 27-36.

- 29- Riedner C, Heim MU, Mempel W, Wilmanns W. Possibility to improve preservation of whole blood by leukocyte-depletion before storage.  
Vox Sang 1990 ; 59 : 78-82.
- 30- Davey RJ, Carmen RA, Simon TL, Nelson EJ, Leng BS, Chong C, Garcez RB, Sohmer PR. Preparation of white cell-depleted red cells for 42-day storage using an integral in-line filter.  
Transfusion 1989 ; 29 : 496-9.
- 31- Aye MT, Palmer DS, Giulivi A, Hashemi S. Effect of filtration of platelet concentrates on the accumulation of cytokines and platelet release factors during storage.  
Transfusion 1995 ; 35 : 117-24.
- 32- Muylle L, Peetermans ME. Effect of prestorage leukocyte removal on the cytokine levels in stored platelet concentrates.  
Vox Sang 1994 ; 66 : 14-7.
- 33- Stack G, Snyder EL. Cytokine generation in stored platelet concentrates.  
Transfusion 1994 ; 34 : 20-5.
- 34- Stack G, Baril L, Napychank P, Snyder EL. Cytokine generation in stored, white cell-reduced, and bacterially contaminated units of red cells.  
Transfusion 1995 ; 35 : 199-203.
- 35- Shimizu T, Uchigiri C, Mizuno S, Kamiya T, Kokubo Y. Adsorption of anaphylatoxins and platelet-specific proteins by filtration of platelet concentrates with a polyester leukocyte reduction filter.  
Vox Sang 1994 ; 66 : 161-5.
- 36- Heaton WAL, Holme S, Smith K, Brecher ME, Pineda A, AuBuchon JP, Nelson E. Effects of 3-5 log<sub>10</sub> pre-storage leukocyte depletion on red cell storage and metabolism.  
Br J Haematol. 1994 ; 87 : 363-8.
- 37- Högman CF, Meryman HT. Storage parameters affecting red blood cell survival and function after storage.  
Transfus Med Rev 1999 ; 13 : 275-96.
- 38- Dausset J. Leuco-agglutinins. IV. Leuco-agglutinins and blood transfusion.  
Vox Sang 1954 ; 4: 190-8.
- 39- Brittingham TE, Chaplin H. Febrile transfusion reactions caused by sensitivity to donor leukocytes and platelets.  
JAMA 1957 ; 165 : 819-25.
- 40- Payne R. The association of febrile transfusion reactions with leuco-agglutinins.  
Vox Sang 1957 ; 2 : 233-41.
- 41- Brittingham TE, Chaplin H. The antigenicity of normal and leukemic human leukocytes.  
J Hematol 1961 ; 17 : 139-65.
- 42- Perkins HA, Payne R, Ferguson J, Wood M. Nonhemolytic febrile transfusion reactions. Quantitative effects of blood components with emphasis on isoantigenic incompatibility of leukocytes.  
Vox Sang 1966 ; 11 : 578-600.
- 43- Muylle L, Wouters E, De Bock R, Peetermans ME. Reactions to platelet transfusion: the effect of the storage time of the concentrate.

Transfus Med 1992 ; 2 : 289-93.

44- Muylle L, Joos M, Wouters E, De Bock R, Peetermans ME. Increased tumor necrosis factor alpha (TNF alpha), interleukin 1, and interleukin 6 (IL-6) levels in the plasma of stored platelet concentrates: relationship between TNF alpha and IL-6 levels and febrile transfusion reactions.

Transfusion 1993 ; 33 : 195-9.

45- Heddle NM, Klama LN, Griffith L, Roberts R, Shukla G, Kelton JG. A prospective study to identify the risk factors associated with acute reactions to platelet and red cell transfusions.

Transfusion 1993 ; 33 : 794-7.

46- Heddle NM, Klama L, Singer J, Richards C, Fedak P, Walker I, Kelton JG. The role of the plasma from platelet concentrates in transfusion reactions.

N Engl J Med 1994 ; 331 : 625-8.

47- Wadhwa M, Seghatchian MJ, Dilger P, Contreras M, Thorpe R. Cytokine accumulation in stored red cell concentrates: effect of buffy-coat removal and leucoreduction.

Transfus Sci 2000 ; 23 : 7-16.

48- Lieden G, Hilden JO. Febrile transfusion reactions reduced by use of buffy-coat-poor erythrocyte concentrates.

Vox Sang 1982 ; 43 : 263-5.

49- Williamson LM, Wimperis JZ, Williamson P, Copplestone JA, Gooi HC, Morgenstern GR, Norfolk DR. Bedside filtration of blood products in the prevention of HLA alloimmunization. A prospective randomized study.

Blood 1994 ; 83 : 3028-35.

50- Sirchia G, Rebulli P, Parravicini A. Leukocyte depletion of red cells.

Curr Stud Hematol Blood Transf 1994 ; 60 : 6-17.

51- Dzieczkowski JS, Barrett BB, Nester D, Campbell M, Cook J, Sugrue M, Andersen JW, Anderson KC. Characterization of reactions after exclusive transfusion of white cell-reduced cellular blood components.

Transfusion 1995 ; 35 : 20-5.

52- Rennie I, Rawlinson PS, Clark P. Universal leukodepletion of blood and febrile transfusion reactions.

Transfus Med 2001 ; 11 : 115.

53- Emery VC, Cope AV, Bowen EF, Gor D, Griffiths PD. The dynamics of human cytomegalovirus replication in vivo.

J Exp Med 1999 ; 190 : 177-82.

54- Dumont LJ, Luka J, VandenBroeke T, Witley P, Ambruso DR, Elfath MD. The effect of leukocyte-reduction method on the amount of human cytomegalovirus in blood products: a comparison of apheresis and filtration methods.

Blood 2001 ; 97 : 3640-7.

55- Hahn G, Jores R, Mocarski ES. Cytomegalovirus remains latent in a common precursor of dendritic and myeloid cells.

Proc Natl Acad Sci U S A 1998 ; 95 : 3937-42.

56- Larsson S, Söderberg-Nauclér C, Wang FZ, Möller E. Cytomegalovirus DNA can be detected in peripheral blood mononuclear cells from all seropositive and most seronegative health donors over time.

Transfusion 1998 ; 38 : 271-8.

- 57- Taylor-Wiedeman J, Sissons JG, Borysiewicz LK, Sinclair JH. Monocytes are a major site of persistence of cytomegalovirus in peripheral blood mononuclear cells.  
J Gen Virol 1991 ; 72 : 2059-64.
- 58- Taylor-Wiedeman J, Hayhurst GP, Sissons JG, Sinclair JH. Polymorphonuclear cells are not a site of persistence of human cytomegalovirus in healthy individuals.  
J Gen Virol 1993 ; 74 : 265-8.
- 59- Waldman WJ, Knight DA, Huang EH, Sedmak DD. Bidirectional transmission of infectious cytomegalovirus between monocytes and vascular endothelial cells: an *in vitro* model.  
J Infect Dis 1995 ; 171 : 263-72.
- 60- Zanghellini F, Boppana SB, Emery VC, Griffiths PD, Pass RF. Asymptomatic primary cytomegalovirus infection: virologic and immunologic features.  
J Infect Dis 1999 ; 180 : 702-7.
- 61- Preiksaitis JK, Brown L, McKenzie M. Transfusion-acquired cytomegalovirus infection in neonates: a prospective study.  
Transfusion 1988 ; 28 : 205-9.
- 62- Stagno S, Reynolds D, Tsiantos A. Comparative serial virologic and serologic studies of symptomatic and subclinical congenitally and natively acquired cytomegalovirus infection.  
J Infect Dis 1975 ; 132 : 568-77.
- 63- Dummer JS, White LT, Ho M, Griffith BP, Hardesty RL, Bahnson HT. Morbidity of cytomegalovirus infection in recipients of heart or heart-lung transplants who received cyclosporine.  
J Infect Dis 1985 ; 152 : 1182-91.
- 64- Preiksaitis JK, Rosno S, Grumet C, Merigan TC. Infections due to herpes viruses in cardiac transplant recipients: role of donor heart and immunosuppressive therapy.  
J Infect Dis 1983 ; 147 : 974-81.
- 65- Revello MG, Zavattoni M, Sarasini A, Percivalle E, Simoncini L, Gerna G. Human cytomegalovirus in blood of immunocompetent persons during primary infection: prognostic implications for pregnancy.  
J. Infect Dis. 1998 ; 177 : 1170-5.
- 66- Ljungman P, Plotkin S. Proceedings of the 5<sup>th</sup> international cytomegalovirus conference, Stockholm, Suède, 21-24 mai 1995.  
Scand J Infect Dis 1995 ; Suppl 99 : 1-120.
- 67- Kreef I, Zaroff LI, Canter JW, Krasna I, Baronofsky ID. A syndrome following total body perfusion.  
Surg Gynecol Obstet 1960 ; 11 : 317-21.
- 68- Klemola E, Kääriäinen L. Cytomegalovirus as a possible cause of a disease resembling infectious mononucleosis.  
Br Med J 1965 ; 2 : 1099-102.
- 69- Kääriäinen L, Paloheimo J, Klemola E, Mäkelä T, Koivuniemi A. Cytomegalovirus mononucleosis isolation of the virus and demonstration of subclinical infections after fresh blood transfusion in connection with open-heart surgery.  
Ann Med Exp Biol Fenn 1966 ; 44 : 297-301.
- 70- Kääriäinen L, Klemola E, Paloheimo J. Rise of cytomegalovirus antibodies in an infectious-mononucleosis-like syndrome after transfusions.  
Br Med J 1966 ; 1 : 1270-2.

- 71- Paloheimo JA, Von Essen R, Klemola E, Kääriäinen L, Siltanen P. Subclinical cytomegalovirus infection and cytomegalovirus mononucleosis after open heart surgery.  
*Amer J Cardiol* 1968 ; 22 : 624-30.
- 72- Caul EO, Clarke SKR, Mott MG, Perham TGM, Wilson RSE. Cytomegalovirus infections after open heart surgery. A prospective study.  
*Lancet* 1971 ; 1 : 777-81.
- 73- Calamy G. Etude de 53 cas de syndromes mononucléosiques post-transfusionnels (avec description de quelques cas de septicémie associée).  
Thèse de Doctorat en Médecine, Paris, 1969.
- 74- Chou S, Kim DY, Norman DJ. Transmission of cytomegalovirus by pretransplant leukocyte transfusions in renal transplant candidates.  
*J Infect Dis* 1987 ; 195 : 565-7.
- 75- Preiksaitis JK, Brown L, McKenzie M. The risk of cytomegalovirus infection in seronegative transfusion recipients not receiving exogenous immunosuppression.  
*J Infect Dis* 1988 ; 157 : 523-9.
- 76- Wilhelm JA, Matter L, Schopfer K. The risk of transmitting cytomegalovirus to patients receiving blood transfusions.  
*J Infect Dis* 1986 ; 154 : 169-71.
- 77- Andreu G, Marinier AM, Fretz C, Emile JF, Bierling P, Brossard Y, Girard M, Gluckman E, Huart JJ, Janot C, Maniez-Montreuil M, Mazon MC, Pérol Y. Infections à cytomegalovirus post-transfusionnelles : incidence et méthodes de prévention.  
*Rev Fr Transfus Hemobiol* 1991 ; 34 : 213-32.
- 78- Preiksaitis JK. Indications for the use of cytomegalovirus-seronegative blood products.  
*Transfus Med Rev* 1991 ; 5 : 1-17.
- 79- Kumar A, Nankervis GA, Cooper AR, Gold E, Kumar ML. Acquisition of cytomegalovirus infection in infants following exchange transfusion: a prospective study.  
*Transfusion* 1980 ; 20 : 237-331.
- 80- Luthardt T, Siebert H, Lösel I, Quevedo M, Todt R. Cytomegalievirus-Infektionen bei Kindern mit Blutaustauschtransfusion im Neugeborenenalter.  
*Klin Wschr* 1971 ; 49 : 81-6.
- 81- Yeager AS, Grumet FC, Haffleigh EB, Arvin AM, Bradley JS, Prober CG. Prevention of transfusion-acquired cytomegalovirus infections in newborn infants.  
*J Pediatr* 1981 ; 98 : 281-7.
- 82- Adler SP, Chandrika T, Lawrence L, Baggett J. Cytomegalovirus infections in neonates acquired by blood transfusions.  
*Pediatr Infect Dis J* 1983 ; 2 : 114-8.
- 83- Rawls WE, Wong CL, Blajchman M, Venturelli J, Watts J, Chernesky M, Saigal S. Neonatal cytomegalovirus infections: the relative role of neonatal blood transfusion and maternal exposure.  
*Clin Invest Med* 1984 ; 7 : 13-19.



- 84- Simon TL, Johnson JD, Koffler H, Aldrich MT, Angelus PA, Werner S, James CG, McLaren LC, Scaletti JV, Steece R, Skells M. Impact of previously frozen deglycerolized red blood cells on cytomegalovirus transmission to newborn infants. *Plasma Ther Transfus Technol* 1987 ; 8 : 51-6.
- 85- Taylor BJ, Jacobs RF, Baker RL, Moses EB, McSwain BE, Shulman G. Frozen deglycerolyzed blood prevents transfusion-acquired cytomegalovirus infections in neonates. *Pediatr Infect Dis* 1986 ; 5 : 188-91.
- 86- Lamberson HV Jr, McMillian JA, Weiner LB, Williams ML, Clark DA, McMahon CA, Lentz EB, Higgins AP, Dock NL. Prevention of transfusion-associated cytomegalovirus (CMV) infection in neonates by screening blood donors for IgM to CMV. *J Infect Dis* 1988 ; 157 : 820-3.
- 87- Griffin MP, O'Shea M, Brazy JE, Koepke J, Klein D, Malloy C, Wilfert CM. Cytomegalovirus infection in a neonatal intensive care unit. *Am J Dis Child* 1988 ; 142 : 1188-93.
- 88- Gilbert GL, Hayes K, Hudson IL, James J. Prevention of transfusion-acquired cytomegalovirus infection in infants by blood filtration to remove leucocytes. Neonatal Cytomegalovirus Infection Study Group. *Lancet* 1989 ; 1 : 1228-31.
- 89- Galea G, Urbaniak SJ. The incidence and consequences of cytomegalovirus transmission via blood transfusion to low birth weight, premature infants in North East Scotland. *Vox Sang* 1992 ; 62 : 200-7.
- 90- Gluckman E, Vilmer E, Devergie A, Mazon MC, Perol Y. Aspects cliniques de l'infection à cytomégalovirus après greffe de moelle osseuse allogénique. *Rev Fr Transf et Immuno-hématol* 1984 ; 27 : 337-44.
- 91- Bowden RA, Sayers M, Flournoy N, Newton B, Banaji M, Thomas ED, Meyers JD. Cytomegalovirus immunoglobulin and seronegative blood products to prevent primary cytomegalovirus infection after marrow transplantation. *N Engl J Med* 1986; 314 : 1006-10.
- 92- Bowden RA, Sayers MH, Gleaves CA, Banaji M, Newton B, Meyers JD. Cytomegalovirus-seronegative blood components for the prevention of primary cytomegalovirus infection after marrow transplantation. *Transfusion* 1987 ; 27 : 478-81.
- 93- Bowden RA, Slichter SJ, Sayers MH, Mori M, Cays MJ, Meyers JD. Use of leukocyte-depleted platelets and cytomegalovirus-seronegative red blood cells for prevention of primary cytomegalovirus infection after marrow transplant. *Blood* 1991 ; 78 : 246-50.
- 94- Miller WJ, McCullough J, Balfour HH Jr, Haake RJ, Ramsay NK, Goldman A, Bowman R, Kersey J. Prevention of cytomegalovirus infection following bone marrow transplantation : a randomized trial of blood product screening. *Bone Marrow Transplant* 1991 ; 7 : 227-34.
- 95- Bowden RA, Slichter SJ, Sayers MH, Weisdorf D, Cays MJ, Schoch G, Banaji M, Haake R, Welk K, Fischer L, McCullough J, Miller W. A comparison of filtered leukocyte-reduced and cytomegalovirus (CMV) seronegative blood products for the prevention of transfusion-associated CMV infection after marrow transplant. *Blood* 1995 ; 86 : 3598-603.

96- Verdonck LF, De Graan-Hentzen YCE, Dekker AW, Mudde GC, De Gast GC. Cytomegalovirus, seronegative platelets and leukocyte-poor red blood cells from random donors can prevent primary cytomegalovirus infection after bone marrow transplantation.

Bone Marrow Transplant 1987 ; 2 : 73-8.

97- De Witte T, Schattenberg A, Van Dijk BA, Galama J, Olthuis H, Van Der Meer JW, Kunst VA. Prevention of primary cytomegalovirus-unscreened blood-bank donors.

Transplantation 1990 ; 50 : 964-8.

98- Bacigalupo A, Tedone E, Sanna MA, Moro F, Van Lint MT, Grazi G, Balestreri M, Frassoni F, Occhini D, Gualandi F, Lamparelli T, Tong J, Figari O, Piaggio G, Marmont AM. CMV infections following allogeneic BMT : risk factors, early treatment and correlation with transplant related mortality.

Haematologica 1992 ; 77 : 507-13.

99- Van Prooijen HC, Visser JJ, Van Oostendorp WR, De Gast GC, Verdonck LF. Prevention of primary transfusion-associated cytomegalovirus infection in bone marrow transplant recipients by the removal of white cells from blood components with high-affinity filters.

Br J Haematol 1994 ; 87 : 144-7.

100- Narvios AB, Przepiorka D, Tarrand J, Chan KW, Champlin R, Lichtiger B. Transfusion support using filtered unscreened blood products from cytomegalovirus-negative allogeneic marrow transplant recipients.

Bone Marrow Transplant 1998 ; 22 : 575-7.

101- Pamphilon DH, Rider JR, Barbara JA, Williamson LM. Prevention of transfusion-transmitted cytomegalovirus infection.

Transfus med 1999 ; 9 : 115-123.

102- Winston DJ, Eng-Shang H, Miller MJ, Cheng-Hsein L, Ho WG, Gale RP, Champlin RE. Molecular Epidemiology of cytomegalovirus infections associated with bone marrow transplantation.

Ann Intern Med 1985 ; 102 : 16-20.

103- De Graan-Hentzen YCE, Gratama JW, Mudde GC, Verdonck LF, Houbiers JGA, Brand A *et al*. Prevention of primary infection in patients with hematologic malignancies by intensive white cell depletion of blood products.

Transfusion 1989 ; 29 : 757-60.

104- Murphy MF, Grint PCA, Hardiman AE, Lister TA, Waters AH. Use of leucocyte-poor blood components to prevent primary cytomegalovirus (CMV) infection in patients with acute leukaemia.

British J Haematol 1988 ; 70 : 253.

105- Baumgartner JD, Glauser MP, Buro-Black AL, Black RD, Pyndiah N, Chiolero R. Severe cytomegalovirus infection in multiply transfused, splenectomised, trauma patients.

Lancet 1982 ; 2 : 63-6.

106- Drew WL, Miner RC. Transfusion-related cytomegalovirus infection following noncardiac surgery.

JAMA 1982 ; 247 : 2389-91.

107- Grundy JE, Ehrnst A, Einsele H, Emery VC, Hebart H, Prentice HG, Ljungman P. A three-center European external quality control study of PCR for detection of cytomegalovirus DNA in blood.

J Clin Microbiol 1996 ; 34 : 1166-70.

108- Mazzulli T, Drew LW, Yen-Lieberman B, Jekic-McMullen D, Kohn DJ, Isada C, Moussa G, Chua R, Walmsley S. Multicenter comparison of the digene hybrid capture CMV DNA assay (version 2.0), the pp65 antigenemia assay, and cell culture for detection of cytomegalovirus viremia.

J Clin Microbiol 1999 ; 37 : 958-63.

109- Chou S. Acquisition of donor strains of cytomegalovirus by renal transplant recipients.  
N Engl J Med 1986 ; 314 : 1418-23.

110- Betts RF, Cestero RV, Freeman RB, Douglas R Jr. Epidemiology of cytomegalovirus infection in end stage renal disease.  
J Med Virol 1979 ; 4 : 89-96.

111- Schreiber GB, Busch MP, Kleinman SH, Korelitz JJ. The risk of transfusion-transmitted viral infections.  
N Engl J Med 1996 ; 334 : 1685-90.

112- Pillonel J, Couroucé AM, Saura C, Désenclos JC. Impact de l'exclusion des donneurs ayant séjourné dans les îles britanniques sur le risque résiduel de transmission du VIH par transfusion de produits sanguins labiles.  
Transfus Clin Biol 2001 ; 8 : 85-93.

113- Bitsch A, Kirchner H, Dupke R, Bein G. Failure to detect human cytomegalovirus DNA in peripheral blood leukocytes of healthy blood donors by the polymerase chain reaction.  
Transfusion 1992 ; 32 : 612-7.

114- Urushibara N, Kwon KW, Takahashi TA, Sekiguchi S. Human cytomegalovirus DNA is not detectable with nested double polymerase chain reaction in healthy blood donors.  
Vox Sang 1995 ; 68 : 9-14.

115- Smith KI, Kulski JK, Cobain T, Dunstan RA. Detection of cytomegalovirus in blood donors by the polymerase chain reaction.  
Transfusion 1993 ; 33 : 497-503.

116- Krajden M, Shankaran P, Bourke C, Lau W. Detection of cytomegalovirus in blood donors by PCR using the digene Scharp signal system assay : effects of sample preparation and detection methodology.  
J Clin Microbiol 1996 ; 34 : 29-33.

117- Bevan IS, Daw RA, Day PJ, Ala FA, Walker MR. Polymerase chain reaction for detection of human cytomegalovirus infection in a blood donor population.  
Br J Haematol 1991 ; 78 : 94-9.

118- Humar A, St Louis P, Mazzulli T, McGeer A, Lipton J, Messner H, MacDonald KS. Elevated serum cytokines are associated with cytomegalovirus and disease in bone marrow transplant recipients.  
J Infect Dis 1999 ; 179 : 484-8.

119- Roback JD, Hillyer CD, Drew WL, Laycock ME, Luka J, Mocarski ES, Slobedman B, Smith JW, Soderberg-Naucler C, Todd DS, Woxenius S, Busch MP. Multicenter evaluation of PCR methods for detecting CMV DNA in blood donors.  
Transfusion 2001 ; 41 : 1249-57.

120- Mocarski ES. Biology and replication of cytomegalovirus.  
Transfus Med Rev 1988 ; 2 : 229-34.

121- Tegtmeier GE, Henderson SE, Blosser JK, Drew WL, Miner R, Busch MP.  
CMV DNA in plasma of seroconverting and anti-CMV seroprevalent blood donors.  
Transfusion 1999 ; 39 Suppl : 116S.

122- Brady MT, Milam JD, Anderson DC, Hawkins EP, Speer ME, Seavy D, Bijou H, Yow MD. Use of deglycerolized red blood cells to prevent posttransfusion infection with cytomegalovirus in neonates.  
J Infect Dis 1984 ; 150 : 334-9.

123- Tolkoff-Rubin NE, Rubin RH, KELLer EE, Baker GP, Stewart JA, Hirsh MS. Cytomegalovirus infection in dialysis patients and personnel.

Ann Intern Med 1978 ; 89 : 625-8.

124- Beaujean F. Congélation de globules rouges.

France cryo 89, Marseille 13-15 décembre 1989.

125- Eisenfeld L, Silver H, McLaughlin J, Klevjer-Anderson P, Mayo D, Anderson J. Prevention of transfusion-associated cytomegalovirus infection in neonatal patients by removal of white blood cells from blood.

Transfusion 1992 ; 32 : 205-9.

126- Ledent E, Berlin G. Inadequate white cell reduction by bedside filtration of red cell concentrates.

Transfusion 1994 ; 34 : 765-8.

127- Beaujean F, Segier JM, Le Forestier C, Duedari N. Leukocyte depletion of red cell concentrates by filtration: influence of blood product temperature.

Vox Sang 1992 ; 62 : 242-3.

128- Sirchia G, Rebullà P, Parravicini A, Marangoni F, Cortelezzi A, Stefania A. Quality control of red cell filtration at the patient's bedside.

Transfusion 1994 ; 34 : 26-30.

129- Sirchia G, Rebullà P, Sabbioneda L, Garcea F, Greppi N. Optimal conditions for white cell reduction in red cells by filtration at the patient's bedside.

Transfusion 1996 ; 36 : 322-7.

130- Söderberg-Nauclér C, Fish KN, Nelson JA. Reactivation of latent human cytomegalovirus by allogeneic stimulation of blood cells from healthy donors.

Cell 1997 ; 91 : 119-26.

131- Bolovan-Fritts CA, Mocarski ES, Wiedeman JA. Peripheral blood CD14+ cells from healthy subjects carry a circular conformation of latent cytomegalovirus genome.

Blood 1999 ; 93 : 394-8.

132- Sowemimo-Coker SO, Kim A, Tribble E, Brandwein HJ, Wenz B. White cell subsets in apheresis and filtered platelet concentrates.

Transfusion 1998 ; 38 : 650-67.

133- Triulzi DJ, Meyer EM, Donnenberg AD. WBC subset analysis of WBC-reduced platelet components.

Transfusion 2000 ; 40 : 771-80.

134- Smith KL, Cobain T, Dunstan RA. Removal of cytomegalovirus DNA from donor blood by filtration.

Br J Haematol 1993 ; 83 : 640-2.

135- Busch MP, Lee TH, Heitman J. Allogeneic leukocytes but not therapeutic blood elements induce reactivation and dissemination of latent human immunodeficiency virus type 1 infection: implications for transfusion support of infection patients.

Blood 1992 ; 80 : 2128-35.

136- Cheung KS, Lang DJ. Transmission of cytomegalovirus with blood transfusion: a mouse model.

J Infect Dis 1977 ; 135 : 841-5.

137- Tamura K, Ohsawa K, Koji T, Watanabe Y, Katamine S, Sato H, Ayabe H. Allogeneic immune responses augment rat cytomegalovirus replication in rats.  
Transplantation Proceedings 1999 ; 31 : 1376-7.

138- Taylor-Weideman J, Sissons P, Sinclair J. Induction of endogenous human cytomegalovirus gene expression after differentiation of monocytes from healthy carriers.  
J Virol 1994 ; 68 : 1597-604.

139- Nichols WG, Corey L, Drew L, Miner R, Huang M-L, Davis C, Boekh M. Rising pp65 antigenemia during preemptive anticytomegalovirus therapy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation : risk factors, correlation with DNA load, and outcomes.  
Blood 2001 ; 97 : 867-74.

140- Lin L, Cook DN, Wiesehahn GP, Alfonso R, Behrman B, Cimino GD, Corten L, Damonte PB, Dikeman R, Dupuis K, Fang YM, Hanson CV, Hearst JE, Lin CY, Londe HF, Metchette K, Nerio AT, Pu JT, Reames AA, Rheinschmidt M, Tessman J, Isaacs ST, Wollowitz S, Corash L. Photochemical inactivation of viruses and bacteria in platelet concentrates using a novel psoralen and long wavelength ultraviolet light.  
Transfusion 1997 ; 37 : 423-35.

141- Strauss R. Data driven blood banking practices for neonatal RBC transfusions.  
Transfusion 2000 ; 40 : 1528-40.

142- Gout O, Baulac M, Gessain A, Semah F, Saal F, Peries J, Cabrol C, Foucault-Fretz C, Laplane D, Sigaux F *et al.* Rapid development of myelopathy after HTLV-1 infection acquired by transfusion during cardiac transplantation.  
N Engl J Med 1990 ; 322 : 383-8.

143- Kobayashi M, Yamo M, Kwon KW, Takahashi TA, Ikeda H, Sekiguchi S. Leukocyte depletion of HTLV-I carrier red cell concentrates by filters.  
Dans : Sekiguchi S, editor. Clinical application of leukocyte depletion.  
London : Blackwell Scientific Publications ; 1993. p. 138-48.

144- Girard A. Déleucocytation des produits sanguins et infections post-transfusionnelles.  
Rev Fr Transfus Hémobiol 1993 ; 36 : 265-79.

145- Sandler SG, Fang CT, Williams AE. Human T-cell lymphotropic virus type I and II in transfusion medicine.  
Transf Med Rev 1991 ; 5 : 93.

146- Donegan E, Lee H, Operskalski EA, Shaw GM, Kleinman SH, Busch MP, Stevens CE, Schiff ER, Nowicki MJ, Hollingsworth CG *et al.* Transfusion transmission of retroviruses. Human T-lymphotropic virus types I and II compared with human immunodeficiency virus types I.  
Transfusion 1994 ; 34 : 478-83.

147- Bruisten SM, Tersmette M, Wester MR, Vos AHV, Koppelman MHGM, Huisman JG. Efficiency of white cell filtration and a freeze-thaw procedure for removal of HIV-infected cells from blood.  
Transfusion 1990 ; 30 : 833-7.

148- Rawal B, Benedict TS, Vyas GN, Busch M. Leukocyte filtration removes infectious particulate debris but not free virus derived from experimentally lysed HIV-infected cells.  
Vox Sang 1991 ; 60 : 214-8.

149- Kurtzman GJ, Gascon P, Caras M, Cohen B, Young NS. B19 parvovirus replicates in circulating cells of acutely infected patients.  
Blood 1988 ; 71 : 1448-54.

150- Aber RC. Transfusion-associated *Yersinia enterocolitica*.  
Transfusion 1990 ; 30 : 193-5.

151- Tipple MA, Bland LA, Murphy JJ, Arduino MJ, Panlilio AL, Farmer JJ, Tourault MA, MacPherson CR, Menitove JE, Grindon AJ *et al*. Sepsis associated with transfusion of red cells contaminated with *Yersinia enterocolitica*.  
Transfusion 1990 ; 30 : 207-13.

152- Dodd RY. The risk of transfusion-transmitted infection.  
N Engl J Med 1992 ; 327 : 419-21.

153- Sazama K. Bacteria in blood for transfusion.  
Arch Pathol Lab Med 1994 ; 118 : 350-65.

154- Gong J, Högman CF, Hambræus A, Johansson CS, Eriksson L. Transfusion-transmitted *Yersinia enterocolitica* infection.  
Vox Sang 1993 ; 65 : 42-6.

155- Buchholz DH, AuBuchon JP, Snyder EL, Kandler R, Edberg S, Piscitelli V, Pickard C, Napychank P. Removal of *Yersinia enterocolitica* from AS-1 red cells.  
Transfusion 1992 ; 32 : 667-72.

156- Wenz B, Burns ER, Freundlich LF. Prevention of growth of *Yersinia enterocolitica* in blood by polyester fiber filtration.  
Transfusion 1992 ; 32 : 663-6.

157- Högman CF, Gong J, Hambræus A, Johansson CS, Eriksson L. The role of white cells in the transmission of *Yersinia enterocolitica* in blood components.  
Transfusion 1992 ; 32 : 654-7.

158- Kim DM, Brecher ME, Bland LA, Estes TJ, McAllister SK, Aguero SM, Carmen RA, Nelson EJ. Prestorage removal of *Yersinia enterocolitica* from red cells with white cell-reduction filters.  
Transfusion 1992 ; 32 : 658-62.

159- Pietersz RNI, Reesink HW, Pauw W, Dekker WJA, Buisman L. Prevention of *Yersinia enterocolitica* growth in red-blood-cell concentrates.  
Lancet 1992 ; 340 : 755-6.

160- Högman CF, Gong J, Eriksson L, Hambræus A, Johansson CS. White cells protect donor blood against bacterial contamination.  
Transfusion 1991 ; 31 : 620-6.

161- Högman CF, Fritz H, Sandberg L. Posttransfusion *Serratia marcescens* septicemia.  
Transfusion 1993 ; 33 : 189-91.

162- Wenz B, Ciavarella D, Freundlich L. Effect of prestorage white cell reduction on bacterial growth in platelet concentrates.  
Transfusion 1993 ; 33 : 520-3.

163- Lee TH, Donegan E, Slichter S, Busch MP. Transient increase in circulating donor leukocytes after allogeneic transfusions in immunocompetent recipients compatible with donor cell proliferation.

Blood 1995 ; 85 : 1207-14.

164- Balfour HH. Transfusion and the human immunodeficiency virus.  
Transfusion 1993 ; 33: 101-2.

165- Popovsky MA, Benson K, Glassman AB, Hume H, Oberman HA, Pisciotto PT, Anderson KC. Transfusion practices in human immunodeficiency virus-infected patients.  
Transfusion 1995 ; 35 : 612-6.

166- Collier AC, Kalish LA, Busch MP, Gernsheimer T, Assmann SF, Lane TA, Asmuth DM, Lederman MM, Murphy EL, Kumar P, Kelley M, Flanigan TP, McMahon DK, Sacks HS, Kennedy MS, Holland PV ; Viral Activation Study Group. Leukocyte-reduced red blood cell transfusions in patients with anemia and human immunodeficiency virus infection : the Viral Activation Transfusion Study: a randomized controlled trial.  
JAMA 2001 ; 285 : 1592-601.

167- Kruskall MS, Lee TH, Assmann SF, Laycock M, Kalish LA, Lederman MM, Busch MP ; Viral Activation Transfusion Study Group. Survival of transfused donor white blood cells in HIV-infected recipients.  
Blood 2001 ; 98 : 272-79.

168- Adler SP, Baggett J, McVoy M. Transfusion-associated cytomegalovirus infections in seropositive cardiac surgery patients.  
Lancet 1985 ; 2 : 743-7.

169- Miller JP, Mintz PD. The use of leukocyte-reduced blood components.  
Hematol Oncol Clin North Am 1995; 9 : 69-90.

170- Elghouzzi MH, Vedrenne JB, Jullien AM, Delcey D, Nadal M, Habibi B. Etude technique immunologique et clinique des performances de filtration du sang à l'aide de l'appareil Erypur.  
Rev Fr Transf Immunohématol 1981 ; 24 : 579-95.

171- Eernisse JG, Brand A. Prevention of platelet refractoriness due to HLA antibodies by administration of leukocyte-poor blood components.  
Exp Hematol 1981 ; 9 : 77-83.

172- Schiffer CA, Dutcher JP, Aisner J, Hogge D, Wiernik PH, Reilly JP. A randomized trial of leukocyte-depleted platelet transfusion to modify alloimmunization in patients with leukemia.  
Blood 1983 ; 62 : 815-20.

173- Fisher M, Chapman Jr, Ting A, Morris PJ. Alloimmunisation to HLA antigens following transfusion with leukocyte-poor and purified platelet suspensions.  
Vox Sang 1985 ; 49 : 331-5.

174- Murphy MF, Metcalfe P, Thomas H, Eve J, Ord J, Lister TA, Waters AH. Use of leukocyte-poor blood components and HLA-matched-platelet donors to prevent HLA alloimmunization.  
Br J Haematol 1986 ; 62 : 529-34.

175- Sniecinski I, O'Donnell MR, Nowiki B, Hill LR. Prevention of refractoriness and HLA-alloimmunization using filtered blood products.  
Blood 1988 ; 5 : 1402-7.

- 176- Andreu G, Dewailly J, Leberre C, Quarre MC, Bidet ML, Tardivel R, Devers L, Lam Y, Soreau E, Boccaccio C *et al.* Prevention of HLA immunization with leukocyte-poor packed red cells and platelet concentrates obtained by filtration. *Blood* 1988 ; 72 : 964-9.
- 177- Brand A, Claas FHJ, Voogt PJ, Wasser MNJM, Eernisse JG. Alloimmunisation after leucocyte-depleted multiple random donor platelet transfusions. *Vox Sang* 1988 ; 54 : 160-6.
- 178- Saarinen UM, Kekomäki R, Siimes MA, Myllylä G. Effective prophylaxis against platelet refractoriness in multitransfused patients by use of leukocyte-free blood components. *Blood* 1990 ; 75 : 512-7.
- 179- Oksanen K, Kehomäki R, Ruutu T, Koskiwies S, Myllylä G. Prevention of alloimmunization in patients with acute leukemia by use of white cell-reduced blood components : a randomized trial. *Transfusion*. 1991 ; 31 : 588-94.
- 180- Van Marwijk Kooy M, Van Prooijen HC, Moes M, Bosma-Stants I, Akkerman JWN. Use of leukocyte-depleted platelet concentrates for the prevention of refractoriness and primary HLA alloimmunization. A prospective, randomized trial. *Blood* 1991 ; 77 : 201-5.
- 181- Andreu G, Dewailly J. Prevention of HLA alloimmunization by using leukocyte-depleted components. *Curr Stud Hematol Blood Transf* 1994 ; 60 : 29-40.
- 182- Opelz G, Terasaki PI. Poor kidney-transplant survival in recipients with frozen-blood transfusions or no transfusions. *Lancet* 1974 ; 2 : 696-8.
- 183- Vamvakas E, Moore SB. Perioperative blood transfusion and colorectal cancer recurrence: a qualitative statistical overview and meta-analysis. *Transfusion* 1993 ; 33 : 754-65.
- 184- Blumberg N, Heal JM. Effects of transfusion on immune function. Cancer recurrence and infection. *Arch Pathol Lab Med* 1994 ; 118 : 371-9.
- 185- Aufeuve JP. Transfusion et cancer. *Transf Clin Biol* 1994 ; 3 : 237-46.
- 186- Bordin JO, Blajchman TA. Immunosuppressive effects of allogeneic blood transfusions. Implications for the patient with a malignancy. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995 ; 9 : 205-18.
- 187- Frankish PD, McNee RK, Alley PG, Woodfield DG. Relation between cancer of the colon and blood transfusion. *Br Med J* 1985 ; 290 : 1827.
- 188- Quintiliani L, Buzzonetti A, Digirolamo M, Iudicone P, Guglielmetti M, Martini F, Scocchera R, Terlizzi F, Lapponi P, Giuliani E. Effects of blood transfusion on the immune responsiveness and survival of cancer patients : a prospective study. *Transfusion* 1991 ; 31 : 713-8.
- 189- Tartter PI. The association of perioperative blood transfusion with colorectal cancer recurrence. *Ann Surg* 1992 ; 216 : 633-8.



190- Heiss MM, Mempel W, Delanoff C, Jauch KW, Gabka C, Mempel M, Dieterich HJ, Eissner HJ, Schildberg FW. Blood transfusion-modulated tumor recurrence: first results of a randomized study of autologous versus allogenic blood transfusion in colorectal cancer surgery.

J Clin Oncol 1994 ; 12 : 1859-67.

191- Sene A, Jeacock J, Robinson C, Walsh S, Kingston RD. Blood transfusion does not have an adverse effect on survival after operation for colorectal cancer.

Ann R Coll Surg Engl 1993 ; 75 : 261-7.

192- Busch ORC, Hop WCJ, Hoynck Van Papendrecht MAW, Marquet RL, Jeekel J. Blood transfusions and prognosis in colorectal cancer.

N Engl J Med 1993 ; 328 : 1372-6.

193- Ness PM, Walsh PC, Zahurak M, Baldwin ML, Piantadosi. Prostate cancer recurrence in radical surgery patients receiving autologous or homologous blood.

Transfusion 1992 ; 32 : 31-36.

194- Chung M, Steinmetz OK, Gordon PH. Perioperative blood transfusion and outcome after resection for colorectal carcinoma.

Br J Surg 1993 ; 80 : 427-32.

195- Eickhoff JH, Göte H, Baeck J. Peri-operative blood transfusion in relation to tumour recurrence and death after surgery for prostatic cancer.

Br J Urol 1991 ; 68 : 608-11.

196- Vamvakas EC. Perioperative blood transfusion and cancer recurrence: meta-analysis for explanation.

Transfusion 1995 ; 35 : 760-8.

197- Houbiers JGA, Brand A, Van De Watering LMG, Hermans J, Verwey PJM, Bijnen AB, Pahlplatz P, Eeftinck Schattenkerk M, Wobbes T, De Vries JE *et al.* Randomised controlled trial comparing transfusion of leucocyte-depleted or buffy-coat-depleted blood in surgery for colorectal cancer.

Lancet 1994 ; 344 : 573-8.

198- Van De Watering LMG, Brand A, Houbiers JGA, Klein Kranenbard WM, Hermans J, Van De Velde CJH, for the Cancer Recurrence And Blood transfusion (CRAB) study group. Perioperative blood transfusions, with or without allogeneic leucocytes, relate to survival, not to cancer recurrence.

British Journal of Surgery 2001 ; 88 : 267-72.

199- Blajchman MA, Bardossy L, Carmen R, Sastry A, Singal DP. Allogeneic blood transfusion-induced enhancement of tumor growth. Two animal models showing amelioration by leukodepletion and passive transfer using spleen cells.

Blood 1993 ; 81 : 1880-2.

200- Bordin JO, Bardossy L, Blajchman MA. Growth enhancement of established tumors by allogeneic blood transfusion in experimental animals and its amelioration by leukodepletion. The importance of the timing of the leukodepletion.

Blood 1994 ; 84 : 344-8.

201- Andreu G. Transfusion et infections post-opératoires : revue et synthèse des recherches et de l'expérience clinique.

Transf Clin Biol 1994 ; 3 : 231-6.

202- Agarwal N, Murphy JG, Cayten CG, Stahl WM. Blood transfusion increases the risk of infection after trauma.

Arch Surg 1993; 128: 171-7.

- 203- Carson JL, Altman DG, Duff A, Noveck H, Weinstein MP, Sonnenberg FA, Hudson JI, Provenzano G. Risk of bacterial infection associated with allogeneic blood transfusion among patients undergoing hip fracture repair. *Transfusion* 1999 ; 39 : 694-700.
- 204- Tartter PI. Blood transfusion and infectious complications following colorectal cancer surgery. *Br J Surg* 1988 ; 75 : 789-92.
- 205- Heiss MM, Mempel W, Jauch KW, Delanoff C, Mayer G, Mempel M, Eissner HJ, Schildberg FW. Beneficial effect of autologous blood transfusion on infectious complications after colorectal cancer surgery. *Lancet* 1993 ; 342 : 1328-33.
- 206- Murphy P, Heal JM, Blumberg N. Infection or suspected infection after hip replacement surgery with autologous or homologous blood transfusion. *Transfusion* 1991 ; 31 : 212-7.
- 207- Vamvakas EC, Moore SB, Cabanela M. Blood transfusion and septic complications after hip replacement surgery. *Transf Post Inf* 1995 ; 35 : 150-6.
- 208- Jensen LS, Andersen AJ, Christiansen PM, Hokland P, Juhl CO, Madsen G, Mortensen J, Moller-Nielsen C, Hanberg-Sorensen F, Hokland M. Postoperative infection and natural killer cell function following blood transfusion in patients undergoing elective colorectal surgery. *Br J Surg* 1992 ; 79 : 513-6.
- 209- Perttilä JT, Salo MS, Jalonen JR, Kuttilla KT, Viinamäki O, Pulkki KJ. Blood transfusion with autologous and leukocyte-depleted or standard allogeneic red blood cells and the immune response to open heart surgery. *Anesth Analg* 1994 ; 79 : 654-60.
- 210- Jensen LS, Kissmeyer-Nielsen P, Wolff B, Qvist N. Randomised comparison of leucocyte-depleted versus buffy-coat-poor blood transfusion and complications after colorectal surgery. *Lancet* 1996 ; 348 : 841-5.
- 211- Van De Watering LMG, Hermans J, Houbiers JGA, Van Den Broek PJ, Bouter H, Boer F, Harvey MS, Huysmans HA, Brand A. Beneficial effects of leukocyte depletion of transfused blood on postoperative complications in patients undergoing cardiac surgery. A Randomized Clinical Trial. *Circulation* 1998 ; 97 : 562-8.
- 212- Tartter PI, Mohandas K, Azar P, Endres J, Kaplan J, Spivack M. Randomized trial comparing packed red cell blood transfusion with and without leukocyte depletion of gastrointestinal surgery. *Am J Surg* 1998 ; 176 : 462-6.
- 213- Vamvakas EC, Blajchman MA. Deleterious clinical effects of transfusion-associated immunomodulation: fact or fiction? *Blood* 2001 ; 97 : 1180-95.
- 214- Vyas GN, Perkins HA, Fudenberg HH. Anaphylactoid transfusion reactions associated with anti-IgA. *Lancet* 1968 ; 2 : 312-5.
- 215- Schmidt AP, Taswell HF, Gleich GJ. Anaphylactic transfusion reaction association associated with anti-IgA antibody. *N Engl J Med* 1969 ; 280 : 188-93.
- 216- Miller WV, Holland PV, Sugarbaker E, Strober W, Waldmann TA. Anaphylactic reactions to IgA. A difficult transfusion problem.

Am J Clin Pathol 1970 ; 54 : 618-21.

217- Nadorp JHS, Voss M, Buys WC, Van Munster PJJ, Van Tongeren JHM, Aalberse RC, Van Loghem E. The significance of the presence of anti-IgA antibodies in individuals with an IgA deficiency.  
Eur J Clin Invest 1973 ; 3 : 317-23.

218- Leikola J, Koistinen J, Lehtinen M, Virolainen M. IgA-induced anaphylactic transfusion reactions. A report of four cases.  
Blood 1973 ; 42 : 111-9.

219- Pineda AA, Taswell HF. Transfusion reactions associated with anti-IgA antibodies. Report of four cases and review of the literature.  
Transfusion 1975 ; 15 : 10-5.

220- Wells JV, Buckley RH, Schanfield MS, Fudenberg HH. Anaphylactic reactions to plasma infusions in patients with hypogammaglobulinemia and anti-IgA antibodies.  
Clin Immunol Immunopathol 1977 ; 8 : 265-71.

221- Strauss RA, Gloster ES, Schanfield MS, Kittinger SP, Morgan BB. Anaphylactic transfusion reaction associated with a possible anti-A<sub>2m</sub>(1).  
Clin Lab Haematol 1983 ; 5: 371-7.

222- Branigan EF, Stevenson MM, Charles D. Blood transfusion reaction in a patient with immunoglobulin a deficiency.  
Obstet Gynecol 1983 ; 61 : 47S-49S.

223- Laschinger C, Shepherd FA, Naylor DH. Anti-IgA-mediated transfusion reactions in Canada.  
Can Med Assoc J 1984 ; 130 : 141-4.

224- Burks WA, Sampson HA, Buckley RH. Anaphylactic reactions after gamma globulin administration in patients with hypogammaglobulinemia. Detection of IgE antibodies to IgA.  
N Engl J Med 1986 ; 314 : 560-3.

225- Milde N. An anaphylactic reaction to fibrin glue.  
Anesth Analg 1989 ; 69 : 684-6.

226- Seligmann M, Aucouturier P, Danon F, Preud'Homme JL. Changes in serum immunoglobulin patterns in adults with common variable immunodeficiency.  
Clin Exp Immunol 1991 ; 84 : 23-7.

227- Beaujean F. Sécurisation des concentrés érythrocytaires par congélation : quelle place en 1994 ?  
Transf Clin Biol 1994 ; 3 : 193-5.

228- Tolkoff-Rubin NE, Rubin RH, KELLer EE, Baker GP, Stewart JA, Hirsch MS. Cytomegalovirus infection in dialysis patients and personnel.  
Ann Int Med 1978 ; 89 : 625-8.

229- Norol F, Bachir D, Bernaudin F, Beaujean F, Desforges L, Duedari N, Galacteros F. Frozen blood and transfusion-transmitted hepatitis C virus.  
Vox Sang 1993 ; 64 : 150-3.

230- Anderson KC, Weinstein HJ. Transfusion-associated graft-versus-host disease.  
N Engl J Med 1990 ; 323 : 315-21.

- 231- Juji T, Takahashi K, Shibata Y, Ide H, Sakakibara T, Ino T, Mori S. Post-transfusion graft-versus-host disease in immunocompetent patients after cardiac surgery in Japan.  
New Engl J Med 1989 ; 321 : 56.
- 232- Greenbaum BH. Transfusion-associated graft-versus-host disease. Historical perspectives, incidence, and current use of irradiated blood products.  
J Clin Oncol 1991 ; 9 : 1889-902.
- 233- McMillin KD, Johnson RL. HLA homozygosity and the risk of related-donor transfusion-associated graft-versus-host disease.  
Transf Med Rev 1993 ; 7 : 37-41.
- 234- Holland PV. Prevention of transfusion-associated graft-vs-host disease.  
Arch Pathol Lab Med 1989 ; 113 : 285-91.
- 235- Von Fliedner V, Higby DJ, Kim U. Graft-versus-host reaction following blood product transfusion.  
Am J Med 1982 ; 72 : 951-61.
- 236- Sakakibara T, Juji T. Post-transfusion graft-versus-host disease after open heart surgery.  
Lancet 1986 ; 2 : 1099.
- 237- Arsur L, Bertelle A, Minkowitz S, Cunningham JN, Grob D. Transfusion associated graft versus host disease.  
Arch Pathol Lab Med 1988; 113: 285-91.
- 238- Burdick JF, Vogelsang GB, Smith WJ, Farmer ER, Bias WB, Kaufmann SH, Horn J, Colombani PM, Pitt HA, Perler BA *et al.* Severe graft-versus-host disease in a liver-transplant recipient.  
N Engl J Med 1988 ; 318 : 689-91.
- 239- Otsuka S, Kunieda K, Hirose M, Takeuchi H, Mizutani Y, Nagaya M, Sato G, Kasuya S, Matsutomo K, Noma A *et al.* Fatal erythroderma (suspected graft-versus-host disease) after cholecystectomy. Retrospective analysis.  
Transfusion 1989 ; 29 : 544-8.
- 240- Vogelsang GB. Transfusion-associated graft-versus-host disease in nonimmunocompromised hosts.  
Transfusion 1990 ; 30 : 101-3.
- 241- Ohto H, Yasuda H, Noguchi M, Abe R. Risk of transfusion-associated graft-versus-host disease as a result of directed donations from relatives.  
Transfusion 1992 ; 32 : 691-3.
- 242- Suzuki K, Akiyama H, Takamoto S, Maruyama Y, Sakamaki H, Akagi K, Maeda Y, Takenaka M, Onozawa Y. Transfusion-associated graft-versus-host disease in a presumably immunocompetent patient after transfusion of stored packed red cells.  
Transfusion 1992 ; 32: 358-60.
- 243- Petz LD, Calhoun L, Yam P, Cecka M, Schiller G, Fajtłowicz AR, Herron R, Sayah D, Wallace RB, Belldegrun A. Transfusion-associated graft-versus-host disease in immunocompetent patients : report of a fatal case associated with transfusion of blood a second-degree relative, and a survey of predisposing factors.  
Transfusion 1993 ; 33 : 742-50.
- 244- Shivdasani RA, Haluska FG, Dock NL, Dover JS, Kineke EJ, Anderson KC. Brief report: graft-versus-host disease associated with transfusion of blood from unrelated HLA-homozygous donors.  
N Engl J Med 1993 ; 328 : 766-70.

- 245- Kruskall MS. HLA-Homozygous donors and transfusion-associated graft-versus-host disease. *New Engl J Med* 1990 ; 322 : 1004-6.
- 246- Thaler M, Shamiss A, Orgad S, Huszar M, Nussinovitch N, Meisel S, Gazit E, Lavee J, Smolinsky A. The role of blood from HLA-homozygous donors in fatal transfusion-associated graft-versus-host disease after open-heart surgery (comment in *N Engl J Med* 1990; 322: 1004-7). *N Engl J Med* 1989 ; 321 : 25-8.
- 247- Sheehan T, McLaren KM, Brettle R, Parker AC. Transfusion-induced graft versus host disease in pregnancy. *Clin Lab Haematol* 1987 ; 9 : 205-7.
- 248- Garcia Gala JM, Ramirez Payer A, Rayon C, Rodriguez Vicente P, Roson C, Blanco C. [Chronic posttransfusion graft-versus-host disease in a patient with non-Hodgkin's lymphoma]. *Spanish*. *Sangre* 1993 ; 38 : 489-91.
- 249- Heim MJ, Munker R, Sauer H, Wolf-Hornung B, Knabe H, Holler E, Böck M, Mempel W. [Graft-versus-host-disease with fatal outcome after administration of filtered erythrocyte concentrates]. *German*. *Beitr Infusionsther* 1992 ; 30 : 178-81.
- 250- Kunstman E, Bocker T, Roewer L, Sauer H, Mempel W, Epplen JT. Diagnosis of transfusion-associated graft-versus-host disease by genetic fingerprinting and polymerase chain reaction. *Transfusion* 1992 ; 32 : 766-70.
- 251- Akahoshi M, Takanashi M, Masuda M, Yamashita H, Hidano A, Hasegawa K, Kasajima T, Shimizu M, Motoji T, Oshimi K *et al.* A case of transfusion-associated graft-versus-host disease not prevented by white cell-reduction filters. *Transfusion* 1992 ; 32 : 169-72.
- 252- Mishima A, Takeuchi Y, Ueda N, Sato M, Terada J, Kamiya Y, Okubo T, Usami S, Kotani H, Suzuki Y *et al.* [A case of graft versus host disease following irradiated fresh blood transfusion]. *Japonais*. *Kyobu Geka* 1991 ; 44 : 825-7.
- 253- Lowenthal RM, Challis DR, Griffiths AE, Chappell RA, Goulder PJR. Transfusion-associated graft-versus-host disease: report of an occurrence following the administration of irradiated blood. *Transfusion* 1993 ; 33 : 524-9.
- 254- Marcus JN. HLA-homozygous donors and transfusion-associated graft-versus-host disease (comment on *N Engl J Med*, 1989; 321: 25-8). *N Engl J Med* 1990 ; 322 : 1004-5.
- 255- Nagumo F, Sano M, Tadano J, Katano M, Kubota E, Kikuchi M, Nose Y. HLA-DP class II antigens in transfusion-associated graft versus host disease. *Lancet* 1993 ; 342 : 1424.
- 256- Ito K, Yoshida H, Yanagibashi K, Shimada Y, Imamura M, Tobe T, Akiyama Y, Saji H, Maruya E, Hosoi T. Change of HLA phenotype in postoperative erythroderma. *Lancet* 1988 ; 1 : 413-4.
- 257- Wagner FF, Flegel WA. Transfusion-associated graft-versus-host disease. Risk due to homozygous HLA haplotypes. *Transfusion* 1995 ; 35 : 284-91.

- 258- Van Der Mast BJ, Hornstra N, Ruigrok MB, Claas FHJ, Van Rood JJ, Lagaij EL. Transfusion-associated graft-versus-host disease in immunocompetent patients: a self-protective mechanism. Lancet 1994 ; 343 : 753-7.
- 259- Preiksaitis JK, Brown L, McKenzie M. The risk of cytomegalovirus infection in seronegative transfusion recipients not receiving exogenous immunosuppression. J Infect Dis 1988 ; 157 : 523-9.
- 260- Drobyski W, Thibodeau S, Truitt RL, Baxter-Lowe LA, Gorski J, Jenkins R, Gottschall J, Ash RC. Third-party-mediated graft rejection and graft-versus-host disease after T-Cell-depleted bone marrow transplantation, as demonstrated by hypervariable DNA probes and HLA-DR polymorphism. Blood 1989 ; 74 : 2285-94.
- 261- Anderson KC, Goodnough LT, Sayers M, Pisciotto PT, Kurtz SR, Lane TA, Anderson CS, Silberstein LE. Variation in blood component irradiation practice: implications for prevention of transfusion-associated graft-versus-host disease. Blood 1991 ; 77 : 2096-102.
- 262- Davey RJ, McCoy NC, Yu M, Sullivan JA, Spiegel DM, Leitman SF. The effect of prestorage irradiation on posttransfusion red cell survival. Transfusion 1992 ; 32 : 525-8.
- 263- Ramirez AM, Woodfield DG, Scott R, McLachlan J. High potassium levels in stored irradiated blood. Transfusion 1987 ; 27 : 444-5.
- 264- Rivet C, Baxter A, Rock C. Potassium levels in irradiated blood. Transfusion 1989 ; 29 : 185.
- 265- Brown KA, Bissonnette B, MacDonald M, Poon AO. Hyperkalaemia during massive blood transfusion in paediatric craniofacial surgery. Can J Anaesth 1990 ; 37 : 401-8.
- 266- Ferguson DJ. Potassium levels in irradiated blood. Transfusion 1989 ; 29 : 749-50.
- 267- Hillyer CD, Tiegerman KO, Berkman EM. Evaluation of the red cell storage lesion after irradiation in filtered packed red cell units. Transfusion 1991 ; 31 : 497-9.
- 268- Brand A, Claas FHJ, Van Rood JJ. UV-irradiated platelets: ready to use? Transfusion 1989 ; 29 : 377-8.
- 269- Andreu G, Fressy P. Transfusion-associated graft-versus-host disease (TA-GVHD): cellular mechanisms and their possible modulation by ultraviolet radiation. Transfus Sci 1995 ; 16 : 109-13.
- 270- Deeg HJ, Graham TC, Gerhard-Miller L, Appelbaum FR, Schuening F, Storb R. Prevention of transfusion-induced graft-versus-host disease in dogs by ultraviolet irradiation. Blood 1989 ; 74 : 2592-5.
- 271- Hayashi H, Nishiuchi T, Tamura H, Takeda K. Transfusion-associated graft-versus-host disease caused by leukocyte-filtered stored blood. Anesthesiology 1993 ; 79 : 1419-21.

- 272- Mollison PL. Survival curves of incompatible red cells. An analytical review.  
Transfusion 1986 ; 26 : 43-50.
- 273- Mollison PL. Further observations on the patterns of clearance of incompatible red cells.  
Transfusion 1989 ; 29 : 347-54.
- 274- Contreras M, De Silva M, Teesdale P, Mollison PL. The effect of naturally occurring RH antibodies on the survival of serologically incompatible red cells.  
Br J Haematol 1987 ; 65 : 475-8.
- 275- Ramsey G, Larson P. Loss of red cell alloantibodies over time.  
Transfusion 1988 ; 28 : 162-5.
- 276- Ramsey G, Cornell FW, Hahn LF, Larson P, Issit LB, Starzl TE. Red cell antibody problems in 1000 liver transplants.  
Transfusion 1989 ; 29 : 396-400.
- 277- Rosse WF, Gallagher D, Kinney TR, Castro O, Dosik H, Moohr J, Wang W, Levy PS. Transfusion and alloimmunization in sickle cell disease.  
Blood 1990 ; 76 : 1431-7.
- 278- Gunson HH, Stratton F, Cooper DG, Rawlinson VI. Primary immunization of RH-negative volunteers.  
Br Med J 1970 ; 1 : 593-5.
- 279- Gunson HH, Stratton F, Phillips PK. The use of modified cells to induce an anti-RH response.  
Br J Haematol 1971 ; 21 : 683-94.
- 280- Juron-Dupraz F, Betuel H, Jouvenceaux A. Accidents immuno-hémolytiques observés au cours de la transfusion de plus de deux millions d'unités de sang.  
Rev Fr Transf Immuno Hematol 1982; 25: 439-50.
- 281- Blumberg N, Ross K, Avila E, Peck K. Should chronic transfusion be matched for antigens other than ABO and RH0 (D)?  
Vox Sang 1984 ; 47 : 205-8.
- 282- Pineda AA, Taswell Hf, Brzica SM. Delayed hemolytic transfusion reaction. An immunologic hazard of blood transfusion.  
Transfusion 1978 ; 18 : 1-7.
- 283- Sazama K. Reports of 335 transfusion-associated deaths: 1976 through 1985.  
Transfusion 1990 ; 30 : 583-90.
- 284- Walker RH, Lin DS, Hartrick MB. Alloimmunization following blood transfusion.  
Arch Pathol Lab Med 1989; 113 : 254-61.
- 285- Hoeltge GA, Domen RE, Rybicki LA, Schaffer PA. Multiple red cell transfusions and alloimmunization. Experience with 6996 antibodies detected in a total of 159 262 patients from 1985 to 1993.  
Arch Pathol Lab Med 1995 ; 119 : 42-5.
- 286- Brantley SG, Ramsey G. Red cell alloimmunization in multitransfused HLA-typed patients.  
Transfusion 1988 ; 28 : 463-6.

- 287- Hewitt PE, MacIntyre EA, Devenish A, Bowcock SJ, Contreras M. A prospective study of the incidence of delayed haemolytic transfusion reactions following peri-operative blood transfusion.  
Br J Haematol 1988 ; 69 : 541-4.
- 288- Fluit CRMG, Kunst VAJM, Drenthe-Schonk AM. Incidence of red cell antibodies after multiple blood transfusion.  
Transfusion 1990 ; 30 : 532-5.
- 289- Andreu G, Benbunan M, Boasson M, Bussel A, Cordonnier C, Dosquet P, Marie JP, Miclea JM, Monconduit M, Norol F *et al.* Pratiques transfusionnelles en hématologie clinique. Recommandations de la Commission d'Evaluation du Collège Français des Hématologistes pour le support transfusionnel dans le traitement des leucémies aiguës en aplasie thérapeutique.  
Nouv Rev Fr Hematol 1993 ; 35 : 517-22.
- 290- Vichinsky EP, Earles A, Johnson RA, Hoag S, Williams A, Lubin B. Alloimmunization in sickle cell anemia and transfusion of racially unmatched blood.  
N Engl J Med 1990 ; 322 : 1617-21.
- 291- Ness PM, Shirey RS, Thoman SK, Buck SA. The differentiation of delayed serologic and delayed hemolytic transfusion reactions. Incidence, long-term serologic findings and clinical significance.  
Transfusion 1990 ; 30 : 688-93.
- 292- Pinkerton PH, Coovadia AS, Goldstein J. Frequency of delayed hemolytic transfusion reactions following antibody screening and immediate-spin crossmatching.  
Transfusion 1992 ; 32 : 814-7.
- 293- Salmon C, Schwartz D. Analyse statistique d'une série de 639 malades polytransfusés. Essai d'interprétation des conditions de l'iso-immunisation.  
Rev Hematol 1960 ; 15 : 162-73.
- 294- Huchet J. Immunisations anti-érythrocytaires chez la femme enceinte.  
Concours Med 1994 ; 116 : 1349-54.
- 295- Ministère des Affaires Sociales, de la Santé et de la Ville. Arrêté du 4 août 1994 portant homologation du règlement de l'Agence française du sang relatif aux bonnes pratiques de distribution et pris en application de l'article L.668-3 du code de la santé publique.  
Journal Officiel 1994 ; 26 août : 12394-400.
- 296- Ministère des Affaires Sociales, de la Santé et de la Ville. Arrêté du 4 janvier 1995 portant homologation du règlement de l'Agence française du sang relatif aux bonnes pratiques de qualification biologique du don et pris en application de l'article L. 668-3 du code de la santé publique.  
Journal Officiel 1995 ; 30-31 janvier : 1611-26.
- 297- Chin-Yee I, Arya N, d'Almeida MS. The red cell storage lesion and its implication for transfusion.  
Transfus Sci 1997 ; 18 : 447-58.
- 298- Card RT. Red cell membrane changes during storage.  
Trans Med Rev 1988 ; 2 : 40-7.
- 299- Wolfe LC. The membrane and the lesions of storage in preserved red cells.  
Transfusion 1985 ; 25 : 185-203.



- 300- Greenwalt TJ, Bryan DJ, Dumaswala UJ. Erythrocyte membrane vesiculation and changes in membrane components during storage in citrate-phosphate-dextrose-adenine-1.  
Vox Sang 1984 ; 47 : 261-70.
- 301- Snyder LM, Fairbanks G, Trainor J, Fortier NL, Jacobs JB, Leb L. Properties and characterization of vesicles released by young and old human red cells.  
Br J Haematol 1985 ; 59 : 513-22.
- 302- Wagner GM, Chiu DTY, Yee MC, Lubin BH. Red cell vesiculation-a common membrane physiologic event.  
J Lab Clin Med 1986 ; 108 : 15-324.
- 303- Knight JA, Voorhees RP, Martin L, Anstall H. Lipid peroxidation in stored red cells.  
Transfusion 1992 ; 32 : 354-7.
- 304- Card RT, Mohandas N, Perkins HA, Shohet SB. Deformability of stored red blood cells. Relationship to degree of packing.  
Transfusion 1982 ; 22 : 96-101.
- 305- Card RT, Mohandas N, Mollison PL. Relationship of post-transfusion viability to deformability of stored red cells.  
Br J Haematol 1983 ; 53 : 237-40.
- 306- Valeri CR, Rorth M, Zaroulis CG, Jakubowski MS, Vescera SV. Physiologic effects of transfusing red blood cells with high or low affinity for oxygen to passively hyperventilated, anemic baboons: systemic and cerebral oxygen extraction.  
Ann Surg 1975 ; 181 : 106-113.
- 307- Valeri CR, Hirsh NM. Restoration in vivo of erythrocyte adenosine triphosphate, 2,3-diphosphoglycerate, potassium ion, and sodium ion concentrations following the transfusion of acid-citrate-dextrose-stored human red blood cells.  
J Lab Clin Med 1969 ; 73 : 722-33.
- 308- Chaplin HJr, Beutler E, Collins JA, Giblett ER, Polesky HF. Current status of red-cell preservation and availability in relation to the developing National Blood Policy.  
N Engl J Med 1974 ; 291 : 68-74.
- 309- Bunn HF, May MH, Kocholaty WF, Shields CE. Hemoglobin function in stored blood.  
J Clin Invest 1969 ; 48 : 311-321.
- 310- Sugerman HJ, Davidson DT, Vibul S, Delivoria-Papadopoulos M, Miller LD, Oski FA. The basis of defective oxygen delivery from stored blood.  
Surg Gynecol Obstet 1970 ; 137 : 733-41.
- 311- Valeri CR, Collins FB. The physiologic effect of transfusing preserved red cells with low 2,3-diphosphoglycerate and high affinity for oxygen.  
Vox Sang 1971 ; 20 : 397-403.
- 312- Latham JT Jr, Bove JR, Weirich FL. Chemical and hematologic changes in stored CPDA-1 blood.  
Transfusion 1982 ; 22 : 158-9.
- 313- Heddle NM. Febrile nonhemolytic transfusion reactions to platelets.  
Curr Opin Hematol 1995 ; 3 : 478-83.
- 314- Miletic VD, Popovic O. Complement activation in stored platelet concentrates.  
Transfusion 1993 ; 33 : 150-4.

- 315- Schleuning M, Böck M, Mempel W. Complement activation during storage of single-donor platelet concentrates. Vox Sang 1994 ; 67 : 144-8.
- 316- Silliman CC, Clay KL, Thurman GW, Johnson CA, Ambruso DR. Partial characterization of lipids that develop during the routine storage of blood and prime the neutrophil NADPH oxidase. J Lab Clin Med 1994 ; 124 : 684-94.
- 317- Fitzgerald R, Martin C, Dietz G, Doig GS, Potter RF, Sibbald WJ. Transfusing red blood cells stored in citrate phosphate dextrose adenine-1 for 28 days fails to improve tissue oxygenation in rats. Crit Care Med 1997 ; 25 : 726-32.
- 318- Fitzgerald R, Potter RF, Dietz G, Sibbald WJ. Animal models for blood transfusion: a model for sterile blood sampling in the rat. Acta Anaesthesiol Scand 1997 ; 111 : 253-6.
- 319- Chin-Yee I, Martin C, d'Almeida M, Kovacs M, Dietz G, Sibbald W. An animal model for evaluation of the efficacy of red cell (RBC) transfusion. Blood 1995 ; 86 : 446a.
- 320- Fratantoni JC. Points to consider in the safety evaluation of hemoglobin-based oxygen carriers. Transfusion 1991 ; 31 : 369-71.
- 321- National Institutes of Health. NIH consensus development summaries. Fresh-frozen plasma. Indications and risks. Conn Med 1985 ; 49 : 295-7.
- 322- Marik PE, Sibbald WJ. Effect of stored-blood transfusion on oxygen delivery in patients with sepsis. JAMA 1993 ; 269 : 3024-9.
- 323- Martin CM, Sibbald WJ, Lu X, Hébert PC, Schweitzer I. Age of transfused red blood cells is associated with ICU length of stay. Clin Invest Med 1994 ; 17 : B21.
- 324- Purdy FR, Tweeddale MG, Merrick PM. Association of mortality with age of blood transfused in septic ICU patients. Can J Anaesth 1997 ; 44 : 1256-61.
- 325- Vamvakas EC, Carven JH. Transfusion and postoperative pneumonia in coronary artery bypass graft surgery: effect of the length of storage of transfused red cells. Transfusion 1999 ; 39 : 701-10.