

UNIVERSITE DE NANTES
Faculté de Médecine

LES XÉNOTRANSFUSIONS

Passé et Présent

THESE DE DOCTORAT

Ecole doctorale de Chimie Biologie

Discipline : Médecine

Spécialité : Histoire de la Médecine et Ethique Médicale

Présentée et soutenue publiquement par :

Françoise A. ROUX

Le 1^{er} avril 2008

Jury :

Rapporteurs : Mme. Catherine LARRERE, Professeur, Université de Paris I
M. François LACHAPELLE, DR INSERM, Paris VI

Examineurs : M. François RESCHE, Professeur, Université de Nantes
Mme. Marie-Angèle HERMITTE, DR CNRS, Université de Paris I

Co-Directeur : M. Jack-Yves DESCHAMPS, MC, Ecole Vétérinaire de Nantes

Directeur : M. Pierre SAÏ, Professeur, Ecole Vétérinaire de Nantes

TABLE DES MATIERES

Première Partie

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : LES TRANSFUSIONS - SUCCES ET LIMITES

I. Don du sang et transfusions	9
II. Risques de complications	12
III. Risque infectieux	15
IV. Prévention du risque infectieux	22
V. Coût de la transfusion	30
VI. Solutions aux problèmes liés à la transfusion	33

Chapitre 2 : HISTOIRE DES XENOTRANSFUSIONS

I. Les travaux de Jean-Baptiste Denis	41
II. Autres tentatives	44
III. Résurrection par la transfusion de sang animal	47
IV. Découverte de l'incompatibilité des sangs hétérologues	47
V. L'âge d'or de la XTF	48
VI. Abandon	51
VII. Dhaniram Baruah	51

Chapitre 3 : GRANDES ÉTAPES DE LA XENOTRANSPLANTATION

I. Les premières XTs de tissus	53
II. XTs de testicules	54
III. XTs d'organes	54
IV. La période contemporaine	56
V. Xénoperfusions	61
VI. XTs tissulaires et cellulaires	62
VII. L'ère moderne : Prise de conscience des problèmes éthiques	63

Chapitre 4 : LA XENOTRANSFUSION AUJOURD'HUI

I. Intérêts potentiels de la XTF	66
II. Espèces animales pressenties	69
III. Risque infectieux	76
IV. Le rejet	87

Chapitre 5 : ETHIQUE DES XENOTRANSFUSIONS

I. L'utilisation d'un animal comme source de sang est-elle acceptable ?	102
II. Le risque infectieux associé à la XTF est-il acceptable ?	107
III. Le passage aux essais cliniques de XTF est-il acceptable ?	109
IV. La production de porcs transgéniques pour la XTF est-elle acceptable ?	111
V. La XTF est-elle une nécessité ?	113

Deuxième Partie

PUBLICATIONS

Article 1

Xenotransfusions. Past and Present

116

Françoise Roux, Pierre Sai, Jack-Yves Deschamps
Xenotransplantation, 2007; 14: 208–216

Article 2

History of Xenotransplantation

127

Jack-Yves Deschamps, Françoise Roux, Pierre Sai, Edouard Gouin
Xenotransplantation, 2005; 12: 91–109

Article 3

Some ethical issues regarding Xenotransfusion

150

Françoise Roux, Pierre Sai, Jack-Yves Deschamps
Xenotransplantation, 2007; 14: 217–221

Article 4

Reluctance of French patients with type 1 diabetes to undergo pig pancreatic islet Xenotransplantation

157

Jack-Yves Deschamps, Françoise Roux, Edouard Gouin, Pierre Sai
Xenotransplantation, 2005; 12: 175–180

Article 5

Multiple red cell transfusions in cats : 27 cases (2003-2006)

168

Françoise Roux, Jack-Yves Deschamps, Marie-Claude Blais, Diane Welsh,
Armelle DeLaforcade-Buress, Elizabeth Rozanski
Journal of Feline Medicine and Surgery, 2007, accepted for publication

Listes des abréviations

α Gal =	\langle -1,3-galactose
α GalT :	\langle -1,3-galactosyltransferase
Ac :	Anticorps
Ag :	Antigène(s)
NeuGc :	N-glycolylneuraminic acid
PEG :	Polyethylene Glycol
PERV :	Porcine Endogenous Retroviruses
bRBCs :	Bovine Red Blood Cells = Hématies de bovins
pRBCs :	Porcine Red Blood Cells = Hématies de porcs
RBCs :	Red Blood Cells
XNA :	Xenoreactive Natural Antibodies
XTF :	Xenotransfusion(s)
XT :	Xenotransplantation(s)

INTRODUCTION

Introduction

La transfusion sanguine est un acte extrêmement courant en milieu hospitalier, aussi bien en chirurgie, qu'en traumatologie ou en soins intensifs. Cette banalisation s'explique par les bénéfices de la transfusion et par la grande sécurité associée à cette pratique. En effet, les problèmes immunitaires et infectieux liés à la transfusion sanguine sont aujourd'hui bien maîtrisés. Cependant, une actualité encore récente, l'affaire du sang contaminé par le virus du SIDA, rappelle à quel point le risque infectieux demeure préoccupant. La bonne gestion de ce risque et les avancées médicales conduisent à transfuser davantage ce qui pose le problème de l'approvisionnement en sang. Le risque infectieux et l'approvisionnement en globules rouges sont les deux principales limitantes au succès de la transfusion. Parmi les solutions alternatives, l'utilisation d'une source de sang d'origine animale a récemment été envisagée. On parle de **xénotransfusion**, transfusion sanguine d'une espèce à une autre. Ce travail de thèse se propose de faire la synthèse des données sur la transfusion de sang animal à l'homme.

La première partie s'attachera à faire le point sur les connaissances actuelles en matière de xénotransfusion ainsi que sur les pratiques passées.

- Le premier chapitre sera consacré à **la transfusion sanguine**, allotransfusion, telle qu'elle est pratiquée dans les pays développés, particulièrement en France et aux Etats-Unis. L'accent sera mis sur les difficultés associées à cette pratique, difficultés qui conduisent à la recherche d'alternatives comme la xénotransfusion.
- Le deuxième chapitre exposera **l'histoire des xénotransfusions** montrant que l'utilisation de sang d'origine animale a précédé de beaucoup l'utilisation de sang humain pour la transfusion à l'Homme. L'identification des phénomènes d'incompatibilité a conduit à l'abandon des xénotransfusions au début du XX^e siècle.
- **Les xénotransplantations d'organes, de tissus et de cellules** ont connu des débuts plus laborieux que nous exposerons dans le troisième chapitre afin de montrer dans quel contexte la XTF est à nouveau considérée en ce début de XXI^e siècle.
- Le quatrième chapitre exposera les **obstacles à la xénotransfusion**. Seront abordés le choix de l'espèce donneuse puis la maîtrise des phénomènes infectieux et de rejet. La comparaison sera faite avec les obstacles qui s'opposent à la xénotransplantation d'organes.
- Le cinquième chapitre traitera des **aspects éthiques** de la XTF en abordant l'utilisation de l'animal, la transgénèse, les essais cliniques, le risque infectieux, l'acceptabilité sociale ainsi que la pertinence de la XTF.

La seconde partie de cette thèse sera consacrée à l'exposé et aux commentaires de nos publications sur la xénotransfusion, la xénotransplantation et la transfusion sanguine.

- Le premier article concerne **l'histoire des xénoTransfusions**. Il commence par la première transfusion pratiquée à un homme avec du sang d'agneau et se termine par la seule expérience récente avec cette fois du sang de porc. La deuxième partie de cet article expose **les données scientifiques actuelles** concernant la xénotransfusion et les obstacles qu'il reste à franchir.
- Le deuxième article concerne **l'histoire de la xénoTransplantation** et permet d'expliquer le contexte dans lequel survient le regain d'intérêt pour la XTF.
- Le troisième article traite de **l'éthique des xénoTransfusions** et compare les questions éthiques soulevées à celles rencontrées lors de la XT d'organes.
- Une quatrième publication étudie **l'acceptabilité sociale de la XT cellulaire** et tissulaire chez des patients diabétiques de type 1, comme modèle d'acceptabilité de cellules xénogènes.
- Une dernière publication, spécifiquement vétérinaire, concerne la **transfusion de larges volumes de sang** chez des chats en soins intensifs et souligne la difficulté d'approvisionnement lors de besoins importants dans cette espèce. La XTF pourrait être une solution pour la transfusion de grands volumes.

* * *

Première Partie

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1

LES TRANSFUSIONS

SUCCÈS ET LIMITES

Le développement d'une nouvelle technique médicale naît d'un besoin ou est la conséquence d'une avancée technologique. L'utilisation de sang animal pour la transfusion humaine est supposée pallier certaines insuffisances du système actuel de transfusion. Nous nous proposons dans cette première partie de rappeler les caractéristiques des systèmes de transfusion dans les pays occidentaux puis d'exposer les limites de ces dispositifs (risques infectieux, risques immunitaires, pénurie, etc.), limites qui justifient la recherche de solutions alternatives.

I. DON DU SANG ET TRANSFUSIONS

A. Le don du sang

1. Sous la tutelle d'un organisme public

En France, la collecte du sang et sa distribution sont gérées par un organisme public : **l'Établissement Français du Sang** (EFS). Il a pour mission de gérer le service public transfusionnel en veillant à la satisfaction des besoins en matière de produits sanguins labiles et à l'adaptation de l'activité transfusionnelle aux évolutions médicales, scientifiques et technologiques dans le respect des principes éthiques. Il est composé d'un siège et de 18 établissements (14 en métropole et 4 dans les DOM) qui assurent les activités de transfusion sanguine dans toute la France : activité de prélèvement du sang et de ces composants, de préparation et de qualification des produits sanguins labiles, ainsi que leur distribution aux établissements de santé et activités annexes.

2. Caractéristiques du don

Les bonnes pratiques transfusionnelles sont gérées par des textes normatifs.

http://www.efs.sante.fr/BPT_integral.pdf

Le don est **anonyme** : seul l'EFS connaît l'identité du donneur et du receveur. Il n'est pas possible de donner son sang pour une personne déterminée. En France et dans la majorité des pays développés, le don est **volontaire et gratuit**, il ne peut être rémunéré. Une rémunération existe dans d'autres pays.

L'Organisation Mondiale de la Santé (**OMS**) a adopté en 1997 **l'objectif des 100% de dons de sang volontaires non rémunérés**. La Journée mondiale du don de sang, célébrée chaque année le 14 juin, vise à aider les gouvernements à atteindre cet objectif en sensibilisant l'opinion à la nécessité d'un approvisionnement durable en sang sécurisé. Cette journée est aussi l'occasion de remercier les donateurs pour leur précieux cadeau à ceux dont ils ont amélioré ou sauvé la vie, et d'encourager d'autres donateurs à s'engager.

Le 14 juin 2006, lors de la Journée mondiale du don de sang, l'OMS a publié les résultats de son **enquête mondiale la plus récente sur le don du sang**. Les donateurs réguliers non rémunérés sont le pilier d'un approvisionnement durable en sang non contaminé car ils sont moins susceptibles de mentir sur leur état de santé. Selon les données disponibles, ils sont aussi plus enclins à vivre sainement. En Afrique du Sud, par exemple, le taux d'infection à HIV dans la population adulte est de 23,3% contre 0,03% seulement chez les donateurs de sang réguliers. L'enquête de l'OMS montre que sur les 124 pays qui ont communiqué des données à l'OMS, 56 ont vu augmenter le nombre des dons volontaires non rémunérés. Dans les 68 pays restants, le nombre des donateurs volontaires non rémunérés est resté stationnaire ou a marqué un recul. Sur les 124 pays, 49 ont atteint l'objectif de 100% de dons volontaires non rémunérés. Sur ces 49 pays, 17 seulement proviennent des pays en développement.

Le nombre de dons pour 1000 habitants est environ 15 fois plus élevé dans les **pays à haut revenu** que dans les pays à faible revenu. Cela est d'autant plus préoccupant que les pays en développement ont davantage besoin d'un approvisionnement durable en sang sécurisé car de nombreuses maladies nécessitant des transfusions sanguines – l'anémie liée au paludisme grave chez les enfants ou les complications graves de la grossesse, par exemple – font encore plus d'un million de morts chaque année. Environ 25% des décès dus à des hémorragies sévères pendant l'accouchement pourraient être prévenus si l'accès à du sang sécurisé était assuré.

Plusieurs pays, en revanche, ont relevé le défi.

Sainte Lucie a fait les **progrès les plus spectaculaires**, passant de 24,39% de sang prélevé sur des volontaires non rémunérés en 2002 à 83,05% en 2004.

La Malaisie est passée de 50% en 2002 à 99% en 2004 et l'Inde de 45% à 52,42%. Selon les réponses des pouvoirs publics au questionnaire de l'OMS, la raison des progrès tient au renforcement des programmes de prévention du SIDA.

La Chine a enregistré une augmentation des dons volontaires non rémunérés de 22% en 1998 à 94,5% en 2005. Les progrès de la Chine sont liés en particulier à la réduction du commerce de sang et de plasma, limitant au maximum les prélèvements et la distribution de sang en dehors de toute réglementation dans tout le pays, et renforçant la prévention du HIV.

B. La Transfusion en chiffres

Sources:

http://www.dondusang.net/rapport_activite_2005.htm

<http://www.dondusang.com/Stat.htm>

En France, en 2002, les donneurs représentent **4% de la population** en âge de donner (18-65). Ce sont des hommes (57%), des personnes mariées (68%), de plus de 35 ans (60%), des citadins vivant dans des villes de moins de 20 000 habitants (62%), des ouvriers, employés, professions intermédiaires (58%). Le nombre moyen de dons par personne est de 1,7 par an.

En 2002, les besoins des établissements hospitaliers ont été satisfaits avec 2 471 875 produits sanguins labiles : 78,5% de concentrés de globules rouges allant à près de 500 000 patients (accidentés, anémies, leucémies, chimiothérapie) ; 8% de plaquettes destinées à environ 40 000 greffés, hémophiles et leucémiques ; et 10,5% de plasma nécessaire à 40 000 autres patients ayant des troubles de la coagulation, aux brûlés, aux accidentés. 3% des prélèvements concernent du sang autologue, prélevé sur le patient et destiné à lui être réinjecté lors d'une chirurgie programmée. Le Laboratoire Français du Fractionnement et des Biotechnologies a également traité 518 000 litres de plasma pour fabriquer facteurs de coagulation, des anticorps etc.

En 2006, 34% des donneurs ont moins de 30 ans et 67.2% des nouveaux donneurs sont des jeunes. 50,2% des dons sont à l'initiative des femmes. Jusqu'à 30 ans, les femmes sont plus nombreuses que les hommes, entre 30 et 39 ans c'est la parité, au-delà ce sont les hommes qui sont plus nombreux.

Jusqu'en 2002, **la consommation** des établissements hospitaliers **a nettement diminué** (4 218 000 en 1980 ; 2 471 875 en 2002). Ceci est certainement dû à la réalisation de transfusions plus réfléchies, des indications plus affinées, la récupération per-opératoire du sang et la crainte du risque infectieux notamment à la suite de l'affaire du sang contaminé.

Depuis 2003, on assiste à une tendance inverse. La France tend à transfuser de plus en plus même si elle reste le pays européen qui transfuse le moins. Plusieurs facteurs expliquent cette **augmentation des besoins** : augmentation de la qualité des soins, recours plus systématique à la transfusion grâce à une confiance retrouvée, augmentation de la qualité des soins, vieillissement de la population. Le nombre de dons est en diminution mais l'approvisionnement des établissements de santé a pu être effectué grâce à une gestion rigoureuse des produits prélevés.

En 2005, l'Etablissement français du sang réalisait 2 176 018 prélèvements de sang total pour une cession de 2 013 863 de culots globulaires rouges. Les cessions sont en augmentation constante tandis que les dons diminuent légèrement.

En 2007, on estime qu'il est nécessaire de mobiliser 200.000 candidats supplémentaires au don pour faire face aux besoins.

En France, en 2005

- **1,5 million de personnes ont donné leur sang**
soit 4% de la population en âge de donner (18-65ans)
- **1,855 million de culots globulaires rouges ont été transfusés**
- **Le nombre moyen de dons par an et par donneur est de 1,67**
- **Le taux de refus à l'issue de l'entretien médical est de 8.8%**

Aux Etats-Unis, environ **15 millions d'unités** de produits sanguins sont collectées chaque année pour 3 à 4 millions de bénéficiaires. Les donneurs représentent 5% de la population en âge de donner. Le don moyen par an est de 1,68 pour les hommes et 1,53 pour les femmes. Les Etats-Unis souffraient d'une pénurie de 1,2 millions d'unités en 2001, soit près de **8% des besoins** qui **ne sont pas satisfaits** par le don. En 1999, ce chiffre était de 9% mais les événements du 11 septembre 2001 ont encouragé le don. Le taux de don par donneur éligible était de +9% en 2001 par rapport à 1999, mais parallèlement les besoins en sang pendant la même période ont augmenté de 10% (Sullivan 2005; Sullivan 2007). Les besoins en transfusion augmentent de 5 à 7% chaque année, sans que les dons augmentent proportionnellement (McCarthy 2007).

* * *

II. RISQUES DE COMPLICATIONS

Les transfusions sont à associées à des risques infectieux et non-infectieux.
Le risque non-infectieux est plus élevé malgré une croyance générale.

A. Le Risque non-infectieux

Les complications non-infectieuses sérieuses sont bien **plus fréquentes** que la transmission d'agents infectieux. Parmi ces complications, on peut citer les erreurs de compatibilité ABO provoquant des réactions hémolytiques, le TRALI (Transfusion Related Acute Lung Injury) la surcharge volumique, le purpura et le rejet. Les complications non-infectieuses immédiates surviennent dans moins d'un cas sur 1.000 transfusions, et les complications retardées surviennent chez moins d'1% des transfusés (Eder 2007). Eder a passé en revue le **risque non-infectieux** associé à la transfusion à partir des données de la littérature (Eder 2007) (Cf. Tables page suivante).

En France, une étude menée sur la **mortalité lié à la transfusion chez les patients chirurgicaux**, a montré une prédominance de la mortalité causée par les risques non-infectieux, avec seulement 2 morts liés au cytomegalovirus et 4 morts liés au virus de l'hépatite B entre 1995 et 2002.

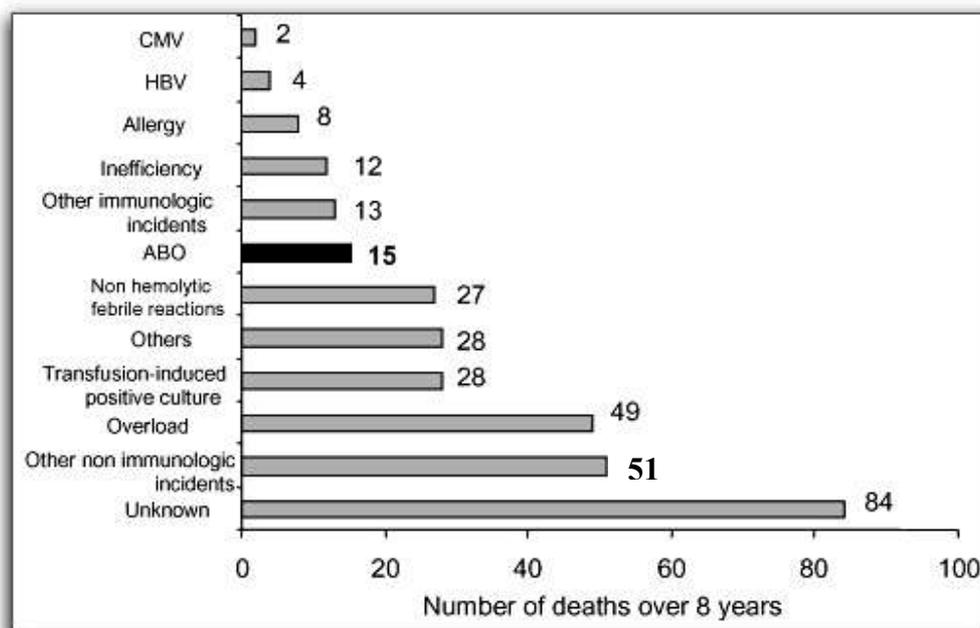


Figure 1 : Décès liés à la transfusion de patients chirurgicaux sur une période de huit ans, données de l'Hémovigilance française : 1995- 2002.
Extrait de Auroy (Auroy 2007)

Risk	Published Rates†
Early Complications: Onset During or Within Hours of Transfusion	
Febrile nonhemolytic nonseptic transfusion reaction	0.12% of transfusions, all components, all patients ⁶¹ ; 1.1% of RBC and 1.7% of apheresis platelet transfusions ⁴ ; 1 in 1K RBC transfusions ⁶² ; 0.11% of RBC and 0.13% of platelet pool transfusions ¹ ; 2.15% of RBC and 1.58% of apheresis platelet transfusions ⁶³ ; 0.19% of RBC and 0.11% of whole blood-derived platelet (per unit) transfusions ⁴ ; 0.19% of RBC transfusions ⁷
Circulatory (volume) overload‡	1.1% of total knee or hip replacement surgery patients ⁶ ; 1 in 2K RBC and 1 in 6K platelet pool recipients ¹ ; fatal events, 1 per 4.5 million ⁶⁴
Hemolysis of incompatible red blood cells	1 per 186K RBC transfusions ⁵ ; 1 in 100K RBC transfusions ¹² ; 1 per 13K RBC transfusions ¹ ; fatal events, 1 per 1.3 to 1.7 million ⁶⁵
Hemolysis from incompatible plasma	1 in 46K platelet transfusions at 21% plasma incompatible ⁶⁶ ; fatal events, 1 per 8 million ⁶⁷
Transfusion-related acute lung injury	1 in 5K transfusions ^{22,23} ; 1 in 196K transfusions (possible, probable, or highly likely cases) ² ; 1 in 1K transfusions ²⁵ ; 1 in 143K RBC and 1 in 16K platelet pool transfusions ¹ ; fatal events, 1 per 3–6.6 million ⁶¹
Allergic reaction, mild	1 in 4K components ⁶⁸ ; 4.8% of platelet transfusions ¹² ; 0.41% of RBC and 3% of platelet transfusions ⁴
Allergic reaction, severe; anaphylactic reaction	1 in 30K transfusions ⁶⁹ ; 1 in 25K RBC and 1 in 2K platelets ¹
Electrolyte abnormalities‡	No published frequencies
Coagulation abnormalities‡	No published frequencies

Table 1 : Complications non-infectieuses IMMEDIATES liées à la transfusion sanguine. Extrait de Eder (Eder 2007).

Late Complications: Onset Days to Months Following Transfusion	
Formation of red cell antibodies	12% of patients and 1 antibody per 210 RBCs transfused, in patients receiving 6 or more RBCs ⁷⁰ ; 9% of patients and 0.5% per RBC transfused ⁷¹ ; 22% of Asian patients with thalassemia after 5 or more years of chronic transfusion ⁷² ; fatal events, 1 per 1.8 million. ⁶¹ Delayed hemolytic transfusion reactions: 1 per 113K RBC transfusions ² ; 1 in 9K RBC transfusions ⁴¹ ; 1 in 5K RBC transfusions ⁷³ ; 1 in 9K RBC transfusions ¹
Secondary complications:	
Delayed hemolytic transfusion reaction	
Hyperhemolysis syndrome	
Hemolytic disease of the fetus and newborn	
Difficult crossmatching complicating transfusion support	
Iron overload	Essentially all patients chronically transfused with RBCs ⁷⁴
Immune suppression	All patients show some immunosuppressive changes in natural killer and lymphocyte subset number, phenotype, and/or function ^{1,486-491}
Secondary complications:	
Possible increased infection risk	
Possible increased mortality	
Possible increased cancer recurrence	
Formation of HLA antibodies	15.4% of cardiac surgery patients ⁷⁵ ; 7% of leukemia or stem cell transplant patients with universal leukoreduction and 14% without leukoreduction ⁷⁶ ; 12% of hematology-oncology patients who received multiple transfusions ⁷⁷ ; 10.6% of all recipients ⁷⁸ ; 53% of chronically transfused thalassemia patients ⁷⁹
Secondary complications:	
Platelet transfusion refractoriness	
Neonatal alloimmune thrombocytopenia	
Difficult matching for organ or marrow transplantation	
Formation of platelet-specific antibodies	0.85% of cardiac surgery patients ⁷⁵ ; 24% of chronically transfused thalassemia patients ⁷⁹
Secondary complications:	
Platelet transfusion refractoriness	
Neonatal alloimmune thrombocytopenia	
Posttransfusion purpura	
Graft-versus-host disease	Less than 1 per million transfusions ⁸⁰ ; fatal events 1 per 10 million ⁸¹

* RBC indicates red blood cell; K, thousand; and HLA, human leukocyte antigen.
† Assuming use of leukoreduced cellular components unless otherwise indicated. Rates greater than 1 per thousand expressed as percentages; rates less than 1 per thousand expressed as "1 in x" with x rounded to the nearest thousand.
‡ These complications are clearly not avoided with substitution of autologous transfusion for allogeneic transfusion.

Table 2 : Complications non-infectieuses RETARDEES liées à la transfusion sanguine. Extrait de Eder (Eder 2007).

B. Le Risque infectieux

Bien que très inférieur au risque non-infectieux, le risque infectieux, et en particulier la crainte du HIV, sont perçues par l'opinion publique comme le principal risque lié à la transfusion (Lee 2006). Pourtant, **les produits sanguins** des Etats-Unis et autres pays développés **n'ont jamais été aussi sûrs**. Ces dernières années, des progrès considérables ont été réalisés pour diminuer le risque de transmission d'agents infectieux. Ces progrès ont été permis grâce à :

- des recherches sur la caractérisation des agents pathogènes transmissibles,
- des stratégies pour mesurer les taux d'infection des donneurs et receveurs,
- la caractérisation de la virémie,
- des critères plus stricts d'éligibilité des donneurs
- des tests de dépistage en laboratoire plus sensibles.

La supervision par la FDA (Food and Drug Administration) a été renforcée, accroissant l'assurance de la qualité et de la sûreté des transfusions. De nouvelles méthodes de réduction des pathogènes sont sans cesse développées pour essayer d'éliminer le risque de transmission d'agent infectieux connus et non encore identifiés (Busch 2003).

Le risque infectieux concerne :

- des bactéries,
- des virus : HIV, hépatites, cytomégalovirus etc.,
- des parasites : protozoaires, parasites transmis par les tiques,
- les prions,
- les agents encore inconnus.

En France, l'institut de veille sanitaire, en collaboration avec l'Etablissement Français du Sang et le service de Santé des Armées, répertorie le nombre de cas de transmissions de maladies virales par la transfusion. Une étude récente a révélé la diminution du risque infectieux résiduel de transmission du HIV, de l'hépatite B et l'hépatite C par la transfusion en France entre 1995 et 2003 (Pillonel 2005). Le **risque résiduel** est extrêmement faible avec un risque de transmission de **1 sur 3,15 millions de dons pour le HIV**, 1 sur 10 millions de dons pour l'hépatite C et 1 sur 640.000 dons pour l'hépatite B (période 2001-2003).

En France toujours, en 2002, selon les données fournies par l'hémovigilance, sur les 2.543.416 prélèvements effectués,

- 7,6 % ont été détruits, dont 3,4 % pour anomalies biologiques.
- Le risque résiduel de transmission des virus de l'hépatite C et du HIV est, après introduction du diagnostic génomique viral en 2002 (NAT), de 1 sur 5 millions de produits distribués.
- Le risque bactérien, lié souvent aux bactéries de la peau, est estimé à 1 sur 210.000 produits distribués.
- Le nombre de **morts liés aux transfusions est de 3 par million de produits** distribués.

Aux Etats-Unis, en 2001-2002 le risque estimé par unité, est de 1 pour 1,8 millions pour le HIV, de 1 pour 1,6 millions pour l'hépatite C et de 1 sur 220.000 pour l'hépatite B (Busch 2003).

III. RISQUE INFECTIEUX

A. L'infection par des VIRUS

1. Le HIV et l'affaire du sang contaminé

Le HIV (Human Immunodeficiency Virus) est un lentivirus provenant du singe ; le HIV-2 est un virus du chimpanzée (Genre *Pan*), tandis que le HIV-1 est un virus du mangabey (Genre *Lophocebus*) (Gao 1999). L'affaire du sang contaminé illustre les risques associés à des agents infectieux pathogènes encore inconnus. L'épidémie de **SIDA** est apparue dans les années 1980. Il fallut quelques années avant que l'on découvre ses modes de transmission, et que des tests de dépistage soient disponibles à partir de 1985. Le drame du **sang contaminé** s'est transformé en "scandale" en avril 1991, lorsque la journaliste Anne-Marie Casteret publie dans l'hebdomadaire *L'Evènement du Jeudi* un article prouvant que le Centre National de Transfusion sanguine (CNTS) a sciemment distribué à des hémophiles, de 1984 à fin 1985, des produits sanguins contaminés par le virus du SIDA. Le risque de transmission du virus HIV par la transfusion sanguine est ainsi devenu la crainte majeure de l'opinion publique face à la transfusion sanguine (Lee 2006).

2. Le HTLV-1

Le human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-I) est un **rétrovirus**. Sa prévalence d'infection aux USA est à peu près la moitié de celle du HIV chez les drogués et 10% celle du HIV dans la population générale. Elle est de l'ordre de 10 à 30% chez les populations indigènes d'Australie centrale et du Nord. Le virus est endémique au Japon, Pérou, Caraïbes et en Afrique. Ce virus est transmissible par voie sanguine (Gasmi 1997; Cowan 1998).

3. L'hépatite C

Le virus de l'hépatite C (VHC) a été découvert en 1989 par les équipes de Michael Houghton et de Daniel W. Bradley. Il s'agit de l'agent des hépatites virales qui, jusqu'à cette date, étaient étiquetées "hépatites non A non B". Ce virus est transmissible par voie hématogène. Le risque de transmission par la transfusion sanguine était élevé avant 1992, date à laquelle le dépistage systématique a été mis en place en France.

4. L'hépatite B

Le virus de l'hépatite B (VHB) est un virus à ADN, très résistant et fortement contagieux, 100 fois plus que celui du SIDA. Selon l'OMS, il y aurait 350 millions de porteurs du virus dans le monde. En France, on estime à 300.000 le nombre de personnes porteuses chroniques et à 100.000 nouveaux cas de formes aiguës dont 10.000 à 15.000 avec une expression clinique chaque année. Le risque de transmission par la transfusion a fortement diminué depuis le dépistage systématique instauré à la fin 1985.

5. Le virus West Nile (ou virus du Nil occidental)

Le virus West Nile est transmis à l'homme par les moustiques ; il est responsable d'une fièvre brutale parfois aggravée d'encéphalites pouvant être mortelles. Il s'est récemment illustré en émergeant pour la première fois sur le continent américain, lors d'une épidémie survenue à New-York en 1999 (62 cas dont 7 décès). Il s'est ensuite considérablement répandu aux Etats-Unis, touchant plus de 9.000 personnes dans 44 états en 2003 dont 2866 cas d'encéphalites et 264 décès. En 2004, toujours aux Etats-Unis, il a infecté 2470 personnes et provoqué 88 décès. Le virus avait précédemment été trouvé dans diverses régions du globe, en Afrique, au Moyen-Orient, en Inde, et en Europe.

(<http://www.pasteur.fr/actu/presse/documentation/westnile.html>).

En 2003, seulement **6 cas de transmission** par la transfusion sanguine ont été rapportés aux Etats-Unis, sur environ 12,3 millions d'unités données et 23 millions de transfusions sanguines (Montgomery 2006). Le dépistage a été systématique depuis 2003 aux USA.

6. Le Cytomégalovirus

Le cytomégalovirus est un herpès **virus bêta** qui infecte entre 40 et 90% de la population. L'infection est le plus généralement bénigne, mais le virus peut rester des années à l'état latent dans les granulocytes et monocytes et donc être transmis par transfusion sanguine. La forme clinique peut être grave chez les patients immunodéprimés (Roback 2006).

7. Les autres virus

De nombreux autres virus sont potentiellement transmis par voie sanguine mais ne font pas l'objet d'un dépistage systématique. (ex: virus de l'hépatite G, virus de l'hépatite E, Parvovirus B19, herpès virus d'Epstein-Barr, etc.).

* * *

B. L'infection par des BACTERIES

1. La syphilis

Aucun cas de syphilis n'a été rapporté dans les pays développés depuis plus de 40 ans (Chambers 1969). La question de la perpétuation de son dépistage systématique se pose (Orton 2001).

2. Les autres contaminations bactériennes

Depuis que le risque de transmission du HIV et de l'hépatite C a diminué, les complications bactériennes, jusque-là considérées comme relativement mineures, sont devenues le **principal objet de préoccupations** (Jacobs 2001).

Les réactions transfusionnelles dues à des contaminations bactériennes ont été parmi les **premières complications** reconnues en matière de transfusion. Bien que les avancées technologiques aient considérablement diminué l'incidence de ces contaminations, les bactéries restent les micro-organismes les plus communs dans le sang (Blajchman 2001; Brecher 2005).

Les **concentrés plaquettaires** étant stockés à température ambiante, ils constituent un excellent milieu de culture pour les bactéries. Ce sont de loin, les produits sanguins les plus susceptibles de transmettre une infection bactérienne. Le sepsis représente 10 à 40% des cas de transfusion de plaquettes contaminées et le risque de décès est estimé à 1 sur 2.500 à 1 sur 100.000 (Kuehnert 2001; Perez 2001). Des cultures sur des concentrés plaquettaires après plusieurs jours de stockage ont montré une prévalence d'infection de 0,02 % à 0,72%.

La fréquence des contaminations bactériennes est difficile à estimer, car à l'inverse des virus, les bactéries sont une cible dynamique, souvent inactivées par l'antibiothérapie que reçoit déjà le malade. Des cultures réalisées sur des prélèvements effectués immédiatement après la collecte sanguine révèlent un **taux élevé de contamination de l'ordre de 1 à 2 %** (Bruneau 2001). Cependant, toutes ces bactéries ne vont pas survivre durant le stockage du sang. Les conséquences cliniques de la transfusion d'un produit sanguin contaminé par des bactéries dépendent de la pathogénicité et de la concentration bactérienne, ainsi que du statut immunitaire du patient et du fait qu'il reçoive des antibiotiques.

Les données d'études provenant de centres de surveillance nationaux, comme le Serious Hazard of Transfusion (SHOT) anglais, le BACTHEM français et Bacterial Contamination Study (BaCon) américain, suggèrent que des réactions transfusionnelles sévères liées à la contamination bactérienne interviennent dans 1 cas sur 10.000 transfusions avec 1 cas fatal sur 100.000 à 1.000.000 (Williamson 2000; Kuehnert 2001; Perez 2001).

En cas de suspicion, l'**hémoculture** du patient et celle de la poche incriminée doivent être réalisées. Les cultures bactériennes systématiques ne sont effectuées que sur les concentrés plaquettaires (Rao 2007). Cette mesure est obligatoire depuis mars 2004 aux USA.

Les bactéries les plus souvent rencontrées sont les bactéries à **Gram positif** présentes dans la flore cutanée et ubiquitaire dans l'environnement. Cependant, une variété de microorganismes a été rapportée (Wagner 2005).

Les réactions induites par des endotoxines des bactéries **Gram négatif** sont particulièrement sévères. Dans les cas de sepsis induit par la transfusion, ce sont le plus souvent les bactéries Gram-négatifs qui sont incriminées avec surtout la Yersiniose (Whelen 2000).

Comme la majeure partie des bactéries provient de la **peau du donneur**, une désinfection soignée est de rigueur. La nature du désinfectant, ainsi que la méthode employée ont leur importance (Goldman 1997; McDonald 2001). Le retrait du premier aliquote prélevé, risquant de contenir un fragment tissulaire cutané pourrait réduire le taux de contamination (Bruneau 2001).

Organism	No. of contaminated units in:			Total no.
	United States	United Kingdom	France (29 isolates, 25 implicated units)	
Gram positive				
Coagulase-negative staphylococci	2 (1)	2	3	7 (1)
<i>Streptococcus</i> spp.			4 ^d	4
<i>Staphylococcus aureus</i>			2 ^b	2
<i>Enterococcus faecalis</i>			1 ^c	1
<i>Bacillus cereus</i>			2	2
<i>Propionibacterium acnes</i>			1	1
Subtotal	2 (1 or 50%)	2 (0 or 0%)	13 (0 or 0%)	17 (1 or 6%)
Gram negative				
<i>Serratia liquifaciens</i>	2 (2)	1	2 (1)	5 (3)
<i>Serratia marcescens</i>	1			1
<i>Yersinia enterocolitica</i>		1 (1)	1	2 (1)
<i>Enterobacter</i> spp.			1 (1)	1 (1)
<i>Acinetobacter</i> spp.			5 (1) ^b	5 (1)
<i>Pseudomonas</i> spp.			2 (1)	2 (1)
<i>Escherichia coli</i>			3 ^c	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>			1	1
<i>Proteus mirabilis</i>			1	1
Subtotal	3 (2 or 67%)	2 (1 or 50%)	16 (4 or 25%)	21 (7 or 33%)
Total	5 (3 or 60%)	4 (1 or 25%)	29 (4 or 14%)	38 (8 or 21%)

^a Summary of organisms identified in the BACON, SHOT, and BACTHEM studies (35, 51, 57). Numbers and percentages of fatalities are given in parentheses.
^b In one case, *S. aureus* and *A. baumannii* were both isolated from the implicated bag.
^c In one case, *E. faecalis* and *E. coli* were both isolated from the implicated bag.
^d In two cases, two isolates of *Streptococcus* were isolated from the implicated bag. Of the eight reported fatalities, seven (87.5%) were due to gram-negative organisms.

Table 3 : Organismes isolés de cellules sanguines impliquées dans les infections transmises par la transfusion
Extrait de Brecher (Brecher 2005)

Les méthodes de **détection bactérienne** employée juste après la collection doivent être très sensibles car la quantité de bactéries présentes est souvent infime (moins de 10 CFU/ml). La plupart des bactéries vont être détectées après 24-48 heures de culture dans les concentrés plaquettaires (Brecher 2000). Les méthodes utilisées dans les centres de transfusion sanguine, à l'hôpital, juste avant la transfusion, n'ont pas besoin d'être très sensibles car les bactéries ont eu le temps de proliférer pendant le stockage. Les méthodes couramment employées juste avant la transfusion sont l'inspection visuelle des poches, la coloration de Gram et la mesure du pH et du glucose en utilisant des bandelettes réactives (Rao 2007).

La détection du métabolisme bactérien par mesure des taux d'oxygène dans les poches a un avenir prometteur, mais il semblerait que cette méthode soit moins sensible que la culture (McDonald 2005).

Les méthodes de **réduction des pathogènes** sont capables d'inactiver la plupart des bactéries ayant un impact clinique (Bryant 2007). La question se pose donc en terme de coût : Ne faut-il pas privilégier l'inactivation à la détection (Cazenave 2007) ?

* * *

C. L'infection par les PRIONS

Cas de la variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob

Une variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ), une maladie neurologique dégénérative fatale, a été découverte en Angleterre en 1996 (la maladie de Creutzfeldt-Jakob fut découverte en 1920). L'agent étiologique, un prion, est le même agent que celui de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB), qui fut un problème majeur en santé animale ces dix dernières années. La transmission de l'agent de l'ESB à l'homme et la détection de prions dans des organes lymphoïdes humains ont conduit à émettre l'hypothèse que ce prion pourrait se transmettre par la transfusion sanguine (Turner 2000). La transmission du prion par la transfusion sanguine a été démontrée dans plusieurs modèles animaux (Dodd 2002). Jusqu'en 2004, aucun cas certain de transmission du prion de la maladie de Creutzfeldt-Jakob par la transfusion sanguine n'a été rapporté chez l'homme. Toutefois, la très longue période d'incubation des encéphalopathies spongiformes, ne permettait pas encore d'affirmer définitivement l'absence de transmission. En Angleterre, il semblerait que quelques patients ayant reçu une transfusion sanguine, aient développé la MCJ plusieurs années après, sans que le lien puisse être affirmé avec certitude (Llewelyn 2004). **Un cas de transmission certaine a été décrit en Angleterre en 2006** (Wroe 2006). Depuis 2002, et bien que le risque de transmission du prion de la MCJ était à cette époque encore théorique, les Etats-Unis ont pris des mesures d'éviction des donneurs européens ou ayant voyagé en Europe. Aucun test n'est disponible pour détecter le prion chez des donneurs asymptomatiques. Les méthodes classiques de réduction des pathogènes visant les acides nucléiques et les enveloppes des virus ne sont pas efficaces contre le prion mais de nouveaux filtres de leucoréduction encore à l'étude, semblent montrer une réelle efficacité (Bryant 2007).

La variante de la MCJ est un exemple de transmission inter-spécifique d'un agent pathogène (zoonose), avec adaptation potentielle à l'homme et par là-même risque de transmission par la transfusion. Le même phénomène a été observé avec le HIV dont l'origine est le virus de l'immunodéficience de singes (Chamberland 2002).

La surveillance active de ces évènements est très importante (Busch 1999). Les recherches pour découvrir des agents pathogènes non-encore identifiés dans le sang continuent. Même si certains agents découverts ont été déclarés non-pathogènes (hépatite G) (Kleinman 2001) ou non-transmissibles par le sang (herpès virus 8 (Cannon 2001)), toute nouvelle découverte nécessite de nombreuses et rapides investigations pour assurer la sécurité des produits sanguins (Busch 1999).

* * *

D. L'infection par des PARASITES

Les infections par les **protozoaires** touchent de nombreuses populations des régions tropicales pauvres. La malaria, la trypanosomiase américaine (*Trypanosoma cruzi* agent de la maladie de Chagas) et les autres protozoaires (comme la leishmaniose), y compris ceux transmis par les morsures de tiques (comme la babésiose, l'ehrlichiose) peuvent être transmis par la transfusion. Dans les régions non-endémiques, ces maladies sont généralement transmises par des donneurs ayant voyagé dans les régions endémiques. Des recherches sont nécessaires pour établir le risque de transmission de *Trypanosoma cruzi* et de la leishmaniose en Europe (Reesink 2005).

Il y a eu une moyenne de 2 à 3 cas par an de **malaria** transmise par la transfusion aux USA pendant les 40 dernières années, ce qui représente 0,25 cas par millions d'unités transfusées. La prévention de la transmission de la malaria repose uniquement sur le questionnement du donneur. Depuis 1982, tous les cas de transmission provenaient de donneurs issus de régions endémiques ou y ayant voyagé, et ces donneurs n'avaient pas répondu correctement au questionnaire de santé (Mungai 2001). Il n'y a pas actuellement de test de dépistage de la malaria approuvé par la FDA.

Depuis le milieu des années 80, 6 cas fulminants de **maladie de Chagas** transmise par la transfusion ont été rapportés en Amérique du Nord. L'effet de l'immigration croissante vers les Etats-Unis de populations provenant de régions endémiques pour la maladie de Chagas s'est fait ressentir au niveau de la transmission de cette maladie. L'estimation de la séroprévalence de *Trypanosoma cruzi* chez les donneurs américains est de 0,01% à 0,2 % ; elle est plus forte dans les régions à plus grand nombre de donneurs hispaniques (Leiby 1997). Comme pour la malaria, il n'y a pas actuellement de test de dépistage agréé pour la trypanosomiase.

Trypanosoma cruzi et les autres parasites sont **sensibles aux techniques d'inactivation** des pathogènes, mais ces techniques ne sont pas encore employées en routine (Bryant 2007).

* * *

IV. PREVENTION DU RISQUE INFECTIEUX

A. Sélection des donneurs

En France, les conditions de prélèvement sont fixées par un arrêté ministériel qui porte le nom de "bonnes pratiques de prélèvement".

La sélection des donneurs repose sur deux principes (Danic 2003) :

1. Le don ne doit pas nuire au DONNEUR

Le donneur de sang doit être un sujet en bonne santé, âgé de 18 à 65 ans pour le don de sang total. Sont éliminés du don les hypotendus et les sujets dont le capital veineux n'est pas bon, en raison de la nécessité d'utiliser de grosses aiguilles (16G) permettant un recueil du don en moins de 10 minutes. Le nombre de dons maximum est fixé à 5 par an pour les hommes, et 3 par an pour les femmes.

2. Le don ne doit pas nuire au RECEVEUR

Sont exclus du don momentanément ou définitivement les sujets :

- atteint d'une maladie intercurrente (y compris les soins dentaires),
- prenant des médicaments (en particulier de l'aspirine dans les 7 jours précédents),
- homosexuels ou bisexuels,
- ayant eu un rapport extraconjugal depuis moins de 6 mois,
- ayant eu des antécédents de transfusion,
- ayant séjournés depuis moins de 4 mois dans un pays réputé impaludé.

Le don est précédé obligatoirement d'un document d'information, d'un questionnaire et d'un entretien médical, destinés à auto-exclure les donneurs à risque. Le questionnaire destiné à la sélection des donneurs est particulièrement important pour éviter la transmission des protozoaires, notamment la malaria et la maladie de Chagas (Reesink 2005).

TABLE 1. Donor exclusions and epidemiologic database sources	
Exclusion	Database
Permanent	
Age	US Census Bureau, Annual Estimates of the Population for the United States, 2003
Expatriation	US Department of State, 2004
Active military	Department of Defense, Personnel & Procurement Reports and Data Files, 2002
Heart disease	Summary Health Statistics for US Adults: National Health Interview Survey, 2003
Cancer (less cervical)	Summary Health Statistics for US Adults: National Health Interview Survey, 2003
Travel to malarial region	Custer et al., 2004 ¹⁹
Developmentally disabled	The ARC of the United States, http://www.thearc.org
Male sexual contact	National Health and Social Life Survey, 1992
Hepatitis C	National Center for HIV, STD, and TB Prevention, Sexually Transmitted Disease Surveillance, 2003.
Liver disease	Summary Health Statistics for US Adults: National Health Interview Survey, 2003
Stroke	Summary Health Statistics for US Adults: National Health Interview Survey, 2003
Kidney disease	Summary Health Statistics for US Adults: National Health Interview Survey, 2003
UK travel	Custer et al., 2004 ¹⁹
Hepatitis B	National Center for HIV, STD, and TB Prevention, Sexually Transmitted Disease Surveillance, 2003.
HIV or AIDS	National Center for HIV, STD, and TB Prevention, Sexually Transmitted Disease Surveillance, 2003.
Immigrant malarial region	Custer et al., 2004 ¹⁹
IBD—Crohn's/UC	Crohn's and Colitis Foundation of America, 2005
Sickle cell anemia	Sickle Cell Disease Association of America, 2003
Long-term (60-365 days)	
Underweight	Anthropometric Reference Data for Children and Adults: US Population, 1999-2002
Tattoo	Custer et al., 2004 ¹⁹
Pregnancy	National Center for Health Statistics, National Vital Statistics System, Birth File, 2003
Needle stick	National Institute for Occupational Safety and Health, 2000
Abortion	National Center for Health Statistics, National Vital Statistics System, Birth File, 2003
Gonorrhea	National Center for HIV, STD, and TB Prevention, Sexually Transmitted Disease Surveillance, 2003
Syphilis	National Center for HIV, STD, and TB Prevention, Sexually Transmitted Disease Surveillance, 2003
Lyme disease	Summary of notifiable diseases, Centers for Disease Control and Prevention, United States, 2003
Tuberculosis	National Center for HIV, STD, and TB Prevention, Sexually Transmitted Disease Surveillance, 2003
Short-term (1-60 days)	
Illness/cold/flu	Summary Health Statistics for US Adults: National Health Interview Survey, 2003
Anemia (Hct < 38)	National Center for Health Statistics, Vital Health Stat 11 (247), 2005.
Allergies	Summary Health Statistics for US Adults: National Health Interview Survey, 2003
Diabetes	Summary Health Statistics for US Adults: National Health Interview Survey, 2003
Hypertension or pulse	Custer et al., 2004 ¹⁹

Table 4 : Critères d'exclusion des donneurs aux Etats-Unis en 2007
Extrait de Riley (Riley 2007)

Effet de l'éviction sur le retour au don

Une étude a mis en évidence les conséquences du rejet temporaire d'un donneur lors de son entretien pré-don ou à la suite du questionnaire. Pour les sujets éliminés, qui donnaient pour la première fois, 25% seulement vont tenter de donner à nouveau dans les 5 ans. Pour les donneurs fréquents, 85% des évincés temporaires vont retourner donner (Custer 2007).

B. Dépistage des agents infectieux

Le dépistage des principales maladies transmissibles par le sang est systématique en France, mais ce n'est pas le cas dans tous les pays.

En France, le **dépistage** des maladies transmissibles par le sang **est systématique**. Il est dicté par l'Arrêt ministériel sur les "bonnes pratiques de qualification biologique du don". La liste des tests à effectuer est publiée dans le Décret n° 95-195 du 16 février 1995 relatif aux analyses biologiques et tests de dépistage des maladies transmissibles effectués sur les prélèvements de sang et de ses composants.

- Analyses immuno-hématologiques: groupage ABO et phénotype RH Kell, RAI hémolysines anti-A et anti-B, numération-formule sanguine (NFS), hématocrite,
- Enzyme hépatiques,
- Sérologie syphilitique (VDRL-TPHA),
- Dépistage Ag hbs, anti-hbs, anti-hbc,
- Sérologies HIV, VHC,
- HTLV-I et II,
- CMV (cas du sang destiné à des immunodéprimés, femmes enceintes etc.),
- Sérologie HTLV1 (réservés aux ressortissants de la Guyane)
- Dépistage génomique (NAT) des virus HIV et VHC, depuis juillet 2001 afin de dépister plus précocement la présence de ces virus dans l'organisme avant la séroconversion.

Aux Etats-Unis, les mêmes agents sont dépistés, avec en plus de West Nile virus. Le dépistage du cytomégalovirus (CMV) n'est pas réalisé en routine.

Dans les pays en voie développement, la sûreté des produits sanguins est disparate. Les ressources de ces pays ne leur permettent pas de dépister correctement les maladies infectieuses (Busch 2003). Selon la dernière enquête de l'OMS dans le domaine des examens du sang, 56 des 124 pays étudiés n'examinaient pas tous les dons de sang à la recherche du HIV, des hépatites B et C et de la syphilis. Les raisons avancées sont notamment la rareté et le coût inabordable des nécessaires d'épreuve, le manque d'infrastructures et la pénurie de personnel qualifié.

Technologie d'Amplification des Acides Nucléiques (NAT)

Depuis 1999 aux Etats-Unis et depuis juillet 2001 en France, le dépistage du virus HIV-1 et celui de l'hépatite C sont réalisés grâce à une nouvelle technologie dite d'amplification génomique (NAT). La NAT a été introduite en 1998 aux USA pour rechercher chez les donneurs les ARN de l'**Hépatite C** et du **HIV** de type 1. Cette technologie est **beaucoup plus précoce** dans la détection du virus pendant la période de fenêtre sérologique (période entre l'infection et la mise en évidence de particules détectables), que les techniques utilisant le dépistage des Anticorps (Ac) ou des antigènes (Ag). Avec la technique du NAT, la période fenêtre sérologique est passée de 22 jours (dépistage des Ac) à 11 jours (dépistage NAT) pour le virus HIV et de 70 jours (dépistage des Ac) à 8-10 jours (dépistage NAT) pour le virus de l'hépatite C (Busch 2001). Cette technique, très sensible et précoce, a permis d'écarter des dons contaminés qui seraient passés inaperçus.

Dans les 3 ans qui ont suivi la mise en place du dépistage par le NAT aux USA en 1999, plus de 30 millions de dons ont été traités par cette technique, et elle a permis la détection de 120 contaminations par l'hépatite C et 9 cas de dépistage du HIV dont le donneur était séronégatif. Ces dons avaient eu lieu dans la période précédant la séroconversion et la contamination n'avait donc pas pu être détectée par les méthodes basées sur le dépistage des anticorps (Stramer 2000). La technique du NAT est employée pour le virus de l'hépatite C mais elle ne l'est pas pour le HIV dans les autres pays développés (Lancet 2005). En France, la technologie du NAT, entre 2001 et 2003, a permis d'écarter 2 dons HIV positifs et 3 dons infectés par l'hépatite C. Ce résultat, même s'il ajoute un niveau de sécurité supplémentaire, montre un effet limité de cette technique pour un coût prohibitif (Pillonel 2005)

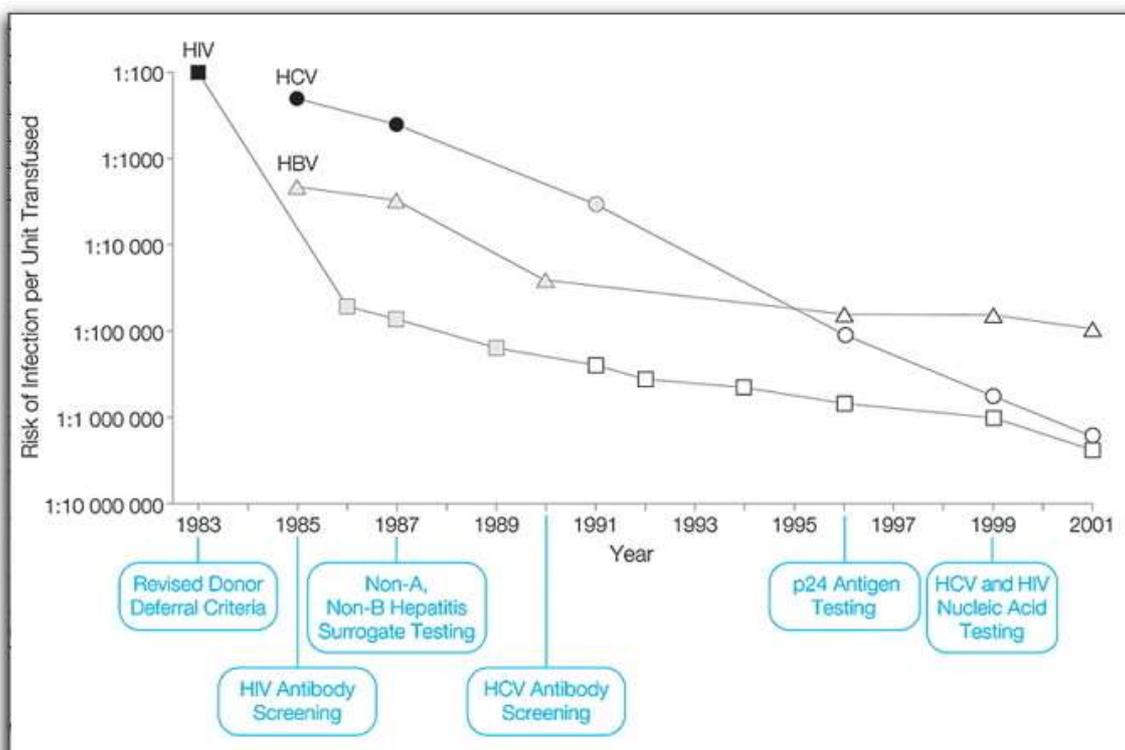


Figure 2 : Diminution du risque de transmission du HIV, des virus de l'Hépatite B et C
Extrait de Busch (Busch 2003).

Le risque estimé par unité, en 2001-2002 aux Etats-Unis est de 1 / 1.800.000 pour le HIV, 1 / 1.600.000 pour l'hépatite C et 1 / 220.000 pour l'hépatite B.

C. Traitement des produits sanguins

Après les tests de dépistage, **le sang total et les culots globulaires ne sont pas traités avant stockage**, mise à part le procédé de leucoréduction par filtre qui vise à réduire considérablement la présence des leucocytes et par là-même le risque de transmission de virus présents dans les leucocytes (Krailadsiri 2006). Seule une inspection visuelle est réalisée au moment de la transfusion des cellules rouges (Bedi 2005).

Une voie d'avenir, déjà pratiquée sur les unités de plasma et d'immunoglobulines, est **l'inactivation des pathogènes**. Cette technique, bien que très prometteuse car visant à détruire les pathogènes dans les poches de sang, est encore à l'étude pour les cellules rouges (Bryant 2007).

Jusqu'à présent, l'approche de réduction des pathogènes dans les produits sanguins était basée essentiellement sur l'éducation et la sélection des donneurs, le dépistage dans le sang des donneurs, la préparation méticuleuse du site de ponction et le questionnement épidémiologique. Cette stratégie, bien qu'efficace, ne permet de faire face qu'à des situations connues. L'inactivation des pathogènes dans les produits sanguins représenterait une approche proactive, en proposant un degré de sécurité supplémentaire visant à évincer les microorganismes non encore identifiés (Bryant 2007).

✚ Méthodes en cours de développement pour l'inactivation des pathogènes dans les concentrés globulaires rouges et le sang total

L'inactivation des pathogènes dans les composants sanguins contenant des cellules rouges est un véritable défi. Les méthodes utilisant la photo-activation par infrarouge doivent utiliser une longueur d'onde supérieure à celle de l'hémoglobine pour éviter l'absorption ou la diffusion de cette lumière par les cellules rouges. De nombreuses méthodes d'inactivation des pathogènes altèrent ou brisent la membrane des hématies provoquant une diminution de leur survie, une hémolyse ou générant des désordres immunitaires.

Le S-303

Le S-303, une petite molécule destinée à l'inactivation des pathogènes des cellules rouges, est un **agent alkylant dérivé de la moutarde** qui appartient à la classe des "frangible anchor linker effectors". Ces agents contiennent un groupe intercalaire qui permet l'insertion dans l'hélice d'ADN ou d'ARN, d'un agent effecteur qui permet la liaison covalent à l'acide nucléique et un élément central fragile qui orchestre la destruction de l'agent visé (Corash 2001). Cet agent est activé par les changements de pH dans les poches lors du stockage. Le S-303 se lie également aux membranes cellulaires et aux protéines. Le S-303 a démontré l'inactivation d'une large de gamme de virus, bactéries et protozoaires (Corash 2001). Aucune toxicité liée à ce traitement n'a été mise en évidence et la survie des cellules rouges apparaît supérieure à celle de cellules non-traitées. Des Ac naturels anti-S303 ont été retrouvés chez 1% des donneurs mais ceci ne semble pas poser de problème de réaction immunitaire chez les patients transfusés (Benjamin 2005).

Le PEN 110

Le PEN 110 est un composant d'**INACTINE** capable d'inactiver une large gamme de virus, bactéries, protozoaires et mycoplasmes dans les cellules rouges (Purmal 2002). Il a montré son efficacité dans l'inactivation du Parvovirus Porcin (Lazo 2002). L'inactine est un oligomère d'éthylèneamine qui se lie de façon covalente aux bases de guanine des acides nucléiques. Les concentrés globulaires sont préalablement leucoréduits puis incubés à température ambiante pendant 6 heures avant l'ajout de PEN 110. Le PEN 110 semble préserver l'intégrité des membranes cellulaires et l'hémolyse est faible (AuBuchon 2002). Comme pour le S-303, le PEN 110 a induit la formation d'Ac chez patients multi-transfusés, mais sans conséquences pathologiques. Les essais cliniques ont pour l'instant été suspendus. Le futur du S-303 et du PEN 110 est encore incertain, tant que les phénomènes d'immunogénicité et d'immunoréactivité ne seront pas davantage élucidés.

Viral Pathogens	Genome	Enveloped	Infectivity Log Reduction
Human immunodeficiency 1/2	ss-RNA	+	5.57
BVDV (surrogate for hepatitis C)	ss-RNA	+	>5
West Nile	ss-RNA	+	5-7
PPV (surrogate for human erythro B19)	ss-DNA	-	>5

* Red blood cells were treated with 0.1% PEN110 at 22 ± 2°C for up to 22 ± 2 hours. BVDV indicates bovine viral diarrhea virus; PPV, porcine parvovirus; ss, single stranded; ds, double stranded; +, presence of an envelope; and -, no envelope.

Table 5 : Taux d'inactivation des Virus par le traitement des cellules rouges au PEN 110
Extrait de Bryant (Bryant 2007).

Riboflavine et lumière UV-A

La riboflavine (vitamine B12) couplée à l'action des ultraviolets a déjà été proposée pour l'inactivation des pathogènes dans le plasma et les concentrés plaquettaires. L'inactivation des pathogènes dans les cellules rouges est en cours de développement. Si son efficacité est démontrée, la riboflavine pourrait servir à l'inactivation des pathogènes simultanément dans les 3 principaux composants sanguins (cellules rouges, plasma, plaquettes).

Bleu de Diméthylméthylène

Le bleu de Diméthylméthylène est un **colorant photo-actif** qui a fait l'objet de recherche comme agent potentiel d'inactivation des pathogènes dans les cellules rouges (Wagner 2000). Il a prouvé son efficacité dans l'inactivation des ADN et ARN viraux dans les leucocytes et les cellules rouges. La solution de conservation ajoutée en post-traitement semble affecter l'intégrité des cellules rouges et l'hémolyse avoisine les 1%.

Colorants photosensibles

Les colorants photosensibles se liaient aux acides nucléiques viraux après avoir pénétré la capsid. Cependant ces colorants sont capables de se fixer à la membrane plasmique des cellules rouges, aux protéines et aux glycoprotéines. Cette liaison peut conduire à la formation de radicaux libres oxygénés. Ceci est le propre des colorants dits "rigides". Une nouvelle génération de colorants dits "flexibles" est apparue : lorsqu'ils ne sont pas liés, ils absorbent la lumière et la dissipent en chaleur, ne provoquant pas la formation de radicaux libres (Wagner 2005). L'idéal serait de diminuer la liaison de ces colorants à la membrane des hématies. Le thiopyrylium et le thiazole orange, assortis d'un post-traitement pour limiter sa liaison aux hématies, sont en cours d'étude (Wagner 2005; Skripchenko 2006). Le thiopyrylium a montré son efficacité dans la destruction de bactéries et de virus comme le HIV. Les études en cours n'ont concerné que de petites aliquotes de sang mais ces colorants "flexibles" semblent avoir un avenir prometteur.

Viral Pathogens	Genome	Enveloped	Infectivity Log Reduction	
			Thiopyrylium/Dipyridamole	Thiazole Orange ^a
Human immunodeficiency 1/2	ss-RNA	+	>6.8 extracellular; 6.2 ± 1 intracellular ^a	>6.5 extracellular; >6.3 intracellular
DHBV (surrogate for hepatitis B)	ds-DNA	+	>4.8 extracellular ^b	
BVDV (surrogate for hepatitis C)	ss-RNA	+	>5.3 ^c	6.2 ± 0.1
Vesicular stomatitis	ss-DNA	+	>7.7 ^d	7.1 ± 0.2
Pseudorabies (surrogate for herpes)	ds-DNA	+	>5.9 extracellular ^e	5.4 ± 0.7
Microbial Pathogens	Gram	Aerobes Vs Anaerobes	Thiopyrylium/Dipyridamole ^f	Thiazole Orange ^g
<i>Escherichia coli</i>	Neg	Aerobe	7.1 ± 0.5	5.3 ± 2.0
<i>Serratia marcescens</i>	Neg	Aerobe	6.2 ± 1.0	3.5 ± 2.5
<i>Serratia liquefaciens</i>	Neg	Aerobe	6.8 ± 0.2	2.8 ± 0.6
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Neg	Aerobe	5.4 ± 1.0	2.3 ± 1.2
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Neg	Aerobe	5.9 ± 0.6	6.4 ± 2.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pos	Aerobe	>6.3	2.4 ± 0.7
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Pos	Aerobe	>7.7	>7.0
<i>Deinococcus radiodurans</i>	Pos	Aerobe		>6.8

* DHBV indicates duck hepatitis B virus; BVDV, bovine viral diarrhea virus; ss, single stranded; ds, double stranded; +, presence of an envelope; -, no envelope; Neg, gram negative; Pos, gram positive; TP, thiopyrylium; TO, thiazole orange; ^a, 80 µmol/L TP and 1.1 J/cm² red light; ^b, 7.5 µmol/L TP and 1.1 J/cm² red light; ^c, 2 µmol/L TP and 1.1 J/cm² red light; ^d, 100 µmol/L TP and 1.1 J/cm² red light; ^e, 15 µmol/L TP and 1.1 J/cm² red light; ^f, 100 µmol/L TP and 1.1 J/cm² red light; and ^g, 80 µmol/L TO and 7.9 J/cm² cool white light.

Table 6 : Inactivation des virus et agents microbiens pathogènes des cellules rouges par les colorants photosensibles "flexibles".
Extrait de Bryant (Bryant 2007).

Nouveaux prototypes de leucoréduction

Les filtres de leucoréduction actuels sont **efficaces pour retirer les virus présents dans les leucocytes** mais n'enlèvent que 42% des prions endogènes (Gregori 2004). Un nouveau filtre en cours de développement serait capable de retirer plus efficacement les prions endogènes et exogènes (Sowemimo-Coker 2005).

Impact des mesures de précautions

Chaque découverte d'un nouvel agent infectieux entraîne de nouvelles recommandations. L'éviction croissante de donneurs par mesure de précaution est une menace à la quantité de sang disponible. La recrudescence de donneurs aux Etats-Unis après les événements du 11 septembre 2001 n'a été que de courte durée, et le manque de produits sanguins se fait sentir régulièrement. Ceci est surtout vrai dans les grandes villes, comme à New-York et les grandes métropoles de la côte Est, où de nombreuses personnes voyageant en Europe ne sont plus acceptées comme donneur de sang depuis 2002 en raison du risque de transmission du prion de la MCJ.

* * *

L'utilisation des méthodes d'inactivation des pathogènes constituerait une étape supplémentaire dans l'objectif "tolérance zéro" en matière de sécurité des produits sanguins. Bien évidemment, aucune de ces méthodes ne sera efficace à 100% contre tous les pathogènes et c'est souvent une combinaison de différents procédés qui devra être employée. Pour les pays en voie de développement, qui n'ont pas les moyens du dépistage, les moins coûteuses de ces techniques pourraient déjà sauver de nombreuses vies.

* * *

V. COUT DE LA TRANSFUSION

Il y a une pression constante pour limiter l'escalade du coût des soins, et ceux de la transfusion en particulier. Bien que les pouvoirs politiques aient grandement soutenu financièrement les efforts menés en terme de sécurité des produits sanguins, la **limite financière** se fait sentir (AuBuchon 1997; Klein 2000). Désormais, les nouveaux protocoles de sécurité devront être évalués en terme de niveau de sécurité supplémentaire estimé par rapport au coût et en terme d'impact sur la perte de donneurs par une sélection trop sévère. Bien que les coûts de la transfusion ne cessent d'augmenter, **la pratique de la transfusion reste "libérale"** et on estime entre 9 et 44% le pourcentage des coût attribués à des transfusions inappropriées (Goodnough 1993). Shander récapitule **l'évolution du coût du sang** depuis les 20 dernières années, le coût des complications associées à la transfusion et les directions futures pour minimiser ces coûts (Shander 2007).

A. Coût total d'une unité sanguine transfusée

Le coût total de transfusion d'une unité de cellules rouges allogéniques est passé de \$350 par unité en 1989 (Forbes 1991) à **\$780 par unité en 1998** (Cremieux 2000).

B. Coût de préparation d'une unité autologue vs une unité allogénique

Le concept de transfusion autologue avec prélèvement programmé avant la chirurgie semblait séduisant en terme d'épargne des produits sanguins. Le coût de la transfusion autologue se révèle en fait être **32% plus cher** que celui de l'allotransfusion, en raison de coûts de prélèvement supérieurs.

Item	Cost per Unit (US Dollars)		% Higher
	Autologous	Allogeneic	\$ (Auto-Allo)/\$ Allo
Collection	129.42	84.91	51.9
Infectious disease testing	24.27	24.27	0
Blood processing and inventory management	28.16	25.03	12.5
Compatibility testing	16.19	16.19	0
Total	198.04	149.80	32.2

Table 7: Comparaison du coût de préparation par unité de sang allogénique et autologue
Extrait de (Shander 2007)

C. Coût de la leucoréduction

Le traitement des unités par la technique de leucoréduction, obligatoire en France depuis 1998 mais pas aux USA bien que largement pratiqué, avait un coût de **\$39 par unité** en 2005 (Pittman 2000). La leucoréduction semble être valable en termes de coût car elle diminue le risque infectieux et la durée de séjour à l'hôpital (Fisk 2005).

Le coût des mesures de sécurité a augmenté de 97% après le passage à la leucoréduction (Sime 2005).

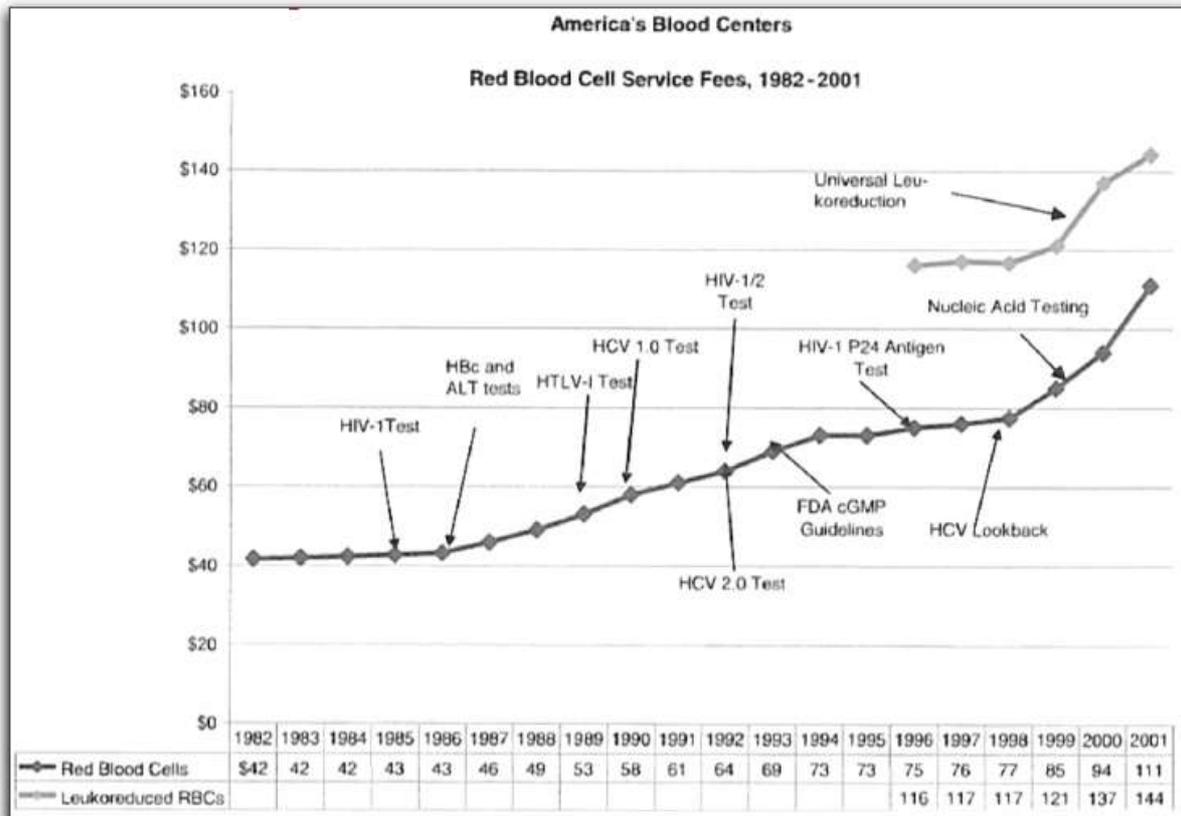


Figure 3 : Coûts comparés de la préparation d'une unité de sang avec ou sans leucoréduction
Extrait de Sime (Sime 2005)

D. Coût du dépistage par la technique NAT

La capacité à réduire la période de fenêtre sérologique à l'aide de la technique NAT a été très efficace mais aussi très coûteuse. Le coût du dépistage par sérologie Anticorps permettait l'équilibre financier par le coût épargné des soins des personnes qui auraient été contaminées. **Le coût du NAT excède de 1 million de dollars le coût par infection** (AuBuchon 1997). Cette technique pourrait être abandonnée et son coût reporté sur l'utilisation des techniques d'inactivation des pathogènes (Pelletier 2006).

E. Coût de la gestion des complications

Le coût lié à la contraction du virus du SIDA est très élevé, mais cet évènement est très rare. En revanche, le risque de **contamination bactérienne** reste assez élevé (16 à 26% des complications transfusionnelles (Vrieling 1998)) et son coût de **\$14.000 en moyenne par infection** n'est pas négligeable.

Estimated costs of managing transfusion-related sequelae.	
Potential Event	Costs of Events
HIV infection (CD4 count <200)	\$318/month
Symptomatic AIDS	\$6,970/month
Lifetime cost HIV	\$119,000
Hepatitis infection and related sequelae	\$1,106/1st year (acute)
	\$2,340/hospitalization (acute)
	\$3,085/1st year (chronic)
	\$287/year > 1st year (chronic)
	\$1,700/year for cirrhosis
	\$20,900/hepatocellular carcinoma (one-time cost)
Lost earnings/productivity	\$74/day for patient
	\$133/day for employer
Bacterial infection	\$12,900–\$14,000/per event
Hemolytic transfusion reactions	\$100 (minor)-\$1,000
	\$112,578 (fatal)
Nosocomial infection	\$16,309 (converted from Euros)
	\$66,302 higher hospital costs (2-fold) than noninfected controls in patients with end-stage renal disease
Chelation therapy for iron overload	\$12,719 to \$24,845 per patient/year
ICU costs	\$1,246/day (fixed + variable; converted from £)
Hospital costs	\$1,551/day × 10.3 days nontransfused; \$1,682/day × 16.7 days transfused in colorectal cancer patients
Sepsis	\$877/day Canadian (survivors)
	\$1,724/day Canadian (non-survivors)
	\$22,100/case
Sequelae related to immunomodulation	\$5,000–\$11,000 incremental hospital charges if allogeneic vs autologous

**Table 8 : Estimation du coût des complications liées à la transfusion.
Extrait de Shander (Shander 2007)**

VI. SOLUTIONS AUX PROBLEMES LIES A LA TRANSFUSION

Les solutions à la pénurie de sang peuvent venir :

- d'une sensibilisation de la population au don du sang,
- d'une stratégie d'épargne des produits sanguins,
- de l'utilisation de substituts sanguins,
- de l'utilisation d'une espèce animale comme donneur de sang.

A. La sensibilisation au don de sang

Une étude récente (France 2007) a montré que la majorité des donneurs ne deviennent pas des donneurs réguliers ; cette étude s'est intéressée aux facteurs impliqués dans le retour au don ou dans le souhait de donner.

La satisfaction personnelle et l'impression d'être "quelqu'un de bien" participe largement à l'intention de donner, le même critère a été désigné dans une étude à plus large échelle portant sur 35.000 donneurs (Thomson 1998). Cette satisfaction personnelle a un impact positif sur l'environnement du donneur qui aime souligner à ses proches qu'il est fier de donner (Thomson 1998).

Concernant le retour au don, la façon dont s'est déroulé le don, le **bien-être pendant et après** le don sont des facteurs décisifs (Thomson 1998; France 2007). La plus grande proportion de personnes ne retournant pas donner sont les primo-donneurs, les minorités ethniques et les personnes à faible niveau d'éducation (Thomson 1998). L'expérience de symptômes vagues avant ou pendant le don est perçue comme une expérience négative et n'encourage pas le retour au don (France 2007). De même, les personnes qui ne se sentent pas rassurées ou bien traitées par le personnel soignant pendant le don n'y retournent pas (Thomson 1998).

Ces données suggèrent quelques **pistes pour encourager le don** : information, écoute et gentillesse du personnel soignant, valorisation du donneur. L'administration d'eau et des techniques de détente musculaire avant le don sembleraient participer à diminuer l'incidence des symptômes vagues qui sont un facteur négatif de retour au don (France 2007).

B. L'épargne des produits sanguins

Les risques inhérents à la transfusion et les coûts majeurs générés par la nécessité de sécuriser les produits sanguins ont conduit à envisager des alternatives (Pape 2007). Ce concept est souvent nommé "stratégie d'épargne des produits sanguins" et vise à éviter l'allotransfusion en la remplaçant par d'autres pratiques, comme la transfusion autologue programmée, l'hémodilution normovolémique ou la récupération-lavage du sang lors de chirurgie. A côté de ces stratégies, des substituts sanguins comme les perfluorocarbones et les solutions d'hémoglobines sont à l'étude. La xénotransfusion, comme stratégie d'épargne des produits sanguins, fera l'objet d'un développement dans le chapitre suivant.

Plusieurs études ont montré que les pratiques de transfusion "restrictive" sont associées à une mortalité et morbidité inférieure à la transfusion "libérale" (Hebert 1999; Madjdpour 2006).

Exemple de la transfusion autologue

La transfusion autologue vise à **administrer au patient ses propres globules rouges**. La collecte peut être effectuée quelques semaines avant la chirurgie (don pré-opératoire programmé) ou juste avant la chirurgie, le volume prélevé étant remplacé par des perfusions de solutés classiques (hémodilution normovolémique). La collecte per-opératoire vise à récupérer le sang perdu lors de la chirurgie, le traiter et le réinjecter aussitôt au patient.

Le don programmé

Dans le don programmé, le sang du patient est collecté pendant les 4 à 6 semaines qui précèdent la chirurgie et le nombre de poches prélevées ainsi que la fréquence des prélèvements sont définis selon la nature de l'intervention prévue. Le don programmé est contre-indiquée chez les patients à risque cardiovasculaire élevé (Karger 2005) et lorsque l'hémoglobémie du patient est inférieure à 11 g/l (Vamvakas 2000).

L'efficacité en terme de coût diminue d'autant plus que le nombre de poches non utilisées augmente (les poches non utilisées sont détruites), ce qui nécessite une approximation précise des besoins (Keating 2002). Le don programmé n'est pas rentable si la chirurgie nécessite en plus une seule poche de sang non autologue ou si plus de 15% du sang du donneur n'est pas utilisé (Habler 1997). Les risques majeurs associés à l'autotransfusion sont la contamination pendant le stockage et le risque d'erreur d'identification du donneur (Shander 2003).

Alors que cette technique était sensée économiser les produits sanguins (Karger 2005), une méta-analyse récente a montré qu'en fait **cette technique est associée à un plus grand nombre d'ALLOtransfusions** dans les séries incluant un très grand nombre de cas (Carless 2004) sans explication probante.

L'hémodilution normovolémique

L'hémodilution normovolémique vise à prélever du sang du patient juste avant la chirurgie et à le remplacer par des solutés cristalloïdes ou colloïdes acellulaires (Messmer 1974). Cette technique sous-entend la parfaite connaissance de la physiologie du patient en terme de résistance à l'anémie (Murray 2004). Le bénéfice attendu de cette technique est la perte en hématies réduite lors des saignements puisque le patient est anémié, et la disposition de son propre sang frais, contenant des facteurs de coagulation et des plaquettes, à son chevet. Cette technique est contre-indiquée chez les patients à maladie cardiaque avancée, les insuffisants rénaux, en cas de bactériémie mais pas chez les patients cancéreux.

Alors que cette technique a pu montrer une réduction du nombre d'allotransfusions dans divers essais cliniques (chirurgie abdominale, vasculaire, orthopédique et maxillo-faciale) (Terada 2001; Matot 2002; Wong 2002; Habler 2004; Bennett 2006), **deux méta-analyses n'ont pas permis de montrer un bénéfice** (Bryson 1998; Segal 2004).

L'hémodilution normovolémique doit somme toute être préférée à la transfusion autologue programmée car elle est nettement **moins coûteuse, \$28 pour une poche** contre \$226, en personnel, traitement, stockage et permet une plus grande flexibilité de la date de l'intervention (pas de risque de péremption des poches si l'intervention doit être reportée). Cette technique a été remise au goût du jour par l'American Society of Anesthesiologists (ASA) (2006).

L'administration de **fer** est recommandée chez les patients pratiquant le don programmé (Karger 2005). Elle est bénéfique chez les patients subissant une hémodilution normovolémique (Spahn 2000). Le coût de l'administration d'**érythropoïétine** à ces patients est équivalent à celui de l'allotransfusion (Chun 1997).

La récupération-traitement per-opératoire du sang épanché

Dans les interventions chirurgicales, lors desquelles les pertes sanguines excèdent 800 ml, l'autotransfusion de cellules lavées a montré une réelle efficacité en termes de stratégie d'épargne de l'allotransfusion (Dai 2004). Néanmoins, cette technique est assortie d'un grand nombre de contre-indications (irrigation abdominale avec des produits pharmacologiques, contaminants abdominaux (urines, fèces, liquide amniotique), cancers, troubles de la coagulation, etc.) (Waters 2004). Pour s'affranchir des contre-indications liés aux cancers, des techniques d'irradiation des cellules avant de les réinjecter aux patients ont été proposées (Hansen 2002).

L'efficacité en terme d'épargne des produits sanguins a été prouvée par des méta-analyses (Huet 1999; Spahn 2000; Carless 2004). En outre, c'est une technique acceptée par les témoins de Jéhovah, pour autant que le circuit patient-récupération-traitement-patient soit clos (Gohel 2005).

C. Substituts sanguins : Les transporteurs d'oxygène

Les substituts sanguins synthétiques semblent une alternative intéressante à la transfusion sanguine allogénique de cellules rouges. Ils ont l'avantage d'affranchir le clinicien des contraintes liées aux groupes sanguins et au risque infectieux. Il y a actuellement deux types de transporteurs d'oxygène qui font l'objet d'études : les perfluorocarbones (PFC) et les hémoglobines humaines ou bovines modifiées (HBOC) (Habler 2005).

1. Les perfluorocarbones

Les PFC sont dérivés d'une chaîne cyclique ou linéaire d'hydrocarbures dont certains atomes d'hydrogène sont remplacés par des halogénés (Fluor ou Brome). Les PFC sont inertes chimiquement et insolubles dans l'eau, ils doivent donc être émulsionnés avant administration intraveineuse. Le transport d'oxygène est lié linéairement à la pression partielle en oxygène. La délivrance d'oxygène aux tissus est d'autant plus grande que la différence de pression partielle en oxygène est grande entre le sang et les tissus. **Cent grammes d'une émulsion de PFC à 60% délivre la même quantité d'oxygène que 450 ml de sang total** ayant une teneur en hémoglobine de 14g/dL (Riess 2005). De plus, les PFC augmentent l'oxygénation tissulaire en diminuant la barrière de diffusion entre les érythrocytes et le plasma (Habler 2005). Après administration intraveineuse, les PFC sont rapidement pris en charge par le système réticuloendothélial, ce qui peut provoquer une immunodépression. Pour éviter cet effet, la dose maximale recommandée est de 2,7g/kg.

Les PFC peuvent être utilisés conjointement aux techniques d'hémodilution normovolémique dans les chirurgies pour lesquelles de fortes pertes sanguines sont attendues, en attendant de stopper l'hémorragie. Une transfusion classique peut ensuite être administrée à la fin de la chirurgie (Spahn 2001; Spahn 2003).

Chez le chien splénectomisé, une étude a montré que les PFC associés à une hémodilution normovolémique permettait de tolérer un hématokrite à 8% sans endommager l'oxygénation tissulaire ni compromettre la contractilité cardiaque (Habler 1998).

Dans un essai multicentrique de phase III, les besoins en allotransfusion étaient significativement inférieurs chez les patients traités aux PFC. Cependant, les PFC n'étaient pas dénués d'effets secondaires, tels que des symptômes grippaux, maux de tête, nausées et myalgies. Une incidence supérieure des iléus postopératoires a été rapportée (Spahn 2002). En 2001, un essai clinique de phase III portant sur des patients subissant une chirurgie cardiaque a dû être arrêté à causes de complications neurologiques (Spahn 2005). Des études complémentaires sont nécessaires avant une mise sur le marché.

2. Les transporteurs d'oxygène à base d'hémoglobine (HBOC)

Les hémoglobines modifiées sont issues d'hématies humaines périmées, de sang de bovin ou sont fabriquées génétiquement. Les molécules d'hémoglobines sont purifiées et traitées pour augmenter leur stabilité et moduler leur affinité pour l'oxygène. Les modifications de l'hémoglobine incluent la polymérisation utilisant le glutaraldéhyde ou le raffinose, la conjugaison avec du polyéthylène glycol, l'insertion d'analogues du 2,3-DPG ou l'inclusion des molécules d'hémoglobines dans des phospholipides (Spahn 2005).

	Source of haemoglobin	Concentration (g/dL)	MW (Da)	P50 (mmHg)	Indication	Phase of clinical testing
PHP™	Human	8	123,000	23.6	Haemodynamic instability in septic shock	II/III
HemAssist™	Human	10	65,000	32	Reduction of perioperative transfusion rate	Up to III, stopped
r-Hb 1.1™	Recombinant	5–10	64,000	31–32	Reduction of perioperative transfusion rate	I/II, stopped
r-Hb 2.0™	Recombinant	10	320,000	31–32	Reduction of perioperative transfusion rate	I/II, stopped
Hemopure™	Bovine	13	250,000	38	Reduction of perioperative transfusion rate	III
Polyheme™	Human	10	150,000	26–32	Reduction of perioperative transfusion rate	III
Hemolink™	Human	10	120–180,000	39	Reduction of perioperative transfusion rate	III, discontinued
Hemospan™	Human	4	95,000	6	Reduction of perioperative transfusion rate	II

Table 9 : Caractéristiques physico-chimiques et état actuel du développement des HBOC.
Extrait de Pape (Pape 2007)

PHP™, pyridoxylated, polyethylene-glycol conjugated haemoglobin (Curacyte Health Sciences, Munich, Germany); HemAssist™, diaspirin cross-linked haemoglobin (DCLHb, Baxter Healthcare, Round Lake, USA); r-Hb 1.1, recombinant haemoglobin, version 1.1 (Somatogen Inc., Boulder, USA, later Baxter Healthcare); r-Hb 2.0, recombinant haemoglobin, version 2.0 (Baxter Healthcare); Hemopure™, polymerized bovine haemoglobin (HBOC 201, Biopure Corp., Cambridge, USA); Polyheme™, pyridoxylated, glutaraldehyde-polymerized haemoglobin (Northfield Lab. Inc., Evanston, USA); Hemolink™, haemoglobin raffimer (Hemosol Inc., Toronto, Canada); Hemospan™, maleimide-activated polyethylene glycol-modified haemoglobin (MP4, Sangart INC, San Diego, USA).

Par comparaison avec les PFC, l'affinité des HBOC pour l'oxygène suit une courbe sigmoïde, non linéaire. L'affinité pour l'oxygène des HBOC est inférieure à celle de l'hémoglobine native ce qui facilite la diffusion d'oxygène aux tissus (Moore 2003). De plus, l'hémoglobine extracellulaire possède des propriétés vasoconstrictrices par extraction de l'oxyde nitrique, augmentation de la libération d'endothéline et stimulation des récepteurs à l'endothéline et à l'adrénaline (Alayash 1999). Le mécanisme des propriétés vasoactives potentiellement préjudiciables, n'est pas encore totalement élucidé.

Grâce à leurs propriétés colloïdes, la plupart des HBOC peuvent être considérées comme "plasma expandeur" et sont indiquées comme fluides de réanimation dans le choc hémorragique (Schultz 1993). Le PolyHeme® a montré son efficacité dans la réanimation de 171 patients souffrant d'hémorragie massive ; la mortalité à 30 jours était de 25% contre 65% pour le groupe témoin (Gould 2002).

De la même façon qu'avec les PFC, les HBOC ont été proposées en chirurgie, associées à l'hémodilution normovolémique, comme technique d'épargne sanguine avant de réaliser une transfusion allogénique. Quelques essais cliniques de phase II et III ont été réalisés (Kasper 1996; Garrioch 1999; Lamy 2000; Hayes 2001; Schubert 2003; Cheng 2004). Seulement deux de ces études ont montré une efficacité en terme d'épargne des produits sanguins (Schubert 2003 [Cheng, 2004 #905). Ceci est sans doute dû à la courte demi-vie intravasculaire des HBOC. La plupart des études ont mentionné des effets secondaires : augmentation des résistances vasculaires systémiques et pulmonaires, diminution du débit cardiaque, ictère, augmentation de l'amylasémie, de la lipasémie et des enzymes hépatiques.

Jusqu'à présent, aucune hémoglobine purifiée n'a obtenu d'autorisation de mise sur le marché dans les pays développés. Seule l'Hémopure (Biopure Inc., Cambridge, USA), hémoglobine d'origine bovine, a été autorisée par le Ministère de la Santé d'Afrique du Sud en 2001, en raison du grand nombre de donneur représentant un risque infectieux. L'autorisation de l'Hémopure® par la FDA est toujours en attente depuis juillet 2003 et sous réserve d'études complémentaires. L'Oxyglobin® (hémoglobine glutamère - 200 d'origine bovine), aussi appelée HBOC-301, est le seul produit en son genre dont l'utilisation est autorisée par la FDA et la Commission européenne pour le traitement de l'anémie canine (Hohenhaus 2002).

Des recherches supplémentaires concernant la sécurité et l'efficacité des PFC et des HBOC sont à réaliser afin de déterminer quel pourrait être le meilleur substitut sanguin et dans quelles indications.

* * *

D. Une autre source de sang : L'Animal

Une solution à la pénurie de sang humain et aux risques infectieux consisterait à recourir à une autre source de sang: **L'ANIMAL**. On parle de **XENOTRANSFUSION**.

Dans le chapitre suivant, nous montrerons que la transfusion de sang animal à l'homme a déjà été pratiquée abondamment dans le passé avec des résultats décevants.

* * *

Chapitre 2

HISTOIRE DES XÉNOTRANSFUSIONS

(Article 1)

La découverte des lois de la circulation sanguine par William Harvey en 1628 rendit obsolètes les théories de Galien (Pergame 129- Pergame *ca* 200) jusque là admises. L'injection de liquides dans les vaisseaux suivit rapidement. Schottus pratiqua la première injection intraveineuse et Christopher Wren la première perfusion en 1665. L'idée de transfuser du sang à des hommes était déjà présente en 1658 mais il fallut attendre 1667 pour que soit réalisée la première transfusion documentée à un homme. Les premières transfusions de sang à l'homme ont toutes eu lieu avec du sang animal. En fait, la XTF a été le point de départ, à la fois de la XT et de la transfusion sanguine. Ce chapitre se propose d'évoquer **L'HISTOIRE DES XENOTRANSFUSIONS.**

I. LES TRAVAUX DE JEAN-BAPTISTE DENIS

A. Principes sous-jacents

L'idée de transfusion sanguine est née en France, à Paris, à "la Compagnie des Savants" chez M. **Henri Louis Habert de Montmort** (c1600-1679), où un moine français, **Dom Robert des Gabets** (1610-1678) en exposa le principe lors d'une réunion de cette société en Juillet **1658** (Denis 1668; des Gabets 1668). Déjà, il était question de XTF: "*Par la communication du sang, j'entends un passage effectif du sang d'un homme ou de quelque autre animal, dans les veines d'un homme faible ou malade*".

Cette idée fut revendiquée par un anglais, **Richard Lower** (1631-1691) qui avait réalisé la première transfusion entre deux chiens en Février **1665** à Oxford en Angleterre (Lower 1666; Lower 1669). L'origine française ou anglaise de l'invention de la transfusion a fait l'objet de controverses (Walton 1974; Moore 2003).

B. Les premières expériences

Première transfusion

C'est un français, **Jean-Baptiste Denis** (Figure 1) (c1635-1704), médecin de Louis XIV, qui réalisa la première transfusion documentée à un homme.



Figure 4 : **Jean-Baptiste Denis** (c1635-1704).

Préalablement, le **3 Mars 1667**, s'inspirant des travaux de Lower, Denis réalisa une transfusion entre deux chiens (Denis 1667). Puis, il transfusa du sang de trois veaux à trois chiens (Denis 1667; Denis 1667). Il écrivit: "*de grands avantages doivent être associés au mélange de différents sangs*" et "*le sang des animaux doit avoir moins d'impuretés que celui des hommes, parce que les débauches et les dérèglements dans le boire et le manger ne leur sont pas si ordinaires qu'à nous*" (Denis 1667; Denis 1667).

Le **15 juin 1667**, à Paris, Denis transfusa un jeune homme de 15 ans, atteint d'une fièvre violente "qui avait obligé les médecins à le saigner 20 fois". Denis attribua l'état du patient aux grandes évacuations de sang et résolu de le transfuser avec l'aide d'un chirurgien, **Paul Emmeretz** (mort en 1690). A 5 heures du matin, l'ouverture de la veine au pli du coude fit couler dans un plat un sang noir et épais. Ils retirèrent 3 onces (90 ml) puis introduisirent dans la veine du patient le sang artériel d'un agneau dont la carotide avait été préparée. Ils injectèrent trois fois la quantité récupérée dans le plat. Le patient dit avoir senti une très grande chaleur le long de son bras. Puis, il travailla et mangea comme à l'ordinaire, il était serein et riant. Il saigna quelques gouttes par le nez 11 heures après la transfusion (Denis 1667). **La première transfusion à un homme fut donc un xénotransfusion.**

C. Autres expériences de Denis

Deuxième transfusion

La seconde transfusion fut réalisée par Denis en **juin 1667** (date exacte inconnue). Il s'agissait d'un homme sain de 45 ans qui fut payé pour sa participation. Denis lui préleva 10 onces (300 ml) et lui injecta 300 ml de sang artériel d'agneau (Denis 1667). Ce patient mentionna également la chaleur ressentie le long de son bras. Cette expérience ne démontra aucun effet bénéfique pour le patient et montra tout au plus l'innocuité de la procédure chez un être sain.

Troisième transfusion

La troisième transfusion fut réalisée le **24 juin 1667** sur le Baron Bonde, un jeune noble suédois qui tomba malade à Paris. Il était tellement malade que quatre médecins l'avait déjà saigné. Quand Denis et Emmeretz arrivèrent, le patient n'était pas capable de parler, était pratiquement inconscient et avait vomi. Dès qu'il reçut 6 onces de sang d'un veau, il put parler. Dans les 24 heures suivant la transfusion, son état s'améliora mais il chuta ensuite. Denis entreprit alors une autre transfusion. L'état clinique du patient s'améliora un peu mais il mourut peu de temps après (Moore 2003).

Quatrième transfusion

Pour son quatrième essai, le **lundi 19 décembre 1667**, Denis transfusa un malade mental de 34 ans, nommé Antoine Mauroy (c1633-1668) qui s'était promené nu dans Paris nuit et jour pendant quatre mois. Sa maladie mentale avait commencé 8 ans auparavant et il avait été saigné 18 fois pour essayer de la traiter. Emmeretz préleva 10 onces de sang veineux du patient et lui transfusa 5 ou 6 onces de sang de veau prélevé à l'artère crurale (Denis 1667; Denis 1668; Lamy 1668). Comme l'effet n'était pas spectaculaire, Denis réalisa une seconde transfusion deux jours plus tard, le **21 Décembre 1667**, avec plus d'une livre de sang de veau. Le patient

se plaint de la chaleur qui courait dans son bras et d'une sévère douleur aux reins. Pendant les jours suivants, ses urines étaient noires : *"il pissa un grand verre d'urine de couleur aussi noire que si l'on y eut délayé parmi de la suite de cheminée"* ; ce fut la première description d'une réaction hémolytique aigue post-transfusionnelle.

Cinquième transfusion

Pour sa cinquième tentative, le **10 février 1668**, Denis transfusa 12 onces de sang artériel d'**agneau** à une femme paralysée qui avait été saignée cinq fois (Denis 1668). Sa paralysie disparut presque immédiatement.

Antoine Mauroy resta en bonne santé pendant deux mois après sa seconde transfusion mais tomba à nouveau malade. Sa femme demanda à Denis de lui administrer une troisième transfusion. Denis refusa estimant que l'état de santé du patient n'était pas suffisante. Cependant, la femme le supplia et Denis céda. Il introduit un tube dans une des veines du pied du patient pour retirer du vieux sang. Le patient fut pris de violentes convulsions, obligeant Denis à retirer le tube sans avoir eu le temps d'ouvrir l'artère du **veau** et de pratiquer la transfusion. Mauroy mouru le lendemain (Denis 1668; Denis 1668).

D. Oppositions et interdictions

La transfusion fit l'objet de nombreuses polémiques. **Guillaume Lamy** (1644-1683) (Lamy 1667; Lamy 1667; Lamy 1668) et **Pierre Martin de la Martinière** (1634-1676) (de la Martinière 1667; de la Martinière 1668) furent les plus farouches opposants à cette pratique. Profitant du décès de Mauroy, les détracteurs de Denis incitèrent la femme de Mauroy à porter l'affaire devant la justice. La sentence fut rendue le **17 avril 1668** au Châtelet à Paris (Denis 1668; Denis 1668). Denis fut innocenté ; il fut établi que la femme de Mauroy l'empoisonnait à l'arsenic. Cependant, le 17 avril 1668, la Cour décida qu'à l'avenir, la transfusion était interdite sans l'approbation des médecins de la Faculté de Paris. Le 10 Janvier 1670, le Parlement français interdit les transfusions. Cette décision fût suivi par Le Parlement anglais puis le Pape. Cette interdiction était encore en vigueur en France à la fin du XIX^e siècle.

II. AUTRES TENTATIVES

Avant la prise d'effet de l'interdiction, quelques autres tentatives furent réalisées en Europe.

A Londres, le **23 Novembre 1667**, juste après les expériences de Denis, **Richard Lower** (1631-1691) et **Edmund King** (1629-1709), transfusèrent du sang d'**agneau** à **Arthur Coga** (1645-?), un étudiant en arts de 22 ans, qui fut payé 22 schillings pour sa participation à l'expérience. Six jours après, Coga déclara se sentir beaucoup mieux qu'avant la transfusion. Il est fort possible que Coga n'ait pas reçu beaucoup de sang (King 1667; Moore 2003). Le **14 Décembre 1667**, Lower et King réalisèrent une seconde transfusion qui ne fut pas rapportée dans *Philosophical Transactions* mais dont les résultats furent communiqués dans une lettre écrite par Coga à la Royal Society. Il n'y avait pas d'effet.

En **1668**, à Frankfurt (Oder, Germany), **Matthäus Gottfried Purmann** (1649-1711) se réclame d'avoir guéri un lépreux en lui ayant transfusé du sang d'**agneau**. Il avoue avoir échoué dans la guérison de deux "soldats scorbutiques" et d'un pêcheur souffrant d' "éruptions dévorantes" (Purmann 1692) cité par (Oré 1868). Il rapporta également le cas d'une femme ayant développé la mélancholie du mouton après avoir reçu du sang de mouton, cité par (Ryser 2002). Au XVII^{ème} siècle, la croyance populaire voulait que le coeur générât les émotions et que le sang était son messager. La thérapie en vogue était la saignée. La foi en la XTF venait du fait que le sang animal joyeux était sensé apporter son état d'esprit positif au receveur.

Dans le livre de Purmann (Purmann 1692), une gravure montre un homme recevant le sang d'un **agneau** (Figure 2). Une gravure similaire fut imprimée en 1671 dans *Armentarium chirurgicum (technique de chirurgie)*, un ouvrage écrit par Johannes Schultetus (Figure 3) (Scul-tetus 1671) et une autre sur la page de titre des planches anatomiques de Pietro da Cortona publiées en **1741** (Figure 4) (da Cortona 1741).

En **1679**, **Georges Abraham Mercklin** (1644-1700), un médecin allemand, décrit les premiers essais de la transfusion dans son livre *De ortu et occasu transfusionis sanguinis* et y rapporta quelques cas de transfusions de l'animal à l'homme. Il mit en avant les dangers de cette transfusion et statua clairement l'inutilité de cette technique. Le frontispice de son livre comprenait une gravure sur cuivre montrant une transfusion d'un animal (**agneau ou chèvre**) à un homme (Figure 5) (Mercklin 1679).



Figure 5 : Médecin transfusant du sang d'un agneau à un homme issu de *Grosser und gantz neugewundener Lorbeer-Krantz oder Wund-Artzney* (1692), p. 285, by **Matthias Gottfried Purmann** (Purmann 1692).



Figure 6 : Deux médecins transfusant du sang de chien à un homme, issu de *Armamentarium chirurgicum* (1671), Pl. 11, p. 28 by **Johannes Scultetus** (Scultetus 1671).



Figure 7 : La page de titre des planches anatomiques de **Pietro da Cortona** (1596-1669) publié en 1741 montre un homme recevant le sang d'un mouton (da Cortona 1741).



Figure 8 : Un homme recevant le sang d'un veau ou d'une chèvre, issu de *Tractatio medico curiosa de ortu et occasu transfusionis sanguinis* (1679) de **Georges Abraham Mercklin** (Mercklin 1679), gravé par Cornelius Nicolaus Sehurk.

III. RESURRECTION PAR LA TRANSFUSION DE SANG ANIMAL

Plus d'un siècle plus tard, le **14 Décembre 1799**, deux médecins ont saigné George Washington 4 fois pour un mal de gorge ; il perdit pratiquement 2,5 litres de sang (Schmidt 2002) et mourut peu après 22 heures. Quatorze heures plus tard, sa famille arriva avec **William Thornton** (1761-1828), un médecin qui se proposa de réanimer le patient décédé. Suffocation et pertes sanguines furent identifiées comme cause de la mort. Thornton proposa "d'ouvrir un passage vers les poumons par la trachée et de lui insuffler de l'air (...) et de lui transfuser le sang d'un agneau". La famille n'accepta pas cette proposition de résurrection.

IV. DECOUVERTE DE L'INCOMPATIBILITE DES SANGS HETEROLOGUES

En **1816**, **John Henry Leacock**, médecin écossais travaillant à Edinburgh, réalisa 8 essais de transfusions entre animaux. Il montra que les meilleurs résultats étaient obtenus quand le donneur et le receveur étaient de la même espèce. Cela le conduisit à recommander la transfusion interhumaine (Schmidt 2002).

En **1818**, A Londres, **James Blundell** (1791-1878), un obstétricien britannique, au courant des travaux de Leacock, démontra l'incompatibilité du sang hétérologue dans les transfusions répétées de sang de mouton à des chiens. En **1825**, il écrit "the blood of one sort of animal cannot, with impunity, be substituted indifferently, and in a large quantities, for that of another sort of animal; it follows, of course, that in performing the operation of transfusion on the human body, the human blood should alone be employed", ce qui donne traduit en français "*Le sang d'une espèce animale ne peut pas, en toute impunité, être substitué dans de large proportion à celui d'une autre espèce animale. Il s'ensuit évidemment que pour la transfusion à l'être humain, seul du sang humain doit être employé*" (Blundell 1825; Farr 1980). En **1829**, il réalisa la première transfusion inter-humaine reconnue chez une femme présentant une hémorragie postpartum (Waller 1825; Blundell 1829).

La première ALLOtransfusion eut lieu plus d'un siècle et demi après la première XENOtransfusion.

V. L'AGE D'OR DE LA XENOTRANSFUSION

Après avoir été pratiquement abandonnées pendant près de deux siècles, les transfusions et xénotransfusions bénéficient d'un regain d'intérêt dans la seconde moitié du XIX^e siècle où elles connurent leur âge d'or. En l'absence de techniques pour prévenir la coagulation (technique mise en place après 1914), la transfusion consistait essentiellement en l'injection immédiate de sang total prélevé à la veine ou à l'artère d'un donneur et injecté dans la veine d'un receveur. Dans la plupart des cas, la xénotransfusion était précédée d'une saignée et ne concernait qu'un faible volume sanguin. Il est fort probable que dans la plupart des cas, la guérison n'était pas due à l'apport de sang animal mais à l'arrêt du saignement (Moore 2003). Les infections étaient certainement fréquentes car l'importance de la stérilisation et des mesures d'asepsie n'était pas connue à cette époque (les travaux de Louis Pasteur datent de 1865 et ceux de Joseph Lister de 1867).

Les travaux d'Oré tirèrent la transfusion de l'oubli. En **1863**, puis dans une seconde édition en **1876**, **Pierre Cyprien Oré** (1828-1890), un physiologiste français, rapporta **154 transfusions de sang animal** (agneau, mouton, veau) à des hommes dans son livre "Etudes historiques, physiologiques et cliniques sur la transfusion du sang" (Oré 1868). Il décrit les travaux de Macini, Rodolfi, Caselli, Ponza, Albini, E. Dattera, C. Livi en Italie, ainsi que ceux de Heyfelder en Russie, à propos desquels nous n'avons pu trouver d'autres sources que ses écrits. Il recense 64 guérisons, 20 améliorations, 43 états stationnaires, 1 cas douteux et 26 décès. Dans cette série, Oré ne déplore qu'un échec directement lié à la transfusion (celui de Hasse) au cours duquel la mort est survenue immédiatement. Ultérieurement, il décrira un second cas personnel dans la deuxième édition de son livre mais il rapporte parallèlement le cas d'un homme de 42 ans anémié ayant reçu 3 transfusions de sang humain sans amélioration mais qui guérit rapidement avec une transfusion de sang d'agneau (Oré 1876). Déjà, Oré souligne que le sang animal présente cette supériorité d'être inépuisable et toujours disponible et que grâce à lui, on ne fait pas courir de risque à un donneur humain. Dès cette époque, l'emploi de sang animal se justifiait par la possibilité de généraliser la transfusion sans devoir faire appel au civisme d'un autre être humain.

En **1872**, **Giuseppe Albini** (1827-1911), un italien, décrit deux transfusions de sang de **mouton** à une femme (Albini 1872).

En **1873**, **Franz Gesellius**, médecin et chirurgien (Wilna, Pologne), qui avait déjà réalisé 22 transfusions de sang de mouton à des chiens, rapporta et cautionna l'utilisation de sang de **mouton** ou de veau dans la réalisation de 19 transfusions à des hommes (Gesellius 1873). Il essaya de démontrer un danger supérieur à utiliser du sang humain.

En 1874, **Oscar Hasse** (1837-1898) (Nordhausen, Allemagne), publia *Die Lammb Blut-Transfusion beim Menschen (La transfusion de sang d'agneau à l'homme)*, dans lequel il décrit les résultats de 31 cas de transfusions de sang d'**agneau** à l'homme (Figure 6) (Hasse 1874). Certains des patients moururent et beaucoup eurent des effets secondaires tels que du sang dans les urines ou un ictère. Ceci n'empêcha pas Hasse de défendre ardemment la XTF.



Figure 9 : Transfusion de sang d'agneau, à une femme par Hasse, Petersburg (1874)

Le 15 Juin 1874, **Henry Gradle** (1855-1911), professeur de physiologie (Chicago, Illinois, USA), rapporta la transfusion de sang d'**agneau** à deux hommes (Gradle 1874). Il décrit des effets secondaires comme de la fièvre, de l'urticaire et "une forte odeur d'agneau".

En 1874, **Emil Ponfick** (1844-1913), pathologiste allemand, rapporta, à l'Association des Médecins Baltiques, la mort d'une femme de 34 ans, ayant reçu du sang de **mouton**. Il décrit pour la première fois, la présence d'hématies lysées dans le sérum et de l'hémoglobinurie (plutôt que l'hématurie rapportée auparavant), signifiant la destruction des hématies du donneur. L'année suivante, Ponfick confirma ses observations lors de transfusions de sang de mouton à des chiens (Ponfick 1875).

En 1875, **Leonard Landois** (1837-1905), physiologiste allemand, décrit 129 cas de transfusions de l'animal à l'homme et les compare à 347 cas de transfusions interhumaines dans son livre *Die Transfusion des Blutes (La transfusion sanguine)* (Landois 1875). Pendant la guerre de 1870 entre la France et l'Allemagne, la transfusion de sang animal à l'homme devint très courante. Landois montra que les hématies d'origine animale étaient hémolysées au contact du sang humain, en raison de la présence d'Ac naturels, d'hétérohémolysines et d'hétéroagglutinines.

En **1882**, **Georges Hayem** (1841-1933), médecin français et hématologiste à Paris, consacre un chapitre important de son livre "Leçons sur les modifications du sang" à l'étude de la transfusion entre animaux d'espèces différentes (Hayem 1882).

En **1898**, **Jules Bordet** (1870-1961), belge qui travaillait à l'institut Pasteur à Paris, montra que les titres d'Ac augmentent après immunisation (Bordet 1903). Ce phénomène explique l'hémolyse qu'a subi Antoine Mauroy après la seconde transfusion administrée par Denis.

En **1882**, **F. Dedolph**, rapporta avoir traité un patient qui saignait depuis 12 jours avec 240 ml de sang de **mouton**. Le saignement s'arrêta immédiatement après que 8 onces de sang de mouton furent transfusées (Dedolph 1882), quoted by (Davis 1994).

En **1902**, **Emmanuel Hédon** (1863-1933) montre que la transfusion de globules rouges purs, débarrassés du sérum par des lavages à l'eau salée sauve des animaux. Lorsque cette transfusion est faite avec du sang d'un animal d'une autre espèce, l'animal survit également mais la survie des hématies n'est pas longue (réaction hémolytique) (Hedon, Arch. Medec. Experim. Anat. Pathol. T. XIV, 1902, pp 297).

En **1928**, **René Cruchet** (1875-1959), médecin français publia "La transfusion de sang de l'animal à l'homme". A partir de nombreuses expériences, il obtint un taux de survie très remarquable et montrent que la première condition de réussite est la lenteur de l'injection.

In **1928**, **Alain Orly** publia une thèse en français intitulée "Recherches expérimentales sur la transfusion de globules rouges hétérogènes après les hémorragies graves".

VI. ABANDON

Après la mise en garde de Ponfick et Landois puis les recommandations des très crédibles Jean-Louis Prévost (1790-1850) (Suisse) et Jean-Baptiste Dumas (1800-1884) (France), les XTFs furent pratiquement abandonnées. Pourtant la transfusion interhumaine était encore source d'accidents hémolytiques graves.

La découverte des groupes sanguins A, B et O par l'autrichien **Karl Landsteiner** (1868-1943) en 1900, ouvrit la voie de la transfusion interhumaine et sonna le glas de la xénotransfusion (Landsteiner 1900). Il ne sera plus question de xénotransfusion avant un siècle.

Un autre siècle s'écoula avant que l'intérêt pour la xénotransfusion réapparut. Pendant cette période, un essai fut tenté par **Alexander S. Wiener** (1907-1976) en **1955** aux Etats-Unis (Wiener 1956). Des hématies bovines furent données à une veuve de 62 ans en attente désespérée de sang compatible. La transfusion fut arrêtée après 50 ml transfusé car la patiente devint sévèrement dyspnéique.

VII. DHANIRAM BARUAH

Dans la nuit du 31 Décembre 1996, **Dhaniram Baruah** (de Sonapur près de Guwahati, Inde) transplanta le coeur d'un porc chez Purno Saikia, un homme de 32 ans présentant une communication interventriculaire (non publié) (Jayaraman 1997). Le patient mourut d'un choc septique 7 jours plus tard. Baruah fut arrêté le 9 janvier 1997 pour violation de l' Human Organ Transplantation Act of 1994 (Mudur 1999). Il fut détenu pendant 40 jours mais jura de continuer ses essais.

En **2000**, Baruah administra plus d'une demie pinte de sang de porc à un laboureur de 22 ans, souffrant d'anémie sévère (Hoffmann 2000). Quatre semaines plus tard, le patient était toujours vivant et sortait de l'hôpital. Des tests sanguins démontrèrent qu'il avait des hématies circulantes non-humaines (données non publiées). Ceci est l'unique mention de l'utilisation de sang de porc comme donneur et le seul rapport récent de xénotransfusion à un homme. Cette xénotransfusion était empirique et survint dans un contexte où la possibilité d'utiliser du sang animal se présenta à nouveau.

Chapitre 3

LES GRANDES ÉTAPES DE LA XENOTRANSPLANTATION

(Article 2)

Aucune des expériences de xénotransfusion précitées ne fut couronnée de succès ; tout au plus elles ne furent pas délétères. En effet, la barrière d'espèce était franchie donc le sang était rapidement hémolysé ; les volumes transfusés étaient faibles et la transfusion était souvent accompagnée d'une saignée, donc l'effet sur la volémie et l'oxygénation était pratiquement nul ; il n'existait pas d'asepsie ni d'anticoagulants. Et surtout, ces transfusions étaient réalisées hors indication pour traiter la folie, la paralysie, etc.

Ce qui a présidé à l'utilisation de l'animal a d'abord été le souhait de ne pas nuire au donneur humain à une époque où l'asepsie et la phlébotomie n'étaient pas ce qu'elles sont aujourd'hui. C'est la volonté de ne pas nuire au receveur qui a conduit à l'abandon de la xénotransfusion au début du XX^e siècle.

De nos jours, la pratique de la transfusion interhumaine est un réel succès. C'est pourtant dans ce contexte que renaît l'idée de l'idée d'utiliser du sang animal. Ce paradoxe s'explique par le développement récent de la xénotransplantation d'organes, de tissus et de cellules. L'étude de l'histoire des xénotransplantations permet de comprendre le regain d'intérêt récent pour la xénotransfusion.

Après la XTF, ce sont des tissus animaux (os, peau, cornée, testicule, etc.) qui furent transplantés à des hommes. Les xénotransplantations d'organes furent plus tardives car il n'existait pas de technique permettant de contrôler l'hémorragie après résection de l'organe malade ni de restaurer la circulation après transplantation.

I. LES PREMIERES XTs DE TISSUS

En **1668**, une xénotransplantation d'os pratiquée et réussie par un Russe est rapportée par le Hollandais Job **van Meeneren** : l'os du crâne d'un chien fut utilisé pour réparer un crâne humain (Goldwyn 1977; Haeseker 1991).

Le caractère princeps de cette xénotransplantation d'os fut démenti par Rodriguez Umana qui rapporte un précédent (Rodriguez Umana 1995). En **1501**, le chirurgien iranien **Muhammad Baha' al-Dawla** publie *The Quintessence of Experience*, ouvrage dans lequel il rapporte son expérience médicale. Il décrit le traitement chirurgical d'une ostéomyélite du crâne, intervention au cours de laquelle le chirurgien excisa une portion de l'os malade et le remplaça par un morceau d'os provenant d'un chien. Une tranche de concombre fut utilisée pour la protection du cerveau. Ce même auteur rapporta l'utilisation (Herat, Afghanistan) par un chirurgien indien **Ala-ul-Din**, d'une peau de chien fraîche chez un patient présentant un eczéma de toute la tête (Elgood 1966).

En **1771**, le chirurgien et anatomiste écossais John **Hunter**, dans son premier traité *Natural History of Human Teeth*, décrit la transplantation d'une dent humaine dans la crête d'un coq. En 1778, il utilise pour la première fois le terme de "transplant" (Martin 1970).

En **1804**, l'Italien Giuseppe **Boronio** prélève des morceaux de peau d'un mouton et, après les avoir séparés de l'organisme quelques heures, les greffe sur le dos de ce même mouton, à un autre endroit, avec succès (Kuss 1992). Il constate ensuite les échecs de la xénotransplantation : quand les greffes sont réalisées entre vache et jument, elles échouent.

Paul **Bert**, juriste français devenu médecin, collaborateur de Claude Bernard, publie en **1863** sa thèse de médecine intitulée *De la greffe animale*. Il montre la faisabilité des autogreffes (des queues de rats placées sous la peau du même animal survivent). Il établit qu'une circulation sanguine entre deux rats est possible mais ne l'est pas entre un rat et un cochon. Il conclut en recommandant de ne pas pratiquer de greffes entre individus d'espèces différentes, notamment entre un animal et un homme (Keys 1973).

En **1875**, Alfred **Houzé de l'Aulnoit** réalise des greffes cutanées à partir de joues de lapins et rapporte 5 succès sur 45 expériences (Kuss 1992).

En **1893**, 28 ans avant la découverte de l'insuline, Watson **Williams** (Bristol, UK) réalise la première transplantation de trois fragments de pancréas à un enfant diabétique de 15 ans ; le pancréas provient d'un mouton (Williams 1894rt). Après une diminution de la glycosurie, l'enfant meurt 3 jours plus tard.

II. XENOTRANSPLANTATIONS DE TESTICULES

Les transplantations de testicules ont une place à part dans l'engouement pour les xénotransplantations. Il s'agit de "greffes de revitalisation humaine" (Dartigues 1925), prémisses de l'endocrinologie. Leur relatif succès s'explique par la particularité de ces glandes d'être immunologiquement protégées.

En **1889**, le physiologiste français Adolphe **Brown-Séquard** s'injecte sous la peau un extrait aqueux de testicules broyés de chien et de cobaye (Brown-Séquard 1889). Ces injections lui auraient redonné des forces physiques et des capacités que l'âge avait diminuées. Brown-Séquard crée ainsi l'opothérapie, médecine basée sur les sucres (du grec *opos*, suc), ancêtre de l'endocrinologie. À partir de cette date, de nombreux médicaments constitués de broyats d'organes animaux sont commercialisés. De nos jours, extraits thyroïdiens et extraits pancréatiques sont encore utilisés dans le traitement palliatif de l'hypothyroïdie et de l'insuffisance pancréatique exocrine.

Avec Serge **Voronoff**, l'endocrinothérapie devient chirurgicale. Né en Russie en 1866 et naturalisé français en 1895, Voronoff envisage de participer au rajeunissement de l'homme par la greffe de testicules de singes : chimpanzés et babouins (Augier 1996; Real 1997). Il apprend la pratique chirurgicale de la greffe auprès d'Alexis Carrel et invente un nouveau type de greffes, greffes dont le donneur provient d'une espèce fraternelle : les homogreffes. Le 12 juin **1920**, il pratique sa première greffe de testicules de chimpanzé à un homme : des tranches de testicules prélevées extemporanément sont placées dans les bourses. Trois ans plus tard, 43 hommes auront reçu une homogreffe de testicules (Voronoff 1924), ils seront 500 en 1930. Des femmes reçoivent des ovaires de guenon en traitement de leur ménopause. Plus surprenant encore, Voronoff greffe un ovaire de femme à une femelle chimpanzé nommée Nora qu'il insémine ensuite avec du sperme humain, sans succès ; Nora fera l'objet d'un roman (Champsaur). À sa mort en 1951, Voronoff aura greffé 2 000 patients humains.

Déjà à cette époque, Voronoff se soucie de l'approvisionnement en singes. Il envisage la création de singeries en Guinée française pour élever les singes avant de les exporter. Décrié par la communauté scientifique et le public, Voronoff abandonnera ses pratiques. Il faut lui reconnaître d'avoir mis en lumière la difficulté d'approvisionnement en singes et d'avoir provoqué le débat éthique sur les xénotransplantations.

III. XENOTRANSPLANTATIONS D'ORGANES

La condition nécessaire au succès d'une transplantation d'organe était de restaurer la vascularisation de cet organe par une technique appelée anastomose (du grec *ana*, joindre, et *stoma*, bouche : joindre bouche-à-bouche). En 1532, dans Pantagruel, François **Rabelais** (1494-1553) décrit la réimplantation de la tête d'Epistémon par Panurge et souligne déjà la nécessité d'une anastomose (Rabelais 1532). Deux Français, Mathieu Jaboulay et son élève Alexis Carrel, furent les pionniers de cette technique. Le rein fut logiquement l'organe le plus transplanté par les pionniers de la transplantation : c'est un organe pair, recevant une vascularisation unique et pour lequel la production d'urine atteste de la fonction (Bhandari 1997).

En **1905**, Laurent **Princeteau** (Bordeaux, France) rapporte la xénotransplantation d'un rein de lapin à un homme (Princeteau 1905) ; le receveur vécut 16 jours et mourut d'une congestion pulmonaire.

Mathieu **Jaboulay** (Lyon, France) met au point la technique d'anastomose vasculaire grâce à laquelle il pratique, le 24 janvier **1906**, une transplantation hétérotopique de rein de porc tué 3 heures auparavant, au pli du coude d'une femme de 48 ans (Jaboulay 1906). Le jour même et le lendemain, il recueille 1,5 litre d'urine, mais le troisième jour il est contraint de retirer de rein qui est le siège de thromboses. Le 9 avril 1906, il transplante un rein de chèvre au pli du coude d'une femme de 50 ans néphrectomisée (Jaboulay 1906). Le résultat est le même, le rein doit être retiré au bout de trois jours. Cette transplantation est souvent rapportée comme étant la première véritable expérience de xénotransplantation et même comme la première expérience de transplantation d'organe. À cette époque, on parle d'hétérotransplantation. À la fin de son article, Jaboulay conclut que "l'hétérogreffe doit créer des conditions favorables à la coagulation du sang que l'autogreffe évite".

En **1910**, Ernst **Unger** (Berlin, Allemagne) tente une greffe des reins d'un macaque à une femme de 21 ans ; la survie est de 32 heures (Unger 1910).

En **1913**, **Schonstadt** greffe un rein de singe japonais à une jeune fille souffrant d'une insuffisance rénale provoquée par une intoxication au mercure (Morel 1913; Kuss 1992). Après production d'un peu d'urine, la patiente meurt 60 heures après la greffe.

En **1923**, Harold **Neuhof** (New-York, USA) greffe un rein de mouton à un homme qui survécut 9 jours (Neuhof 1923).

Pendant 40 années, aucune autre expérience ne sera tentée.

IV. LA PÉRIODE CONTEMPORAINE

Les échecs des premières transplantations sont directement imputables à l'absence d'immunosuppression ; l'arrivée de médicaments immunosuppresseurs va relancer l'intérêt pour les transplantations. L'année 1964 sera très riche en essais.

A. Reprise des essais en 1963

En **1963** et **1964**, deux tentatives de xénotransplantation rénale sont entreprises par Keith **Reemtsma** (New-Orléans, Louisiane, USA) l'une avec un rein de singe rhésus chez un homme de 43 ans et l'autre avec un rein de chimpanzé chez une femme de 23 ans (Reemtsma 1964; Reemtsma 1995). Pour la première fois, la transplantation était accompagnée d'une immunosuppression associant azathioprine, actinomycine C, prednisone et une irradiation totale. Le premier greffon dut être enlevé au bout de 10 jours. La femme greffée mourut d'une pneumonie, mais dans ce cas, le rein de chimpanzé survécut 9 mois sans rejet, attestant ainsi de la faisabilité des xénotransplantations ; c'est la plus longue survie jamais enregistrée avec une xénotransplantation d'organe.

L'année **1964** est très riche en essais :

Le **23 janvier**, James Hardy (Jackson, Mississippi, USA) tente la première transplantation cardiaque à l'aide d'un cœur de chimpanzé nommé Bino chez un homme de 68 ans en état de choc cardiogénique secondaire à une cardiomyopathie ischémique (Hardy 1964). Le patient vécut 2 heures. Les auteurs attribuèrent l'échec à la trop petite taille du cœur du donneur et à la mauvaise condition du patient, toutefois, les données de l'examen post mortem suggèrent un rejet vasculaire hyperaigu. Aucune immunosuppression n'avait été pratiquée, ni aucun ty-page ABO et HLA.



Figure 10 : James Hardy

Claude **Hitchcock** (Minneapolis, Minnesota, USA) greffe un rein de babouin à une femme de 65 ans (Hitchcock 1964). La survie fut de 4 jours.

David **Hume** (Richmond, Virginia, USA) rapporte une xénotransplantation de rein de chimpanzé à un homme (Hume 1964) ; le patient ne vécut qu'un jour.

Thomas **Starzl** (Denver, Colorado, USA) et Claude Hitchcock transplantent des reins de babouins chez 6 patients humains (Starzl 1964). Les greffons vivront entre 19 et 98 jours ; tous les patients décèdent de complications infectieuses.

Keith **Reemtsma** publie une série de 12 hétérotransplantations de reins de singes sans obtenir de meilleurs résultats que précédemment (Reemtsma 1965).

En **1965**, Jules **Traeger** (Lyon, France) réalise trois greffes de rein de chimpanzé à des hommes (Traeger 1965) ; la survie la plus longue est de 49 jours.

En **1966** (publié en 1969), Raffaello **Cortesini** (Rome, Italie) greffe un rein de chimpanzé à un homme de 19 ans (Cortesini 1969) ; la survie est de 31 jours.

Pendant ce temps...

Le 3 décembre 1967, au Cap, le chirurgien sud-Africain Christiaan Barnard réalise la première allotransplantation cardiaque réussie (Barnard 1967). Après ce succès, les efforts des médecins se sont concentrés essentiellement sur les allotransplantations.

Denton **Cooley** (Austin, Texas, USA) décrit en **1968** la transplantation d'un cœur de mouton à un homme de 48 ans atteint d'une cardiomyopathie ischémique terminale (Cooley 1968) ; la transplantation échoua 10 minutes après restauration de la circulation.

En **1969**, A. **Bertoye** et Pierre **Marion** (Lyon, France) tentent deux xénotransplantations de foie de babouins, chez une femme de 22 ans qui vécut plus de 4 mois (recul au moment de la publication) et chez un garçon de 7 mois qui mourut 39 heures après le début de l'intervention (Bertoye 1969). Puis, la même équipe transplante un cœur de chimpanzé à une jeune femme cardiaque après l'échec du remplacement d'une valve mitrale ; la tentative est peu documentée, l'auteur se contente d'écrire que le cœur défaille "rapidement" (Marion 1969).

Après avoir réalisé la première allotransplantation hépatique en 1963, Thomas **Starzl** et Geoffrey **Giles** (Denver, Colorado, USA) transplantent 3 foies de chimpanzés à des enfants entre 1969 et 1974, un enfant de 28 mois vécut 9 jours (Starzl 1969), un garçon de 7 mois vécut 26 heures (Giles 1970), le troisième enfant vécut 14 jours (Starzl 1974).

En **1969** (publié en 1970), Lucien **Leger** (Paris, France) réalise une xénotransplantation hétérotopique d'un foie de babouin à une femme de 23 ans atteinte d'une hépatite fulminante dans le coma (Leger 1970 ; Leger 1970) ; le foie fonctionne 55 heures mais doit être retiré après 72 heures. La patiente décède 12 heures après l'ablation du greffon.

En **1971**, M. **Pouyet** et Ph. **Bérard** (Lyon, France) transplantent des foies de babouins à une femme de 28 ans et à une femme de 34 ans ; les patientes décèdent dans les 2 jours (Pouyet 1971).

Dix ans après son succès d'allotransplantation cardiaque, Christiaan **Barnard** (Le Cap, Afrique du Sud) tente en **1977** une transplantation hétérotopique de cœur chez deux patients sous circulation extracorporelle (Barnard 1977). Dans le premier cas, un cœur de babouin de 30 kg a été transplanté à une jeune femme de 25 ans. Le cœur cessa de fonctionner après 5 heures. Bien que la cause du décès fût attribuée à l'inadéquation entre la taille du cœur du donneur et celle du receveur, des signes de rejet hyperaigu étaient déjà présents (Rose 1991) ; aucune immunosuppression n'est rapportée pour ce cas. Le deuxième cas concerne une transplantation de cœur de chimpanzé à un homme de 60 ans. Malgré une forte immunosuppression, un rejet entraîna le décès en 4 jours.

B. Notion de barrière d'espèce

Après 40 années d'arrêt des essais, les échecs constants des xénotransplantations menées en 1964, et sporadiquement ensuite, vont entraîner une nouvelle interruption pendant près de 20 ans, laissant place à la recherche d'une meilleure maîtrise de l'immunosuppression. Les véritables progrès viendront avec la découverte de la ciclosporine.

En **1961**, Peter **Gorer** (London, UK) propose le terme de xénotransplantation en remplacement de celui d'hétérotransplantation pour désigner les transplantations réalisées entre un donneur et un receveur de deux espèces différentes (Gorer 1961).

En **1965**, Ben **Eiseman** (Denver, Colorado, USA) montre qu'un foie hétérologue perfusé *ex vivo* survit mieux qu'*in vivo* et suggère la nécessité d'une meilleure immunosuppression (Eiseman 1965).

La même année, Keith **Reemstma** distingue les termes hétérogreffes et xénogreffes : hétérogreffe doit être utilisé pour désigner des greffes entre espèces proches et xénogreffes pour désigner des transplantations entre individus de grande disparité génétique (Reemtsma 1965).

L'année suivante, Robert **Perper** montre que le rejet suraigu est d'autant plus rapide que le donneur et le receveur appartiennent à des espèces éloignées dans la classification zoologique (Perper 1966 ; Perper 1966).

En **1968**, le prix Nobel Roy **Calne** (Cambridge, UK) tente des xénotransplantations de foie de porcs à des babouins (Calne 1968), attitude logique avant de passer aux essais cliniques chez l'homme, essais jusque-là privilégiés. En 1970, Calne propose de remplacer les termes d'hétérogreffes inter-ordinale ou intra-ordinale par ceux d'espèces discordantes ou concordantes (Calne 1970).

Il faut attendre **1976** pour que Jean-François **Borel** (Bâle, Suisse) découvre la ciclosporine A (Borel 1976) ouvrant ainsi la voie vers une véritable thérapeutique immunosuppressive.

C. L'ère de l'immunosuppression

La xénotransplantation la plus célèbre est réalisée en **1984** par Leonard **Bailey** (Loma Linda University, Californie, USA) à une fillette de 14 jours, le bébé Fae ("Baby Fae"), atteinte d'une hypoplasie congénitale du cœur gauche. Fae reçoit le cœur d'un babouin (Bailey 1985 ; Bailey 1986). Les conditions de la réussite sont réunies : le cœur du donneur et celui du receveur sont de tailles comparables, le receveur est immunologiquement immature et on dispose de la ciclosporine récemment découverte. Parmi 6 babouins disponibles, celui déclenchant la plus faible réaction sur des cultures de lymphocytes est choisi. Après l'intervention, la fonction cardiaque reste stable jusqu'au 11^e jour. À cette date, les signes de rejet se manifestent puis s'aggravent. Baby Fae décède le 20^e jour.



Figure 11 : Baby Fae

Beaucoup des espoirs mis dans la xénotransplantation sont morts avec Baby Fae. Les échecs cumulés des expériences précédentes ont conduit à l'installation d'un moratoire de fait. Ce n'est qu'en **1992**, sous l'impulsion de Starzl, que les essais reprendront.

En 1992, un nouvel immunosuppresseur, le FK506 (tacrolimus) (Warty 1988) est mis sur le marché. Il sera immédiatement utilisé par Thomas **Starzl** (Pittsburgh, Kansas, USA) : le 28 juin 1992 (publié en 1993) il transplante un foie de babouin à un homme de 35 ans atteint d'une hépatite chronique active, infecté par le virus de l'hépatite C et le HIV (Starzl 1993). Le foie de babouin a l'avantage sur le foie humain de résister à l'infection par le virus de l'hépatite B (Michaels 1996). Le patient survécut 70 jours. La cause du décès était une aspergillose cérébrale associée à d'autres infections. Starzl renouvelle l'expérience le 10 janvier 1993 avec un foie de babouin chez un homme de 62 ans mourant d'une hépatite B (Rossi 1999). Le patient ne reprit jamais conscience et mourut 26 jours plus tard.



Figure 12 : Thomas Starzl

Toujours en **1992**, Zbigniew **Religa** (Sosnowiec, Pologne) transplante un cœur de porc ayant subi une adsorption des xénoanticorps naturels sur le cœur d'un porc témoin à un homme souffrant d'un syndrome de Marfan (Czaplicki 1992). Le décès du patient 23 heures après la transplantation sera attribué à la petite taille du cœur. L'hypothèse d'un rejet est la plus probable, même si elle semble écartée par l'auteur.

En juin **1992**, (publié en 1995), Leonard **Makowka** (Los Angeles, Californie, USA) transplante un foie de porc à une femme de 26 ans présentant une insuffisance hépatique fulminante et des antécédents d'hépatite auto-immune (Makowka 1995). Cette xénotransplantation fut réalisée comme intermédiaire jusqu'à ce qu'un foie humain soit trouvé (Makowka 1993). Les xéno-anticorps naturels furent préalablement retirés par plasmaphérèse. La patiente décède 34 heures après la greffe en raison des lésions provoquées par le retour rapide des xénoanticorps.

V. XÉNOPERFUSIONS

La xéno perfusion de foie de porc ou de babouin, imaginée en **1965** par Ben **Eiseman** (Denver, Colorado, USA) (Eiseman 1965), fut régulièrement utilisée dans le traitement de l'insuffisance hépatique aiguë dans l'attente d'une allotransplantation (Bertrand 1968; Abouna 1969; Leger 1969; Chari 1994). Malgré un certain engouement pour cette technique jugée performante (Abouna 1996), une étude rétrospective récente et exhaustive (pour revue (Pascher 2002)) montre que la survie à long terme n'excède pas celle observée avec les soins intensifs conventionnels ; cette étude expose les données détaillées de toutes les perfusions hépatiques extracorporelles utilisées dans l'assistance hépatique lors d'insuffisance hépatique aiguë.

Des xéno perfusions sur foies bioartificiels furent également pratiquées. En **1987**, Kenneth **Matsumura** (Berkeley, Californie, USA) utilise chez un patient humain un système de filtration sur hépatocytes de lapin (Matsumura 1987). En **1989**, **Margulis** compare la mortalité chez 59 patients ayant bénéficié de foies bioartificiels utilisant des hépatocytes de porcs (37 %) à celle observée chez 67 patients ayant reçu une thérapeutique intensive classique (59 %) (Margulis 1989).

D'autres organes que le foie furent suppléés par des organes animaux. En **1968**, Donald **Ross** (London, UK) place un cœur de porc sur le trajet d'une circulation extracorporelle ; en 4 minutes le cœur commença à dégénérer, victime d'un rejet vasculaire hyperaigu (Ross 1969).

En **1996**, Michael **Breimer** (Göteborg, Suède) réalise une connexion extracorporelle avec des reins de porcs chez deux patients sous dialyse (Breimer 1996; Rydberg 1996; Bengtsson 1998). Malgré une plasmaphérèse préalable destinée à réduire les Ac anti-porc, l'expérience échoua.

La perfusion filtration de la rate de porc fut pratiquée en Russie dans le traitement d'infections pulmonaires et pleurales, dans le traitement de l'asthme, dans le traitement des complications septiques de la chirurgie ou encore dans le traitement du lupus érythémateux (Julvez 1998).

VI. XTs TISSULAIRES ET CELLULAIRES

En **1983**, Robert **Ersek** (Austin, Texas, USA) tente une greffe de peau de porc dans le traitement des brûlures (Ersek 1983).

En **1994**, Carl Gustav **Groth** (Stockholm, Suède) réalise, chez 10 patients diabétiques transplantés rénaux, une xénotransplantation d'îlots de Langerhans de porc par injection intraportale ou par dépôt sous la capsule rénale (Groth 1994). Quatre patients ont excrété de petites quantités d'insuline pendant 200 à 400 jours.

La même année, Patrick **Aebischer** (Lausanne, Suisse) transplante des cellules chromaffines de bœuf pour traiter une douleur (Aebischer 1994). En **1996**, il transplante des cellules nerveuses fœtales de porcs à des patients atteints de sclérose latérale amyotrophique (Aebischer 1996).

Toujours en 1994, Camillo **Ricordi** (Pittsburgh, USA) suggère la xénotransplantation de cellules hématopoïétiques résistantes au HIV dans le traitement des patients atteints de SIDA (Ricordi 1994). Le 14 décembre **1995**, **Thompson** (Pittsburgh, USA) réalise la première greffe de moelle osseuse de babouin chez un patient nommé Jeff Getty atteint du SIDA (Thompson 1995) ; c'est un échec. En **1996**, Susan **Ildstad** (Pittsburgh, USA) échoue également (Ildstad 1996) mais l'état clinique du patient fut amélioré (Fricker 1996).

En **1997**, Terrence **Deacon** (Belmont, Massachusetts, USA) transplante des cellules nerveuses de porc dans le cerveau d'un patient souffrant de maladie de Parkinson (Deacon 1997). Après 7 mois, il met en évidence la survie de cellules greffées.

VII. L'ERE MODERNE : PRISE DE CONSCIENCE DES PROBLEMES ETHIQUES

A partir de 1967, le succès des premières allotransplantations a conduit à préférer des donneurs humains plus compatibles, mais aujourd'hui la demande est telle que la pénurie d'organes est criante. L'éventualité de recourir à une source animale est de nouveau envisagée.

A. L'opinion publique

Dès le début du XXe siècle, Voronoff est décrié par l'opinion publique au point de devoir abandonner ses pratiques.

La performance médicale qu'a constitué la transplantation d'un cœur de babouin à Baby Fae (Bailey 1985) a relancé le débat éthique sur les xénotransplantations (Kushner 1985; Hubbard 1987). Baby Fae fut très médiatisée. Le chanteur Paul Simons lui dédia une de ses chansons ("the boy in the bubble"). *The Time* écrivit "Baby Fae stupéfie le monde" (Wallis 1984), mais conclut "Baby Fae perd la bataille" (Wallis 1984).

B. La communauté scientifique

Au début des années 90, alors que l'épidémie de SIDA s'étend dans le monde, le risque infectieux associé aux xénotransplantations devient une préoccupation majeure de la communauté scientifique. Le singe n'est plus considéré comme le donneur idéal ; le porc lui est préféré mais l'éventualité de voir s'exprimer des séquences rétrovirales de porc chez le patient receveur est prise au sérieux. En 1998 une vaste campagne appelant au moratoire est orchestrée dans la revue *Nature* avec l'appui de Fritz Bach (Bach 1998).

Aucun pays n'interdit les xénotransplantations (Chae 1997) ; cette absence d'interdiction est une autorisation implicite sous réserve du respect des lois existantes (consentement du patient, droits de l'animal, etc.). La France légiféra la première sur l'utilisation à des fins thérapeutiques d'organes, de tissus ou de cellules d'origine animale avec la loi n° 98-535 du 1^{er} juillet 1998. Cette loi n'autorise pas explicitement le recours aux xénotransplantations, elle se contente d'établir des obligations préalables et sous-entend ainsi une acceptation implicite (ou un moratoire de fait, en l'absence d'autorisation). Depuis, le Royaume-Uni, les Pays-bas et la Suisse ont rejoint la position française.

C. Développements actuels

En raison d'une maîtrise plus facile des phénomènes de rejet, les essais cliniques modernes de xénotransplantations concernent, non pas des organes, mais des tissus ou des cellules. C'est finalement là où on les attendait le moins que les xénotransplantations prennent leur essor : dans le traitement des maladies du système nerveux (Fink 2000).

CONCLUSION SUR L'HISTOIRE DES XTs

Les premières tentatives de transplantations furent entreprises sans le souci de la barrière d'espèce. Cette lacune est à l'origine des échecs récurrents.

Il n'existe pas à ce jour de survie à long terme d'un greffon xénogénique, mais la preuve est faite qu'un organe animal peut vivre et fonctionner chez un être humain. La meilleure démonstration revient à Reemtsma qui a obtenu une survie de 9 mois chez un patient greffé avec des reins de chimpanzés. Plus médiatisé, Bailey obtint une survie de 20 jours après xénotransplantation d'un cœur de chimpanzé à un bébé, montrant au monde les perspectives qu'offre la xénotransplantation.

Les progrès dans la maîtrise du rejet et les possibilités récentes de produire des animaux transgéniques lèvent partiellement la barrière d'espèce. Désormais, ce sont les infections interspécifiques qui préoccupent la communauté scientifique soucieuse de ne pas être à l'origine d'une nouvelle épidémie mondiale.

* * *

Regain d'intérêt récent pour la Xénotransfusion

Les progrès récents pour surmonter les barrières immunologiques rencontrées lors de la xénotransplantation peuvent être appliqués aux tissus et cellules. La demande grandissante de sang pour les transfusions conduit [Alex Zhu](#) à proposer en **2000**, l'utilisation d'hématies porcines (Zhu 2000). Ainsi, près de 100 ans après son abandon, la xénotransfusion est de nouveau à l'ordre du jour.

* * *

Chapitre 4

LA XENOTRANSFUSION AUJOURD'HUI

FAISABILITE ET OBSTACLES

Les développements de la XTF sont intimement liés à ceux de la XT.

Les mêmes obstacles s'opposent à la XT et la XTF.

- Le choix de l'espèce donneuse (physiologie, compatibilité, éthique...),
- La maîtrise du risque infectieux,
- La maîtrise des phénomènes immunologiques de rejet,
- Les questions éthiques.

Ces obstacles sont-ils autant prononcés pour la XTF que pour la XT d'organes ?

I. INTERETS POTENTIELS DE LA XTF

L'intérêt théorique de la XTF se calque sur celui de la XT mais en raison d'une pénurie moins criante, les bénéfices attendus sont moindres ; en revanche, elles concerneraient un nombre bien plus important de patients.

A. Du sang à volonté, de très nombreux bénéficiaires

La XT se justifie comme un moyen de vaincre la pénurie d'organes humains destinés à la transplantation. Pourtant, l'apport potentiel des XTs dans la lutte contre la pénurie d'organes ne concernerait qu'un nombre limité de patients : on estime que 300 personnes pourraient chaque année être sauvées en France et 1.500 aux Etats-Unis. Ainsi, l'intérêt des XT d'organes est limité vu les moyens nécessaires pour y parvenir. **L'apport des XTF concernerait une bien plus large population.**

Les besoins en transfusion sont d'environ 40 000 unités par jour aux Etats-Unis, ce qui représente 13,3 millions de concentrés globulaires chaque année administrés à environ 4 millions de patients (Sullivan 2007). Ces besoins sont pratiquement couverts mais au prix d'une incitation régulière au don et d'une gestion rigoureuse des stocks. Certains états comme l'état de New-York importe du sang de l'étranger (Cooper 2003). On estime que 9,1% des besoins manquent pour une fourniture optimale (Sullivan 2007).

La possibilité de disposer d'une quantité illimitée de sang, à volonté, au moment souhaité, est un argument majeur en faveur du recours à la XTF.

Cette disponibilité pourrait être mise à profit en cas de **besoins soudains** de transfusions massives ou lors de situations de catastrophes (catastrophes naturelles, accidents majeurs, conflits armés ...).

Le recours à une source animale éviterait de faire appel au sens civique des donneurs. Il ferait disparaître la morbidité associée au don même si celle-ci est très faible.

Dans les deux cas, aussi bien pour la XT d'organes que pour la XTF, on peut imaginer un tel succès que l'allogreffe et l'allogreffe deviendraient des pratiques annexes.

B. Des avantages moins marqués que pour la XT

En raison d'une pénurie de sang moins criante, beaucoup des bienfaits attendus pour la XT d'organes ne s'appliquent pas à la XTF.

1. Pour la transplantation d'organes, le recours à une source animale améliorerait les **conditions du prélèvement** car elles n'auraient pas à subir les contraintes qu'impose l'urgence du prélèvement. Les lésions d'ischémie-reperfusion liées au délai entre le prélèvement et la greffe seraient très amoindries.
Concernant la transfusion, le prélèvement se fait rarement dans l'urgence car la durée de conservation du sang permet la constitution de stocks et il n'existe pas de phénomènes d'ischémie-reperfusion.
2. La transplantation d'organes animaux permettrait de choisir des organes **en excellent état**, chez des animaux jeunes en bonne santé, alors que lors d'allogreffes, les organes sont généralement prélevés dans l'urgence, chez des victimes d'accidents ou de suicides, et peuvent de ce fait être endommagés.
Cet argument ne concerne pas la XTFusion car pour l'allogreffe, les humains donneurs sont déjà choisis parmi une population en excellente santé.
3. La xénotransplantation d'organes permettrait à un patient de **vivre en attendant un organe humain**.
Pour le sang, dans les pays développés, en l'absence de réelle pénurie, il est exceptionnel qu'un patient décède faute de transfusion. Une source de sang animal "de secours" permettrait cependant de pallier les problèmes de disponibilité à court terme.
4. Une source illimitée d'organes animaux permettrait de multiplier les indications de la greffe actuellement limitées aux cas les plus critiques : transplantation des patients moins gravement atteints, des patients âgés, des patients à mauvais pronostic, des enfants (organes de petite taille pour lesquels la pénurie est particulièrement criante), etc.
Pour la transfusion, en l'absence de réelle pénurie, il n'existe pas véritablement de restriction dans les indications.

C. Des enjeux économiques

Avec une source de sang animal, les centres de dons seraient centralisés dans des "fermes" spécialisées (le terme de "porcherie" serait péjoratif). Le dispositif énorme, de collecte et de traitement du sang, réparti sur tout le territoire, pourrait être remplacé par quelques unités centralisées. **Ces fermes spécialisées deviendraient nos banques de sang.**

En raison de la minimisation du coût de la collecte, du dépistage des infections, il est possible que le sang de porcs s'avère moins cher que le sang humain, notamment parce qu'un porc peut donner de très grandes quantités tout au long de sa vie. Mais ce n'est pas certain au regard des chiffres que nous allons citer.

Un être humain peut donner 500 ml de sang au total ou 8ml/kg. Il peut faire 5 dons par an maximum pour les hommes, 3 dons par an pour les femmes. Il doit s'écouler deux mois minimum entre chaque prélèvement (Source : Les bonnes pratiques du prélèvement déterminées par un Arrêté du 22 septembre 1993).

En respectant ces critères établis pour l'homme, un porc de 250 kg pourrait donner 8 ml x 250 kg = 2000 ml tous les deux mois soit un peu plus de 12 litres par an. L'administration de fer pourraient éviter les anémies ferriprives associées à des prélèvements importants et réguliers ; l'injection d'érythropoïétine stimulerait la production d'hématies. Sachant que la fréquence des prélèvements peut être mensuelle sans nuire à la santé du donneur, un porc pourrait donner près de 20 litres par an soit 40 unités de 500 ml/an. En 2001, 15,3 millions d'unités ont été collectées (dernier chiffre publié en 2007 (Sullivan 2007)). Il faudrait 350.000 porcs pour couvrir la demande américaine. Actuellement la production de porcs aux Etats-Unis est de 60 millions par an. Ainsi, la quantité de porcs nécessaires serait d'un peu plus de 0,5 % de la production actuelle, moins si l'on garde ces porcs en vie plusieurs années (ce qui n'est pas pratiqué pour la consommation de viande). Une telle production paraît envisageable mais il faut garder à l'esprit que ce seront des porcs avec des caractéristiques bien spéciales, élevés dans des conditions très particulières. Ces banques de sang animal auraient donc un coût considérable et serait un enjeu économique énorme pour les rares pays capables de l'assumer. La production et l'élevage de ces porcs EOPD (Cf. infra), transgénique double knock-out ouvrirait un vaste marché.

* * *

II. ESPECES ANIMALES PRESSENTIES

Plusieurs espèces animales ont été envisagées pour approvisionner le don d'organes. Parmi celles-ci, les "prétendants" les plus sérieux sont le singe, le porc et le boeuf.

Les critères gouvernant le choix d'une espèce s'appliquent aussi bien à la XT d'organes qu'à la XTF.

1. la population disponible et la possibilité d'élever ces animaux,
2. la taille des animaux (ou le volume sanguin) par rapport au receveur,
3. une physiologie proche de celle de l'homme,
4. le risque de transmission à l'homme d'agents infectieux,
5. la compatibilité immunitaire,
6. l'acceptation sociale de l'espèce retenue,
7. les considérations éthiques.

A. Le singe

1. Proximité génétique

Les primates supérieurs (Chimpanzés, Gorilles, Orangs-Outangs, Gibbons et Babouins), en raison de leur proche parenté génétique avec l'homme, ont d'abord été considérés comme les meilleurs donneurs d'organes potentiels. Cette compatibilité génétique s'applique également à la transfusion sanguine. Les primates possèdent 3 groupes sanguins A, B et O également répartis. Toutefois, en plus des réticences culturelles à utiliser les primates, **des obstacles insurmontables s'opposent à l'utilisation du singe comme donneur de sang.**

2. Approvisionnement

Les primates anthropomorphes posent des **difficultés majeures d'approvisionnement.**

Dans la nature les singes appartiennent tous à des espèces en voie de disparition, et à ce titre protégées. La capture en masse de leur milieu naturel entraînerait leur extinction rapide. Pionnier de la xénotransplantation, Voronoff soulignait déjà au début du XX^e le problème de la pénurie de singes pour son approvisionnement en organes. Quand bien même certaines espèces seraient moins rares dans la nature (comme c'est le cas du babouin), en raison des risques infectieux, il n'est pas envisageable de prélever les animaux directement dans leur environnement.

L'élevage et la production de singe sont très coûteux (Douglas 1970) :

- Ils se reproduisent peu en captivité,
- Ils sont peu prolifiques,
- Ils atteignent tardivement leur maturité sexuelle, vers l'âge de 7 à 10 ans.

3. Volume sanguin

Le **volume sanguin** des chimpanzés et des babouins (5 à 10 fois inférieur à celui d'un homme) et le nombre d'individus disponibles sont **très insuffisants** pour couvrir les besoins considérables pour l'homme (environ 14 millions d'unités par an pour les Etats-Unis).

4. Risque infectieux

La proximité du singe et de l'homme, si elle est intéressante dans la maîtrise des phénomènes immunitaires, fait du **singe un donneur à haut risque infectieux pour l'homme**. Le singe héberge de nombreux virus susceptibles d'être transmis à l'homme (Kalter 1990). Il est établi que le virus du SIDA (HIV) s'est d'abord développé en Afrique chez le singe à partir du virus SIV (Hooper 2000). L'exemple du SIDA illustre parfaitement l'ampleur que pourrait avoir l'adaptation d'un virus simien à l'espèce humaine.

L'utilisation du singe comme donneur de sang pour les XTFs n'est pas envisageable.

5. Le singe : un passage obligé avant les essais cliniques

Bien que les seuls succès durables avec des XTs d'organes ont eu lieu avec des organes de singes (Reemtsma 1964), le singe n'est aujourd'hui utilisé que pour tester la faisabilité de la greffe d'organes de porcs à des primates dans le cadre d'essais précliniques : La greffe d'organes de porcs à des singes est le meilleur modèle expérimental pour étudier la faisabilité de la XT d'organes de porcs à l'Homme (Schmoeckel 1998; Cozzi 2000).

Il en sera de même pour les XTFs. Les singes seront uniquement utilisés à des fins de recherche avant le passage aux essais sur l'homme comme cela a déjà été fait (Dor 2004).

B. Le porc

Le porc a très vite été pressenti comme un donneur potentiel d'organes (Nickrask 1992; Sachs 1994). Le porc présente des particularités qui en font un **excellent "candidat" donneur de sang pour la XTF** (Cooper 1991; Nickrask 1992; Sachs 1994).

1. Approvisionnement

Le porc peut être produit en masse, son **élevage** intensif existe déjà pour l'alimentation humaine (Caplan 1992). Le porc requiert moins de place et il est plus facile à nourrir que les primates et les ruminants (Caplan 1992; Nickrask 1992). Sa **croissance** est **rapide** : il atteint sa maturité sexuelle à 6 mois (Nickrask 1992). Les truies ont 3 cycles œstraux par an, elles sont très **prolifères** (3 à 10 porcelets par portée) et les générations sont rapprochées. Le porc peut être produit dans des conditions d'**hygiène** compatible avec le don (Young 1964).

2. Volume sanguin

Un porc adulte pèse 250 kg. Pour la XT, la taille des organes pourrait s'avérer trop grande pour une physiologie normale chez l'humain (Hammer 1994) mais pour les XTF, cette taille est un avantage car les **volumes sanguins** prélevés seraient plus **importants**. Avec un volume sanguin d'environ 80 ml/kg (Hannon 1985), le porc dispose d'environ $80 \text{ ml/kg} \times 250 \text{ kg} = 20$ litres de sang.

3. Physiologie

La physiologie du porc est proche de celle de l'homme (pour revue : (Hammer 1998)). En 2003, **David Cooper** (Boston, Massachusetts, USA) a énuméré les avantages du porc comme donneur de sang et les obstacles à lever (Cooper 2003).

- Les globules rouges de porc (pRBCs) ont de nombreuses caractéristiques communes avec ceux de l'homme (RBCs) (Feldman 2000). Leur diamètre et leur concentration sont similaires dans les deux espèces.
- La durée de vie des pRBCs est de 86 jours chez le porc contre 120 jours chez l'homme.
- Le groupe sanguin O(H) du porc est proche de celui du système ABO de l'homme (Feldman 2000), et il existe déjà des élevages de porcs qui expriment uniquement le groupe sanguin O, groupe sanguin universellement compatible chez l'homme.

- L'hémoglobine porcine partage 85% de ses séquences avec celle de l'homme et a une structure tridimensionnelle comparable (Cooper 2003).
- Les gènes de l'hémoglobine humaine peuvent s'exprimer chez des porcs transgéniques (Rao 1994).
- Les pRBCs peuvent exprimer le CMH de classe 1 mais leur expression n'a pas de répercussion clinique (Rivera 1986; Ranasinghe 1990).
- Les pRBCs n'expriment pas les swine leukocyte antigens (Oostingh 2002).
- Beaucoup d'arguments plaident en faveur d'une fonction normale des pRBCs chez l'homme (Zhu 2000; Cooper 2003).

4. Autres aspects : Risques infectieux et immunité

Les aspects concernant les risques infectieux et la compatibilité immunitaire seront abordés plus en détail dans les parties qui suivent. Ces aspects **constituent deux arguments majeurs en faveur du choix de cette espèce.**

* * *

Le porc s'avère le meilleur "candidat" donneur pour les XTF.

* * *

	Porc
Disponibilité	Illimitée
Potentiel reproducteur	Bon : 12 porcelets par portée, 2,4 portées par truies et par an
Maturité sexuelle	250 jours
Durée de la gestation	114 jours
Croissance	Rapide
Volume sanguin	Adapté : 20 litres
Coût de la maintenance	Correct (3 kg d'aliment composé par jour)
Similarité avec l'anatomie humaine	Modérément proche
Similarité avec la physiologie humaine	Modérément proche
Parenté avec le système immunitaire humain	Distant
Connaissance du typage tissulaire	Considérable (dans les troupeaux sélectionnés)
Compatibilité sanguine avec l'homme	A surmonter
Expérience en génie génétique	Considérable
Risque infectieux (xénozoonose)	Faible
Disponibilité en animaux exempts d'organismes pathogènes spécifiés	Oui
Opinion publique	Favorable

**Table 10 : Avantages du porc comme donneur de sang potentiel.
d'après Cooper (Cooper 2000)**

C. Le bœuf

Les Ruminants, petits ou grands, constituent de **mauvais candidats donneurs d'organes** :

- En tant que ruminants, ces animaux ont une physiologie très différente de l'homme. C'est le cas notamment de la régulation de la glycémie.
- La découverte relativement récente d'un nouvel agent pathogène susceptible d'être transmis à l'homme, le prion de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB), risquerait de provoquer des réticences culturelles, même si le risque d'infection était maîtrisé.
- Les organes de bœuf sont trop volumineux pour être utilisés chez l'homme ; ceux des caprins et des ovins sont trop petits

L'argument concernant la taille des organes ne s'applique plus à la XTF, au contraire : **la grande taille des bovidés est un atout** car elle est corrélée à un volume sanguin proportionnel.

Constatant que les globules rouges de porcs (pRBCs) étaient plus susceptibles à la lyse osmotique que les hématies humaines et que le traitement au PEG n'augmente pas leur robustesse, ce qui pourrait être un facteur limitant à la manipulation et au stockage des pRBCs, Johnstone, Doucet et coll. ont étudié les bovins, comme source animale d'hématies qui pourrait être plus adaptée au prélèvement et au stockage (Johnstone 2004).

En **2004**, **James Johnstone** et coll. (Truro, Canada) suggèrent l'**utilisation d'érythrocytes bovins pour la XTF** (Johnstone 2004) et avancent de solides arguments :

- Des ponctions veineuses plus faciles chez les bovins que chez le porc et les volumes recueillis plus importants.
- Certes, il n'existe pas à ce jour de test de dépistage du prion de l'ESB, mais en l'absence de consommation de farines animales, on considère que cette infection peut être écartée après autopsie de deux générations des fondateurs la descendance (Wells 1992);
- L'insémination artificielle, les interventions sur embryons et les élevages de bovins germ-free sont plus avancés chez les bovins que chez le porc.
- Il existe d'ores et déjà des élevages de bovins utilisés comme donneurs de produits sanguins :
 - o *Les transporteurs d'oxygène* (Hémopure®, Oxyglobin®) sont produits à partir d'hémoglobine bovine polymérisée (Hughes 1996; Greenburg 2004; Stollings 2006; Jahr 2007).
 - o *Des produits de l'hémostase* (collagène bovin, aprotinine bovine, thrombine et fibrinogène bovine) et la lactoferrine (van Berkel 2002)) sont déjà utilisés, parfois à partir du lait de bovins transgéniques.

- Dans son étude, Johnstone a montré que les érythrocytes bovins (bRBCs) réagissaient moins *in vitro* au sérum humain que les pRBCs. Les bRBCs de 20% des élevages n'agglutinent pas et n'hémostolysent pas quand ils sont incubés avec du NHS. Cela n'a jamais été observé avec les pRBCs (MacLaren 1998; MacLaren 2002). Même quand il y a agglutination, elle est toujours moins sévère avec les bRBCs qu'avec les pRBCs. La densité de l'Ag α Gal (Cf. infra) est moins élevée à la surface des cellules bovines qu'à la surface des cellules porcines (Galili 1988) : 20.000 sites de liaison des Ac sur les bRBCs contre 60.000 sur les pRBCs.

Ces données récentes n'ont pas été suivies d'autres investigations publiées.

Malgré ces arguments, le porc, espèce déjà choisie comme donneur potentiel pour la XT d'organes, reste encore l'animal donneur de prédilection pour les XTFs.

* * *

En résumé :

Le porc est le seul véritable "candidat" donneur, car c'est la seule espèce qui puisse être produite en grande quantité avec une bonne maîtrise du risque infectieux et faire l'objet de manipulations génétiques améliorant la compatibilité de son sang avec l'homme.

Les bovins pourraient constituer une alternative intéressante.

En raison de leur rareté, de leur petite taille et des risques infectieux, les primates doivent être réservés aux essais précliniques porc-singe avant de passer aux essais porc-homme

* * *

III. RISQUE INFECTIEUX

Le problème majeur associé aux ALLOtransfusions est, avec les risques immunitaires, le risque de transmission d'agents infectieux. Un exemple récent et dramatique souligne l'ampleur de ce risque : "l'affaire" du sang contaminé par le HIV en France, au Canada et dans d'autres pays. Les agents infectieux transmis lors d'ALLOtransfusions, les moyens de lutte et les échecs de cette lutte ont été abordés dans le premier chapitre. Ce risque infectieux et les échecs partiels de sa maîtrise sont une des justifications majeure de la XTF (Cooper 2003). La XTF pourrait-elle effectivement diminuer ce risque ou risque-t-elle au contraire de le majorer ?

1. Conséquences du risque infectieux associé aux ALLOtransfusions

La gestion du risque infectieux associé à l'ALLOtransfusion a de nombreuses conséquences néfastes :

- La nécessité de **tester et de traiter le sang humain**.
- Le **coût** associé à ces manipulations (van Hulst 2002).
- **L'exclusion du don** de nombreux donneurs potentiels
Aux Etats-Unis par exemple, la crainte de contamination conduit chaque année à l'éviction de 500.000 américains potentiellement donneurs et à la destruction de nombreux lots déjà collectés (Wallace 1998).
- En raison du risque associé à l'encéphalopathie spongiforme bovine, les donneurs ayant fait un long séjour en **Grande-Bretagne** sont systématiquement exclus du don et la Grande-Bretagne importe ses produits sanguins (Mortimer 2002).
- Dans certains pays (pays d'**Afrique** mais aussi d'**Asie**), la prévalence de l'infection par le HIV et les hépatites est tellement élevée que la collecte locale est insuffisante pour couvrir les besoins.
- La **médiatisation** du risque infectieux a déclenché une aversion pour la transfusion dans l'opinion publique.

Le recours à une source de sang animale lèverait certains de ces obstacles.

2. Classification des risques infectieux d'origine animale

Les risques infectieux peuvent être classés en 4 catégories (Collectif 1999) :

1. Les zoonoses classiques, actuellement bien connues, notamment en raison de leur implication sanitaire et économique, et pour lesquelles il existe des tests diagnostiques. La production d'animaux EOPD (Exempts d'Organismes Pathogènes Définis) permettra la prévention de ce type d'infection.
2. Les organismes spécifiques d'espèces qui normalement ne se développent pas chez l'homme, mais qui pourraient se révéler en raison de l'immunosuppression que subit le patient greffé. Le risque dans ce cas se limite au patient receveur.
3. Les organismes potentiellement pathogènes qui pourraient s'adapter au patient humain receveur, devenir virulents et se propager à l'ensemble de l'espèce humaine. C'est le cas des séquences rétrovirales susceptibles de s'activer chez l'hôte.
4. Les organismes inconnus, non encore recensés, qui pourraient se répliquer et développer une pathogénicité chez l'homme en raison des conditions particulières observées lors de XT.

Nous aborderons successivement les risques associés à chaque type d'infection.

A. Agents infectieux conventionnels : Les zoonoses "classiques"

1. Des espèces historiquement proches

En raison de leur importance économique en élevage, les **zoonoses classiques**, maladies communes à l'homme et au porc, sont d'ores et déjà bien connues et un diagnostic de dépistage est presque toujours disponible. Le risque de transmission du porc à l'homme est apparemment faible : le porc et l'homme se côtoient depuis longtemps sans que des agents infectieux majeurs n'aient été transmis à l'homme (exception faite de la grippe espagnole) :

- consommation de viande de porc,
- élevage de porcs,
- utilisation d'insuline porcine,
- greffe de peau de porc,
- greffe d'îlots de Langerhans de porc, etc.

2. Prévention du risque infectieux conventionnel : Production de porcs EOPD

Pour éviter tout risque de contamination par des agents infectieux porcins conventionnels, les porcs utilisés devront être des animaux Exempts d'Organismes Pathogènes Définis (**EOPD**), ce qui diminue considérablement les risques de contamination à l'homme-receveur par des parasites, des bactéries ou des virus provenant de l'animal-donneur. La liste des contaminants dont les porcs EOPD devront être indemnes a déjà été établie (Vannier 2000).

Le porc est aujourd'hui le seul animal susceptible d'être produit dans les conditions EOPD requises pour rendre acceptable le risque infectieux conventionnel.

La production de lignée de porcs EOPD limiterait le risque de contamination par les micro-organismes connus. Cette possibilité de gérer le risque infectieux conventionnel est un des arguments majeurs en faveur du porc comme espèce donneuse (Young 1964; Swindle 1996). Les porcs naissent par césarienne à l'état axénique (totalement dépourvus de micro-organismes), ils vivent en atmosphère stérilisée dans des salles ventilées en surpression, sont nourris avec des aliments stériles après un ensemencement du tube digestif avec une flore non-pathogène. Le personnel en contact avec les animaux est soumis à des dispositions évitant toute contamination.

Seuls quelques pays sont capables de produire des porcs EOPD ; les implications économiques sont considérables. La France dispose des moyens techniques pour maîtriser cette production qui peut être menée notamment à la station porcine de l'AFSSA de Ploufragan (Duvivier 1998; Gouin 1998).

B. Franchissement de la barrière d'espèce

1. Disparition de certains risques infectieux spécifiques aux ALLOtransfusions

Les maladies infectieuses spécifiques à l'homme, **virales** (HIV, hépatites, ...) et **parasitaires** (leishmaniose, malaria, trypanosomiase, maladie de Chaga's, babésiose, borréliose, etc.) seront de fait éradiquées si la source de sang est le porc. Les mesures d'inactivation et de destruction des agents pathogènes appliquées au sang humain peuvent être mise en œuvre sur le sang d'origine porcine après s'être assuré que ces mesures n'altèrent pas l'intégrité fonctionnelle des pRBCs. Ne persistera que le **risque bactérien** qui constitue certes une préoccupation majeure mais qui pourra faire l'objet d'un dépistage d'autant plus systématique que les autres tests de dépistage (HIV, hépatites, etc.) n'auront plus lieu d'être.

2. Précédents d'infection par des agents spécifiques d'espèce

La XT d'organes, de tissus ou des cellules fait courir le risque d'adaptation à l'homme d'agents pathogènes présents chez l'animal, à l'origine de maladies appelées zoonoses xénogéniques ou "**xénozoonoses**" (Michaels 1994; Chapman 1995; Stoye 1995). Ces agents infectieux peuvent être des parasites, des bactéries, des virus, des champignons, des protozoaires voire des prions. La crise récente associée au risque de propagation de la grippe aviaire souligne l'ampleur des craintes associées aux nouvelles zoonoses. Les principales maladies infectieuses récentes sont dues à l'adaptation à l'homme d'agents infectieux d'origine animale :

- Le Syndrome de l'immunodéficience Acquise (SIDA), dû à un rétrovirus,
- La variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob provoquée par l'agent de l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine (ESB), due à un prion,
- Le syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) ou pneumonie atypique, dû à un coronavirus,
- La grippe du poulet survenue à Hong Kong en 1997 et 2003, due au virus Influenza A(H5N1).

Le rétrovirus du SIDA est très certainement d'origine simienne (Norman 1985; Giunta 1987; Dawson 1999; Hooper 2000) ; le virus actuel est peu dangereux chez le singe mais il est à l'origine d'une très importante épidémie chez l'homme. La contamination s'est faite par adaptation à l'espèce humaine puis transmission interhumaine.

Le prion responsable de l'encéphalopathie spongiforme bovine est à l'origine des nouvelles formes de la maladie de Creutzfeldt-Jakob chez l'homme. La contamination s'est faite, dans ce cas, par la chaîne alimentaire à partir de bovins ayant consommé des farines animales.

Des agents infectieux porcins, spécifiques d'espèces, pourraient s'adapter à l'homme et devenir pathogènes. Historiquement, il est probable que l'élevage conjoint du porc et du canard ait favorisé le passage du virus de la grippe espagnole de l'animal à l'homme ; cette pandémie mondiale survenue en 1918 aurait fait 30 millions de victimes selon l'Institut Pasteur, voire 100 millions selon certaines réévaluations récentes.

3. Conditions d'une infection

Pour qu'une infection de l'hôte soit possible à partir du greffon, deux conditions doivent être réunies :

- l'agent doit pouvoir **se répliquer** chez l'homme, et pour cela il doit y trouver les récepteurs permettant cette répllication,
- l'agent doit acquérir un **pouvoir pathogène** chez l'homme.

La répllication et la pathogénicité d'un agent infectieux trouvent, **lors de XTs d'organes**, des conditions très favorables :

1. Le **contact prolongé** du greffon avec l'organisme de l'hôte augmente le risque infectieux.
2. Le patient humain receveur est **immunodéprimé**, ce qui diminue la dose-seuil permettant l'infection : une infection qui aurait été jugulée par les défenses immunitaires d'une personne non-immunodéprimée ne le sera pas nécessairement dans ce contexte.
3. Le fait que le donneur soit d'une espèce différente impose une **immunosuppression plus importante que lors d'allogreffe**, ce qui majore le risque infectieux. Un agent infectieux normalement peu pathogène pourra, dans ce contexte, exprimer un pouvoir pathogène. L'adsorption des xénoanticorps naturels augmente encore ce risque car ces xénoanticorps interviennent dans la neutralisation des agents pathogènes de mammifères (Rother 1995).
4. Les **manipulations génétiques** pratiquées chez les porcs donneurs pour éviter les phénomènes de rejet limitent ainsi les capacités de défenses de l'organisme receveur contre les agents infectieux.

Lors de transplantation d'organes, **ALLOtransplantation et XT**, l'organe du donneur se trouve en contact étroit et prolongé avec l'organisme de receveur dont les défenses immunitaires sont considérablement diminuées par un traitement immunodépresseur. **Les conditions sont réunies pour que l'organe transplanté vive durablement dans l'organisme de l'hôte, ce sont des conditions idéales pour le développement d'agents infectieux.**

De telles conditions favorables ne sont pas réunies lors de XTFs :

1. **Il n'y aura pas de contact prolongé** chez l'hôte : les pRBCs ne sont amenées à vivre que quelques jours chez l'hôte.
2. **Le patient humain receveur ne sera pas immunodéprimé**. En effet, parce que les allotransfusions actuelles ne nécessitent pas d'immunodépression, il n'est pas concevable que les XTFs en requiert, ses effets secondaires seraient inadmissibles. Une catégorie de patients sera immunodéprimée : ceux déjà bénéficiaires d'une XT d'organes. Pour ceux-ci, le risque associé à la XTF reste faible en raison de la courte durée de vie des pRBCs et, en tant que receveur d'un organe porcin, ils feront l'objet d'une surveillance stricte du risque infectieux associé au PERV (Cf. infra).

C. Le risque de zoonose rétrovirale : les provirus (PERV)

1. Pouvoir pathogène des rétrovirus

Les agents infectieux sont d'autant plus redoutables que le délai d'apparition de la maladie est différé par rapport à l'infection car durant ce délai, la transmission de l'agent infectieux est possible et insidieuse. C'est le cas des rétroviroses.

Les rétrovirus sont une famille virale particulièrement redoutée dans l'éventualité de XTs (Brown 1998; Weiss 1999). En effet, ces virus sont susceptibles de mutations et de recombinaisons leur permettant de s'adapter à une autre espèce. Ce sont des virus lents, pour lesquels l'infection peut rester longtemps asymptomatique à la différence des filovirus (ex : virus Ebola) ou des bunyavirus (ex : Hantavirus) qui provoquent des symptômes rapidement et tuent leur hôte en très peu de temps, ce qui permet de circonscrire l'infection avant qu'elle ne se propage.

Depuis le début des années 1980, la population humaine subit une épidémie provoquée par l'un de ces rétrovirus, le HIV responsable du Syndrome d'Immunodéficience Acquis ou SIDA. On sait aujourd'hui que le HIV provient de l'adaptation à l'homme du SIV (Simian Immunodeficiency Virus) en Afrique centrale (Doolittle 1989). L'infection initiale est antérieure à 1960 ; il a fallu plus de 20 années avant que le premier cas de SIDA soit identifié. L'espèce féline subissait déjà une telle épidémie provoquée le Virus Leucémogène Félin (FeIV) avant que le virus de l'immunodéficience féline (FIV) ne ravage à son tour cette espèce.

Les espèces pour lesquelles un rétrovirus pathogène a été identifié sont :

- le singe (SIV, SFV, STLV, SRV),
- le bœuf (BIV, BFV, BLV),
- le mouton,
- le chat (FeIV, FIV).

Il n'existe pas à ce jour de maladie porcine identifiée dont l'origine est un rétrovirus.

2. De nouveaux agents infectieux : les provirus

Concernant la XT d'organes, plus que les agents infectieux conventionnels, la crainte du risque infectieux concerne des agents potentiellement pathogènes à révélation tardive : les provirus.

✚ Séquences rétrovirales

De nombreux animaux abritent dans leur génome des séquences d'ADN rétroviral. C'est le cas particulièrement des primates et de la souris. La richesse en séquences provirales du génome des singes interdit le recours aux primates comme source de xénogreffons.

Le génome humain contient des séquences rétrovirales (Leib-Mosch 1990) appelée HERV pour "Human Endogenous RetroVirus". Bien que ces séquences puissent transcrire de l'ARN, elles n'ont jamais été capables de produire une infection rétrovirale ; elles sont cependant associées à certains cancers.

Le génome du porc contient également des rétrovirus endogènes baptisés **PERV** pour "Porcine Endogenous RetroVirus". Les PERV sont une préoccupation majeure pour la communauté scientifique (Groth 1998; Stoye 1998). À partir de ces séquences d'ADN rétroviral du porc, des particules rétrovirales pourraient être produites (Kaeffer 1990).

✚ Recombinaison génétique

Les HERV sont une source de matériel qui, par recombinaison génétique avec les PERV, pourrait engendrer de nouveaux agents infectieux pathogènes. La réactivation de séquences provirales par recombinaison génétique et la production de particules virales infectieuses ont déjà été démontrées chez le singe (Temin 1990; Vanin 1994; Purcell 1996).

En **1997**, **Patience** démontre que des particules rétrovirales porcines sont susceptibles d'infecter des cellules humaines en culture et de s'y reproduire (Patience 1997). Il faut donc craindre que des séquences provirales du porc ne mutent et s'adaptent à l'espèce humaine.

L'immunodépression que devrait requérir la XT est plus importante que celle prescrite lors d'ALLOtransplantation. Cette situation favorise les infections.

3. Un risque pour les tiers

Le risque infectieux se pose moins aux patients bénéficiaires des XTs qu'à la population générale. Le rétrovirus qui contaminerait le receveur pourrait se transmettre insidieusement à d'autres personnes, voire à la population humaine dans son ensemble. La XT fait donc courir le risque d'une nouvelle épidémie mondiale. Il est donc nécessaire d'évaluer le bénéfice individuel incontestable face au risque collectif (Bach 1998). **Ce risque est la principale objection éthique au recours aux XTs d'organes.**

4. Un risque supposé très faible

Toutefois, la recombinaison est favorisée par la présence de séquences homologues. Le risque est 100 à 1000 fois moins important avec des séquences non-homologues (Zhang 1993). Or, l'homme et le porc partagent très peu de séquences homologues (Martin 1999). En comparaison, **le risque de recombinaison intraspécifique est beaucoup plus important.**

Dans une étude suédoise menée par **Groth** en **1994** chez des patients diabétiques transplantés avec des îlots de porc (Groth 1994), il a été identifié des Ac dirigés contre des agents infectieux porcins. Si cela souligne une possible infection du greffon, mais cela témoigne aussi de la capacité de l'hôte à fabriquer des Ac dirigés contre ces agents infectieux.

5. Un risque démontré *in vitro*

En **1997**, **Le Tissier** identifie deux lots de PERV capables d'infecter des cellules humaines (Tissier 1997).

La même année, **Patience** montre que des particules rétrovirales porcines étaient susceptibles d'infecter des cellules humaines en culture ; cette étude fit grand bruit dans la communauté scientifique (Patience 1997).

En **1998**, **Martin** montre que des rétrovirus porcins peuvent émerger d'une culture de cellules endothéliales porcines (Martin 1998).

Une étude menée *in vitro* en **2001** par notre laboratoire ne montre pas d'infection de cellules humaines par des PERV (Clemenceau 2001).

6. Un risque non confirmé *in vivo*

A ce jour, aucune survie au long cours d'un organe porcin chez un receveur humain ou non-humain n'a été obtenue (Cooper 2000) ; dans ces conditions, le risque infectieux reste impossible à quantifier. À défaut, il est possible de l'examiner au regard du passé.

Au cours de l'histoire des XTs, aucune contamination pathologique n'a été recensée.

Xénotransplantations de reins, foies, cœurs (chèvres, babouins, chimpanzés, etc.)	Xéno greffes de testicules (chimpanzés)	Perfusions de foies, cœurs reins, rates (porcs, babouins et vaches)	Filtration sur cellule de foies (porc, lapin)	Greffes de cellules (porc, bœuf, babouin)
57	#2000	#200	#200	#20

Table 11 : Nombre de greffes pratiquées entre 1905 et 1997 d'après Julvez (Julvez 2000)

Aucune étude *in vivo* ne confirme la réalité du risque infectieux.

En **1998**, une étude clinique menée par **Heneine**, chez des patients ayant reçu des xéno greffes d'îlots de Langerhans de porcs, n'a pas montré d'infection par des rétrovirus (Heneine 1998).

La même année, **Patience** établit que chez deux patients dialysés rénaux ayant subi une perfusion extracorporelle sur rein de porcs, il n'a pas été mis en évidence d'infection par les PERV (Patience 1998).

La plus importante étude clinique sur le risque infectieux a été réalisée par **Paradis** en **1999** (Paradis 1999). Cette étude a été menée par le CDC d'Atlanta ; elle poursuit l'objectif de rechercher des rétrovirus porcins chez des patients préalablement exposés. Des prélèvements de sang ont été étudiés chez 160 patients qui avaient été mis en contact jusqu'à 12 ans plus tôt avec des cellules ou des tissus porcins. Il ne s'agissait pas de XTs d'organes mais de tissus ou cellules (perfusion extracorporelle au travers de foies, reins ou rates de porcs, greffes de peau de porc, greffes d'îlots de Langerhans). Le résultat était considéré comme positif si le taux de PERV dans le sang humain était très supérieur à celui constaté dans le sang des porcs. Parmi les échantillons analysables, 81% des échantillons ne comportaient pas de traces de PERV mais les tests de 30 patients étaient positifs : 23 développaient un microchimérisme, c'est-à-dire possédaient de l'ADN porcin en quantité infime, très inférieure au taux porcin ; pour les 7 autres, le manque d'ADN n'a pas permis d'affiner les tests. Bien que de l'ADN porcin ait été détecté dans les échantillons, il n'a été mis en évidence aucune infection par les PERV.

De même, aucune infection par des PERV n'a été établie à partir de cellules endothéliales de porc transplantées à des babouins (Martin 1998).

Malgré ces études rassurantes, des études très spécifiques ne permettent pas d'abandonner la notion de risque (Clemenceau 2002).

La transmission de PERV lors de XT d'organes, de tissus ou de cellules semble donc possible *in vitro* mais n'a pas été démontrée *in vivo*.

Le cas favorable des XTFs

Les choses sont très différentes pour la XTF :

1. Une recombinaison génétique ne pourrait se faire qu'avec des rétrovirus endogènes provenant de l'ADN du porc. Les pRBCs étant dépourvues d'ADN, ce risque est pratiquement inexistant.
2. Ce risque, bien que plus élevé avec des séquences homologues humaines, n'a jamais été observé, même dans un contexte d'immunodépression comme celui rencontré lors d'ALLOtransplantation d'organes.
3. Ce risque est faible pour la XT (Zhang 1993) car l'homme et le porc ont très peu de séquences homologues en commun (Martin 1999).
4. Bien que déleucocytés, les concentrés globulaires de porcs contiendront un faible nombre de cellules nucléées. Cependant, leur durée de vie n'est pas suffisante pour permettre une mutation et une recombinaison génétique chez un patient non-immunodéprimé. Quant aux plaquettes, l'absence de noyau et la très courte durée de vie minimisent grandement le risque.
5. Le receveur de pRBCs ne sera normalement pas un patient immunodéprimé et pourra théoriquement fabriquer des Ac contre ces nouveaux agents infectieux (Groth 1994).

Ces arguments rendent très hautement improbable le risque de transmission de PERV lors de XTF.

Le risque de développement de PERV étant considéré comme faible avec la XTs d'organes, dans un contexte où tout est propice à ce développement (contact prolongé, immunodépression, cellule vivante possédant un noyau), il devient **pratiquement nul avec la XTF car la survie des pRBCs sera courte, le patient ne sera pas immunodéprimé et surtout les pRBCs sont dépourvues de noyau et d'organelles ce qui interdit toute synthèse de particules de PERV. Ainsi, la principale crainte vis-à-vis des XT ne s'applique pas à la XTF.**

D. Les risques infectieux encore inconnus

Le risque le moins contrôlable est évidemment le risque encore inconnu. Il concerne des agents infectieux non encore recensés qui pourraient se répliquer et développer une pathogénicité chez l'homme. Il y a de nombreux exemples de maladies qui se sont propagées longtemps avant que l'on ne les identifie ; le cas le plus récent et spectaculaire est probablement l'épidémie de SIDA. Ces exemples prouvent que **ce risque concerne aussi bien les ALLO-transfusions que les potentielles XTFs.**

Les moyens de contrôler le risque encore inconnu seront abordés dans le chapitre consacré à l'éthique des XTFs. Ils consistent en la surveillance des porcs donateurs et des humains receveurs. De plus les récentes techniques d'inactivation des pathogènes, certes encore à l'étude, devraient participer à diminuer ce risque.

L'efficace gestion du SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome) est un bon exemple de ce que la communauté médicale est capable de faire pour enrayer une maladie infectieuse avant qu'elle ne devienne une épidémie mondiale.

Conclusion

La transfusion de sang de porc ferait disparaître le risque infectieux associé aux transfusions interhumaines et constitue un argument majeur en faveur de la XTF.

Autant que la disponibilité en sang, le projet de XTF vise surtout à limiter le risque infectieux associé aux transfusions de sang humain.

* * *

IV. LE REJET

C'est le contrôle du rejet qui a conduit aux premiers succès des ALLOtransplantations dans les années 1960. Il passe par le choix d'un donneur présentant une grande compatibilité au receveur vis-à-vis du système HLA (Human-Leucocytes-Antigens ou Complexe Majeur d'Histocompatibilité) et par l'administration de médicaments immunosuppresseurs (De Vito Dabbs 2000). Les phénomènes de rejet sont relativement bien maîtrisés lorsqu'il s'agit d'ALLOtransplantations car le donneur et le receveur appartiennent à la même espèce. S'agissant de XENOtransplantations, les différences génétiques entre le donneur et le receveur sont considérables et les réactions immunitaires sont beaucoup plus importantes. La rapidité du rejet, son intensité et les mécanismes impliqués dépendent de l'éloignement génétique entre le donneur et le receveur, ainsi que de la nature du greffon, organe vascularisé, tissu ou cellules.

En raison d'un risque infectieux très faible, la faisabilité de la XTF dépend surtout de la maîtrise des phénomènes de rejet. Le problème du rejet se pose de la même façon pour la XTF que pour la XT d'organes vascularisés. Les mécanismes impliqués sont pour partie les mêmes, en particulier ceux concernant le rejet hyperaigu. Cependant, plusieurs caractéristiques rendent la maîtrise de ce rejet "plus facile" pour la XTF que pour les XTs d'organes.

Nous décrivons les mécanismes du rejet suraigu d'organes vascularisés puis nous ferons le parallèle avec ceux observés lors de XTF.

A. Rejet et éloignement génétique

En 1967, **Perper** et **Najarian** établissent que le rejet est différent selon que le donneur et le receveur appartiennent à des espèces phylogénétiquement éloignées (du chien au porc par exemple) ou des espèces proches (du singe à l'homme par exemple) (Perper 1966; Perper 1966; Perper 1967). En 1970, **Calne** souligne la compatibilité immunologique de certaines combinaisons donneur-receveur et distingue les espèces dites "**concordantes**" des espèces dites "**discordantes**" (Calne 1970). Certaines combinaisons donneur-receveur conduisent à des rejets moins rapides ; lors de greffes rat-souris, le rejet n'est observé qu'au bout de quelques jours (Weil 1975).

Pour les espèces concordantes, le délai et la forme du rejet sont comparables au rejet observé lors d'allogreffes. C'est le cas des combinaisons rat-souris, chèvre-mouton ou encore chimpanzé-homme.

Pour les espèces discordantes, le délai du rejet est très rapide, quelques minutes à quelques heures. C'est le cas des combinaisons porc-homme ou porc-singe. Le singe est ainsi un bon modèle de receveur avant de passer aux essais cliniques chez l'homme (à l'exception des singes du nouveau monde, Cf. infra). Si l'on retient le choix du porc comme donneur le plus probable pour l'homme, il s'agit de greffes discordantes avec lesquelles le rejet suraigu sera particulièrement important.

B. Différents types de rejets

La greffe d'un organe animal vascularisé à un homme conduit à trois types de rejets potentiels successifs :

1. Le rejet hyperaigü ou suraigu qui survient dans les premières minutes ou les premières heures de la greffe,
2. Le rejet vasculaire aigu qui survient une semaine à 10 jours plus tard,
3. Le rejet xénogénique cellulaire.

Il y a donc plusieurs types de rejet faisant appels à des mécanismes immunitaires différents. Une stratégie de lutte contre un type de rejet ne sera donc pas efficace contre un autre type de rejet.

C. Le rejet hyperaigü des organes vascularisés

1. Vitesse du rejet hyperaigü

La greffe d'un organe vascularisé animal à un homme conduit à un **rejet foudroyant**, irréversible, appelé "rejet hyperaigü" ou "rejet suraigu". La vitesse du rejet hyperaigu dépend des différences génétiques entre le donneur et le receveur. Le rejet survient en quelques minutes à une ou deux heures (Daniels 1997).

2. Événements survenant au cours du rejet hyperaigü

Après XT d'un organe vascularisé entre espèces discordantes, il se produit des dépôts d'immunoglobulines (Ig M surtout) (Latinne 1994) le long des vaisseaux du greffon (Platt 1991) ; ces dépôts aboutissent à la **perte d'intégrité de l'endothélium vasculaire** du greffon et à la création d'un environnement procoagulant se traduisant par une thrombose (plaquettes, fibrine) et une hémorragie diffuse associées à un œdème interstitiel (Saadi 1998). L'hypoxie conduit à une nécrose ischémique puis une perte irréversible de la fonction (Platt 1997). Des analyses immunohistologiques montrent la présence d'Ac dirigés contre les Ag du donneur (Platt 1991) et la présence d'éléments du complément (Leventhal 1993).

3. Anticorps Xénoactifs Naturels (XNA)

Le rejet hyperaigu d'un organe **vascularisé** est dû pour l'essentiel à la présence dans le sang du receveur **d'anticorps naturels** dirigés contre des épitopes de l'endothélium vasculaire du donneur (Kissmeyer-Nielsen 1966). Ces Ac sont dits "**naturels**" ou "**préformés**" car ils sont indépendants d'une sensibilisation antérieure (Boyden 1964). Les Ac naturels sont la première ligne de défense contre tous les éléments étrangers à l'organisme ; ils participent à l'immunité innée.

Parmi les Ac naturels, il en existe dirigés contre les Ag des groupes A et B du système sanguin humain. D'autres Ac, dirigés contre les cellules des autres espèces, sont appelés "**Anti-corps Xénoactifs Naturels**" ou **XNA** (Auchincloss 1988). Ce sont surtout des **Ig M** (Platt 1990; Ross 1993).

De nombreux arguments attestent de la **participation des XNA dans le rejet suraigu** :

1. Des dépôts de XNA sont retrouvés au niveau du greffon parallèlement à une baisse du taux de XNA chez le receveur (Lexer 1986).
2. La déplétion en XNA du receveur avant la xéno greffe prévient le rejet suraigu même si le système du complément est intact (Cooper 1988; Azimzadeh 1998).
3. L'administration de XNA à un receveur dépourvu de ses XNA provoque le rejet (Perper 1967).
4. La neutralisation des XNA par injection de saccharides chez le receveur retarde le rejet (Simon 1998).
5. Chez les babouins nouveau-nés, pratiquement dépourvus de XNA (Xu 1993), les organes de porcs greffés ne sont pas l'objet d'un rejet suraigu (Kaplon 1995).
6. Le transfert passif de XNA provoque un rejet suraigu (Perper 1967).
7. In vitro, les XNA du sérum humain se fixent sur des cellules porcines (Platt 1990; Sandrin 1993).

✚ Épitope α Gal

Tous les êtres humains possèdent des anticorps xénoactifs naturels (XNA) dirigés contre les Ag présents à la surface des cellules des espèces discordantes, particulièrement les cellules de l'endothélium vasculaire (Oriol 1993; Oriol 1999). L'homme et les primates possèdent des XNA contre des Ag du porc. 0,1 à 0,2 % des lymphocytes B, principalement les CD5+, produisent spontanément ces XNA (Platt 1991; Turman 1991; Kunori 1992). **85 % des XNA humains reconnaissent le même motif** disaccharidique présent sur les glycoprotéines et les glycolipides membranaires de toute la surface de l'endothélium vasculaire (Galili 1985; Good 1992; Sandrin 1993). Cet Ag reconnu comme étranger par les Ac naturels de l'homme est un motif glucidique appelé " **α Gal**" pour α -1,3-galactose (Joziassse 1999; Galili 2001), Ag synthétisé par une enzyme, l' α -1,3-galactosyltransférase (**α GALT**). Cette enzyme est présente chez tous les mammifères, exceptés les primates qui l'ont perdu au cours de leur évolution ; ils possèdent le gène mais l'enzyme est inactivée (Galili 1991).

- **Chez les primates** (singes de l'ancien monde et **homme**), à l'exception des singes du nouveau monde, l'épitope α Gal est absent et **il existe naturellement des Ac anti- α Gal** (Galili 1987).
- **Chez le porc**, le chien, le rat, la souris et les singes du nouveau monde, l'enzyme α -1,3 GT est active : **L'épitope α Gal s'exprime** dans tous les tissus, surtout sur les cellules endothéliales, les premières en contact avec le sang du receveur et ne possède donc pas d'Ac anti- α Gal.

Les mécanismes du rejet suraigu seront différents selon que l'espèce receveuse possède ou non l'épitope α Gal :

1. Lors de xéno greffe discordante porc-homme ou porc-singe, au moment de la revascularisation, les XNA du receveur se fixent sur l'épitope α Gal du donneur provoquant le rejet suraigu.
2. Lors de xéno greffe discordante porc-chien ou cobaye-rat, le receveur exprime l'épitope α Gal et ne possède donc pas d'Ac anti- α Gal.

* * *

En résumé :

La transplantation d'un organe vascularisé entre espèces discordantes (d'un porc à un homme par exemple) entraîne immédiatement un **rejet hyperaigu** de l'organe transplanté (Oriol 1993).

Ce rejet est dû à la présence dans le sang des primates receveurs (humains ou primates de l'ancien monde), d'**Anticorps naturels**, préformés, dirigés contre les antigènes de l'animal donneur (mammifères ou singes du nouveau monde) (Gautreau 1994).

L'épitope α -1,3-galactose (**α Gal**) est le principal xénoantigène reconnu par les Ac préformés des primates (humains et non-humains) (Galili 1988; Good 1992; Sandrin 1994; Ezzelarab 2005).

Cet épitope α Gal est présent chez tous les mammifères mais il est **absent chez l'homme** et les primates de l'ancien monde (Galili 1988; Good 1992).

D. Le rejet hyperaigu associé à la transfusion de globules rouges porcins

1. L'épitope α Gal

Bien que le porc soit connu pour exprimer plusieurs groupes sanguins, le problème de l'incompatibilité ABH(O) avec le receveur humain peut être évité par le croisement de porc du groupe O. Les pRBCs n'expriment pas les Ag d'histocompatibilité c'est-à-dire les "Swine Leukocytes Antigens" (SLA) mais ...

L'antigène α Gal est présent à la surface des érythrocytes de porc (Galili 1988; Zhu 2000).

De la même façon que le rejet hyperaigu d'un organe de porc survient chez un receveur primate, si du sang de porc est transfusé à un homme ou un primate, les Ac naturels anti-porc de l'homme se lient aux pRBCs transfusées et le complément est activé, ce qui provoque la destruction rapide de ces pRBCs.

En **2004**, **Eckermann** montre qu'en raison de la présence de l'épitope α Gal à la surface des pRBCs, la transfusion de pRBCs à un primate (humain ou non-humain) conduit à une hémolyse immédiate (en moins 5 minutes) des hématies transfusées (Eckermann 2004).

Le premier obstacle à lever pour rendre possible la XTF est la maîtrise du rejet associé à l'épitope α Gal.

2. Les autres épitopes impliqués dans le rejet

In **2000**, Alex **Zhu** montre que le traitement des pRBCs par l' α -galactosidase ne prévient pas la liaison avec les Ac naturels humains (Zhu 2000) ; il en déduit l'existence de xénoantigènes non- α Gal à la surface des pRBCs (Zhu 2000). De la même façon, **Leslie MacLaren** a montré en **2002** que le retrait des Ac anti- α Gal du sérum humain réduit mais n'élimine pas l'hémagglutination (MacLaren 2002).

L'épitope **acide N-glycolylneuraminic (NeuGc)** est présent chez la plupart des animaux y compris le porc ET LE SINGE, mais absent chez l'homme. En 2002, Zhu a montré que cet épitope était le principal Ag non- α Gal présent à la surface des pRBCs (Zhu 2002). La prévention de l'hémolyse requiert donc un traitement préalable, à la fois avec l' α -galactosidase (Cf. infra) et la neuraminidase (Eckermann 2004). Les cellules sanguines matures n'ont pas d'organelles intracellulaires de synthèse donc ce traitement retirerait **définitivement** les épitopes α Gal et NeuGc de la surface des pRBCs (Eckermann 2004).

Les babouins expriment NeuGc ; ils ne produisent donc pas d'Ac anti-NeuGc. L'absence d'Ac anti-NeuGc dans le sérum de babouins peut expliquer la moindre cytotoxicité envers les pRBCs du sérum babouin comparé au sérum humain. Cependant, des Ac naturels non- α Gal présents dans le sérum des primates incluent des Ac visant d'autres cibles que NeuGc, bien que la nature de ces cibles reste inconnue (Zhu 2000). Il pourrait également s'agir de néoantigènes exposés après disparition de l'épitope α Gal.

E. Moyens d'action contre le rejet hyperaigu

1. Action sur le receveur

La prévention du rejet suraigu est possible en agissant chez le receveur sur les effecteurs du rejet :

1. par inhibition des XNA,
2. par inactivation du complément.

Pour les ALLOTransplantations, la voie la plus classique pour limiter les phénomènes de rejet consiste à limiter l'action du système immunitaire du patient receveur. L'induction d'une tolérance immunitaire par greffe préalable de la moëlle osseuse du donneur au receveur, est aussi une solution parfois employée.

Comme les ALLOTransfusions se font sans la moindre action sur le système immunitaire, il n'est pas concevable que les XENOTransfusions nécessitent un traitement immunosuppresseur chez le receveur. Cliniquement, c'est donc uniquement une action sur le donneur qui peut être envisagée. Cependant, expérimentalement, il peut s'avérer utile d'agir sur le receveur pour apprécier l'importance de certains phénomènes dans l'hémolyse et la cytotoxicité observées après XTF. C'est ce qu'ont étudié Dor et coll. Leurs travaux seront décrits dans le chapitre consacré à la réaction cellulaire.

2. Action sur le donneur

L'énorme avantage des XTs sur les ALLOtransplantations est, pour les XTs la possibilité d'agir sur le donneur. Il est ainsi envisageable de maîtriser le rejet hyperaigu associé à l'épitope α Gal mais aussi les autres phénomènes impliqués dans le rejet.

F. Stratégies de maîtrise du rejet associé à α Gal

Plusieurs stratégies ont été envisagées pour maîtriser le rejet hyperaigu associé à α Gal. **Ces stratégies sont valables aussi bien pour la XTF que pour les organes vascularisés.**

- L'éviction de l'épitope
- Le camouflage
- La transgénèse

G. Suppression de l'épitope α Gal

La principale voie de prévention du rejet hyperaigu consiste à supprimer l'épitope α Gal de la surface des cellules porcines, ou tout au moins à en diminuer fortement l'expression afin d'éviter que les Ac anti- α Gal humains n'agissent.

Chez l'homme, des stratégies ont été étudiées pour rendre possible des ALLOtransfusions quel que soit le groupe sanguin.

1. La conversion enzymatique de la substance B en H (groupe O) par l' α -galactosidase (Goldstein 1982).
2. L'utilisation d'une liaison covalente des Ag au polyéthylène glycol (PEG) (Abuchowski 1977; Jeong 1996; Scott 1997) destinée à masquer les Ag des hématies afin de prévenir la liaison avec des Ac.

Ces stratégies peuvent être envisagées pour rendre les pRBCs compatibles à l'homme.

1. Suppression de α Gal par une β -galactosidase

L' β -galactosidase du grain de café vert est une enzyme de plante qui peut cliver le galactose terminal des chaînes polysaccharidiques (Luo 1999). Bien que d'origine végétale, l' β -galactosidase est active dans le règne animal. Le traitement avec l' α -galactosidase réduit la toxicité du sérum humain envers les cellules endothéliales porcines (LaVecchio 1995).

En 1999, Luo suggère l'utilisation de l' α -galactosidase pour retirer l'épitope α Gal de la surface de l'endothélium vasculaire (Luo 1999). *In vitro*, l' β -galactosidase est effectivement capable de débarrasser l'épitope α Gal de la surface de l'endothélium vasculaire de porc, dans les 30 minutes, sans lésions histologiques visibles. Cependant, après deux heures, des lésions de l'endothélium apparaissent. *In vivo*, le rejet hyperaigu est différé mais pas complètement éliminé ; cet effet temporaire est insuffisant pour présenter un véritable intérêt clinique (Luo 1999). Luo conclut sur l'intérêt que pourrait avoir l'introduction chez les porcs donneurs du gène de l' β -galactosidase, par transgénèse ou par thérapie génique.

En 2004, Eckermann a montré que la XTF à un modèle primate de pRBCs traités à l' α -galactosidase prolongeait la survie des pRBCs transfusées (Eckermann 2004). Cependant, la durée de vie de ces pRBCs était réduite en comparaison avec une transfusion autologue, probablement en raison d'une immunité résiduelle, une séquestration splénique ou une fragilité des pRBCs.

2. Le camouflage de α Gal par une liaison avec le PEG

Une autre stratégie serait le camouflage des Ag pour produire des pRBCs qui ne peuvent pas être reconnues par le système immunitaire de l'homme (Scott 1997; Stuhlmeier 1999; Scott 2000). Cette approche est basée sur une **liaison covalente avec le polyéthylène glycol (PEG)** (Jeong 1996). Le camouflage par traitement au PEG n'a jamais été étudié seul dans les travaux concernant la XTF mais en association avec un traitement à l' α -galactosidase.

✚ **Travaux de Doucet et coll.** (Doucet 2004)

L'hypothèse

Les pRBCs expriment des xénoantigènes α Gal et non- α Gal (Zhu 2000) (Cf. infra) à l'origine d'une réaction Ag-Ac chez le receveur humain. En **2004**, **Jay Doucet** et Coll. (Doucet 2004) émettent l'hypothèse que le **traitement avec le PEG** pourrait masquer les Ag non- α Gal. Ils étudient la possibilité qu'un traitement combiné des pRBCs par l' α -galactosidase et le PEG réduise suffisamment l'antigénicité des pRBCs pour passer à une utilisation clinique.

Le traitement au PEG diminue l'hémagglutination

Leurs travaux *in vitro* montrent que le traitement des pRBCs avec l' α -galactosidase et/ou le PEG réduit la réaction du sérum humain envers ces pRBCs. Les deux traitements, α -galactosidase et PEG, réduisent significativement l'hémagglutination par rapport à un lot de pRBCs non traitées. L'utilisation du PEG seul est moins efficace que l' α -galactosidase seule dans la réduction de l'hémagglutination ce qui s'explique par la prédominance de l'Ag α Gal.

Dans des modèles de XT d'organes vascularisés du porc au singe, le traitement à l' α -galactosidase diffère mais ne prévient pas le rejet hyperaigu. D'autres phénomènes interviennent donc qui ne sont pas liés à l'épitope α Gal. En effet, un traitement avec des concentrations plus élevées de PEG réduit davantage l'hémagglutination mais l'impact exact du traitement au PEG ne sera connu qu'après transfusions (*in vivo*) à des primates car les Ac dirigés contre les Ag non- α Gal sont induits par l'exposition à ces Ag (Luo 1999).

L'association de traitements spécifiques (α Gal) et non-spécifiques (non- α Gal) a un effet additif sur la réduction de la fixation du complément. Cette stratégie réduit le degré de positivité au cross-match. Cependant, la liaison à l'Immunoglobuline M (IgM) n'a pas été éliminée ce qui suggère que les pRBCs traitées pourraient encore induire une réponse immune qui serait plus prononcée aux expositions répétées.

Réaction immunitaire selon les groupes sanguins humains

Les travaux de **MacLaren** avaient montré que la réponse du sérum humain envers les pRBCs variait selon le groupe sanguin humain (MacLaren 1998). Dans l'étude de **Doucet** (Doucet 2004), on observe une forte agglutination quand les groupes sanguins humains A, B et O sont mélangés avec des pRBCs non traitées. Toutes les pRBCs non traitées croisaient positivement au maximum avec le sérum humain indépendamment du groupe sanguin. Le traitement des pRBCs a fait diminuer le degré de positivité de tous les groupes sanguins. Cette réactivité restait plus forte pour le groupe A puis B puis O. Cette différence pourrait être due à un impact différent du traitement au PEG sur les Ag des pRBCs. Le traitement des pRBCs a davantage réduit la réactivité du sérum humain du groupe B par rapport au groupe A ce qui suggère que les Ag B sont plus affectées par le traitement au PEG que les Ag A.

Antigène B et α Gal

L'Ag du groupe sanguin B humain est identique à l'Ag α Gal à l'exception de l'avant dernier galactose qui est fucosylé. Les humains des groupes sanguins B ou AB ont naturellement des Ac contre α Gal qui ne croisent pas avec l'Ag B (Galili 1987). Les groupes B et AB, qui expriment l'Ag B, induisent un titre d'Ig G anti- α Gal plus faible que ceux qui n'expriment pas l'Ag B (groupes A et O) (McMorrow 1997; Neethling 1999). Les Ac des groupes sanguins A ou O (n'exprimant pas B) ont un seul Ac qui partage une spécificité pour les Ag B et α Gal (Oriol 1987).

Cas du groupe O

Après traitement au PEG, la réactivité du cross-match devient plus basse pour des sérums humains du groupe O comparée aux groupes A et B. Le sérum du groupe O a davantage d'Ig G anti-A et anti-B que le sérum des autres groupes, A et B (Rawson 1960).

En résumé

L'Ac anti- α Gal prédominant est suspecté être une immunoglobuline M et il ne varie pas selon les groupes sanguins humains (Thibaudeau 1994). Le traitement à l' α -galactosidase et au PEG a été plus efficace pour prévenir la liaison à l'Ig M qu'à l'Ig G et il a réduit significativement la positivité du cross-match avec le sérum humain.

Conclusion

L'étude d'Eckerman (Eckermann 2004) montre chez un modèle primate que le traitement préalable à l' α -galactosidase des pRBCs transfusées prolongeait (*in vivo*) la survie de ces hématies mais que cette survie restait réduite. L'étude de Doucet montre que l'addition d'un traitement au PEG au traitement à l' α -galactosidase réduit en plus la fixation du complément, ce qui devrait théoriquement prolonger la survie des pRBCs.

3. Transgénèse

En raison de l'échec relatif *in vivo* des stratégies enzymatiques (α -Galactosidase) et chimiques (PEG) pourtant encourageantes *in vitro*, d'autres actions sur le donneur ont été envisagées.

L'inactivation du gène codant pour l'enzyme galactosyltransférase (α GalT), enzyme qui intervient dans la synthèse de l'épitope α Gal (Costa 1999) est maîtrisée chez la souris (Tange 1996; Tearle 1996) mais ne l'est pas chez le porc.

La principale piste retenue est à ce jour la production de porcs transgéniques, knock-out pour α Gal, ou convertis d' α Gal à H (groupe sanguin O). Cette possibilité d'action sur les gènes est un atout considérable intervenant pour beaucoup dans le choix du porc comme espèce donneuse.

Il ne serait pas nécessaire de produire des porcs additionnés de protéines inhibant le complément comme la protéine DAF (Cozzi 2000; Costa 2002) ou la protéine CD59 (McCurry 1995; Kroshus 1996; Byrne 1997; Yeatman 1999) car les pRBCs n'expriment pas le SLA (Oostingh 2002).

+ Mutants α Gal-/- naturels ?

En 2002, **MacLaren** et coll. (MacLaren 2002) montrent qu'il existe des variations significatives dans l'expression des α Gal des pRBCs selon les porcs et selon les élevages de porcs. Les races les plus répandues, comme le Yorkshire et le Landrace, expriment moins α Gal que les autres races. MacLaren en déduit qu'il devrait être possible de trouver des porcs qui n'expriment pas α Gal. À ce jour, aucun mutant de ce type n'a été identifié ; une telle découverte nécessiterait le dépistage d'un très grand nombre de porcs.

+ Génie génétique et production de mutants α Gal -/-

La transgénèse viserait à prévenir les phénomènes de rejet en modifiant les gènes du donneur par génie génétique. Depuis peu, des porcs hétérozygotes (Dai 2002; Lai 2002) et homozygotes (Phelps 2003) knock-out pour le gène de l' α 1,3-galactosyltransférase (α GalT-KO) sont disponibles. Ces porcs homozygotes ont été conçus pour la XT d'organes mais peuvent également être utilisés pour la recherche sur les XTFs. Parce que ces porcs homozygotes n'expriment pas α Gal, ils sont susceptibles de lever la première barrière à la XTF, la réaction Ag α Gal - Ac anti- α Gal, et de permettre l'étude des autres phénomènes immunitaires impliqués dans la destruction des pRBCs transfusées à l'homme ou aux primates.

Bien que des porcs NeuGc-KO n'aient pas encore été produits, le croisement de porcs α GalT-KO et NeuGc-KO produirait des porcs double knock-out. Cependant, il n'est pas nécessaire de disposer de tels porcs immédiatement car les babouins n'expriment pas NeuGc et donc ne produisent pas d'Ac anti-NeuGc (Varki 2001) ; ils peuvent être utilisés pour des essais avec du sang de porcs α Gal-/-.

H. La pierre d'achoppement : la réaction cellulaire

1. Travaux de Rouhani

En 2004, **Rouhani** et coll. (Rouhani 2004) ont fourni les premières données expérimentales comparant *in vitro* la cytotoxicité du sérum et les liaisons des Ac anti- α Gal humains (et babouins) entre les pRBCs \langle Gal \rangle -/- et les pRBCs α Gal \rangle +/+. Ils décrivent les effets *in vivo* de la XTF de pRBCs α Gal \rangle -/- à des babouins.

Leurs résultats sont en accord avec les études précédentes menées par leur collègue Eckermann (Eckermann 2004). La liaison d'Ig M et d'Ig G aux pRBCs α Gal \rangle +/+ a été similaire dans les deux études, de même que l'étendue de la cytotoxicité.

Dans l'étude d'**Eckermann**, quand des pRBCs α Gal \rangle +/+ ont été traitées *in vitro* avec de l' α -galactosidase, la liaison aux Ac anti- α Gal humains ou babouins a été absente ou minimum en comparaison des pRBCs non traitées ; la cytotoxicité du sérum a été complètement inhibée.

Les résultats *in vitro* de l'étude de **Rouhani** montrent que la liaison des Ac anti- \langle Gal aux pRBCs α Gal \rangle -/- (obtenues de porcs GalT-KO plutôt que par traitement à l' α -galactosidase de porc \langle Gal \rangle +/+) a été grandement réduite en comparaison avec celles des pRBCs \langle Gal \rangle +/+, mais montrent **que quelques liaisons Ig M ont persisté, probablement en raison de la présence d'Ac anti-non- α Gal**. L'absence d'hémolyse pourrait indiquer que ces Ac anti-non- \langle Gal ont **une faible toxicité** ou tout au moins n'étaient pas cytotoxique par activation du complément.

L'étude *in vivo*, menée par **Eckermann** (Eckermann 2004) chez des babouins indiquait que, alors que les hématies autologues de babouin survivaient plus de 16 jours et que les pRBCs non modifiées survivaient moins de 15 minutes, les pRBCs traitées à l' α -galactosidase ne survivaient que 2 heures. Ce résultat décevant était expliqué par le retrait incomplet de tous les épitopes \langle Gal. En effet, malgré des données convaincantes *in vitro*, les pRBCs ont survécu plus longtemps *in vivo* quand le babouin avait subi une déplétion du complément ou une autre thérapie pour réduire sa réponse immunitaire. De plus, les babouins recevant des pRBCs traitées à l' α -galactosidase ont développé une réponse Ac envers les Ag \langle Gal mais pas envers les Ag non- \langle Gal, confirmant la **persistance d'une expression de \langle Gal sur les pRBCs**. L'hypothèse de Rouhani était que de véritables pRBCs \langle Gal \rangle -/- survivraient plus longtemps. **Les résultats son étude *in vivo* ont été décevants : en comparaison de pRBCs \langle Gal \rangle +/+ non modifiées transfusées à des babouins, aucune augmentation de la survie n'a été identifiée après la transfusion de pRBCs \langle Gal \rangle -/-**. À la lumière des résultats *in vitro*, ces résultats sont surprenants.

Chez un des babouins (babouin 2), les pRBCs transfusées représentaient l'équivalent de presque 20% du total des cellules sanguines du babouin mais aucune pRBC n'était détectable 5 minutes après la transfusion. Ce devenir suggère que la rapide perte des pRBCs traitées par l' α -galactosidase rapportée par Eckermann, n'était pas associée à une expression résiduelle de l' α Gal mais à d'autres caractéristiques des pRBCs reconnues par le système immunitaire du babouin. L'un des babouins receveur avait été précédemment splénectomisé, ceci suggère que ce n'est pas seulement la rate qui peut être responsable d'un retrait rapide ou séquestration des pRBCs liées à des Ac.

Il est probable qu'une rapide **phagocytose des pRBCs par des macrophages** (Basker 2001) intervienne particulièrement dans le foie (cellules de Küpfer) et dans la rate, ou que les pRBCs soit détruites par des cellules natural-killer ou tout autre mécanisme non encore identifié.

En résumé :

Les résultats *in vitro* de l'étude de Rouhani indiquent que les pRBCs $\langle \text{Gal}/-$ provenant de porcs GalT-KO peuvent être liées à des IgM humaines et de babouins mais que cette liaison est beaucoup moins forte que celle observées avec des pRBCs $\langle \text{Gal}/+$. La liaison des IgM à des pRBCs $\langle \text{Gal}/-$ est associée à une hémolyse minimale. Néanmoins, les données *in vivo* indiquent que l'absence de l'Ag αGal n'est pas suffisante pour prévenir la rapide disparition ou destruction des pRBCs chez le primate receveur. Rouhani considère que les pRBCs ont été reconnues par le receveur indépendamment de l'Ag $\langle \text{Gal}$ et rapidement phagocytées ou lysées par des cellules telles que les macrophages ou les cellules natural-killer.

2. Travaux de Dor

En 2004, Dor et coll. (Dor 2004) rapportent une étude *in vivo* dans laquelle de larges volumes de pRBCs $\alpha\text{Gal}/+$ sont transfusés à deux babouins qui ont été épurés de leur Ac anti- αGal et du complément. Nous décrivons cette étude en détail ci-après.

Avant la transfusion, l'hématocrite de ces babouins a été réduite à 12 et 20% pour faciliter la détection des érythrocytes porcins exogènes.

Pour protéger les pRBCs du rejet hyperaigu, 48 heures avant la transfusion, du cobra-venom factor (CVF) a été injecté pour inactiver le complément et les Ac anti- $\langle \text{Gal}$ ont été retirés par infusion d'un Gal-glycoconjugué selon la méthode décrite par Kuwaki (Kuwaki 2004).

La détection des pRBCs dans le sang de babouin a été réalisée par cytométrie de flux.

Le **babouin 1** (11kg, sang de type B, volume sanguin estimé 770 mls, Ht 12%) a précédemment été splénectomisé et a reçu une transplantation de moelle d'un porc knock-out pour le gène $\langle -1,3\text{-galactosyltransférase}$. Il a développé des Ac anti non- αGal . Sous anesthésie, son hématocrite a été réduit à 12% et il a reçu 2 transfusions de concentrés globulaires de porc (pRBCs) de 100 ml et 250 ml à 30 minutes d'intervalle. Cette transfusion de pRBCs représentait 350% du volume globulaire initial du babouin. Cinq minutes après la première transfusion (100 ml), 1,61% des hématies du receveur étaient des pRBCs et après 15 et 30 minutes, 3,05% et 2,26% respectivement. Après la seconde transfusion (250 ml), 70,77% étaient des pRBCs, 15 minutes après 60,57% étaient des pRBCs.

Le **babouin 2** (10 kg, sang du groupe B, volume sanguin estimé à 700 ml, Ht 20%) a reçu préalablement une transplantation d'un coeur hétérotopique d'un porc α Gal+/+ (sans splénectomie) et n'a pas développé d'Ac spécifiques (Kuwaki 2004). Il a reçu une transfusion de concentré globulaire porcin (pRBCs) α Gal+/+ le jour 1 (50 ml) et 2 transfusions (50 et 300 ml) le jour 2 à une heure d'intervalle. Le volume total transfusé, 400 ml, représentait environ 285% du volume globulaire de départ.

Le jour 1 (5 minutes après la première transfusion) les pRBCs représentaient 1,34% des hématies. Un coagulat a été observé dans le tube lors de cette première transfusion mais n'a pas été observé lors des suivantes. À 15 minutes, le pourcentage a chuté à 0,44%. Durant cette période, le babouin est devenu hypotendu et la transfusion a été interrompue. Durant les 45 minutes suivantes, la pression artérielle est redevenue normale. Soixante minutes après la première transfusion, les pRBCs représentaient 0,16% du total des hématies. Le taux de bilirubine totale et les AST ont augmenté significativement durant les quelques heures suivant la transfusion initiale jusqu'à atteindre 60 mg/l et 300U/l respectivement.

Le matin suivant (Jour 2), le babouin était alerte et actif. La 2^{ème} et la 3^{ème} transfusion de concentré globulaire ont été administrées sans événements fâcheux, sans davantage d'augmentation de la bilirubine et de l'AST. Le babouin a toléré ces 2 dernières transfusions sans effets secondaires, ni complications. 5 et 15 minutes après le début de la seconde transfusion (50ml), 4,95% et 13,04% des hématies étaient des pRBCs. 5, 15 et 60 minutes après la 3^{ème} transfusion (300 ml), l'hématocrite est passé de 23,8% à 34,70%. Les pRBCs sont passées respectivement de 27,77% à 37,70 puis 31,54% des hématies circulantes. Cependant, le Jour 3, 12 heures après la dernière transfusion, il n'y avait plus de pRBCs décelables dans le sang du babouin et son hématocrite a chuté à 23%. Le babouin a été euthanasié et à l'autopsie, la rate était congestionnée et avait triplé de volume. Microscopiquement, une extrême congestion a été mise en évidence, ainsi qu'une hyperplasie folliculaire suggérant fortement que les pRBCs ont été retirées de la circulation générale par la rate du babouin. Les autres organes, y compris le foie, avaient une taille et une apparence normale.

En conclusion, quelques pRBCs α Gal+/+ ont survécu dans le sang de babouins dépourvus d'Ac anti- α Gal et ayant subi une inhibition du complément. Chez un babouin (babouin 1), à un moment donné, 71% de ses hématies étaient des pRBCs, chez le babouin 2, l'hématocrite est monté de 24 à 35% après transfusion de concentré globulaire porcin.

Le retrait rapide des pRBCs du sang peut être surmonté par la transfusion d'un large volume de pRBCs équivalent à presque 300% du total des hématies, même si ceci n'était que transitoire.

Les pRBCs ont pu être identifiées dans le sang pendant moins de 24 heures et ont probablement été retirées de la circulation par les macrophages de la rate ou du foie. Les lésions macroscopiques et microscopiques de la rate chez un des babouins, moins de 24 heures après la transfusion, suggèrent fortement que les pRBCs ont été largement capturées par la rate.

Le mécanisme par lequel les pRBCs sont détruits reste incertain. De nombreuses questions persistent. Par exemple, quelles cibles sur les pRBCs \langle Gal/- sont reconnues par les macrophages de primates. Rees (Rees 2005) a suggéré que les lectines pouvaient jouer un rôle important, mais peu de données sont disponibles pour confirmer cette hypothèse.

I. Exposition de néoantigènes et ajout au génome d'un gène codant pour l' α 1,2 fucosyltransférase

En raison de la similitude de structure entre α Gal et la substance B, Doucet avait déjà suggéré qu'un traitement à l' α -galactosidase convertisse l'Ag \langle Gal en Ag H faisant passer les pRBCs du groupe B au groupe O (Doucet 2004).

En juin 2005, en réponse à une Letter to the editor de Jane Swanson (Swanson 2005) et sur la base de travaux menés par Shinkel (Shinkel 1997), Frank Dor, Foad Rouhani et David Cooper ont émis l'hypothèse que des néoantigènes pouvaient apparaître après éviction de l'épitope \langle Gal chez les porcs \langle Gal \langle - (Rouhani 2004). En effet, le traitement à l' α -galactosidase expose l'antigène N-acetyl lactosamine (NAcLac) (Watier 1996), et NAcLac pourrait donc aussi être exposé chez les porcs \langle Gal \langle - bien qu'il n'y ait pas de preuves pour étayer cette hypothèse (Milland 2005).

Chez le porc (mais pas chez l'homme), l' α -galactosidase catalyse l'addition d'un galactose terminal au N-acétyl lactosamine (Blanken 1985).

Chez l'homme, l' \langle 1,2-fucosyltransférase (HT) convertit le même substrat en fucosyl N acétyl lactosamine, autrement dit la substance H à l'origine du groupe sanguin O (Watkins 1980). L'expression de l' \langle 1,2-fucosyltransférase modifie donc la surface des pRBCs, il s'ensuit l'expression de l'Ag O du groupe sanguin universel.

L'ajout au génome du porc d'un gène codant pour l' \langle 1,2 fucosyltransférase (HT), enzyme qui catalyse l'addition d'un fucose au lieu d'un galactose aboutit à un épitope très différent, non reconnu par les xénoanticorps anti- \langle Gal (Sandrin 1995; Chen 1996; Sharma 1996; Costa 1999).

Des porcs transgéniques exprimant HT ont déjà été produits pour diminuer la réactivité des Ac naturels (Osman 1997; Costa 1999; Costa 2002; Ramsoondar 2003).

Pour tenter de vaincre les réactions cellulaires observées avec les pRBCs de porcs \langle Gal \langle -, Rouhani et coll. ont donc suggéré de remplacer l'épitope \langle Gal par l'oligosaccharide du groupe H(O) qui ne se lie pas aux Ac humains (Dor 2005).

* * *

Avec la génération de porcs homozygotes GalT-KO, la première barrière à la XTF a été levée mais de nouveaux problèmes immunologiques sont apparus. Le principal obstacle à la XTF est aujourd'hui la réponse cellulaire mettant en jeu des macrophages ou des cellules natural killer.

* * *

ÉTHIQUE

DES XÉNOTRANSFUSIONS

(Article 3)

Les XTs d'organes de tissus ou de cellules sont à l'origine de nombreuses objections éthiques qui seraient un obstacle majeur à leur application clinique, même si les phénomènes immunitaires étaient maîtrisés. Ces obstacles éthiques se posent-ils de la même façon pour la XTF ?

Dans ce chapitre, nous nous proposons d'exposer les arguments des défenseurs et des opposants à la xénotransfusion sans jamais prendre partie. Les propos seront au conditionnel quant il s'agira d'évoquer un courant d'opinion. S'il est écrit « La production de porcs pour les XTFs ne constituerait qu'une infime exploitation supplémentaire », il ne s'agit pas là de l'opinion de l'auteur mais d'un argument évoqué par les partisans de l'utilisation du porc. A aucun moment, l'auteur ne prendra position.

I. L'UTILISATION D'UN ANIMAL COMME SOURCE DE SANG EST-ELLE ACCEPTABLE ?

La XTF sous-entend l'élevage et l'exploitation d'animaux destinés spécifiquement à cet usage ce qui soulève des controverses au regard de la condition animale mais **les problèmes éthiques sont nettement moins épineux pour la XTF que pour les XT's d'organes.**

A. Les singes : des espèces protégées

Outre les réticences culturelles à utiliser le singe comme source de sang, il existe des obstacles techniques interdisant ce choix (Cf. infra) :

- Les primates sont pour la plupart en voie d'**extinction**, et à ce titre protégés,
- ils ne font pas l'objet d'élevages importants,
- leur **petite taille** ne permet pas des prélèvements suffisants pour répondre à la demande.
- la proximité du singe et de l'homme, si elle est intéressante dans la maîtrise des phénomènes immunitaires, fait du singe un donneur à **haut risque infectieux pour l'homme** (Kalter 1990). Or l'un des intérêts majeurs de recourir à une source de sang animal est de limiter le risque de transmission interhumaine de maladies infectieuses (hépatite C, HIV, prion de la variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob) (Cooper 2003).

L'utilisation de primates comme source de sang animal pour les XTFs n'est pas possible techniquement ; **cette non-faisabilité technique profite à l'argumentation éthique** (Dominique Vermersch, communication personnelle).

Il est cependant concevable que des primates soient utilisés à des fins de recherche avant le passage aux essais sur l'homme comme cela a déjà été fait (Dor 2004), ceci d'autant plus que, comme l'homme, ils n'expriment pas l'épitope <Gal.

B. Le porc : une espèce imposée

Même s'il est envisageable d'utiliser du sang de bovin (Johnstone 2004) (Cf. supra), le porc apparaît comme le meilleur "candidat" donneur de sang (Cooper 2003).

Une acceptation sociale ?

Les grandes religions, bouddhisme excepté, ne s'opposent pas, par la voie de leurs représentants, à l'utilisation des animaux, et de porcs en particulier, pour les XTs (Sellami 1993; First 1997; Bosch 2001; Tandler 2002; Sykes 2004). Cependant, **aucune autorité religieuse ne s'est prononcée sur la XTF.**

L'utilisation de porcs pour les XTs provoque moins de **réticences sociales** que celle de toute autre espèce (Arundell 1997; Deschamps 2000; Deschamps 2005): Il est plus éloigné de l'homme, moins intelligent que le singe, non menacé d'extinction et déjà élevé à grande échelle pour sa viande (Ravelingien 2005). Cette acceptabilité sociale du porc comme donneur coïncide avec une **faisabilité technique** (Cf. infra).

L'animal au service de l'homme ?

L'assujettissement ancien du porc est utilisé pour légitimer une mainmise supplémentaire. Tout se passe comme si l'acceptation sociale de l'exploitation du porc pour l'alimentation justifiait automatiquement toute nouvelle exploitation. Le sacrifice de quelques porcs supplémentaires se justifierait par la noblesse de l'objectif : sauver des vies humaines. Il semble que la finalité pour un animal est de servir l'homme et que ce destin serait anobli si des vies étaient sauvées. Les porcs qui "se contentent de mourir" pour nourrir une famille mériteraient-ils moins notre gratitude et notre respect ? Le bénéfice attendu pour l'homme légitimerait toute nouvelle exploitation de l'animal. La seule contrepartie accordée à l'animal élevé au service de l'homme est "l'intention" de ne pas le faire souffrir "inutilement" comme si l'absence de souffrance suffisait à légitimer toute exploitation supplémentaire. **"La souffrance inutile est prohibée mais l'idée d'une douleur utile reste présente"** (Couret 1981).

Le prélèvement d'organes humains est déjà courant ; il repose sur le principe de l'utilité pour la collectivité. Sur le même principe, le prélèvement d'organes animaux n'aurait pas moins de légitimité. Mais dans le cas des animaux, il n'est plus question de don, mais de prélèvement ; à aucun moment, le "donneur" n'est consentant. Il a été produit, il est né, a été élevé et tué dans cette seule intention, dans des conditions non naturelles. La question des droits de l'animal est particulière en ce sens que seule une partie, l'homme, participe au débat et édicte les règles fondées sur ses croyances, ses valeurs. Sur quelle base l'homme s'accorde-t-il la légitimité de tuer des animaux, même pour sauver un être humain ? Son intelligence, sa capacité à raisonner, sa conscience ? Pour remplacer le terme de donneurs, certains parlent de "donneurs involontaires" (Chadwick 1998) et d'autres de "source animale" jugeant le terme "donneur" cynique (Engels 1998).

Des philosophes au secours de l'animal

Un courant philosophique dénonce l'**anthropocentrisme** qui prône la suprématie de l'espèce humaine sur toutes les autres espèces. La question des droits de l'animal est un point essentiel du débat éthique concernant la xénotransplantation [Burgat, 1999 #481; Burgat, 2002 #943; Burgat, 2003 #942; Burgat, 2003 #944].

En 1780, Jeremy Bentham, grand réformateur britannique, inaugure véritablement le débat éthique sur les droits de l'animal (Bentham 1776) : "La question n'est pas : peuvent-ils raisonner ? Peuvent-ils parler ? Mais peuvent-ils souffrir ?" Henry Salt prolongea ses réflexions en 1892 dans un livre intitulé *Les droits de l'animal considérés dans leur rapport avec le progrès social* (Salt 1892).

Plus récemment, en 1975, l'Australien Peter Singer poursuit l'œuvre de Bentham et énonça qu'ignorer les droits de l'animal serait une forme de racisme qu'il appelle "**spécisme**" ("specism" en anglais). Ce terme est devenu commun depuis la publication de son livre célèbre : *Animal Liberation* (Singer 1975; Singer 1995). Comme ses prédécesseurs, Peter Singer souligne la capacité des espèces à éprouver de la souffrance et les droits qui en découlent. En fait, le terme de spécisme (Singer 1992) est de Richard D. Ryder qui l'utilisa pour la première fois en 1975 dans son livre *Victims of Science : The use of animal in research* (Hottois 2001). Tom Regan prolonge les idées de Singer en 1984 dans *The case of animal rights* (Reagan 1984). En 1986, Paul Taylor rejette toute forme de discrimination entre espèces dans son livre *Respect of nature* (Taylor 1986).

Les incohérences du spécisme

L'homme, qui se considère au sommet de l'évolution (cf. l'Ordre des « Primates » de Linné, établi dans une perspective déiste), justifie sa suprématie par son intelligence.

François Lachapelle constate que "l'intelligence est la griffe ou la dent de l'homme, c'est l'expression naturelle de la caractéristique humaine" (communication personnelle). Paul Taylor conteste qu'une qualité quelconque confère à une espèce une suprématie sur les autres. Pourquoi le vol de l'oiseau ou la vitesse du guépard ne leur donnent pas une supériorité absolue ? (Taylor 1986).

Peter Singer fait remarquer que "si la possession d'un degré supérieur d'**intelligence** n'autorise pas un humain à en utiliser un autre pour ses propres fins, comment pourrait-elle autoriser les humains à exploiter les non-humains dans le même but ?" (Singer 1995). Si l'intelligence justifiait la supériorité, les êtres humains chez lesquels cette faculté serait absente (handicapés, malades, voire enfants !) ne mériteraient pas plus de considération que les animaux !

Michaël Fox insiste sur une nécessaire **solidarité au sein de l'espèce humaine** (Fox 1986). Mais pour Paul Taylor, l'anthropocentrisme est une exagération illégitime de la tendance à survivre et à préserver son espèce.

Sous l'alibi d'une intelligence supérieure, l'homme abuse de son pouvoir. Il y eut l'oppression des noirs (victimes de racisme), l'oppression des femmes (victimes de sexisme) ; il reste l'oppression des animaux (victimes de spécisme).

Une hiérarchie dans les valeurs

Les résultats de notre enquête ont montré que, dans l'éventualité d'une transplantation, l'**homme** arrivait en tête des espèces donneuses souhaitées par la population générale ; viennent ensuite le **singe** puis le **porc** (Deschamps 2000).

Il existe une hiérarchie dans le respect porté à une espèce animale. L'homme est situé au sommet de cette hiérarchie, vient ensuite le singe puis le chien et enfin le porc.

C'est le degré d'évolution et la parenté avec l'homme (parenté génétique pour le singe, parenté sociale pour le chien) qui conditionne ce classement. Plus l'animal est placé haut dans cette hiérarchie, moins son exploitation est admise, même s'il s'agit d'intérêts médicaux réels.

Cette domination a des fondements culturels et religieux (dans les cultures judéo-chrétiennes). Dès les premiers versets de la Bible (Genèse, chapitre 1, verset 26), il est écrit que Dieu créa l'homme à son image : l'homme est donc presque l'égal de Dieu, d'où sa suprématie. C'est Dieu lui-même qui octroie à l'homme sa domination sur les autres créatures du ciel et de la terre :

Genèse, chapitre 1, verset 26 :

Dieu dit : "Faisons l'homme à notre image, selon notre ressemblance et qu'il soumette les poissons de la mer, les oiseaux du ciel, les bestiaux, toute la terre et toutes les petites bêtes qui remuent sur la terre"

Qu'il s'agisse de risques sanitaires ou de contraintes économiques, l'homme n'hésite pas à réaliser des abattages massifs d'animaux si ses intérêts sont menacés :

- abattage de tout le troupeau quand une vache est atteinte de l'encéphalopathie spongiforme,
- abattage des bovins lors de la récente épidémie de fièvre aphteuse en 2001,
- abattage massif des poulets atteints par la peste aviaire à HongKong, etc.

Il serait possible de citer d'innombrables exemples.

Le cas particuliers des xénotransfusions

Pour les XTFs, il n'est pas question de sacrifier l'animal mais de réaliser des prélèvements itératifs sans nuire à la santé de l'animal comme cela est déjà fait chez des chiens et des chats qui participent à la constitution de banque de sang vétérinaires. De la même façon, des bovins sont utilisés pour fournir de l'hémoglobine entrant dans la composition d'un soluté transporteur d'oxygène (Oxyglobin®, Hémopure®). Aux Etats-Unis, des chats sont élevés en vue de servir de source d'organes comme des reins pour des chats domestiques atteints d'insuffisance rénale (Adin 2002).

On pourrait aller jusqu'à considérer **le sang comme** une **denrée animale** au même titre que les œufs ou le lait, denrée dont le recueil est certes plus invasif mais moins que ne l'est celui de la viande ou du cuir.

En raison du coût économique qu'une telle procédure représente, il est certain que les soins apportés à ces animaux seront conséquents ; le bien être de ces porcs serait bien supérieur à celui des porcs élevés en porcherie pour leur viande. Cependant, il faut convenir que la vie de ces animaux ne correspond pas, loin s'en faut, à des conditions naturelles, mais peut-on parler désormais de conditions naturelles chez le porc qui, domestiqué depuis longtemps, ne vit plus à l'état sauvage ?

Le prélèvement de sang, bien qu'invasif, est peu douloureux ; cette douleur se ne se pose jamais en termes de problème crucial quand le donneur est humain. Si ce ne sont pas des porcs qui sont prélevés, ce sont des humains qui devront donner leur sang : est-ce plus acceptable ? Avec une source animale, les contraintes pour le donneur humain disparaîtront et il ne sera plus nécessaire de faire appel au civisme de la population.

Dans cette approche, même si le scientifique se déculpabilise de cette utilisation supplémentaire de porcs dans de "bonnes conditions" et pour une "bonne cause", la question éthique de l'animal-machine se pose encore réellement (Larrère 2005/2006). L'animal serait envisagé comme une machine à produire le maximum sang au lieu d'être une machine à produire le maximum de viande, à ceci près que la production de sang ne nécessite pas le sacrifice de l'animal.

* * *

La production de porcs pour les XTFs ne constituerait qu'une infime exploitation supplémentaire, peu douloureuse, pas plus importante que celle qu'impose la croissance démographique et doit donc être considérée comme éthiquement acceptable, faute de quoi, ce sont nos pratiques alimentaires qu'il faudrait remettre en question.

* * *

II. LE RISQUE INFECTIEUX ASSOCIE A LA XTF EST-IL ACCEPTABLE ?

Le risque infectieux est le principal obstacle éthique à la mise en place des XTs. En effet, la communauté scientifique craint que les PERV ne soient à l'origine d'une nouvelle épidémie mondiale comparable à celle du SIDA. Même si ce risque est théorique et jugé très faible, le principe de précaution qui s'applique ici (Hermitte 2007).

Le risque infectieux associé à la XTF a fait l'objet d'un développement particulier (Cf. supra). Rappelons en le résumé :

Le risque de développement de PERV étant considéré comme faible avec la XTs d'organes, dans un contexte où tout est propice à ce développement (contact prolongé, immunodépression, cellule vivante possédant un noyau), il devient **pratiquement nul** avec la XTF car la survie des pRBCs sera courte, le patient ne sera pas immunodéprimé et surtout les pRBCs sont dépourvues de noyau et d'organelles ce qui interdit toute synthèse de particules de PERV. Ainsi, la principale crainte vis-à-vis des XT ne s'applique pas à la XTF.

Cet obstacle éthique ne s'applique donc pas à la XTF, au contraire, la diminution du risque infectieux est un argument majeur en faveur du recours à une source animale.

Cependant, le principe de précaution impose une surveillance afin de dépister précocement une éventuelle infection émergente.

A. Prévention et surveillance du risque infectieux

1. Contrôle des porcs donneurs

La naissance et l'élevage de porcs EOPS, les prélèvements de sang, la procédure de XTF et le suivi des porcs devront faire l'objet d'une procédure définissant les lieux et les personnes concernées, et garantissant une **traçabilité**. Lors de XTF, aucun transport de l'animal ne sera nécessaire, ce qui limite encore le risque infectieux. La possibilité avec la XTF de **garder l'animal en vie** permet de suivre l'état de santé du donneur et de réagir s'il venait à déclarer une maladie potentiellement transmissible. C'est l'animal lui-même qui jouerait alors le rôle de sentinelle. À cette fin, nous suggérons de ne pas utiliser les animaux donneurs de sang comme donneurs d'organes, pratique qui imposerait un sacrifice.

En cas de polytransfusion, après avoir vérifié la compatibilité *in vitro*, l'utilisation du même donneur pourrait avoir lieu si celui-ci est toujours en vie ce qui facilitera la détection de l'origine d'une éventuelle infection du receveur.

2. Contrôle des humains receveurs

Chez le patient en état de grave insuffisance organique, le rapport risque infectieux - bénéfice de la XT est en faveur de la XT. Il n'en va pas de même pour la population générale car elle n'est pas directement bénéficiaire de la greffe et elle pourrait subir une nouvelle épidémie virale mondiale. Face à ce risque, d'anciens acteurs de la XT y sont désormais défavorables. Si la XT devait se pratiquer, les premiers candidats devront s'engager à accepter un suivi médical destiné à détecter toute maladie xénogène.

En raison du très faible risque infectieux associé au PERV chez les patients recevant une XTF, la surveillance envisagée pour les bénéficiaires d'une XT d'organes de tissus ou de cellules (Daar 1997) **n'a pas de raison de s'appliquer avec la même sévérité**. Des prélèvements réguliers avec archivage d'échantillons et l'interdiction de se soustraire au protocole de surveillance pourraient suffire. Il ne semble pas justifié d'inclure l'entourage ni de prolonger cette surveillance pendant des années ni d'imposer une autopsie à tous les patients bénéficiaires comme cela a été demandé pour les XTs. Nous suggérons que la XTF trouve d'abord son champ d'application chez des malades chroniques, régulièrement transfusés, qui feront de toute façon l'objet d'un suivi médical régulier et que les patients transfusés occasionnels reçoivent de préférence du sang autologue afin de ne pas être astreints à cette surveillance.

* * *

III. LE PASSAGE AUX ESSAIS CLINIQUES DE XTF EST-IL ACCEPTABLE ?

Il n'y a pas de barrière légale aux essais cliniques de XTs (Chae 1997). La loi n'interdit pas explicitement le recours aux XTs ou à la XTF mais elle établit des obligations préalables. C'est une acceptation implicite ou un moratoire de fait en l'absence d'autorisation.

A. Preuve du succès des XTF du porc au singe

À ce jour, les XTs d'organes n'ont pas fait la preuve d'un succès durable dans un modèle animal. Cette démonstration constitue pour certains un préalable aux essais cliniques chez l'homme (Cooper 2000) mais les études de survie à long terme sont exceptionnelles avec des XTs discordantes (Cozzi 2000; Loss 2000; Tseng 2005; Yamada 2005). De même, très peu de publications font état d'une survie supérieure à 3 mois chez des primates ayant reçu une ALLOtransplantation d'organe (Reitz 1980; Pennock 1981; Reitz 1981; Kawai 1995).

Une telle exigence ne s'impose pas pour les XTFs. La durée de vie des pRBCs est de 120 jours chez l'homme et 86 jours chez le porc (Feldman 2000; Thrall 2004). Un suivi à moyen terme des primates serait donc suffisant. Des essais cliniques de XTF du porc aux primates ont d'ailleurs déjà eu lieu (Dor 2004; Eckermann 2004; Rouhani 2004) ; de plus une partie de ces recherches peut être réalisée *in vitro* (Doucet 2004; Johnstone 2004). Contrairement à ce qui s'observe avec les organes, le pronostic vital des malades n'est pas engagé par la pénurie de sang. Ce n'est donc pas seulement une efficacité qu'il faudra démontrer mais une **innocuité** comparable à celle de l'ALLOtransfusion.

B. Scénario des premiers essais de XTs et XTFs

Un scénario logique pour la mise en application des XTs aurait été de sélectionner en premier les patients critiques, qui seraient amenés à mourir rapidement faute d'avoir reçu une greffe et qui ont peu d'espoir de bénéficier rapidement d'une allogreffe (ex: hépatites fulminante). Puis la XT pourrait concerner des patients qui supporteraient d'attendre un organe humain (ex: insuffisants rénaux sous dialyse) et enfin des patients en attente d'une amélioration de leur confort de vie (ex: patients diabétiques). Cette logique ne devrait cependant pas s'appliquer aux XTF. En effet, des contraintes immunologiques rendent complexe la XT d'organes vascularisés qui ne devrait donc pas avoir lieu avant plusieurs années voire plusieurs dizaines d'années. En revanche, la transgénèse et les techniques d'immuno-isolation rendent envisageable la tolérance pour des cellules xénogéniques. Ainsi, bien que la pénurie d'organes soit criante, **l'application clinique des XTs devrait d'abord concerner les cellules avant les organes.** Les premiers essais cliniques de XT concernent effectivement des xéngreffes cellulaires (Deschamps 2005). Les essais de XTF de sang de porc à des primates étant faciles à réaliser, les premiers essais cliniques à l'homme de XTF pourraient voir le jour peu de temps après la preuve de leur efficacité chez les primates.

C. Acceptabilité sociale de la XTF de sang de porc

Aux yeux du public, le porc n'est pas considéré comme un animal noble, comme le sont le cheval, le chien, le singe. L'homme (occidental) ne mange pas de singe ou de chien, très peu de cheval ; il mange volontiers le porc, le bœuf, le mouton. Aujourd'hui, le porc ne vit plus dans la nature ; sa principale raison d'être est la consommation humaine. L'exploitation du porc est donc déjà communément admise. L'utilisation médicale du porc est déjà acceptée par le public (valves, peau, insuline, ...). Une enquête menée par notre laboratoire en **France** en 1999 auprès de 377 patients diabétiques et 697 personnes de la population générale soulignaient la bonne acceptabilité de la XT en général (respectivement 64 % et 54 %), et montrait que le porc arrivait en tête des espèces souhaitées en tant que donneur d'îlots de Langerhans chez une population de patients diabétiques de type 1, acceptabilité supérieure à celle de la population générale (Deschamps 2000). Il est probable que cette acceptabilité supérieure chez les patients diabétiques soit due au fait que ces patients soient déjà habitués à utiliser l'insuline d'origine porcine et également qu'un patient malade soit plus enclin à accepter une nouvelle technique qu'un patient sain. Ce résultat laisse à penser que des patients malades nécessitant des transfusions répétées ou des familles de victimes en cas de catastrophes seraient naturellement plus favorables à accepter une XTF.

Nous avons réalisé une enquête sur l'acceptabilité sociale des xénotransplantations d'îlots de Langerhans chez des patients diabétiques de type 1 (Deschamps 2005).

(Article 4)

Cette étude montre que 52% des patients diabétiques seraient prêts à accepter la greffe d'îlots de porc. Les principales réticences sont le risque infectieux (55,5% des patients interrogés) et les risques que l'on ignore encore (48,7%). Après avoir été informés des risques d'infections et de cancers liés à l'immunosuppression, 74,9% des patients déclarent qu'ils refuseraient la XT. Même si elle ne concerne pas l'acceptabilité de cellules sanguines, cette étude suggère que l'information détermine la décision du patient.

La XTF de pRBCs étant associée à un risque extrêmement faible de transmission d'agents infectieux, l'acceptabilité de la population vis-à-vis de la XTF pourrait être forte, d'autant plus que les risques associés à la baisse de l'immunité disparaîtraient.

Il est possible que la XTF déculpabilise certains citoyens ne donnant pas son sang et les rende plus favorables à cette pratique.

Ainsi, même si l'acceptation sociale de la XTF n'a pas encore été évaluée, il est très probable qu'elle sera bonne.

* * *

IV. LA PRODUCTION DE PORCS TRANSGÉNIQUES POUR LA XTF EST-ELLE ACCEPTABLE ?

En raison de la nécessité de maîtriser le rejet hyperaigü à l'origine de la destruction rapide des pRBCs transfusées à l'homme, il est peu probable que la XTF devienne une réalité sans modifications génétiques des porcs donneurs. Autrement dit, **la XTF passera par la transgénèse des porcs donneurs ou ne se fera pas.**

À la différence de la XT d'organes, la XTF ne requiert pas la production de porcs transgéniques exprimant des molécules inhibant le complément comme le CD59 ou le Decay Accelerating Factor (DAF) car les pRBCs n'expriment pas les Swine Leucocytes Antigens (SLA) (Oostingh 2002).

En revanche, en raison de la présence chez l'homme d'Ac naturels dirigés contre l'épitope α Gal présents à la surface des pRBCs (Cf. supra), les porcs utilisés devront être knock-out pour les gènes exprimant cet épitope. De tels porcs sont aujourd'hui disponibles (Dai 2002; Lai 2002; Phelps 2003; Ezzelarab 2005; Milland 2005). Ils ont été développés en vue de recherches sur la XTs d'organes et de cellules mais sont également utilisables pour des travaux sur la XTF et éventuellement à terme comme donneurs de sang à grande échelle.

Cependant, l'absence de l'Ag α Gal ne suffit pas à prévenir complètement la destruction rapide des pRBCs chez des babouins ayant reçus de petits volumes de pRBCs provenant de porcs α Gal^{-/-} (Rouhani 2004). La présence de xénoantigènes non- α Gal comme l'acide N-glycolylneuraminique (NeuGc) (Zhu 2000; Zhu 2000; Wang 2002; Zhu 2002) imposera la production de porcs double knock-out, à la fois pour les gènes α Gal et NeuGc (Cooper 2003), même si l'on sait aujourd'hui que cela ne sera pas suffisant en raison de réactions cellulaires non encore maîtrisées.

Grâce à la transgénèse, il ne sera probablement pas nécessaire d'associer une immunodépression à la XTF, ainsi, les réticences à la XT en raison des effets secondaires associés à l'immunodépression (Deschamps 2005) ne s'appliquent pas à la XTF.

Une telle immunosuppression serait d'ailleurs éthiquement inacceptable dans la mesure où les ALLOtransfusions actuelles n'en requiert pas : cette immunosuppression ferait courir un risque supérieur aux bénéfices procurés par le recours à une source de sang animal.

Les opposants à la transgénèse considèrent la production de porcs "humanisés" comme éthiquement inacceptable. Ces opposants sont très actifs particulièrement concernant les OGM végétaux, mais nettement moins en ce qui concerne les animaux car ce développement est encore peu connu du grand public.

Selon la philosophe Ravelingien, il n'y a pas de solides raisons pour s'opposer à la transgénèse à fin de XT (Ravelingien 2004). Les partisans de la transgénèse énumèrent les arguments suivants :

- La nature se charge constamment de modifier le génome des différentes espèces animales ; ce phénomène est à l'origine de l'évolution.
- L'homme agit depuis longtemps sur le génome des animaux par l'intermédiaire des croisements. Il en résulte l'apparition de nouvelles races, voire la restauration de races disparues.
- Les quelques animaux concernés ne seraient pas intégrés au reste du cheptel, ce qui n'aurait donc pas d'influence sur l'ensemble du patrimoine génétique de l'espèce concernée (chose difficilement réalisable avec les végétaux).
- Les porcs transgéniques ne rentreraient pas dans la chaîne alimentaire.
- L'introduction ou la délétion de quelques gènes ne modifie pas intrinsèquement l'identité de l'animal.

La Commission Européenne s'est penchée la question éthique que soulevait la transgénèse associée aux XTs (Schroten 1996). Son rapport ne s'oppose pas à la création d'animaux transgéniques, mais ses recommandations sont on ne peut plus générales : "La modification génétique des animaux peut contribuer au bien-être de l'homme, mais elle n'est acceptable que lorsqu'elle est justifiée sur le plan éthique et qu'elle est réalisée dans des conditions éthiquement acceptables." Que veut dire "justifié sur le plan éthique" ; que signifient "des conditions éthiquement acceptables" ? L'éthique n'est pas l'opinion que se fait la population d'une pratique dont elle ignore l'essentiel. Il ne faut pas confondre "éthique" et "politiquement correct" ou "éthique" et "acceptation par le plus grand nombre". **On ne peut donc parler d'une "justification éthique" mais d'une nécessité médicale** et donc d'une justification "tout court". Les "conditions éthiquement acceptables" sont les conditions les moins mauvaises compte tenu de la nécessité.

* * *

V. LA XTF EST-ELLE UNE NECESSITE ?

A. La pénurie : un argument pour les organes, moins pour le sang

Toutes les publications au sujet des XTs commencent par souligner la pénurie d'organes et de tissus et la solution qui consisterait à recourir à une source animale. De la même façon, la justification de la XTF est souvent énoncée comme une réponse à la pénurie de sang. Il est vrai qu'il y a un besoin croissant de sang et un manque régulier (Nightingale 2003; Pitocco 2005) ; aux Etats-Unis en 1999, il y a un différentiel de 9,1% entre la demande et la fourniture de sang (Sullivan 2005). Mais la situation n'est pas aussi critique que pour les organes. Il n'y a pas de décès par manque de sang dans les pays industrialisés, ceux qui peuvent financer les transfusions. La stratégie d'épargne des produits sanguins mise en place après l'affaire du sang contaminé est efficace et des substituts sanguins sont en voie de développement (Cf. première partie). Il est possible d'inciter au don et ce don n'est pas dépendant de la mort d'un être humain comme l'est celui des ALLOtransplantations.

De manière plus anecdotique, dans une autre discipline médicale, la médecine vétérinaire, face à l'évolution spectaculaire et récente des soins intensifs pour animaux de compagnie, la pénurie de sang se fait parfois sentir, notamment dans l'espèce féline. Le chat est une espèce de petite taille, souvent infectée par des retrovirus, ne disposant que d'un volume sanguin de 60 ml/kg dont la collecte est difficile. Dans certains cas nécessitant une transfusion massive, il peut être utilisé jusqu'à 15 unités globulaires (Roux 2007), l'accès à de grandes quantités de sang xénogénique compatible palierait la pénurie.

(Article 5)

B. Un intérêt moins marqué pour la XTF que pour la XT d'organes

Pour les organes, outre la possibilité de disposer à volonté d'une quantité illimitée d'organes, le recours à une source animale a beaucoup d'autres avantages. Toutes les conditions de la greffe d'organes seraient améliorées : organes en excellent état, disponibles au moment souhaité, accessibles pour des patients moins gravement atteints ou des patients à mauvais pronostic, prélevés dans de bonnes conditions (pas dans l'urgence), compatibles avec la petite taille des enfants, etc. **Tous ces bénéfices ne s'appliquent pas à la XTF.** En raison d'une pénurie moins sévère, la nécessité de la XTF est moins évidente que celle de la XT d'organes mais le besoin en organes étant grandissant, les travaux dans le domaine de la XT devraient croître dans le futur : les progrès dans ce domaine donneront accès à un sang de porcs compatible avec l'espèce humaine. Les élevages de porcs seront une source importante de sang, disponible à la demande sans efforts supplémentaires majeurs.

La possibilité de disposer de sang animal pour la transfusion humaine n'est pas une absolue nécessité mais une réelle opportunité.

CONCLUSION SUR L'ETHIQUE DES XTFs

La plupart des obstacles éthiques qui freinent la XT ne s'appliquent pas à la XTF.

- Il est éthiquement plus acceptable d'élever des porcs pour prélever régulièrement leur sang que de les élever en vue de produire des organes. Cette exploitation est plus invasive que le prélèvement de denrées alimentaires d'origine animale comme le lait ou les œufs mais elle ne n'impose pas le sacrifice de l'animal.
- La transgénèse des porcs donneurs de sang est admissible car elle ne concerne qu'un nombre limité de gènes et n'entraîne pas de contraintes, de stress ou de souffrance pour l'animal. Ces animaux n'entreront jamais dans la chaîne alimentaire ce qui faciliterait probablement l'acceptation sociale de cette pratique. En dispensant le patient receveur d'immunosuppression, elle limite les effets secondaires habituellement associés à cette immunosuppression.
- Le risque infectieux associé à la XTF est acceptable car très faible compte tenu de la facilité à maîtriser les agents infectieux conventionnels par le contrôle des porcs donneurs EOPS. La crainte majeure lors de XT de voir se développer un rétrovirus porcin ne s'applique pas à la XTF car les hématies sont dépourvues de génome et leur durée de vie est très limitée.
- Des essais cliniques chez l'homme seront envisageables quand la preuve de l'efficacité et de l'innocuité de la XTF aura été établie chez des primates. Les patients receveurs devront s'astreindre à une surveillance minimum, très inférieure à celle requise lors de XT conventionnelle. Cependant, l'acceptabilité sociale de la XTF mériterait d'être évaluée.

Parce que la pénurie est moins grande et qu'il existe des alternatives de substitution, la XTF est une nécessité moins criante que la XT d'organes, de tissus ou de cellules. Mais les développements de la XT imposés par la pénurie d'organes constituent une opportunité de développer une nouvelle source de sang, inépuisable et associée à moins de complications infectieuses que l'ALLOtransfusion.

* * *

Deuxième Partie

PUBLICATIONS

Article 1

XENOTRANSFUSIONS, PAST AND PRESENT

Françoise Roux, Pierre Sai, Jack-Yves Deschamps

Xenotransplantation 2007: 14: 208–216

Facteur d'Impact en 2005 = 2,437

LES XENOTRANSFUSIONS, PASSE ET PRESENT

Les premières expériences de xénotransplantations ont concerné les xénotransfusions de sang animal à l'homme. Malgré les échecs constants des xénotransplantations, la XTF quant à elle fut pratiquée jusqu'au début du XXe siècle avec une apparente efficacité. La découverte des groupes sanguins par Landsteiner en 1900 a conduit à l'abandon de cette pratique. La pénurie d'organes humains pour les allotransplantations a conduit, à la fin du XXe siècle, au développement de la xénotransplantation. Ces avancées peuvent désormais s'appliquer à la transfusion sanguine bien que celle-ci soit moins concernée par la pénurie du don. Cet article se propose de décrire la totalité des expériences passées de xénotransfusions et d'exposer le contexte de la renaissance de cette pratique en soulignant les développements récents.

METHODE DE TRAVAIL

Nous n'avons abordé que les tentatives de xénotransfusion à l'homme.

Pour chaque tentative, nous avons exposé, dans cet ordre :

- L'année de sa réalisation (ou de sa publication),
- Le prénom et le nom du médecin,
- La ville et le pays où l'événement s'est produit,
- L'espèce animale d'origine,
- Le sexe et l'âge du patient,
- La maladie dont le patient souffrait,
- Le devenir du patient quand celui-ci était connu.

DONNEES ET SOURCES

L'étude historique que constitue le présent article n'a pas de précédent dans la littérature. Elle se base sur des données prises à la source, rédigées par les expérimentateurs eux-mêmes, dont beaucoup sont en français, la France étant, aux XVIII et au XIX^e siècles, le pays le plus moderne en terme de progrès scientifique et médical.

Ces sources primaires émanent pour la plupart de la Bibliothèque Nationale et sont rédigées en français, raisons pour laquelle elles ne sont pas exploitées dans la littérature anglo-saxonne, d'où le caractère inédit de ce travail.

En revanche, la médecine moderne concerne essentiellement les pays occidentaux, notamment l'Amérique du Nord d'où émane la totalité des rares études récentes sur la xénotransfusion. L'équipe de David Cooper, rédacteur en chef de la revue Xénotransplantation, est à l'origine de la quasi-totalité des publications sur ce sujet.

A notre connaissance, aucun laboratoire européen ne travaille sur cette thématique. Il existe une publication chinoise, malheureusement rédigée en caractères chinois.

Article 2

HISTORY OF XENOTRANSPLANTATION

Jack-Yves Deschamps, Françoise Roux, Pierre Sai, Edouard Guin

Xenotransplantation, 2005; 12: 91–109

Facteur d'Impact en 2005 = 2,437

HISTOIRE DE LA XENOTRANPLANTATION

Alors que les xénotransplantations deviennent une préoccupation médicale de première importance, aucun travail de synthèse ne passe en revue les expériences passées. C'est ce que propose cet article dont l'objectif principal est de replacer les questions éthiques dans leur contexte historique, ainsi que de situer dans quel contexte s'est effectuée la xénotransfusion.

METHODE DE TRAVAIL

Nous n'avons abordé que les tentatives de xénotransplantation à l'homme.

Pour chaque tentative, nous avons exposé, dans cet ordre :

- L'année de sa réalisation (ou de sa publication),
- Le prénom et le nom du chirurgien,
- La ville et le pays où l'événement s'est produit,
- L'organe greffé,
- L'espèce animale d'origine,
- Le sexe et l'âge du patient,
- La maladie dont le patient souffrait,
- Le résultat en termes de survie.

Les xénoperfusions de foie n'ont pas fait l'objet d'un développement car une étude récente et exhaustive de Pascher (2002) existe déjà sur ce sujet.

DONNEES ET SOURCES

Chaque description est étayée par une référence bibliographique, émanant le plus souvent du chirurgien lui-même.

Trois tentatives n'ont pu être corroborées par nos recherches :

- Les greffes de peau de Boronio en 1804,
- Les greffes de joues d' Houzé de l'Aulnoit en 1875, et
- La greffe de rein Schonstadt en 1913.

Ces trois descriptions ont été rapportées par Kuss. Nous n'avons pas trouvé les sources originales mais avons fait confiance au sérieux de ce pionnier de la transplantation.

- Concernant Houzé de l'Aulnoit (appelé Houze d'Aulois par Kuss), la bibliothèque Universitaire de Médecine de Paris V possède plusieurs de ses ouvrages, mais aucun dont le titre porte sur les greffes.

- Concernant Schönstadt, la bibliographie de Morel fait référence à un article de Schönstadt "Transplantation hétéroplastique du rein ", publié par la Société de médecine berlinoise le 5 fév. 1913, mais aucune bibliothèque française ne possède cette publication.

Concernant les xénoperfusions de rate pratiquées en Russie, nous nous sommes contentées de la citation de Julvez. Julvez cite Calamai en 1970 et Motin en 1971 (publié par Dubernard en 1974) dans les expériences de xénotransplantations hépatiques, et Goldschmidt en 1965 pour deux transplantations rénales, mais nous n'avons pas trouvé de références publiées par ces auteurs.

Les prénoms de Schonstadt, M. Pouyet et Ph. Bérard restent inconnus malgré nos recherches et bien que deux d'entre eux soient français.

Le prénom de Princeteau est incertain : un Dr Laurent R. Princeteau a soutenu sa thèse en 1884 à Bordeaux ("Essai sur quelques anomalies viscérales et artérielles chez l'homme") et a exercé comme chirurgien dans la même ville par la suite. La Bibliothèque Inter-Universitaire de Médecine (BIUM) possède une liste de ses titres et travaux mais seulement jusqu'en 1892. Les autres Princeteau qui figurent dans le catalogue ancien de la BIUM ne semblent pas pouvoir correspondre.

Pour Pouyet et Bérard, leurs prénoms ne sont jamais cités en entier, mais dans l'article indiqué, il est écrit "Bérard Ph ", donc sans doute Philippe.

ORTHOGRAPHE

Le terme "heterotrophic" a parfois été utilisé par des auteurs. Nous l'avons remplacé par celui de "heterotopic" plus conforme à l'étymologie de ce mot.

"Susrata" s'écrit également "Sushruta".

"Voronoff" s'écrit souvent "Voronoy" en anglais

"Cyclosporin" s'écrit indifféremment "ciclosporin". Nous l'avons écrit comme son découvreur dans la publication princeps, même si l'orthographe actuelle est plus souvent ciclosporine.

DIVERGENCES

Léger relate la transplantation hétérotopique d'un foie de babouin dans deux publications parues la même année. Dans l'une la patiente a 23 ans, dans l'autre elle aurait 26 ans !

Denis et Emmeretz sont à l'origine de la première transfusion documentée mais il semblerait que des Italiens, Colle de Belluno et Francesco Folli les aient précédé, respectivement en 1628 à Padoue et en 1654 en Toscane. Nous n'avons pas trouvé de références incontestables sur ces événements.

Après Rodriguez Umana, nous corrigeons l'erreur qui consiste à attribuer à Job van Meeneren la première greffe d'os.

REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont à Mme Estelle LAMBERT de la Bibliothèque InterUniversitaire de Médecine de Paris pour ses recherches pertinentes.

* * *

Article 3

SOME ETHICAL ISSUES REGARDING XENOTRANSFUSION

Françoise Roux, Pierre Sai, Jack-Yves Deschamps

Xenotransplantation 2007: 14: 217–221

Facteur d'Impact en 2005 = 2,437

ASPECTS ETHIQUES DE LA XENOTRANSFUSION

Les aspects éthiques de la xénoTransplantation constituent le deuxième obstacle à franchir avant que celle-ci ne devienne une pratique courante, le premier étant la maîtrise des phénomènes de rejet. La possibilité d'une épidémie rétrovirale par recombinaison génétique constitue, pour beaucoup de scientifiques, un risque suffisamment significatif pour que soit imposé un moratoire sur cette pratique.

La **XTF** bénéficie aujourd'hui des avancées de la XT mais n'est pas associée aux mêmes risques. En effet, en l'absence de noyau dans les hématies, le risque rétroviral ne se pose pas. En outre, de nombreuses caractéristiques de la XTF limitent les objections faites à l'encontre de la XT d'organes.

Cet article se propose d'examiner les aspects éthiques de la XTF en les comparant à ceux de la XT. Il s'agit du premier article sur ce sujet.

Nous examinons successivement :

- l'acceptabilité d'un animal comme source de sang,
- l'acceptabilité du risque infectieux,
- l'acceptabilité de la production de porcs transgéniques,
- la nécessité de la xénotransfusion.

Notre travail montre que les barrières éthiques de la XT ne s'appliquent pas ou s'appliquent à moindre mesure à la XTF. Ainsi, les obstacles immunologiques constituent aujourd'hui le dernier pas à franchir avant le passage aux essais cliniques.

Article 4

RELUCTANCE OF FRENCH PATIENTS WITH TYPE 1 DIABETES TO UNDERGO PIG PANCREATIC ISLET XENOTRANSPLANTATION

Jack-Yves Deschamps, Françoise Roux, Edouard Gouin, Pierre Sai

Xenotransplantation, 2005: 12: 175–180

Facteur d'Impact en 2005 = 2,437

RETICENCE A LA XENOTRANSPLANTATION D'ILOTS DE PANCREAS DE PORC CHEZ DES PATIENTS DIABETIQUES DE TYPE 1

Une enquête menée en France en 1999 par notre équipe évaluait et comparait l'acceptabilité de la XT chez des patients diabétiques et dans la population générale. Cette première enquête s'attachait surtout à établir l'acceptabilité du porc comme donneur potentiel. Ce travail en est le prolongement ; il expose les résultats d'une deuxième enquête visant à **préciser les réticences vis-à-vis des risques liés la XT chez des patients diabétiques de type 1.**

À l'aide d'un **questionnaire**, nous avons réalisé une enquête sur les réticences vis-à-vis de la XT auprès de 214 patients diabétiques de type 1.

Nous avons **deux objectifs** principaux :

- Le premier objectif était d'identifier et de classer par ordre d'importance les **réticences** de patients malades vis-à-vis de la XT. Apparaissent ainsi les éléments qui mériteraient une communication particulière si les XTs devaient être proposés à des patients.
- Le deuxième objectif était d'apprécier l'acceptabilité de la XT **avant et après** que les risques qui lui sont associés sont connus.

DISCUSSION

Bien que portant sur un échantillon moins élevé de sujets, cette seconde enquête apporte des compléments d'information importants et inédits.

L'acceptabilité apparente de la XT de notre précédente enquête et de toutes les enquêtes publiées est appréciée sans que les risques qui lui sont associés soient connus des personnes sondées.

Pour la première fois, au sein de la même enquête, nous constatons :

1. Que les patients sont beaucoup plus réticents à accepter la XT quand ils sont informés des risques.
2. Et surtout que les réticences l'emportent sur les bénéfices attendus : ces patients préféreraient renoncer à la XT plutôt que de prendre ces risques.

De tels résultats montrent que l'acceptabilité de la XT ne peut s'évaluer sans une information détaillée. Obtenir l'acceptation d'une population sur un sujet dont elle ignore l'essentiel reviendrait à recueillir un "**consentement non-éclairé**" ce qui va à l'encontre d'un principe désormais fondamental de la médecine.

Les réticences évoquées ne devraient pas s'appliquer dans les mêmes mesures aux xénotransfusions car il n'y aurait pas de nécessité d'immunosuppression pour recevoir une XTF. De plus le risque infectieux est bien moindre que celui associé aux XT car les hématies n'ont pas de noyaux. Face aux craintes de la population devant la transmission du virus du SIDA en allotransfusion, il se pourrait même que la population juge la XTF plus sécuritaire. En revanche, les réticences liées aux risques que l'on ne connaît pas devraient demeurer.

* * *

Article 5

MULTIPLE RED CELL TRANSFUSIONS IN CATS : 27 CASES (2003-2006)

Françoise Roux, Jack-Yves Deschamps, Marie-Claude Blais, Diane Welsh,
Armelle DeLaforcade-Buress, Elizabeth Rozanski

Journal of Feline Medicine and Surgery, 2007, in Press

Facteur d'Impact en 2006 = 1,402

TRANSFUSION MULTIPLE D'HEMATIES CHEZ 27 CHATS

En marge de ce travail de thèse, nous avons réalisé une étude vétérinaire sur les transfusions massives chez le chat.

Bien qu'anecdotiques en Médecine Vétérinaire comparés à la Médecine Humaine, les besoins en sang constituent parfois une préoccupation en réanimation et soins intensifs des animaux de compagnie.

La pénurie se révèle plus importante chez le chat, espèce de petite taille chez laquelle le volume sanguin est moins important que dans les autres espèces (60 ml/kg comparé à 80 ml/kg chez le porc ou l'homme) et dont la collecte est plus difficile : le chat est souvent peu docile et le don nécessite une anesthésie générale ou une sédation poussée.

Notre étude, réalisée à l'Université vétérinaire de Tufts, USA, s'est intéressée aux chats nécessitant plus de 2 transfusions sanguines lors d'un même séjour à l'hôpital. Elle a montré que 27 chats ont reçu 110 transfusions avec un maximum de 15 transfusions. Pendant la même période, 386 chats recevaient 568 transfusions. Ainsi pour les cas critiques nécessitant une réanimation poussée, 7% des chats transfusés ont consommé 19% du sang administré sur la même période. Certains chats ont reçu de l'hémoglobine purifiée, faute de donneurs compatibles.

Cette étude vétérinaire souligne l'intérêt que pourrait avoir l'accès à une source quasi-illimitée de sang compatible quand les besoins sont massifs.

* * *

CONCLUSION

Conclusion

L'histoire de la XTF n'est pas jonchée d'échecs aussi nombreux et quasi constants que celle de la XT d'organes. Au contraire, il a fallu longtemps avant d'établir la supériorité du sang humain sur le sang animal. La transgénèse ouvre de nouvelles perspectives : la possibilité d'humaniser les porcs amenuise les différences entre le sang animal et le sang humain, et laisse entrevoir une renaissance de la XTF.

La XTF n'en est encore qu'à ses balbutiements puisqu'elle ne fut reconsidérée qu'en 2000 par Alex Zhu. Seules de rares équipes de recherche travaillent sur ce projet. La XTF est tributaire des avancées en XT, avancées stimulées par le besoin croissant en organes. En raison d'obstacles techniques, infectieux et éthiques bien moins importants et de la facilité de réaliser des essais pré-cliniques chez des primates, la XTF pourrait être la première application clinique à grande échelle des XTs.

Mais avant cela, il reste à vaincre la pierre d'achoppement que constitue la réaction cellulaire, à créer à grande échelle des élevages de porcs transgéniques destinés à cet objectif et à faire accepter cette pratique au grand public.

* * *

Liste des Figures

Figure 1 : Décès liés à la transfusion de patients chirurgicaux sur une période de huit ans, données de l'Hémovigilance française : 1995- 2002. Extrait de Auroy (Auroy 2007)

Figure 2 : Diminution du risque de transmission du HIV, des virus de l'Hépatite B et C, Extrait de Busch (Busch 2003).

Figure 3 : Coûts comparés de la préparation d'une unité de sang avec ou sans leucoréduction Extrait de Sime (Sime 2005)

Figure 4 : Jean-Baptiste Denis (c1635-1704)

Figure 5 : Médecin transfusant du sang d'un agneau à un homme issu de *Grosser und gantz neugewundener Lorbeer-Krantz oder Wund-Artzney* (1692), p. 285, by Matthias Gottfried Purmann (Purmann 1692)

Figure 6 : Deux médecins transfusant du sang de chien à un homme, issu de *Armamentarium chirurgicum* (1671), Pl. 11, p. 28 by Johannes Scultetus (Scultetus 1671)

Figure 7 : La page de titre des planches anatomiques de Pietro da Cortona (1596-1669) publié en 1741 montre un homme recevant le sang d'un mouton (da Cortona 1741)

Figure 8 : Un homme recevant le sang d'un veau ou d'une chèvre, issu de *Tractatio medico curiosa de ortu et occasu transfusionis sanguinis* (1679) de Georges Abraham Mercklin (Mercklin 1679), gravé par Cornelius Nicolaus Sehurk

Figure 9 : Transfusion de sang d'agneau, à une femme par Hasse, Petersburg (1874)

Figure 10 : James Hardy

Figure 11 : Baby Fae

Figure 12 : Thomas Starzl

Liste des Tables

Table 1 : Complications non-infectieuses IMMEDIATES liées à la transfusion sanguine. Extrait de Eder (Eder 2007)

Table 2 : Complications non-infectieuses RETARDEES liées à la transfusion sanguine. Extrait de Eder (Eder 2007)

Table 3 : Organismes isolés de cellules sanguines impliquées dans les infections transmises par la transfusion. Extrait de Brecher (Brecher 2005)

Table 4 : Critères d'exclusion des donneurs aux Etats-Unis en 2007. Extrait de Riley (Riley 2007)

Table 5 : Taux d'inactivation des Virus par le traitement des cellules rouges au PEN 110. Extrait de Bryant (Bryant 2007)

Table 6 : Inactivation des virus et agents microbiens pathogènes des cellules rouges par les colorants photosensibles "flexibles". Extrait de Bryan (Bryant 2007).

Table 7 : Comparaison du coût de préparation par unité sanguine de sang allogénique et autologue. Extrait de (Shander 2007)

Table 8 : Estimation du coût des complications liées à la transfusion. Extrait de Shander (Shander 2007)

Table 9 : Caractéristiques physico-chimiques et état actuel du développement des HBOC. Extrait de Pape (Pape 2007)

Table 10 : Avantages du porc comme donneur de sang potentiel d'après Cooper (Cooper 2000)

Table 11 : Nombre de greffes pratiquées entre 1905 et 1997 d'après Julvez (Julvez 2000)

REFERENCES

REFERENCES

- Abouna, G. M. (1996).** "Ex vivo xenogeneic liver perfusion for hepatic failure." Xenotransplantation **4**(6): 102-6.
- Abouna, G. M., J. R. Kirkley, et al. (1969).** "Treatment of hepatic coma by extra-corporeal pig liver perfusion." Lancet **1**: 64-8.
- Abuchowski, A., T. van Es, et al. (1977).** "Alteration of immunological properties of bovine serum albumin by covalent attachment of polyethylene glycol." J Biol Chem **252**(11): 3578-81.
- Adin, C. A. (2002).** "Screening criteria for feline renal transplant recipients and donors." Clin Tech Small Anim Pract **17**(4): 184-9.
- Aebischer, P., E. Buchser, et al. (1994).** "Transplantation in humans of encapsulated xenogeneic cells without immunosuppression. A preliminary report." Transplantation **58**(11): 1275-7.
- Aebischer, P., M. Schluep, et al. (1996).** "Intrathecal delivery of CNTF using encapsulated genetically modified xenogeneic cells in amyotrophic lateral sclerosis patients." Nature Medicine **2**(6): 696-9.
- Alayash, A. I. (1999).** "Hemoglobin-based blood substitutes: oxygen carriers, pressor agents, or oxidants?" Nat Biotechnol **17**(6): 545-9.
- Albini, G. (1872).** "Relazione sulla trasfusione diretta di sangue d'agnello praticata due volte in una signora." Rend. Accad. delle Scienze, Naples.
- Arundell, M. A. and I. F. C. McKenzie (1997).** "The acceptability of pig organ xenografts to patients awaiting a transplant." Xenotransplantation **4**: 62-66.
- AuBuchon, J. P. and M. S. Kruskall (1997).** "Transfusion safety: realigning efforts with risks." Transfusion **37**(11-12): 1211-6.
- AuBuchon, J. P., C. A. Pickard, et al. (2002).** "Production of pathogen-inactivated RBC concentrates using PEN110 chemistry: a Phase I clinical study." Transfusion **42**(2): 146-52.
- Auchincloss, H. (1988).** "Xenogeneic transplantation. A review." Transplantation **46**(1): 1-20.
- Augier, F., E. Salf, et al. (1996).** "Le Docteur Samuel Serge Voronoff (1866-1951) ou la quête de l'éternelle jeunesse [Doctor Samuel Serge Voronoff (1866-1951) or the quest for eternal youth]." Hist Sci Med **30**(2): 163-71.
- Auroy, Y., A. Lienhart, et al. (2007).** "Complications related to blood transfusion in surgical patients: data from the French national survey on anesthesia-related deaths." Transfusion **47**(2 Suppl): 184S-189S; discussion 201S.
- Azimzadeh, A., A. Meyer, et al. (1998).** "Removal of primate xenoreactive natural antibodies by extracorporeal perfusion of pig kidneys and liver." Transplant Immunology **6**(1): 13-22.
- Bach, F. H. and H. V. Fineberg (1998).** "Call for moratorium on xenotransplants." Nature **391**(6665): 326.

- Bailey, L. L. and S. L. Nehlsen-Cannarella (1986).** "Observations on cardiac xenotransplantation." Transplant Proc **18**(3 Suppl 2): 88-92.
- Bailey, L. L., S. L. Nehlsen-Cannarella, et al. (1985).** "Baboon-to-human cardiac xenotransplantation in a neonate." JAMA **254**(23): 3321-9.
- Barnard, C. N. (1967).** "The operation. A human cardiac transplant: an interim report of a successful operation performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town." S Afr Med J **41**(48): 1271-4.
- Barnard, C. N., A. Wolpowitz, et al. (1977).** "Heterotopic cardiac transplantation with a xenograft for assistance of the left heart in cardiogenic shock after cardiopulmonary bypass." S Afr Med J **52**(26): 1035-8.
- Basker, M., I. P. Alwayn, et al. (2001).** "Clearance of mobilized porcine peripheral blood progenitor cells is delayed by depletion of the phagocytic reticuloendothelial system in baboons." Transplantation **72**(7): 1278-85.
- Bedi, R., S. Basu, et al. (2005).** "Transfusion medicine illustrated. Visual inspection of blood units, a necessary practice at blood centers." Transfusion **45**(4): 459.
- Bengtsson, A., C. T. Svalander, et al. (1998).** "Extracorporeal ("ex vivo") connection of pig kidneys to humans. III. Studies of plasma complement activation and complement deposition in the kidney tissue." Xenotransplantation **5**(3): 176-83.
- Benjamin, R. J., J. McCullough, et al. (2005).** "Therapeutic efficacy and safety of red blood cells treated with a chemical process (S-303) for pathogen inactivation: a Phase III clinical trial in cardiac surgery patients." Transfusion **45**(11): 1739-49.
- Bennett, J., S. Haynes, et al. (2006).** "Acute normovolemic hemodilution in moderate blood loss surgery: a randomized controlled trial." Transfusion **46**(7): 1097-103.
- Bentham, J. (1776).** A fragment on government. Cambridge [England] ; New York, Cambridge University Press.
- Bertoye, A., P. Marion, et al. (1969).** "Essais de traitement de certaines insuffisances hépatiques graves aiguës par greffe hépatique temporaire hétérotropique hétérologue (foie de babouin) [Experiments for the treatment of various severe acute hepatic insufficiencies by temporary heterotopic heterologous liver graft (baboon liver)]." Lyon Med **222**(33): 347-74.
- Bertrand, L., C. Romieu, et al. (1968).** "L'assistance hépatique à l'homme par perfusion de foie de porc. Possibilités et limites dans l'insuffisance hépatique aiguë [Hepatic assist to man by pig liver perfusion. Possibilities and limitations in acute liver failure]." Presse Med **76**(52): 2459-62.
- Bhandari, M. and A. Tewari (1997).** "Is transplantation only 100 years old?" Br J Urol **79**(4): 495-8.
- Blajchman, M. A. and M. Goldman (2001).** "Bacterial contamination of platelet concentrates: incidence, significance, and prevention." Semin Hematol **38**(4 Suppl 11): 20-6.
- Blanken, W. M. and D. H. Van den Eijnden (1985).** "Biosynthesis of terminal Gal alpha 1--3Gal beta 1---4GlcNAc-R oligosaccharide sequences on glycoconjugates. Purification and acceptor specificity of a UDP-Gal:N-acetyllactosaminide alpha 1---3-galactosyltransferase from calf thymus." J Biol Chem **260**(24): 12927-34.
- Blundell, J. (1825).** Researches physiological and pathological. London.

- Blundell, J. (1829).** "Successful case of transfusion." Lancet **1**: 431-432, 3 Jan.
- Bordet, J. (1903).** "Sur le mode d'action des autitoxines sur les toxines." Annales de l'Institut Pasteur **17**: 161-186.
- Borel, J. F., C. Feurer, et al. (1976).** "Biological effects of cyclosporine A: a new antilymphocyte agent." Agents Actions **6**(4): 468-75.
- Bosch, X. (2001).** "Vatican approves use of animal transplants 'to benefit humans'." Nature **413**(6855): 445.
- Boyden, S. V. (1964).** "Natural antibodies and the immune response." Advances in Immunology **5**: 1-28.
- Brecher, M. E. and S. N. Hay (2005).** "Bacterial contamination of blood components." Clin Microbiol Rev **18**(1): 195-204.
- Brecher, M. E., P. V. Holland, et al. (2000).** "Growth of bacteria in inoculated platelets: implications for bacteria detection and the extension of platelet storage." Transfusion **40**(11): 1308-12.
- Breimer, M. E., S. Björck, et al. (1996).** "Extracorporeal ("ex vivo") connection of pig kidneys to humans. I. Clinical data and studies of platelet destruction." Xenotransplantation **3**: 328-39.
- Brown, J., A. L. Matthews, et al. (1998).** "Xenotransplantation and the risk of retroviral zoonosis." Trends Microbiol **6**(10): 411-5.
- Brown-Séguard, A. (1889).** "Des effets produits chez l'homme par des injections sous-cutanées d'un liquide retiré de testicules frais de cobaye et de chien [On the effects produced in man by subcutaneous injections of a liquid extracted from fresh testicles of guinea pig and dog]." C. R. Soc. Biol. Paris **I**(25): 415-9.
- Bruneau, C., P. Perez, et al. (2001).** "Efficacy of a new collection procedure for preventing bacterial contamination of whole-blood donations." Transfusion **41**(1): 74-81.
- Bryant, B. J. and H. G. Klein (2007).** "Pathogen inactivation: the definitive safeguard for the blood supply." Arch Pathol Lab Med **131**(5): 719-33.
- Bryson, G. L., A. Laupacis, et al. (1998).** "Does acute normovolemic hemodilution reduce perioperative allogeneic transfusion? A meta-analysis. The International Study of Perioperative Transfusion." Anesth Analg **86**(1): 9-15.
- Busch, M. (2001).** Closing the windows on viral transmission by blood transfusion. Blood Safety in the New Millennium: AABB 2000 Emily Cooley Seminar Book, AABB Press: 33-54.
- Busch, M., M. Chamberland, et al. (1999).** "Oversight and monitoring of blood safety in the United States." Vox Sang **77**(2): 67-76.
- Busch, M. P., S. H. Kleinman, et al. (2003).** "Current and emerging infectious risks of blood transfusions." Jama **289**(8): 959-62.
- Byrne, G. W., K. R. McCurry, et al. (1997).** "Transgenic pigs expressing human CD59 and decay-accelerating factor produce an intrinsic barrier to complement-mediated damage." Transplantation **63**(1): 149-55.
- Calne, R. Y. (1970).** "Organ transplantation between widely disparate species." Transplantation Proceedings **2**(4): 550-6.

- Calne, R. Y., H. J. White, et al. (1968).** "Pig-to-baboon liver xenografts." Lancet **1**(7553): 1176-8.
- Cannon, M. J., S. C. Dollard, et al. (2001).** "Blood-borne and sexual transmission of human herpesvirus 8 in women with or at risk for human immunodeficiency virus infection." N Engl J Med **344**(9): 637-43.
- Caplan, A. L. (1992).** "Is xenografting morally wrong?" Transplant Proc **24**(2): 722-7.
- Carless, P., A. Moxey, et al. (2004).** "Autologous transfusion techniques: a systematic review of their efficacy." Transfus Med **14**(2): 123-44.
- Cazenave, J. P. (2007).** "[Bacterial contamination: should it be detected or inactivated?]." Transfus Clin Biol **14**(1): 81-5.
- Chadwick, R. and U. Schüklend (1998).** "Organ Transplants and donors." **3**(Encyclopedia of applied Ethics, New-York, Academic press): 394.
- Chae, S. J. and D. K. Cooper (1997).** "Legal implications of xenotransplantation." Xenotransplantation **4**: 132-9.
- Chamberland, M. E. (2002).** "Emerging infectious agents: do they pose a risk to the safety of transfused blood and blood products?" Clin Infect Dis **34**(6): 797-805.
- Chambers, R. W., H. T. Foley, et al. (1969).** "Transmission of syphilis by fresh blood components." Transfusion **9**(1): 32-4.
- Champsaur, F. (1929).** Nora, la guenon devenue femme [Nora, the female ape who became a woman], Ferenczi et fils, Paris.
- Chapman, L. E., T. M. Folks, et al. (1995).** "Xenotransplantation and xenogeneic infections." N Engl J Med **333**(22): 1498-501.
- Chari, R. S., B. H. Collins, et al. (1994).** "Brief report: treatment of hepatic failure with ex vivo pig-liver perfusion followed by liver transplantation." N Engl J Med **331**(4): 234-7.
- Chen, C. G., N. Fisicaro, et al. (1996).** "Reduction in Gal- α 1,3-gal epitope expression in transgenic mice expressing human H-transferase." Xenotransplantation **3**: 69-75.
- Cheng, D. C., C. D. Mazer, et al. (2004).** "A phase II dose-response study of hemoglobin raffimer (Hemolink) in elective coronary artery bypass surgery." J Thorac Cardiovasc Surg **127**(1): 79-86.
- Chun, T. Y., S. Martin, et al. (1997).** "Preoperative recombinant human erythropoietin injection versus preoperative autologous blood donation in patients undergoing radical retropubic prostatectomy." Urology **50**(5): 727-32.
- Clemenceau, B., D. Jegou, et al. (2001).** "Long-term follow-up failed to detect in vitro transmission of full-length porcine endogenous retroviruses from specific pathogen-free pig islets to human cells." Diabetologia **44**(11): 2044-55.
- Clemenceau, B., D. Jegou, et al. (2002).** "Microchimerism and transmission of porcine endogenous retrovirus from a pig cell line or specific pathogen-free pig islets to mouse tissues and human cells during xenografts in nude mice." Diabetologia **45**(6): 914-23.
- Collectif (1999).** "Les xénogreffes." Dictionnaire permanent Bioéthique et Biotechnologies(Bulletin 82 (12 octobre 1999)): 7959-86.

- Collectif (2006).** "Practice guidelines for perioperative blood transfusion and adjuvant therapies: an updated report by the American Society of Anesthesiologists Task Force on Perioperative Blood Transfusion and Adjuvant Therapies." Anesthesiology **105**(1): 198-208.
- Cooley, D. A., G. L. Hallman, et al. (1968).** "Human heart transplantation. Experience with twelve cases." Am J Cardiol **22**: 804-10.
- Cooper, D. K. (2003).** "Porcine red blood cells as a source of blood transfusion in humans." Xenotransplantation **10**(5): 384-6.
- Cooper, D. K., P. A. Human, et al. (1988).** "Effects of cyclosporine and antibody adsorption on pig cardiac xenograft survival in the baboon." Journal of Heart and Lung Transplantation **7**(3): 238-246.
- Cooper, D. K., A. M. Keogh, et al. (2000).** "Report of the Xenotransplantation Advisory Committee of the International Society for Heart and Lung Transplantation: the present status of xenotransplantation and its potential role in the treatment of end-stage cardiac and pulmonary diseases." J Heart Lung Transplant **19**(12): 1125-65.
- Cooper, D. K. C. and R. P. Lanza (2000).** "Xeno - The promise of transplanting animal organs into humans." (New York: Oxford University Press).
- Cooper, D. K. C., P. Ye, et al. (1991).** "The pig as potential organ donor for man." 481-500.
- Corash, L. (2001).** "Helinx technology for inactivation of infectious pathogens and leukocytes in labile blood components: from theory to clinical application." Transfus Apher Sci **25**(3): 179-81.
- Corash, L. (2001).** "Inactivation of infectious pathogens in labile blood components: meeting the challenge." Transfus Clin Biol **8**(3): 138-45.
- Cortesini, R., C. Casciani, et al. (1969).** Heterotransplantation in primates: current state of affairs. Infection and Immunosuppression in Subhuman Primates. Copenhagen, Balner, H. ed.: 239-48.
- Costa, C., L. Zhao, et al. (1999).** "Expression of the human alpha1,2-fucosyltransferase in transgenic pigs modifies the cell surface carbohydrate phenotype and confers resistance to human serum-mediated cytolysis." Faseb J **13**(13): 1762-73.
- Costa, C., L. Zhao, et al. (2002).** "Transgenic pigs designed to express human CD59 and H-transferase to avoid humoral xenograft rejection." Xenotransplantation **9**(1): 45-57.
- Couret, A. (1981).** Animaux, Recueil Dalloz Sirey, 25è cahier, Jurisprudence.
- Cowan, E. P., E. Tabor, et al. (1998).** "Studies to address reports of human T-lymphotropic virus type I tax sequences in US blood donors." Transfusion **38**(8): 800-1.
- Cozzi, E., F. Bhatti, et al. (2000).** "Long-term survival of nonhuman primates receiving life-supporting transgenic porcine kidney xenografts." Transplantation **70**(1): 15-21.
- Cremieux, P. Y., B. Barrett, et al. (2000).** "Cost of outpatient blood transfusion in cancer patients." J Clin Oncol **18**(14): 2755-61.
- Custer, B., A. Chinn, et al. (2007).** "The consequences of temporary deferral on future whole blood donation." Transfusion **47**(8): 1514-23.
- Czaplicki, J., B. Blonska, et al. (1992).** "The lack of hyperacute xenogeneic heart transplant rejection in a human." J Heart Lung Transplant **11**(2 Pt 1): 393-7.

- da Cortona, P. (1741).** Tabulae anatomae e celeberrimo pictore Petro Berrettino Cortonensi delineatae [The anatomical plates]. Rome.
- Daar, A. S. (1997).** "Ethics of xenotransplantation: animal issues, consent, and likely transformation of transplant ethics." World J Surg **21**(9): 975-82.
- Dai, B., L. Wang, et al. (2004).** "Continuous and discontinuous cell-washing autotransfusion systems." J Cardiothorac Vasc Anesth **18**(2): 210-7.
- Dai, Y., T. D. Vaught, et al. (2002).** "Targeted disruption of the alpha1,3-galactosyltransferase gene in cloned pigs." Nat Biotechnol **20**(3): 251-5.
- Danic, B. (2003).** "[Clinical selection of blood donors]." Transfusion clinique et biologique **10**(3): 227-33.
- Daniels, L. J. and J. L. Platt (1997).** "Hyperacute xenograft rejection as an immunologic barrier to xenotransplantation." Kidney Int Suppl **35**: 58s28-35.
- Dartigues, L. (1925).** La greffe de revitalisation humaine [Transplantation for human revitalization], Gaston Doin éditeur, Paris.
- Davis, R. (1994).** Back to the future: The past and projected future use of heterologous blood for human transfusion. Actas del XXXIII Congreso Internacional de Historia de la Medicina de Granada-Sevilla. Sociedad Española de Historia de la Medicina, 1-6 sept 1992.
- Dawson, D. (1999).** "Origin of AIDS discovered." STEP Perspect **99**(1): 8.
- de la Martinière, P. M. (1667).** L'ombre d'Apollon, découvrant les abus de cette prétendue manière de guérir les maladies par la transfusion du sang.
- de la Martinière, P. M. (1668).** Les Sentimens d'un vray médecin, faisant voir les inutilitez et cruautéz de la transfusion du sang. Le 14 avril 1668.
- De Vito Dabbs, A., J. H. Dauber, et al. (2000).** "Rejection after organ transplantation: a historical review." Am J Crit Care **9**(6): 419-29.
- Deacon, T., J. Schumacher, et al. (1997).** "Histological evidence of fetal pig neural cell survival after transplantation into a patient with Parkinson's disease." Nat Med **3**(3): 350-3.
- Dedolph, F. (1882).** Transfusion in a case of hemophilia. Transactions of the Minnesota State Medical Society, 14th Annual Meeting, St. Paul : Pioneer Book and Job Printing Co.
- Denis, J. B. (1667).** A letter concerning a new way of curing sundry diseases by transfusion of blood, written to Monsieur de Montmor [Retracted version]. Philosophical transactions. **2**: 489-504.
- Denis, J. B. (1667).** An extract of another letter, printed at Paris, touching a late cure of an inveterate phrenzy by the transfusion of blood. Monday, February 10. 1667. Philosophical transactions. **2**: 617-623.
- Denis, J. B. (1667).** An extract of letter to M.*** touching the transfusion of blood, of April 2, 1667. Philosophical transactions. **2**: 453.
- Denis, J. B. (1667).** Copie d'une lettre écrite à Monsieur de Montmor touchant une nouvelle manière de guérir plusieurs maladies par la transfusion du sang, confirmée par deux expériences faites sur des hommes. Le 15 juin 1667. Paris, Jean Cusson.

- Denis, J. B. (1667).** "Extrait d'une lettre de Monsieur Denis à M.*** touchant la transfusion du sang. De Paris ce 9 mars 1667." Journal des savants du Lundi 14 mars 1667: 69-72.
- Denis, J. B. (1667).** "Extrait d'une lettre de Monsieur Denis à M.*** touchant la transfusion du sang. Du 2 avril 1776." Journal des savants du Lundi 21 mars 1667: 96.
- Denis, J. B. (1668). An extract of a printed letter touching the differences risen about the transfusion of blood. April 17, 1668, in Paris. Philosophical transactions. **3**: 710-715.
- Denis, J. B. (1668).** "An extract of the sentence given at the Chatelet, by the Lieutenant in Criminal causes, April 17, 1668 in Paris." Philosophical transactions: 713-715.
- Denis, J. B. (1668).** Lettre écrite à M. Sorbière touchant l'origine de la transfusion du sang et la manière de la pratiquer sur les hommes avec le récit d'une cure faite depuis peu sur une personne paralytique. Le 2 mars 1668. Paris, Jean Cusson.
- Denis, J. B. (1668).** Lettre écrite à Monsieur **** touchant une folie invétérée qui a été guérie depuis peu par la transfusion du sang, le 12 janvier 1668. Paris, Jean Cusson.
- Denis, J. B. (1668).** Lettre écrite à Monsieur Oldenburg touchant les différents qui sont arrivés à l'occasion de la transfusion du sang.
- Denis, J. B. (1668).** Sentence rendue au Chastelet par Monsieur le lieutenant criminel le 17 avril 1668, le 15 mai 1668. Paris, Jean Cusson.
- des Gabets, R. (1668).** Discours de la communication ou transfusion du sang prononcé à Paris chez Monsieur de Montmor par Dom Robert des Gabets en Juillet 1658. Paris, J. Cusson.
- Deschamps, J. Y., L. Chaillous, et al. (2000).** "Acceptability of pig xenografts by patients with type 1 diabetes and the general population." Diabetes Care **23**(3): 412-4.
- Deschamps, J. Y., F. A. Roux, et al. (2005).** "Reluctance of French patients with type 1 diabetes to undergo pig pancreatic islet xenotransplantation." Xenotransplantation **12**(3): 175-80.
- Deschamps, J. Y., F. A. Roux, et al. (2005).** "History of xenotransplantation." Xenotransplantation **12**(2): 91-109.
- Dodd, R. Y. and M. P. Busch (2002).** "Animal models of bovine spongiform encephalopathy and vCJD infectivity in blood: two swallows do not a summer make." Transfusion **42**(5): 509-12.
- Doolittle, R. F. (1989).** "Immunodeficiency viruses: the simian-human connection." Nature **339**(6223): 338-9.
- Dor, F. J., F. J. Rouhani, et al. (2004).** "Transfusion of pig red blood cells into baboons." Xenotransplantation **11**(3): 295-7.
- Dor, F. J., F. J. Rouhani, et al. (2005).** "In Reply to: Porcine red blood cells express a polyagglutinable red blood cell phenotype." Transfusion **45**(6): 1036-7.
- Doucet, J., Z. H. Gao, et al. (2004).** "Modification of xenoantigens on porcine erythrocytes for xenotransfusion." Surgery **135**(2): 178-86.
- Douglas, J. D. (1970).** "Suitability and availability of chimpanzees as organ donors for man." Transplantation Proceedings **2**: 539.
- Duvivier, V., S. Darquy, et al. (1998).** "Long-term culture of free or encapsulated islets isolated from specific pathogen-free (SPF) pigs." Diabetes Metab **24**(6): 517-22.

- Eckermann, J. M., L. H. Buhler, et al. (2004).** "Initial investigation of the potential of modified porcine erythrocytes for transfusion in primates." Xenotransplantation **11**(1): 18-26.
- Eder, A. F. and L. A. Chambers (2007).** "Noninfectious complications of blood transfusion." Arch Pathol Lab Med **131**(5): 708-18.
- Eiseman, B., D. S. Liem, et al. (1965).** "Heterologous liver perfusion in treatment of hepatic failure." Ann Surg **162**: 329-45.
- Elgood, C. (1966).** Safavid surgery. Analecta Medicao-Historica. Oxford, Pergamon Press: 62.
- Engels, E. M. (1998).** "Ethical Problems of Cross-Species Transplantation (Xenotransplantation)." Biomedical Ethics **3**(1): ??
- Ersek, R. A. and D. R. Denton (1983).** "Silver-impregnated porcine xenograft for damaged or missing skin." Contemp Surg **23**(4): 83-90, 93.
- Ezzelarab, M., D. Ayares, et al. (2005).** "Carbohydrates in xenotransplantation." Immunol Cell Biol **83**(4): 396-404.
- Ezzelarab, M. and D. K. Cooper (2005).** "Reducing Gal expression on the pig organ - a retrospective review." Xenotransplantation **12**(4): 278-85.
- Farr, A. D. (1980).** "The first human blood transfusion." Med Hist **24**(2): 143-62.
- Feldman, B. F., J. G. Zinkl, et al. (2000).** Schalm's veterinary hematology. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins.
- Fink, J. S., J. M. Schumacher, et al. (2000).** "Porcine xenografts in Parkinson's disease and Huntington's disease patients: preliminary results." Cell Transplant **9**(2): 273-8.
- First, M. R. (1997).** "Xenotransplantation: social, ethical, religious, and political issues." Kidney Int Suppl **7**: 58s46-7.
- Fisk, J. M. and E. L. Snyder (2005).** "Universal pre-storage leukoreduction--A defensible use of hospital resources: the Yale-New Haven Hospital experience." Dev Biol (Basel) **120**: 39-44.
- Forbes, J. M., M. D. Anderson, et al. (1991).** "Blood transfusion costs: a multicenter study." Transfusion **31**(4): 318-23.
- Fox, M. A. (1986).** "The case for animal experimentation. An evolutionary and ethical perspective." (Berkeley, University of California Press).
- France, J. L., C. R. France, et al. (2007).** "A path analysis of intention to redonate among experienced blood donors: an extension of the theory of planned behavior." Transfusion **47**(6): 1006-13.
- Fricker, J. (1996).** "Baboon xenotransplant fails but patient improves." Lancet **347**(8999): 457.
- Galili, U. (2001).** "The alpha-gal epitope (Gal alpha 1-3Gal beta 1-4GlcNAc-R) in xenotransplantation." Biochimie **83**(7): 557-63.
- Galili, U., J. Buehler, et al. (1987).** "The human natural anti-Gal IgG. III. The subtlety of immune tolerance in man as demonstrated by crossreactivity between natural anti-Gal and anti-B antibodies." J Exp Med **165**(3): 693-704.

- Galili, U., M. R. Clark, et al. (1987).** "Evolutionary relationship between the natural anti-Gal antibody and the Gal α 1-3Gal epitope in primates." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **84**(5): 1369-1373.
- Galili, U., B. A. Macher, et al. (1985).** "Human natural anti-alpha-galactosyl IgG. II. The specific recognition of a alpha(1-3)-linked galactose residues." Journal of Experimental Medicine **162**: 573-582.
- Galili, U., S. B. Shohet, et al. (1988).** "Man, apes, and Old World monkeys differ from other mammals in the expression of alpha-galactosyl epitopes on nucleated cells." J Biol Chem **263**(33): 17755-62.
- Galili, U. and K. Swanson (1991).** "Gene sequences suggest inactivation of alpha-1,3-galactosyltransferase in catarrhines after the divergence of apes from monkeys." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **88**: 7401-7404.
- Gao, F., E. Bailes, et al. (1999).** "Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes troglodytes*." Nature **397**(6718): 436-41.
- Garrioch, M. A., J. H. McClure, et al. (1999).** "Haemodynamic effects of diaspirin cross-linked haemoglobin (DCLHb) given before abdominal aortic aneurysm surgery." Br J Anaesth **83**(5): 702-7.
- Gasmi, M., M. D'Incan, et al. (1997).** "Transfusion transmission of human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) from an asymptomatic blood donor: conservation of LTR U3, env, and tax nucleotide sequences in a recipient with HTLV-I-associated myelopathy." Transfusion **37**(1): 60-4.
- Gautreau, C., J. Cardoso, et al. (1994).** "Human natural cytotoxic antibodies recognize cross-reactive antigens on pig endothelial cells and pig red blood cells." Transplant Proc **26**(3): 1397.
- Gesellius, F. (1873).** Die Transfusion des Blutes. Eine historische, kritische und physiologische Studie. Saint Petersburg / Leipzig, Hoppe / Wagner.
- Giles, G. R., H. J. Boehmig, et al. (1970).** "Clinical heterotransplantation of the liver." Transplant Proc **2**(4): 506-12.
- Giunta, S. and G. Groppa (1987).** "The primate trade and the origin of AIDS viruses." Nature **329**(6134): 22.
- Gohel, M. S., R. A. Bulbulia, et al. (2005).** "How to approach major surgery where patients refuse blood transfusion (including Jehovah's Witnesses)." Ann R Coll Surg Engl **87**(1): 3-14.
- Goldman, M., G. Roy, et al. (1997).** "Evaluation of donor skin disinfection methods." Transfusion **37**(3): 309-12.
- Goldstein, J., G. Siviglia, et al. (1982).** "Group B erythrocytes enzymatically converted to group O survive normally in A, B, and O individuals." Science **215**(4529): 168-70.
- Goldwyn, R. M. (1977).** "History of the attempts to form a vagina." Plast Reconstr Surg **59**: 319.
- Good, A. H., D. K. Cooper, et al. (1992).** "Identification of carbohydrate structures that bind human antiporcine antibodies: implications for discordant xenografting in humans." Transplant Proc **24**(2): 559-62.

- Goodnough, L. T., R. W. Soegiarso, et al. (1993).** "Economic impact of inappropriate blood transfusions in coronary artery bypass graft surgery." *Am J Med* **94**(5): 509-14.
- Gorer, P. A., J. F. Loutit, et al. (1961).** "Proposed revisions of transplantes." *Nature* **189**: 1024.
- Gouin, E., A. S. Rivereau, et al. (1998).** "Perifusion analysis of insulin secretion from specific pathogen-free large-white pig islets shows satisfactory functional characteristics for xenografts in humans." *Diabetes Metab* **24**(3): 208-14.
- Gould, S. A., E. E. Moore, et al. (2002).** "The life-sustaining capacity of human polymerized hemoglobin when red cells might be unavailable." *J Am Coll Surg* **195**(4): 445-52; discussion 452-5.
- Gradle, H. (1874).** "Two cases of direct transfusion from animals to man." *Medical Examiner* **15**: 294-5.
- Greenburg, A. G. and H. W. Kim (2004).** "Hemoglobin-based oxygen carriers." *Crit Care* **8 Suppl 2**: S61-4.
- Gregori, L., N. McCombie, et al. (2004).** "Effectiveness of leucoreduction for removal of infectivity of transmissible spongiform encephalopathies from blood." *Lancet* **364**(9433): 529-31.
- Groth, C. G. (1998).** "Xenotransplantation. The viral issue." *Lancet* **352 Suppl 4**: SIV26.
- Groth, C. G., O. Korsgren, et al. (1994).** "Transplantation of porcine fetal pancreas to diabetic patients." *Lancet* **344**(8934): 1402-4.
- Habler, O. and K. Messmer (1997).** "[Methods for reduction of homologous blood transfusions in operative medicine]." *Anaesthesist* **46**(11): 915-26.
- Habler, O., A. Pape, et al. (2005).** "[Artificial oxygen carriers as an alternative to red blood cell transfusion]." *Anaesthesist* **54**(8): 741-54.
- Habler, O., K. Schwenger, et al. (2004).** "Effects of standardized acute normovolemic hemodilution on intraoperative allogeneic blood transfusion in patients undergoing major maxillofacial surgery." *Int J Oral Maxillofac Surg* **33**(5): 467-75.
- Habler, O. P., M. S. Kleen, et al. (1998).** "Hemodilution and intravenous perflubron emulsion as an alternative to blood transfusion: effects on tissue oxygenation during profound hemodilution in anesthetized dogs." *Transfusion* **38**(2): 145-55.
- Haeseker, B. (1991).** "Van Meekeren and his account of the transplant of bone from a dog into the skull of a soldier." *Plast Reconstr Surg* **88**(1): 173-4.
- Hammer, C. (1994).** "Fundamental problems of xenotransplantation." *Pathologie Biologie* **42**(3): 203-207.
- Hammer, C. (1998).** "Physiological obstacles after xenotransplantation." *Ann N Y Acad Sci* **30**: 86219-27.
- Hannon, J. P., C. A. Bossone, et al. (1985).** "Splenic red cell sequestration and blood volume measurements in conscious pigs." *Am J Physiol* **248**(3 Pt 2): R293-301.
- Hansen, E., V. Bechmann, et al. (2002).** "Intraoperative blood salvage in cancer surgery: safe and effective?" *Transfus Apher Sci* **27**(2): 153-7.
- Hardy, J. D., C. M. Chavez, et al. (1964).** "Heart transplantation in man: developmental studies and report of a case." *JAMA* **188**: 1132-40.

- Hasse, O. (1874).** Die Lammblood-Transfusion beim Menschen - Erste Reihe : 31 eigene Transfusionen umfassend. Saint Petersburg, Edouard Hoppe.
- Hayem, G. (1882).** Leçons sur les modifications du sang sous l'influence des agents médicamenteux et des pratiques thérapeutiques. Paris, G. Masson.
- Hayes, J. K., T. H. Stanley, et al. (2001).** "A double-blind study to evaluate the safety of recombinant human hemoglobin in surgical patients during general anesthesia." J Cardiothorac Vasc Anesth **15**(5): 593-602.
- Hebert, P. C., G. Wells, et al. (1999).** "A multicenter, randomized, controlled clinical trial of transfusion requirements in critical care. Transfusion Requirements in Critical Care Investigators, Canadian Critical Care Trials Group." N Engl J Med **340**(6): 409-17.
- Heneine, W., A. Tibell, et al. (1998).** "No evidence of infection with porcine endogenous retrovirus in recipients of porcine islet-cell xenografts." Lancet **352**(9129): 695-699.
- Hermitte, M. (2007).** "Relire l'ordre juridique à la lumière du principe de précaution." Recueil Dalloz(22): 1518-1522.
- Hitchcock, C. R., J. C. Kiser, et al. (1964).** "Baboon renal grafts." JAMA **189**: 934-7.
- Hoffmann, B. (2000).** "Pig-to-man blood transfusion - May be just the start." New York Post, Monday 18 December.
- Hohenhaus, A. E. (2002).** "Oxyglobin: a transfusion solution?" J Vet Intern Med **16**(4): 394-5.
- Hooper, E. (2000).** "Search for the origin of HIV and AIDS." Science **289**(5482): 1140-1.
- Hottois, G. and J.-N. Missa (2001).** "Nouvelle encyclopédie de bioéthique." (Editions De Boeck Université, Bruxelles): 748.
- Hubbard, L. L. (1987).** "The Baby Fae case." Med Law **6**(5): 385-96.
- Huet, C., L. R. Salmi, et al. (1999).** "A meta-analysis of the effectiveness of cell salvage to minimize perioperative allogeneic blood transfusion in cardiac and orthopedic surgery. International Study of Perioperative Transfusion (ISPOT) Investigators." Anesth Analg **89**(4): 861-9.
- Hughes, G. S., Jr., E. J. Antal, et al. (1996).** "Physiology and pharmacokinetics of a novel hemoglobin-based oxygen carrier in humans." Crit Care Med **24**(5): 756-64.
- Hume, D. M. (1964).** "Discussion of Reemtsma paper." Ann Surg **160**: 409-10.
- Ildstad, S. T. (1996).** "Xenotransplantation for AIDS." Lancet **347**(9003): 761.
- Jaboulay, M. (1906).** "[Kidney grafts in the antecubital fossa by arterial and venous anastomosis] Greffe de reins au pli du coude par soudures artérielles et veineuses." Lyon Med **107**: 575-7.
- Jacobs, M. R., E. Palavecino, et al. (2001).** "Don't bug me: the problem of bacterial contamination of blood components--challenges and solutions." Transfusion **41**(11): 1331-4.
- Jahr, J. S., V. Walker, et al. (2007).** "Blood substitutes as pharmacotherapies in clinical practice." Curr Opin Anaesthesiol **20**(4): 325-30.
- Jayaraman, K. S. (1997).** "Pig heart transplant surgeon held in jail." Nature **385**(6615): 378.

- Jeong, S. T. and S. M. Byun (1996).** "Decreased agglutinability of methoxy-polyethylene glycol attached red blood cells: significance as a blood substitute." Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol **24**(5): 503-11.
- Johnstone, J. E., L. A. MacLaren, et al. (2004).** "In vitro studies regarding the feasibility of bovine erythrocyte xenotransfusion." Xenotransplantation **11**(1): 11-7.
- Joziase, D. H. and R. Oriol (1999).** "Xenotransplantation: the importance of the Gal α 1,3Gal epitope in hyperacute vascular rejection." Biochim Biophys Acta **1455**(2-3): 403-18.
- Julvez, J. (1998).** Historique des xénogreffes dans le monde [History of xenografts in world]. In Aspects scientifiques et culturels des xénogreffes. [Scientific and cultural aspects of xenografts]. in Aspects scientifiques et culturels des xénogreffes [Scientific and cultural aspects of xenografts], Paris.
- Julvez, J., P. Tuppin, et al. (2000).** "Enquête "population et xénogreffe". Résultats préliminaires. ["Population and xenograft" investigation. Preliminary results]." Pathol Biol (Paris) **48**(4): 415-8.
- Julvez, J. and P. Vannier (2000).** "Risques et gestion des risques liés aux xénogreffes. [Risk and risk management connected with xenograft]." Pathol Biol (Paris) **48**(4): 399-403.
- Kaeffer, B., E. Bottraeau, et al. (1990).** "Histocompatible miniature boar model: selection of transformed cell lines of B and T lineages producing retrovirus." International Journal of Cancer **46**: 481-488.
- Kalter, S. S. and R. L. Heberling (1990).** "Primate viral diseases in perspective." J Med Primatol **19**(6): 519-35.
- Kaplon, R. J., R. E. Michler, et al. (1995).** "Absence of hyperacute rejection in newborn pig-to-baboon cardiac xenografts." Transplantation **59**(1): 1-6.
- Karger, R. and V. Kretschmer (2005).** "Modern concepts of autologous haemotherapy." Transfus Apher Sci **32**(2): 185-96.
- Kasper, S. M., M. Walter, et al. (1996).** "Effects of a hemoglobin-based oxygen carrier (HBOC-201) on hemodynamics and oxygen transport in patients undergoing preoperative hemodilution for elective abdominal aortic surgery." Anesth Analg **83**(5): 921-7.
- Kawai, T., A. B. Cosimi, et al. (1995).** "Mixed allogeneic chimerism and renal allograft tolerance in cynomolgus monkeys." Transplantation **59**(2): 256-62.
- Keating, E. M. and J. B. Meding (2002).** "Perioperative blood management practices in elective orthopaedic surgery." J Am Acad Orthop Surg **10**(6): 393-400.
- Keys, T. E. (1973).** "Dr Paul Bert (1833-1886)." Anesth Analg **52**(3): 437-8.
- King, E. (1667).** "An account of the experiment of transfusion practised upon a man in London." Philosophical transactions **2**: 557-559.
- Kissmeyer-Nielsen, F., S. Olsen, et al. (1966).** "Hyperacute rejection of kidney allografts, associated with pre-existing humoral antibodies against donor cells." Lancet **ii**: 662-665.
- Klein, H. G. (2000).** "Will blood transfusion ever be safe enough?" Jama **284**(2): 238-40.
- Kleinman, S. (2001).** "Hepatitis G virus biology, epidemiology, and clinical manifestations: Implications for blood safety." Transfus Med Rev **15**(3): 201-12.

- Krailadsiri, P., J. Seghatchian, et al. (2006).** "The effects of leukodepletion on the generation and removal of microvesicles and prion protein in blood components." Transfusion **46**(3): 407-17.
- Kroshus, T. J., R. M. Bolman, et al. (1996).** "Expression of human CD59 in transgenic pig organs enhances organ survival in an ex vivo xenogeneic perfusion model." Transplantation **61**(10): 1513-21.
- Kuehnert, M. J., V. R. Roth, et al. (2001).** "Transfusion-transmitted bacterial infection in the United States, 1998 through 2000." Transfusion **41**(12): 1493-9.
- Kunori, T., M. Mimori, et al. (1992).** "How many human B-cells are spontaneously producing antibodies against animal cells?" Transplant Proc **24**(2): 448.
- Kushner, T. and R. Belliotti (1985).** "Baby Fae: a beastly business." J Med Ethics **11**(4): 178-83.
- Kuss, R. and P. Bourget (1992).** Une histoire illustrée de la greffe d'organes. La grande aventure du siècle. [An illustrated history of organ transplantation: The great adventure of the century]. Rueil-Malmaison, France, Laboratoires Sandoz.
- Kuwaki, K., C. Knosalla, et al. (2004).** "Suppression of natural and elicited antibodies in pig-to-baboon heart transplantation using a human anti-human CD154 mAb-based regimen." Am J Transplant **4**(3): 363-72.
- Lai, L., D. Kolber-Simonds, et al. (2002).** "Production of alpha-1,3-galactosyltransferase knockout pigs by nuclear transfer cloning." Science **295**(5557): 1089-92.
- Lamy, G. (1667).** Lettre écrite à Monsieur Moreau dans laquelle il confirme les raisons qu'il avait apportées dans sa première lettre contre la transfusion du sang en répondant aux objections qu'on lui a faites. Le 26 août 1667. Paris, Jean Delaunay.
- Lamy, G. (1667).** Lettre écrite à Monsieur Moreau contre les prétendues utilités de la transfusion du sang pour la guérison des maladies, avec la réponses aux raisons et expériences de Monsieur Denys. Le 8 juillet 1667. Paris, Jean Delaunay.
- Lamy, G. (1668).** Lettre écrite à Monsieur Moreau dans laquelle est décrite la mort du fou prétendu guéry par la transfusion. Paris, Pierre Le Monnier.
- Lamy, M. L., E. K. Daily, et al. (2000).** "Randomized trial of diaspirin cross-linked hemoglobin solution as an alternative to blood transfusion after cardiac surgery. The DCLHb Cardiac Surgery Trial Collaborative Group." Anesthesiology **92**(3): 646-56.
- Lancet, T. (2005).** "Blood supply and demand." Lancet **365**(9478): 2151.
- Landois, L. (1875).** Die Transfusion des Blutes. Leipzig, Vogel.
- Landsteiner, K. (1900).** "Zur Kenntniss der antifermentativen lytischen und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe." Zentralblatt für Bakteriologie **28**: 357-362.
- Larrère, C. and L. R. (2005/2006).** Actualités de l'animal-machine. Les Temps Modernes: 143-163.
- Latinne, D., M. Soares, et al. (1994).** "Depletion of IgM xenoreactive natural antibodies by injection of anti- μ monoclonal antibodies." Immunological Reviews **141**: 95-125.
- LaVecchio, J. A., A. D. Dunne, et al. (1995).** "Enzymatic removal of alpha-galactosyl epitopes from porcine endothelial cells diminishes the cytotoxic effect of natural antibodies." Transplantation **60**(8): 841-7.

- Lazo, A., J. Tassello, et al. (2002).** "Broad-spectrum virus reduction in red cell concentrates using INACTINE PEN110 chemistry." *Vox Sang* **83**(4): 313-23.
- Lee, D. (2006).** "Perception of blood transfusion risk." *Transfus Med Rev* **20**(2): 141-8.
- Leger, L., Y. Chapuis, et al. (1970).** "Transplantation hétérotropique d'un foie de babouin à un patient atteint d'hépatite fulminante [Heterotopic transplantation of a baboon liver to a patient with fulminating hepatitis]." *Chirurgie* **96**(3): 249-51.
- Leger, L., Y. Chapuis, et al. (1969).** "Traitement du coma hépatique par épuration dans un foie hétérologue [Treatment of hepatic coma by purification in a heterologous liver]." *J Chir (Paris)* **97**(2): 161-75.
- Leger, L., Y. Chapuis, et al. (1970).** "Transplantation hétérotropique d'un foie de babouin à l'homme [Heterotopic transplantation of a baboon liver to man]." *Presse Med* **78**(9): 429-30.
- Leib-Mosch, C., R. Brack-Werner, et al. (1990).** "Endogenous retroviral elements in human DNA." *Cancer Res* **50**(17 Suppl): 5636S-5642S.
- Leiby, D. A., E. J. Read, et al. (1997).** "Seroepidemiology of *Trypanosoma cruzi*, etiologic agent of Chagas' disease, in US blood donors." *J Infect Dis* **176**(4): 1047-52.
- Leventhal, J. R., A. P. Dalmasso, et al. (1993).** "Prolongation of cardiac xenograft survival by depletion of complement." *Transplantation* **55**(4): 857-866.
- Lexer, G., D. K. C. Cooper, et al. (1986).** "Hyperacute rejection in a discordant (pig to baboon) cardiac xenograft model." *Journal of Heart Transplantation* **5**: 411-418.
- Llewelyn, C. A., P. E. Hewitt, et al. (2004).** "Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion." *Lancet* **363**(9407): 417-21.
- Loss, M., M. Przemek, et al. (2000).** "Long-term survival of cynomolgus monkeys following pig-to-primate kidney xenotransplantation using h-DAF transgenic donor organs." *Transplant Proc* **32**(5): 1095-6.
- Lower, R. (1666).** "The method observed in transfusing the blood out of one live animal into another. Monday December 17, 1666." *Philosophical transactions* **1**: 353-358.
- Lower, R. (1669).** *Tractatus de corde*. London.
- Luo, Y., J. Wen, et al. (1999).** "Pig xenogeneic antigen modification with green coffee bean alpha-galactosidase." *Xenotransplantation* **6**(4): 238-48.
- MacLaren, L., T. D. Lee, et al. (1998).** "Variation in porcine red blood cell alpha-galactosyl expression and agglutination by human serum." *Transplant Proc* **30**(5): 2468.
- MacLaren, L. A., C. M. Riggs, et al. (2002).** "Evaluating porcine RBC and platelet alpha-galactosyl expression." *Transfusion* **42**(9): 1184-8.
- Madjdpour, C., V. Heindl, et al. (2006).** "Risks, benefits, alternatives and indications of allogenic blood transfusions." *Minerva Anesthesiol* **72**(5): 283-98.
- Makowka, L., D. V. Cramer, et al. (1995).** "The use of a pig liver xenograft for temporary support of a patient with fulminant hepatic failure." *Transplantation* **59**: 1654-9.
- Makowka, L., D. V. Cramer, et al. (1993).** "Pig liver xenografts as a temporary bridge for human allografting." *Xeno* **1**(2): 27-9.

- Margulis, M. S., E. A. Erukhimov, et al. (1989).** "Temporary organ substitution by hemo-perfusion through suspension of active donor hepatocytes in a total complex of intensive therapy in patients with acute hepatic insufficiency." Resuscitation **18**(1): 85-94.
- Marion, P. (1969).** "Les transplantations cardiaques et les transplantations hépatiques [Heart transplantations and liver transplantations]." Lyon Med **222**: 585-607.
- Martin, C. E. (1970).** "John Hunter and tissue transplantation." Surg Gynecol Obstet **131**(2): 306-10.
- Martin, J., E. Herniou, et al. (1999).** "Interclass transmission and phyletic host tracking in murine leukemia virus-related retroviruses." J Virol **73**(3): 2442-9.
- Martin, U., V. Kiessig, et al. (1998).** "Expression of pig endogenous retrovirus by primary porcine endothelial cells and infection of human cells." Lancet **352**(9129): 692-694.
- Matot, I., O. Scheinin, et al. (2002).** "Effectiveness of acute normovolemic hemodilution to minimize allogeneic blood transfusion in major liver resections." Anesthesiology **97**(4): 794-800.
- Matsumura, K. N., G. R. Guevara, et al. (1987).** "Hybrid bioartificial liver in hepatic failure: preliminary clinical report." Surgery **101**(1): 99-103.
- McCarthy, L. J. (2007).** "How do I manage a blood shortage in a transfusion service?" Transfusion **47**(5): 760-2.
- McCurry, K. R., D. L. Kooyman, et al. (1995).** "Human complement regulatory proteins protect swine-to-primate cardiac xenografts from humoral injury." Nat Med **1**(5): 423-7.
- McDonald, C. P., P. Lowe, et al. (2001).** "Evaluation of donor arm disinfection techniques." Vox Sang **80**(3): 135-41.
- McDonald, C. P., S. Pearce, et al. (2005).** "Pall eBDS: an enhanced bacterial detection system for screening platelet concentrates." Transfus Med **15**(4): 259-68.
- McMorrow, I. M., C. A. Comrack, et al. (1997).** "Relationship between ABO blood group and levels of Gal alpha,3Galactose-reactive human immunoglobulin G." Transplantation **64**(3): 546-9.
- Mercklin, G. A. (1679).** Tractatio medico curiosa de ortu et occasu transfusionis sanguinis (engraving by Cornelius Nicolaus Sehurk), Nuremberg : Johann Zieger.
- Messmer, K. and L. Sunder-Plassmann (1974).** "Hemodilution." Prog Surg **13**: 208-45.
- Michaels, M. G., R. Lanford, et al. (1996).** "Lack of susceptibility of baboons to infection with hepatitis B virus." Transplantation **61**(3): 350-1.
- Michaels, M. G. and R. L. Simmons (1994).** "Xenotransplant-associated zoonoses. Strategies for prevention." Transplantation **57**(1): 1-7.
- Milland, J., D. Christiansen, et al. (2005).** "Alpha 1,3-galactosyltransferase knockout pigs are available for xenotransplantation: are glycosyltransferases still relevant?" Immunol Cell Biol **83**(6): 687-93.
- Montgomery, S. P., J. A. Brown, et al. (2006).** "Transfusion-associated transmission of West Nile virus, United States 2003 through 2005." Transfusion **46**(12): 2038-46.
- Moore, E. E. (2003).** "Blood substitutes: the future is now." J Am Coll Surg **196**(1): 1-17.
- Moore, P. (2003).** Blood and Justice. Chichester, England, John Wiley @ sons, Ltd.

- Morel, L. and E. Papin (1913).** "Les applications physiologiques et chirurgicales des transplantations rénales [The physiological and surgical applications of kidney transplantations]." Biologie Médicale **11**(10): 397-413.
- Mortimer, P. P. (2002).** "Making blood safer." Bmj **325**(7361): 400-1.
- Mudur, G. (1999).** "Indian surgeon challenges ban on xenotransplantation." Bmj **318**(7176): 79.
- Mungai, M., G. Tegtmeier, et al. (2001).** "Transfusion-transmitted malaria in the United States from 1963 through 1999." N Engl J Med **344**(26): 1973-8.
- Murray, D. (2004).** "Acute normovolemic hemodilution." Eur Spine J **13 Suppl 1**: S72-5.
- Neethling, F. A. and D. K. Cooper (1999).** "Serum cytotoxicity to pig cells and anti-alphaGal antibody level and specificity in humans and baboons." Transplantation **67**(5): 658-65.
- Neuhof, H. (1923).** The Transplantation of Tissues, New York: Appelton.
- Nickrask, M., Y. Ye, et al. (1992).** "The pig as organ donor for man." Transplantation Proceedings **24**(2): 625-626.
- Nightingale, S., V. Wanamaker, et al. (2003).** "Use of sentinel sites for daily monitoring of the US blood supply." Transfusion **43**(3): 364-72.
- Norman, C. (1985).** "Africa and the origin of AIDS." Science **230**(4730): 1141.
- Oostingh, G. J., H. F. Davies, et al. (2002).** "Sensitisation to swine leukocyte antigens in patients with broadly reactive HLA specific antibodies." Am J Transplant **2**(3): 267-73.
- Oré, P. C. (1868).** Études historiques et physiologiques sur la transfusion du sang. Paris, J.-B. Ballière et fils.
- Oré, P. C. (1876).** "Deux observations de transfusion avec le sang humain et le sang d'agneau." Gazette médicale de Bordeaux.
- Oriol, R. (1987).** "Tissular expression of ABH and Lewis antigens in humans and animals: expected value of different animal models in the study of ABO-incompatible organ transplants." Transplant Proc **19**(6): 4416-20.
- Oriol, R., J. J. Candelier, et al. (1999).** "Major carbohydrate epitopes in tissues of domestic and African wild animals of potential interest for xenotransplantation research." Xenotransplantation **6**(2): 79-89.
- Oriol, R., Y. Ye, et al. (1993).** "Carbohydrate antigens of pig tissues reacting with human natural antibodies as potential targets for hyperacute vascular rejection in pig-to-man organ xenotransplantation." Transplantation **56**(6): 1433-42.
- Orton, S. (2001).** "Syphilis and blood donors: what we know, what we do not know, and what we need to know." Transfus Med Rev **15**(4): 282-91.
- Osman, N., I. F. McKenzie, et al. (1997).** "Combined transgenic expression of alpha-galactosidase and alpha1,2-fucosyltransferase leads to optimal reduction in the major xenoepitope Galalpha(1,3)Gal." Proc Natl Acad Sci U S A **94**(26): 14677-82.
- Pape, A. and O. Habler (2007).** "Alternatives to allogeneic blood transfusions." Best Pract Res Clin Anaesthesiol **21**(2): 221-39.

- Paradis, K., G. Langford, et al. (1999).** "Search for cross-species transmission of porcine endogenous retrovirus in patients treated with living pig tissue. The XEN 111 Study Group." *Science* **285**(5431): 1236-41.
- Pascher, A., I. M. Sauer, et al. (2002).** "Extracorporeal liver perfusion as hepatic assist in acute liver failure: a review of world experience." *Xenotransplantation* **9**(5): 309-24.
- Patience, C., G. S. Patton, et al. (1998).** "No evidence of pig DNA or retroviral infection in patients with short-term extracorporeal connection to pig kidneys." *Lancet* **352**(9129): 699-701.
- Patience, C., Y. Takeuchi, et al. (1997).** "Infection of human cells by an endogenous retrovirus of pigs." *Nat Med* **3**(3): 282-6.
- Pelletier, J. P., S. Transue, et al. (2006).** "Pathogen inactivation techniques." *Best Pract Res Clin Haematol* **19**(1): 205-42.
- Pennock, J. L., B. A. Reitz, et al. (1981).** "Cardiac allograft survival in cynomolgus monkeys treated with cyclosporin-A in combination with conventional immune suppression." *Transplant Proc* **13**(1 Pt 1): 390-2.
- Perez, P., L. R. Salmi, et al. (2001).** "Determinants of transfusion-associated bacterial contamination: results of the French BACTHEM Case-Control Study." *Transfusion* **41**(7): 862-72.
- Perper, R. J. (1966).** *Experimental renal heterotransplantation. II. In closely related species.*
- Perper, R. J. (1967).** "Experimental renal heterotransplantation. III. Passive transfer of transplantation immunity." *Transplantation* **5**(3): 514-533.
- Perper, R. J. and J. S. Najarian (1966).** "Experimental renal heterotransplantation: I. In widely divergent species." *Transplantation* **4**: 377-88.
- Phelps, C. J., C. Koike, et al. (2003).** "Production of alpha 1,3-galactosyltransferase-deficient pigs." *Science* **299**(5605): 411-4.
- Pillonel, J. and S. Laperche (2005).** "Trends in risk of transfusion-transmitted viral infections (HIV, HCV, HBV) in France between 1992 and 2003 and impact of nucleic acid testing (NAT)." *Euro Surveill* **10**(2): 5-8.
- Pitocco, C. and T. R. Sexton (2005).** "Alleviating blood shortages in a resource-constrained environment." *Transfusion* **45**(7): 1118-26.
- Pittman, D. L. (2000).** "Rationale for universal WBC reduction of blood components?" *Transfusion* **40**(3): 389.
- Platt, J. L. (1997).** "Approaching the clinical application of xenotransplantation." *Am J Med Sci* **313**(5): 315-21.
- Platt, J. L. and F. H. Bach (1991).** "The barrier to xenotransplantation." *Transplantation* **52**(6): 937-47.
- Platt, J. L., R. J. Fischel, et al. (1991).** "Immunopathology of hyperacute xenograft rejection in a swine-to-primate model." *Transplantation* **52**(2): 214-20.
- Platt, J. L., B. J. Lindman, et al. (1990).** "Endothelial cell antigens recognized by xenoreactive human natural antibodies." *Transplantation* **50**: 817-822.
- Ponfick, E. (1875).** "Experimentelle beitrage zur lehre von der transfusion." *Virchows Archiv* **62**: 273-335.

- Pouyet, M. and P. Berard (1971).** "Deux cas de transplantation hétérotropique vraie de foie de babouin au cours d'hépatites aiguës malignes [Two cases of true heterotopic transplantation of baboon livers in malignant acute hepatitis]." Lyon Chir **67**(4): 288-91.
- Princeteau, M. (1905).** "Greffe rénale [Kidney transplantation]." J Med Bordeaux **26**: 549.
- Purcell, D. P., C. Brosouis, et al. (1996).** "An array of murine leukemia virus-related elements in transmitted and expressed in a primate recipient of retroviral gene transfer." Journal of Virology **70**: 887-897.
- Purmal, A., C. R. Valeri, et al. (2002).** "Process for the preparation of pathogen-inactivated RBC concentrates by using PEN110 chemistry: preclinical studies." Transfusion **42**(2): 139-45.
- Purmann, M. G. (1692).** Grosser und gantz neugewundener Lorbeer-Krantz oder Wund- Artzney. Francfort-Leipzig.
- Rabelais, F. (1532).** "Pantagruel."
- Ramsoondar, J. J., Z. Machaty, et al. (2003).** "Production of alpha 1,3-galactosyltransferase-knockout cloned pigs expressing human alpha 1,2-fucosyltransferase." Biol Reprod **69**(2): 437-45.
- Ranasinghe, W. A., C. M. Giles, et al. (1990).** "Erythroid HLA class I expression in 300 patients with haematological, renal and rheumatological disorders." Vox Sang **59**(1): 55-9.
- Rao, M. J., K. Schneider, et al. (1994).** "Recombinant hemoglobin A produced in transgenic swine: structural equivalence with human hemoglobin A." Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol **22**(3): 695-700.
- Rao, P. L., L. J. Strausbaugh, et al. (2007).** "Bacterial infections associated with blood transfusion: experience and perspective of infectious diseases consultants." Transfusion **47**(7): 1206-11.
- Ravelingien, A. (2005).** "Use of pigs for xenotransplantation: the speciesism by proxy syndrome." Xenotransplantation **12**(3): 235-9.
- Ravelingien, A. and J. Braeckman (2004).** "To the core of porcine matter: evaluating arguments against producing transgenic pigs." Xenotransplantation **11**(4): 371-5.
- Rawson, A. J. and N. M. Abelson (1960).** "Studies of blood group antibodies. IV. Physico-chemical differences between isoanti-A,B and isoanti-A or isoanti-B." J Immunol **85**: 640-7.
- Reagan, T. (1984).** "The case for animal rights." (London, Routledge).
- Real, J. (1997).** Serge Voronoff et Matthieu Jaboulay, Communauté européenne, Abbeville Press.
- Reemtsma, K. (1965).** "Heterograft versus xenograft (letter to the editor)." New England Journal of Medicine **272**: 380.
- Reemtsma, K. (1995).** "Xenotransplantation: A Historical Perspective." Ilar J **37**(1): 9-12.
- Reemtsma, K., B. H. McCracken, et al. (1964).** "Heterotransplantation of the kidney : Two clinical expériences." Science **143**: 700-2.
- Reemtsma, K., B. H. McCracken, et al. (1964).** "Renal heterotransplantation in man." Annals of Surgery **160**: 384-410.

- Rees, M. A., A. J. Butler, et al. (2005).** "Evidence of macrophage receptors capable of direct recognition of xenogeneic epitopes without opsonization." Xenotransplantation **12**(1): 13-9.
- Reesink, H. W. (2005).** "European strategies against the parasite transfusion risk." Transfus Clin Biol **12**(1): 1-4.
- Reitz, B. A., C. P. Bieber, et al. (1981).** "Orthotopic heart and combined heart and lung transplantation with cyclosporin-A immune suppression." Transplant Proc **13**(1 Pt 1): 393-6.
- Reitz, B. A., N. A. Burton, et al. (1980).** "Heart and lung transplantation: autotransplantation and allotransplantation in primates with extended survival." J Thorac Cardiovasc Surg **80**(3): 360-72.
- Ricordi, C., A. G. Tzakis, et al. (1994).** "Xenotransplantation of hematopoietic cells resistant to HIV as a potential treatment for patients with AIDS." Transplant Proc **26**(3): 1302-3.
- Riess, J. G. (2005).** "Understanding the fundamentals of perfluorocarbons and perfluorocarbon emulsions relevant to in vivo oxygen delivery." Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol **33**(1): 47-63.
- Riley, W., M. Schwei, et al. (2007).** "The United States' potential blood donor pool: estimating the prevalence of donor-exclusion factors on the pool of potential donors." Transfusion **47**(7): 1180-8.
- Rivera, R. and J. C. Scornik (1986).** "HLA antigens on red cells. Implications for achieving low HLA antigen content in blood transfusions." Transfusion **26**(4): 375-81.
- Roback, J. D., L. Su, et al. (2006).** "Transfusion-transmitted cytomegalovirus (CMV) infections in a murine model: characterization of CMV-infected donor mice." Transfusion **46**(6): 889-95.
- Rodriguez Umana, H. (1995).** "Grafting of bone from a dog into the human skull: an historical note." Plast Reconstr Surg **96**(6): 1481.
- Rose, A. G., D. K. Cooper, et al. (1991).** "Histopathology of hyperacute rejection of the heart: experimental and clinical observations in allografts and xenografts." J Heart Lung Transplant **10**(2): 223-34.
- Ross, D. N. (1969).** Experience with human heart transplantation. Shapiro, H.A., The pathological findings in patients who have died. Durban: Butterworths, Proceedings of the Cape Town Symposium, 13-16 July 1968: 111-46.
- Ross, J. R., A. D. Kirk, et al. (1993).** "Characterization of human anti-porcine "natural antibodies" recovered from ex vivo perfused hearts. Predominance of IgM and IgG2." Transplantation **55**: 1144-1150.
- Rossi, L. (1999).** "UPMC surgeons perform second baboon to human liver transplant." <http://www.xenotransplant.ineu.org/organtrans/news/19930111.htm>.
- Rother, R. P., W. L. Fodor, et al. (1995).** "A novel mechanism of retrovirus inactivation in human serum mediated by anti-alpha-galactosyl natural antibody." Journal of Experimental Medicine **182**(5): 1345-1355.
- Rouhani, F. J., F. J. Dor, et al. (2004).** "Investigation of red blood cells from alpha1,3-galactosyltransferase-knockout pigs for human blood transfusion." Transfusion **44**(7): 1004-12.

- Roux, F. A., J. Y. Deschamps, et al. (2007).** "Multiple red cell transfusions in cats : 27 cases (2003-2006)." J Feline Med Surg.
- Rydberg, L., S. Björck, et al. (1996).** "Extracorporeal ("ex vivo") connection of pig kidneys to humans. II. The anti-pig antibody response." Xenotransplantation **3**: 340-53.
- Ryser, P. (2002).** "Blut und bluttransfusion." Schweizerische Ärztezeitung **81**(51/52): 2928-32.
- Saadi, S. and J. L. Platt (1998).** "Immunology of xenotransplantation." Life Sci **62**(5): 365-87.
- Sachs, D. H. (1994).** "The pig as a potential xenograft donor." Veterinary Immunology and Immunopathology **43**: 1-3.
- Salt, H. (1892).** "Animal Rights Considered in Relation to Social Progress." (Les droits de l'animal considérés dans leur rapport avec le progrès social, Paris, Welter, 1914.).
- Sandrin, M. S., W. L. Fodor, et al. (1995).** "Enzymatic remodelling of the carbohydrate surface of a xenogenic cell substantially reduces human antibody binding and complement-mediated cytotoxicity." Nat Med **1**(12): 1261-7.
- Sandrin, M. S. and I. F. McKenzie (1994).** "Gal alpha (1,3)Gal, the major xenoantigen(s) recognised in pigs by human natural antibodies." Immunol Rev **141**: 169-90.
- Sandrin, M. S., H. A. Vaughan, et al. (1993).** "Anti-pig IgM antibodies in human serum react predominantly with Gal(alpha 1-3)Gal epitopes." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **90**(23): 11391-11395.
- Schmidt, P. J. (2002).** "Transfuse George Washington!" Transfusion **42**(2): 275-7.
- Schmidt, P. J. and A. G. Leacock (2002).** "Forgotten transfusion history: John Leacock of Barbados." Bmj **325**(7378): 1485-7.
- Schmoeckel, M., F. N. Bhatti, et al. (1998).** "Orthotopic heart transplantation in a transgenic pig-to-primate model." Transplantation **65**(12): 1570-1577.
- Schroten, E. (1996).** "Aspects éthiques de la modification génétique des animaux." Avis n°7 du groupe de conseillers pour l'éthique de la biotechnologie auprès de la commission européenne du 21 mai 1996.
- Schubert, A., R. J. Przybelski, et al. (2003).** "Diaspirin-crosslinked hemoglobin reduces blood transfusion in noncardiac surgery: a multicenter, randomized, controlled, double-blinded trial." Anesth Analg **97**(2): 323-32, table of contents.
- Schultz, S. C., I. N. Hamilton, Jr., et al. (1993).** "Use of base deficit to compare resuscitation with lactated Ringer's solution, Haemaccel, whole blood, and diaspirin cross-linked hemoglobin following hemorrhage in rats." J Trauma **35**(4): 619-25; discussion 625-6.
- Scott, M. D., A. J. Bradley, et al. (2000).** "Camouflaged blood cells: low-technology bioengineering for transfusion medicine?" Transfus Med Rev **14**(1): 53-63.
- Scott, M. D., K. L. Murad, et al. (1997).** "Chemical camouflage of antigenic determinants: stealth erythrocytes." Proc Natl Acad Sci U S A **94**(14): 7566-71.
- Scultetus, J. (1671).** Armamentarium chirurgicum. Amsterdam.
- Segal, J. B., E. Blasco-Colmenares, et al. (2004).** "Preoperative acute normovolemic hemodilution: a meta-analysis." Transfusion **44**(5): 632-44.

- Sellami, M. M. (1993).** "Islamic position on organ donation and transplantation." Transplant Proc **25**(3): 2307-9.
- Shander, A. (2003).** "Surgery without blood." Crit Care Med **31**(12 Suppl): S708-14.
- Shander, A., A. Hofmann, et al. (2007).** "Estimating the cost of blood: past, present, and future directions." Best Pract Res Clin Anaesthesiol **21**(2): 271-89.
- Sharma, A., J. Okabe, et al. (1996).** "Reduction in the level of gal alpha (1-3)gal in transgenic mice and pigs by the expression of an alpha (1-2)fucosyltransferase." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **93**: 7190-7195.
- Shinkel, T. A., C. G. Chen, et al. (1997).** "Changes in cell surface glycosylation in alpha1,3-galactosyltransferase knockout and alpha1,2-fucosyltransferase transgenic mice." Transplantation **64**(2): 197-204.
- Sime, S. L. (2005).** "Strengthening the service continuum between transfusion providers and suppliers: enhancing the blood services network." Transfusion **45**(4 Suppl): 206S-23S.
- Simon, P. M., F. A. Neethling, et al. (1998).** "Intravenous infusion of Galalpha1-3Gal oligosaccharides in baboons delays hyperacute rejection of porcine heart xenografts." Transplantation **65**(3): 346-53.
- Singer, P. (1975).** "Animal Liberation." (New York: Avin Books).
- Singer, P. (1992).** "Xenotransplantation and speciesism." Transplant Proc **24**(2): 728-32.
- Singer, P. (1995).** "Animal Liberation." (2nd Ed. Pimlico, London.).
- Skripchenko, A., S. J. Wagner, et al. (2006).** "Thiazole orange, a DNA-binding photosensitizer with flexible structure, can inactivate pathogens in red blood cell suspensions while maintaining red cell storage properties." Transfusion **46**(2): 213-9.
- Sowemimo-Coker, S., R. Kasczak, et al. (2005).** "Removal of exogenous (spiked) and endogenous prion infectivity from red cells with a new prototype of leukoreduction filter." Transfusion **45**(12): 1839-44.
- Spahn, D. R. and M. Casutt (2000).** "Eliminating blood transfusions: new aspects and perspectives." Anesthesiology **93**(1): 242-55.
- Spahn, D. R. and R. Kocian (2003).** "The place of artificial oxygen carriers in reducing allogeneic blood transfusions and augmenting tissue oxygenation." Can J Anaesth **50**(6 Suppl): S41-7.
- Spahn, D. R. and R. Kocian (2005).** "Artificial O2 carriers: status in 2005." Curr Pharm Des **11**(31): 4099-114.
- Spahn, D. R., K. F. Waschke, et al. (2002).** "Use of perflubron emulsion to decrease allogeneic blood transfusion in high-blood-loss non-cardiac surgery: results of a European phase 3 study." Anesthesiology **97**(6): 1338-49.
- Spahn, D. R., P. F. Willmann, et al. (2001).** "[The effectiveness of augmented acute normovolemic hemodilution (A-ANH)]." Anaesthesist **50 Suppl 1**: S49-54.
- Starzl, T. E. (1969). Orthotopic heterotransplantation. Experience in hepatic transplantation. Philadelphia, W.B. Saunders Co.: 408-21.
- Starzl, T. E., J. Fung, et al. (1993).** "Baboon-to-human liver transplantation." Lancet **341**(8837): 65-71.

- Starzl, T. E., M. Ishikawa, et al. (1974).** "Progress in and deterrents to orthotopic liver transplantation, with special reference to survival, resistance to hyperacute rejection, and biliary duct reconstruction." Transplant Proc 6(4 Suppl 1): 129-39.
- Starzl, T. E., T. L. Marchino, et al. (1964).** "Renal heterotransplantation from baboon-to-man: experience with six cases." Transplantation 2: 752-76.
- Stollings, J. L. and L. J. Oyen (2006).** "Oxygen therapeutics: oxygen delivery without blood." Pharmacotherapy 26(10): 1453-64.
- Stoye, J. P. and J. M. Coffin (1995).** "The dangers of xenotransplantation." Nat Med 1(11): 1100.
- Stoye, J. P., T. P. Le, et al. (1998).** "Endogenous retroviruses: a potential problem for xenotransplantation?" Ann N Y Acad Sci 30: 86267-74.
- Stramer, S. L., S. Caglioti, et al. (2000).** "NAT of the United States and Canadian blood supply." Transfusion 40(10): 1165-8.
- Stuhlmeier, K. M. and Y. Lin (1999).** "Camouflaging endothelial cells: does it prolong graft survival?" Biochim Biophys Acta 1428(2-3): 177-90.
- Sullivan, M. T., R. Cotten, et al. (2007).** "Blood collection and transfusion in the United States in 2001." Transfusion 47(3): 385-94.
- Sullivan, M. T. and E. L. Wallace (2005).** "Blood collection and transfusion in the United States in 1999." Transfusion 45(2): 141-8.
- Swanson, J. L. and L. Cooling (2005).** "Porcine red blood cells express a polyagglutinable red blood cell phenotype." Transfusion 45(6): 1035-6; author reply 1036-7.
- Swindle, M. M. (1996).** "Considerations of specific pathogen-free swine (SPF) in xenotransplantation." J Invest Surg 9(4): 267-71.
- Sykes, M., A. d'Apice, et al. (2004).** "Position paper of the Ethics Committee of the International Xenotransplantation Association." Transplantation 78(8): 1101-7.
- Tange, M., R. Tearle, et al. (1996).** "Analysis of alpha 1,3-galactosyltransferase knockout mice." Transplantation Proceedings 28: 620-621.
- Taylor, P. W. (1986).** "Respect of nature. A theory of environmental ethics." (Princeton University Press).
- Tearle, R. G., M. J. Tange, et al. (1996).** "The alpha-1,3-galactosyltransferase knockout mouse. Implications for xenotransplantation." Transplantation 61(1): 13-9.
- Temin, H. M. (1990).** "Safety considerations in somatic gene therapy of human disease with retrovirus vectors." Human gene therapy 1: 111-123.
- Tendler, M. D. (2002).** The Judeo-Biblical perspective on organ donation: you shall choose life, UNOS Update.
- Terada, N., Y. Arai, et al. (2001).** "Acute normovolemic hemodilution for radical prostatectomy: can it replace preoperative autologous blood transfusion?" Int J Urol 8(4): 149-52.
- Thibaudeau, K., I. Anegon, et al. (1994).** "Human natural antibodies to porcine platelets." Transplantation 57(7): 1110-5.
- Thompson, C. (1995).** "No cheers for baboon to AIDS patient xenotransplant." Lancet 346(8971): 369-70.

- Thomson, R. A., J. Bethel, et al. (1998).** "Retention of "safe" blood donors. The Retrovirus Epidemiology Donor Study." Transfusion **38**(4): 359-67.
- Thrall, M. A. (2004).** Veterinary hematology and clinical chemistry. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins.
- Tissier, P. I., J. P. Stoye, et al. (1997).** "Two sets of human-tropic pig retrovirus." Nature **389**(6652): 681-682.
- Traeger, J., D. Fries, et al. (1965).** "Hétérotransplantation chez l'homme. Premier résultats [Heterotransplantation in man. First results]." Proceedings of the European Dialysis and Transplant Association: 214-7.
- Tseng, Y. L., K. Kuwaki, et al. (2005).** "alpha1,3-Galactosyltransferase gene-knockout pig heart transplantation in baboons with survival approaching 6 months." Transplantation **80**(10): 1493-500.
- Turman, M. A., P. Casali, et al. (1991).** "Polyreactivity and antigen specificity of human xenoreactive monoclonal and serum natural antibodies." Transplantation **52**(4): 710-7.
- Turner, M. L. and C. A. Ludlam (2000).** "Variant Creutzfeldt-Jakob disease." Transfus Med Rev **14**(3): 216-22.
- Unger, E. (1910).** "[Kidney transplantation] Nierentransplantation." Berlin Klin Wochenschr **47**: 573.
- Vamvakas, E. C. and A. A. Pineda (2000).** "Autologous transfusion and other approaches to reduce allogeneic blood exposure." Baillieres Best Pract Res Clin Haematol **13**(4): 533-47.
- van Berkel, P. H., M. M. Welling, et al. (2002).** "Large scale production of recombinant human lactoferrin in the milk of transgenic cows." Nat Biotechnol **20**(5): 484-7.
- van Hulst, M., J. T. de Wolf, et al. (2002).** "Pharmaco-economics of blood transfusion safety: review of the available evidence." Vox Sang **83**(2): 146-55.
- Vanin, E. F., M. Kaloss, et al. (1994).** "Characterization of replication-competent retroviruses from nonhuman primates with virus-induced T-cell lymphomas and observations regarding the mechanism of oncogenesis." Journal of Virology **68**(7): 4241-4250.
- Vannier, P. and R. Carriole (2000).** "Xénogreffes et probabilité du risque viral zoonotique: réflexions à partir de la maîtrise sanitaire des porcs exempts d'organismes pathogènes spécifiés et analyse du risque. [Xenografts and the probability of viral zoonotic risk: reflections based on the sanitary control of a pig population free from specific pathogenic organisms and risk analysis]." Pathol Biol (Paris) **48**(4): 389-94.
- Varki, A. (2001).** "Loss of N-glycolylneuraminic acid in humans: Mechanisms, consequences, and implications for hominid evolution." Am J Phys Anthropol Suppl **33**: 54-69.
- Voronoff, S. (1924).** Quarante-trois greffes du singe à l'homme [Forty-three ape-to-man transplantations], Gaston Doin éditeur, Paris.
- Vrielink, H. and H. W. Reesink (1998).** "Transfusion-transmissible infections." Curr Opin Hematol **5**(6): 396-405.
- Wagner, S. J. (2005).** "Transfusion-transmitted bacterial infection: risks, sources and interventions." Vox Sang **88**(1): 60.

- Wagner, S. J., A. Skripchenko, et al. (2005).** "Use of a flexible thiopyrylium photosensitizer and competitive inhibitor for pathogen reduction of viruses and bacteria with retention of red cell storage properties." *Transfusion* **45**(5): 752-60.
- Wagner, S. J., A. Skripchenko, et al. (2000).** "The use of dimethylmethylene blue for virus photoinactivation of red cell suspensions." *Dev Biol (Basel)* **102**: 125-9.
- Wallace, E. L., W. H. Churchill, et al. (1998).** "Collection and transfusion of blood and blood components in the United States, 1994." *Transfusion* **38**(7): 625-36.
- Waller, C. (1825).** "Case of uterine hemorrhage, in which the operation of transfusion was successfully performed." *Med. Phys. J.* **54**: 273-277.
- Wallis, C., J. Beaty, et al. (1984).** "Baby Fae loses her battle." *Time* **124**(22): 88-9.
- Wallis, C. and S. Holmes (1984).** "Baby Fae stuns the world." *Time* **124**(20): 70-2.
- Walton, M. T. (1974).** "The first blood transfusion: French or English?" *Med Hist* **18**(4): 360-4.
- Wang, J. X. and Y. P. Zhang (2002).** "[Recent advance on blood group antigen modification of porcine erythrocytes]." *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi* **10**(3): 273-6.
- Warty, V., W. Diven, et al. (1988).** "FK506. A novel immunosuppressive agent. Characteristics of binding and uptake by human lymphocytes." *Transplantation* **46**(3): 453-5.
- Waters, J. H. (2004).** "Indications and contraindications of cell salvage." *Transfusion* **44**(12 Suppl): 40S-4S.
- Watier, H., J. M. Guillaumin, et al. (1996).** "Removal of terminal alpha-galactosyl residues from xenogeneic porcine endothelial cells. Decrease in complement-mediated cytotoxicity but persistence of IgG1-mediated antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity." *Transplantation* **62**(1): 105-13.
- Watkins, W. M. (1980).** "Biochemistry and Genetics of the ABO, Lewis, and P blood group systems." *Adv Hum Genet* **10**: 1-136, 379-85.
- Weil, R., M. Nozawa, et al. (1975).** "Cardiac heterotransplantation: morphological and immunohistological studies." *Transplantation* **19**: 150-155.
- Weiss, R. A. (1999).** "Xenografts and retroviruses." *Science Washington* **285**(5431): 1221-1222.
- Wells, G. A. and I. S. McGill (1992).** "Recently described scrapie-like encephalopathies of animals: case definitions." *Res Vet Sci* **53**(1): 1-10.
- Whelen, J. K. (2000).** "Transfusion reactions due to *Yersinia enterocolitica*." *Semin Perioper Nurs* **9**(1): 37-41.
- Wiener, A. S., L. J. Unger, et al. (1956).** "Type-specific cold auto-antibodies as a cause of acquired hemolytic anemia and hemolytic transfusion reactions: biologic test with bovine red cells." *Annals of internal medicine* **44**(2): 221-40.
- Williams, P. W. (1894).** "Notes on diabetes treated with extract and by grafts of sheep's pancreas." *Br Med J* **2**: 1303-4.
- Williamson, L., H. Cohen, et al. (2000).** "The Serious Hazards of Transfusion (SHOT) initiative: the UK approach to haemovigilance." *Vox Sang* **78** Suppl 2: 291-5.
- Wong, J. C., F. Torella, et al. (2002).** "Autologous versus allogeneic transfusion in aortic surgery: a multicenter randomized clinical trial." *Ann Surg* **235**(1): 145-51.

- Wroe, S. J., S. Pal, et al. (2006).** "Clinical presentation and pre-mortem diagnosis of variant Creutzfeldt-Jakob disease associated with blood transfusion: a case report." Lancet **368**(9552): 2061-7.
- Xu, H., P. A. Kwiatkowski, et al. (1993).** "Absence of human and baboon preformed natural xenoantibodies from newborn human and baboon serum." Journal of Heart and Lung Transplantation **12**: S97.
- Yamada, K., K. Yazawa, et al. (2005).** "Marked prolongation of porcine renal xenograft survival in baboons through the use of alpha1,3-galactosyltransferase gene-knockout donors and the cotransplantation of vascularized thymic tissue." Nat Med **11**(1): 32-4.
- Yeatman, M., C. W. Daggett, et al. (1999).** "Human complement regulatory proteins protect swine lungs from xenogeneic injury." Ann Thorac Surg **67**(3): 769-75.
- Young, G. A. (1964).** "SPF swine." Advances in Veterinary Science **9**: 61.
- Zhang, J. and H. M. Temin (1993).** "Rate and mechanism of nonhomologous recombination during a single cycle of retroviral replication." Science **259**(5092): 234-8.
- Zhu, A. (2000).** "Binding of human natural antibodies to nonalphaGal xenoantigens on porcine erythrocytes." Transplantation **69**(11): 2422-8.
- Zhu, A. (2000).** "Identification of non-alphaGal xenoantigens on porcine red blood cells." Transplant Proc **32**(5): 851-4.
- Zhu, A. (2000).** "Introduction to porcine red blood cells: implications for xenotransfusion." Semin Hematol **37**(2): 143-9.
- Zhu, A. and R. Hurst (2000).** "Human natural antibodies that recognize nonalphaGal antigens on porcine red blood cells." Transplant Proc **32**(5): 872-3.
- Zhu, A. and R. Hurst (2002).** "Anti-N-glycolylneuraminic acid antibodies identified in healthy human serum." Xenotransplantation **9**(6): 376-81.

LES XENOTRANSFUSIONS – Passé et Présent

Françoise A. ROUX

Résumé

La xénotransfusion, transfusion de sang d'une espèce animale à une autre espèce, fut une pratique courante chez l'homme aux débuts de la transfusion avant qu'une meilleure connaissance des phénomènes de compatibilité ne conduise à l'abandon de cette pratique. La pénurie criante d'organes humains destinés à la greffe est à l'origine de nombreux développements concernant la xénotransplantation. Ces avancées s'appliquent à la transfusion sanguine au point que la xénotransfusion connaît désormais un regain d'intérêt. Le choix de l'espèce donneuse semble acquis "en faveur" du porc. Ce travail retrace l'histoire des xénotransfusions ainsi que les développements récents. Il souligne que les obstacles éthiques et techniques qui s'opposent à la xénotransplantation d'organes sont moins prononcés pour la xénotransfusion.

Mots clés : XENOTRANSFUSION, XENOTRANSPLANTATION, TRANSFUSION, HISTOIRE, ETHIQUE

Xenotransfusions : Past and Present

Summary

Xenotransfusion, transfusion of blood from one species to another, has been the first transfusion practice used in the past in Human Medicine. This method has been abandoned toward allotransfusion. Because of the shortage of human organs for transplantation, the eventuality to use an animal source is again considered. Facing this renewal for xenotransplantation, xenotransfusion has been reconsidered. For both xenotransplantation and xenotransfusion, pig has been elicited as best donor species. This work reviews the history of xenotransfusion and focuses on the actual development. It shows that ethical and technical hurdles are less marked for xenotransfusion than for xenotransplantation.

Key words: XENOTRANSFUSION, XENOTRANSPLANTATION, TRANSFUSION, HISTORY, ETHICS

Adresse de l'auteur

Françoise A. ROUX

Laboratoire d'Immuno-Endocrinologie Cellulaire et Moléculaire

UMR 707 – INRA – ENVN- Université de Nantes

Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes

Atlanpole, La Chantrerie, BP 40706, 44307 NANTES Cedex 03, FRANCE