

LES CLES DE L'HEMOVIGILANCE

LES GROUPES SANGUINS

Coordination Régionale d'Hémovigilance

Docteur Mahdi TAZEROUT – Madame Yolande GALINIER

Direction Régionale des Affaires Sanitaires et Sociales Midi-Pyrénées

10 Chemin du Raisin – 31050 TOULOUSE Cedex 9

Tél. 05.34.30.24.38 – Fax : 05.34.30.24.39

Les Groupes Sanguins

I. INTRODUCTION

Les groupes sanguins, ou phénotypes érythrocytaires, correspondent à des antigènes membranaires de l'érythrocyte, dont l'expression est déterminée par une série de systèmes génétiques polymorphes.

Ces antigènes, introduits dans un organisme qui les reconnaît comme étrangers, peuvent être la cible d'anticorps sériques naturels ou immuns, responsables d'une lyse cellulaire parfois grave, voire mortelle. Cette notion s'exprime dans 2 domaines de la pathologie: les accidents immunologiques transfusionnels et l'incompatibilité fœto-maternelle.

Plus de 23 systèmes de groupes sanguins ont été identifiés depuis la découverte du système ABO par Landsteiner en 1900. Certains de nature glucidique, comme les systèmes ABO, Hh ou Lewis, dont les extrémités terminales glycoprotéiques ou glycolipidiques membranaires portent les antigènes. D'autres, de nature peptidique, représentent l'expression directe des gènes et sont ancrés dans la membrane des hématies.

Au contraire des antigènes de nature peptidique dont l'expression se trouve souvent restreinte aux cellules sanguines et généralement limitée à l'homme, les antigènes glucidiques sont des antigènes tissulaires, présents dans de nombreux organes, et exprimés dans d'autres espèces y compris les bactéries.

Les anticorps anti-érythrocytes dirigés contre ces systèmes de groupes sanguins, en se fixant sur la membrane érythrocytaire, entraînent fréquemment une diminution de la durée de vie des hématies et une hémolyse retardée par phagocytose. Ils peuvent parfois induire une hémolyse intra-vasculaire massive par activation du complément.

Les implications cliniques des conflits immunologiques mettent en jeu, de façon considérable, les antigènes de groupes sanguins. Il faut distinguer deux situations très différentes :

- La présence d'anticorps naturels dans le système ABO représente un obstacle infranchissable à toute transfusion " incompatible " dans ce système,
- L'immunisation et l'apparition d'anticorps irréguliers vis à vis du système Rhésus ou d'un autre système " majeur " imposent de sélectionner des hématies (donneurs) compatibles pour les transfusions ultérieures.

II. HISTORIQUE

Le sang a toujours fasciné les humains. La perte de sang accompagnant souvent la perte de vie, on a, de tous temps, tenté de restituer sinon la vie du moins la vigueur avec du sang.

On se baignait dans le sang, on buvait du sang.

Des progrès décisifs ont été obtenus en **1628** avec la découverte par **Harvey** de la circulation sanguine et plus tard de la voie intraveineuse.

Dès lors, de multiples essais de transfusions, aux succès inégaux, ont été tentés avec du sang d'animaux et du sang humain. Au cours de la guerre franco-prussienne de **1870**, la transfusion fut largement utilisée et sauva de nombreux blessés.

En **1900**, **Landsteiner** observe que le plasma de différents sujets agglutine les hématies de nombreux autres sujets et, poursuivant ses études, il en déduisit l'existence des groupes **A**, **B** et **O**.

Un an plus tard, **De Castillo** décrit un quatrième groupe : **AB**.

Curieusement, l'importance de ces groupes sanguins pour les transfusions n'a été perçue que dix ans plus tard car ce n'est qu'en **1910** que les règles de la transfusion sanguine ont été édictées par **Schultz** et **Ottenberg**.

En **1924**, **Bernstein** démontre la transmission héréditaire selon les lois de Mendel des facteurs de groupes sanguins.

En **1940** **Landsteiner** et son élève **Wiener**, sont à l'origine de la découverte du système rhésus. En injectant au lapin des hématies du **singe Macacus rhésus**, ils obtiennent des anticorps qu'ils dénomment anti-rhésus. Ces anticorps agglutinent les hématies de 85 % des humains dits rhésus positifs ou Rh+, les autres étant Rh-.

Ce nouveau groupe sanguin, indépendant du système ABO, se transmet comme un caractère mendélien dominant.

III. LE SYSTEME ABO et Hh

A. LES ANTIGENES DU SYSTEME ABO-Hh

Les antigènes A, B et H sont des oligosaccharides portés par des glycolipides membranaires des hématies, des cellules épithéliales et endothéliales. Nous notons également leur présence dans le plasma, la salive ou le lait.

L'expression de ces antigènes sur les hématies est contrôlée par deux locus distincts dont les gènes codent pour des enzymes appelées **glycosyltransférases**. Ces deux systèmes génétiques fonctionnent sur un mode diallélique codominant, ce qui veut dire que la présence de deux allèles fonctionnels différents conduit à l'expression phénotypique de deux antigènes différents.

Le locus Hh sur le chromosome 19 présente deux variants alléliques : H et h. L'allèle H code pour une **fucose-transférase** qui ajoute un fucose à l'extrémité terminale de la chaîne oligosaccharidique de base, formant l'antigène H. La synthèse ultérieure éventuelle des antigènes A et B nécessite la présence de l'antigène H. Il convient de noter l'extrême rareté de l'allèle h, gène amorphe, non fonctionnel. De plus, sa présence à l'état homozygote détermine le phénotype Bombay (*voir plus loin*).

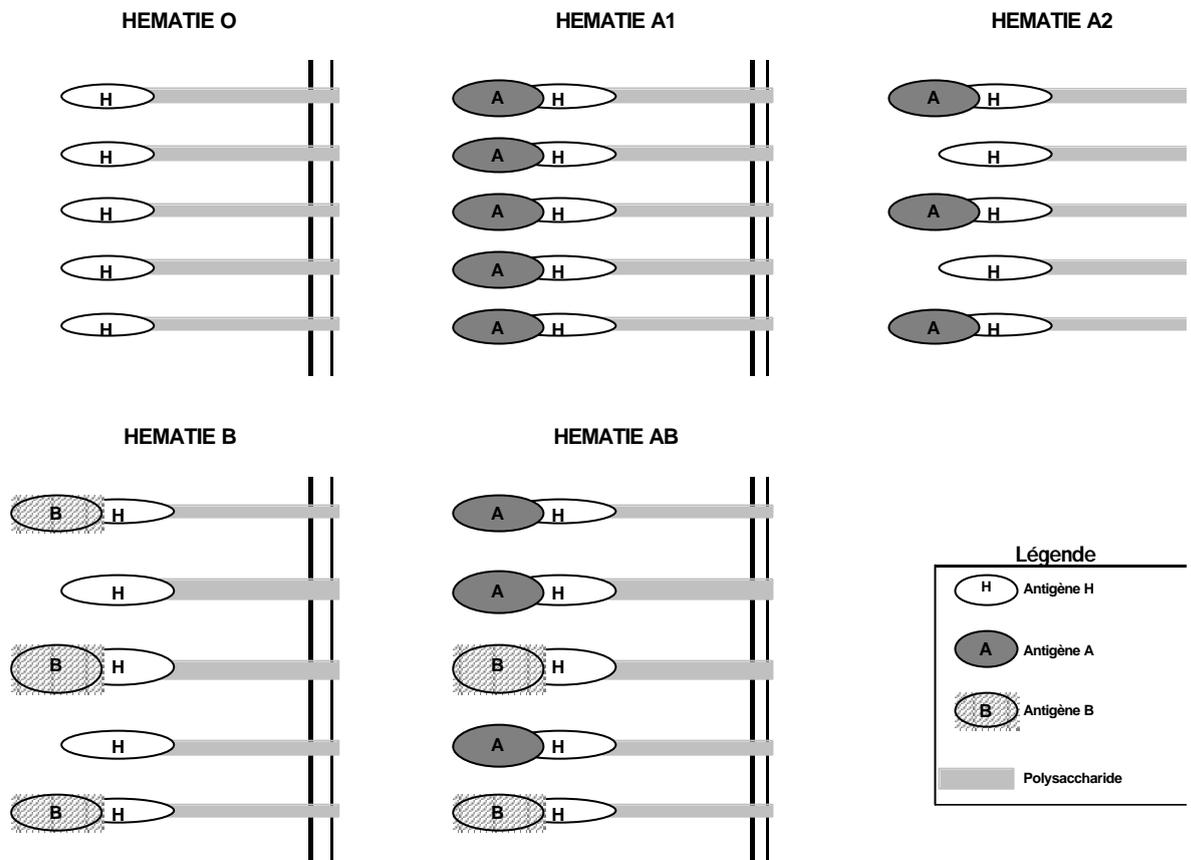
Les allèles A1 et A2 codent pour une **N-acétyl-galactosamine-transférase**. Chez les sujets de phénotype A2, l'antigène H persiste à la surface cellulaire. Les sujets de phénotype A1 possèdent, au contraire, une enzyme très active et l'antigène H, totalement masqué, ne peut plus être détecté. La distinction A1/A2 ne présente pas d'intérêt clinique majeur.

L'allèle B produit une **galactose-transférase** qui ajoute un résidu galactose et forme l'antigène B, toujours sous la condition que H soit présent.

Une délétion importante de la séquence codante rend l'allèle O non fonctionnelle avec une non production d'enzyme active. A l'état homozygote, il conduit à l'absence d'antigène A ou B sur les hématies, correspondant au phénotype O.

Les individus de groupe O possèdent une large quantité d'antigène H sur leurs hématies.

Représentation schématique de l'expression des antigènes A, B et H



Le tableau suivant présente les fréquences des 4 principaux phénotypes ABO.
Il existe d'autres phénotypes rares, généralement déficients.

<i>Phénotypes</i>	<i>Génotypes</i>	<i>Fréquence en France</i>
A1 A2	A1/O, A1/A1 ou A1/A2 A2/O ou A2/A2	45%
B	B/O ou B/B	9%
A1B A2B	A1/B A2/B	3%
O	O/O	43%

B. LES ANTICORPS ANTI-A et ANTI-B

Les anticorps anti-A et anti-B, dirigés contre les antigènes du système ABO, sont des anticorps naturels réguliers, c'est à dire qu'ils existent de façon constante chez tout individu adulte qui ne possède pas le(s) antigène(s) A et/ou B, en dehors de toute stimulation antigénique. En fait, les antigènes A et B se trouvent largement répandus dans l'environnement, en particulier chez les bactéries. Ces anticorps dits "naturels" correspondent en réalité à une immunisation acquise vis-à-vis d'antigènes étrangers ubiquitaires.

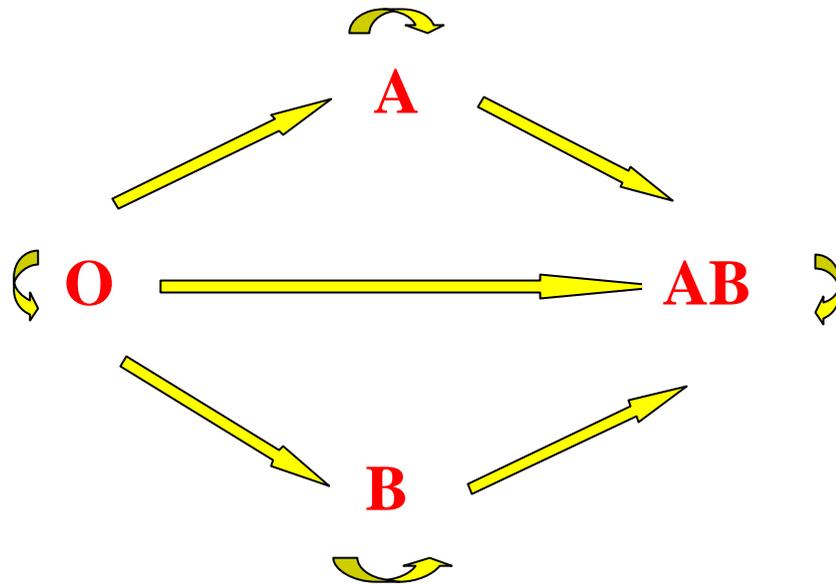
Ainsi, les individus de groupe A produisent des anti-B, les individus de groupe B produisent des anti-A et les individus de groupe O produisent à la fois des anti-A et des anti-B. Les personnes de groupe AB ne possèdent pas d'anticorps naturel dans le système ABO.

Il faut noter l'intérêt clinique de ces anticorps naturels anti-A et anti-B : en se fixant à la surface d'hématies étrangères non compatibles dans le système ABO, ils sont capables d'induire une réaction d'hémolyse massive souvent mortelle. Ces anticorps appartiennent aux classes IgM et IgG en proportion variable.

On comprend alors les lois de compatibilité ABO qui doivent absolument être respectées dans la transfusion de culots globulaires :

- **Un sujet de groupe O possède des anti-A et anti-B et ne peut être transfusé qu'avec des globules O ;**
- **Un sujet de groupe A possède des anti-B et ne peut être transfusé qu'avec des globules A ou O ;**
- **Un sujet de groupe B possède des anti-A et ne peut être transfusé qu'avec des globules B ou O ;**
- **Un sujet de groupe AB ne possède pas d'anticorps naturels et peut être transfusé avec des globules A, B, AB ou O.**

Règles de compatibilité ABO
pour les transfusions de Concentrés de Globules Rouges



C. CAS PARTICULIER : LE PHENOTYPE BOMBAY

Le terme Bombay correspond à un phénotype dans lequel les hématies n'expriment pas d'antigène H, et donc pas non plus d'antigène A ou B.

Ce phénotype extrêmement rare et extrêmement dangereux en transfusion, a été décrit pour la première fois en Inde.

Il correspond à un gène H non fonctionnel à l'état homozygote dans des familles consanguines.

Le groupage sanguin donne apparemment un groupe O, mais ces individus possèdent, en plus des anti-A et anti-B, un anticorps naturel anti-H et agglutinent donc toutes les hématies à l'exception des hématies Bombay elles-mêmes. Ils ne peuvent donc être transfusés qu'avec des hématies Bombay.

IV. LE SYSTEME RHESUS (RH)

A. ASPECTS GENETIQUE ET BIOCHIMIQUE

Le système RH comprend une cinquantaine d'antigènes de nature polypeptidique. Seuls 5 d'entre eux présentent un intérêt clinique en médecine transfusionnelle. Il s'agit des antigènes D (RH1), C (RH2), E (RH3), c (RH4) et e (RH5).

Deux gènes (RHD et RHCE), adjacents et de structure très voisine, localisés sur le chromosome 1, contrôlent l'expression de ces antigènes.

Le gène RHD détermine l'expression d'une protéine exprimant l'antigène D. On note sa présence chez 85% des individus en France dits : Rhésus positifs (Rh +). Chez les autres, dits Rhésus négatifs (Rh -), il existe une délétion complète du locus RHD, à l'état homozygote qui conduit à l'absence de protéine RHD sur la membrane érythrocytaire et donc à l'absence d'antigène D. Le phénotype de ces individus s'écrit D- (RH :-1) (l'appellation " d " est incorrecte car il n'existe pas d'antigène d).

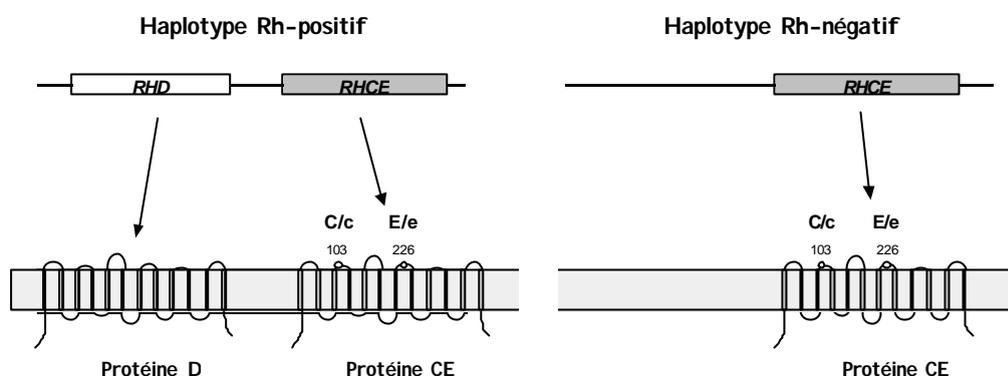
Il existe donc 3 combinaisons alléliques possibles, conduisant à 2 phénotypes : D+ ou D- :

Génotype		Phénotype	Fréquence	
Allèle 1	Allèle 2			
D	D	D +	Rhésus positif	~ 85%
D	-	D +		
-	-	D -	Rhésus négatif	~ 15%

Le gène RHCE induit l'expression des antigènes C, E, c et e.

Il existe 4 allèles possibles pour le gène DCE : DCe, DCE, DcE, et Dce.

Les haplotypes Rhésus positif et Rhésus négatif



Il existe donc une assez grande variété de phénotypes RH pouvant être exprimés à la surface érythrocytaire, qui dépend des variants alléliques des gènes *RHD* et *RHCE* présents sur chaque chromosome 1.

Les phénotypes RH et les combinaisons génotypiques les plus fréquents

<i>Phénotype</i>	<i>Génotype le + probable</i>	<i>Fréquence en France</i>
D+ C+ E- c+ e+	<i>DCe/dce</i> 34 %	Rhésus positifs ~ 85%
D+ C+ E- c- e+	<i>DCe/Dce</i> 20 %	
D+ C+ E+ c+ e+	<i>DCe/DcE</i> 13 %	
D+ C- E+ c+ e+	<i>DcE/dce</i> 12 %	
Autres D+	- 6 %	
D- C- E- c+ e+	<i>dce/dce</i> 15 %	Rhésus négatifs ~ 15%
Autres D-	- < 1 %	

B. ANTICORPS ANTI-RHESUS

Contrairement aux anticorps anti-A ou anti-B dits naturels, la grande majorité des anticorps dans le système Rhésus résulte d'une **réponse immunitaire induite par une grossesse ou une transfusion sanguine incompatible**. Cependant, pour une raison inconnue, il n'est pas rare de détecter des anticorps "naturels" anti-E par exemple, chez des sujets E négatifs qui n'ont jamais été en contact avec l'antigène E.

On considère l'antigène D comme le plus immunogène, suivi par les antigènes E et c.

On estime que près de 80% des sujets RH- transfusés avec du sang RH+ vont produire un anticorps anti-D pouvant persister plusieurs mois ou années. Une nouvelle exposition à l'antigène D va entraîner une réponse immunologique secondaire rapide pouvant conduire à des accidents immunologiques graves.

La fréquence et l'importance transfusionnelle des anticorps anti-D justifie le respect systématique et obligatoire de la compatibilité RHD en transfusion sanguine. L'incompatibilité foeto-maternelle implique fréquemment ces anticorps.

Les autres antigènes du système Rhésus, significativement moins immunogènes, entraînent l'apparition moins fréquente d'anticorps après transfusion ou grossesse incompatible. Il faut noter toutefois leur fréquence non négligeable et leur présence contre-indique toute transfusion incompatible pour chacun des antigènes C, E, c, e.

La compatibilité doit être respectée pour les 5 antigènes Rhésus dans les transfusions de globules rouges, spécialement chez les patients de sexe féminin avant la ménopause et dans les pathologies impliquant des transfusions répétitives et/ou chroniques.

V. LE SYSTEME KELL

Il s'agit du système le plus immunogène après le système Rhésus. Le système Kell possède 2 antigènes principaux : K (KEL1) et k (KEL2, *Cellano*), portés par une glycoprotéine membranaire dont l'expression se trouve restreinte à la lignée érythrocytaire.

9% seulement de la population française exprime l'antigène K. L'antigène k concerne plus de 99% des individus :

Génotype		Phénotype		Fréquence en France
Allèle 1	Allèle 2			
k (KEL2)	k (KEL2)	K- k+	(KEL:-1;2)	91 %
K (KEL1)	k (KEL2)	K+k+	(KEL:1; 2)	8,8 %
K (KEL1)	K (KEL1)	K+k-	(KEL:1; -2)	0,2 %

Les anticorps anti-K (KEL1) fréquents et dangereux, occasionnent des accidents hémolytiques post-transfusionnels, des anémies fœtales sévères (avec pancytopenie) et des maladies hémolytiques du nouveau-né.

Ceci justifie le respect du phénotype Kell, comme le phénotype Rhésus, en particulier chez les femmes avant la ménopause et chez les sujets polytransfusés. Cependant, compte tenu de la fréquence élevée de donneurs de

sang de phénotype K- (91 %) , il est aisé d'obtenir du sang compatible pour les sujets présentant un anticorps anti-K.

Les anticorps anti-k (KEL2) très rares (0,2 % seulement de la population n'exprimant pas l'antigène k), aussi dangereux que les anti-KEL1, peuvent conduire à des situations d'impasse transfusionnelle, la fréquence des donneurs compatibles étant très faible.

VI. AUTRES SYSTEMES D'INTERET CLINIQUE EN TRANSFUSION SANGUINE

Trois autres systèmes d'antigènes " secondaires " doivent être connus et pris en considération dans les conflits immunologiques potentiels provoqués par une transfusion ou une grossesse incompatible : les systèmes **Duffy (FY)**, **Kidd (JK)** et **MNS**.

A. LE SYSTEME DUFFY

Il s'agit également d'un système immunogène. Il comprend 2 antigènes principaux : **Fya (FY1)** et **Fyb (FY2)**.

Il existe théoriquement 3 phénotypes possibles : **Fy (a+b-)**, **Fy (a+b+)** et **Fy (a-b+)**.

Mais ce système présente une particularité chez les noirs où un grand nombre de sujets porte à l'état homozygote un allèle silencieux, avec un phénotype érythrocytaire Fy (a-b-). Chez ces sujets, la glycoprotéine Duffy non détectée sur les érythrocytes se retrouve dans les autres tissus de l'organisme.

Ce phénotype Fy (a-b-) se voit exceptionnellement chez les Caucasiens.

Fréquence des phénotypes Duffy chez les Noirs et les Caucasiens

Génotype		Phénotype	Fréquence Caucasiens	Fréquence chez les Noirs
Allèle 1	Allèle 2			
<i>Fya (FY1)</i>	<i>Fya (FY1)</i>	Fy (a+, b-) (FY: 1; -2)	20 %	20 %
<i>Fya (FY1)</i>	<i>Fyb (FY2)</i>	Fy (a+; b+)(FY: 1; 2)	47 %	2 %
<i>Fyb (FY2)</i>	<i>Fyb (FY2)</i>	Fy (a-; b+) (FY: -1; 2)	33 %	10 %
-	-	Fy (a-; b-) (FY:-1;-2)	Très rare	68 %

Les anticorps anti-Fya (FY1) et anti-Fyb (FY2) peuvent être impliqués dans des accidents transfusionnels immunologiques ou dans des problèmes d'incompatibilité foeto-maternelle.

Une recherche d'anticorps irréguliers demeure indispensable pour détecter ces anticorps avant toute transfusion de globules rouges. Leurs présences imposent la recherche d'une unité de globules rouges immunologiquement compatible.

La protéine Duffy également récepteur de **Plasmodium vivax** à la surface des hématies, permet l'intégration de ce dernier et le parasitisme de la cellule.

La fréquence élevée des phénotypes Fy(a-; b-) dans la population noire s'explique par une évolution génétique très ancienne favorisant la survie de ces individus qui deviennent ainsi résistants à l'infection par le parasite.

B. LE SYSTEME KIDD

Représenté par 2 antigènes principaux : **Jka (JK1)** et **Jkb (JK2)** aussi immunogènes que les antigènes du système Duffy.

Deux allèles codominants localisés sur le chromosome 18, JK1 et JK2, déterminent l'expression des antigènes.

Il s'agit d'un système diallélique équilibré.

Fréquence des phénotypes Kidd

Génotype		Phénotype	Fréquence Caucasiens
Allèle 1	Allèle 2		
<i>Jka (JK1)</i>	<i>Jka (JK1)</i>	<i>Jk (a+; b-) (JK: 1; -2)</i>	<i>27 %</i>
<i>Jka (JK1)</i>	<i>Jkb (JK2)</i>	<i>Jk(a+; b+) (JK: 1; 2)</i>	<i>50 %</i>
<i>Jkb (JK2)</i>	<i>Jka (JK2)</i>	<i>Jk(a-; b+) (JK: -1; 2)</i>	<i>23 %</i>

Les anticorps anti-Jka (JK1) et anti-Jkb (JK2), très dangereux et relativement fréquents, doivent être systématiquement dépistés avant la transfusion.

C. LE SYSTEME MNS

Ce système doit prendre en compte deux antigènes principaux :

- **S** (grand S – **MNS3**)
- **s** (petit s – **MNS4**).

La fréquence de ces antigènes dans la population française s'établit respectivement à 70% pour **S** et 88% pour **s**.

Les anticorps anti-S (MNS3) et anti-s (MNS4) peuvent être responsables de réactions hémolytiques transfusionnelles et de maladies hémolytiques du nouveau né. De ce fait, ils doivent également être recherchés dans un contexte transfusionnel ou lors du suivi d'une grossesse.

VII. LES EXAMENS BIOLOGIQUES ET LA SECURITE IMMUNOLOGIQUE DES TRANSFUSIONS

A. LE GROUPE SANGUIN ABO-RH et Kell

Du fait des conflits immunologiques potentiels et de leurs conséquences, l'identification des antigènes ABO-RH et Kell demeure obligatoire avant toute transfusion sanguine. Cet examen nécessite une maîtrise absolue et sans défaut.

Des protocoles stricts et bien définis veillent au suivi tout au long de la chaîne allant du prélèvement au rendu du résultat biologique.

Le préleveur s'assure d'abord de la bonne identification de l'échantillon de sang, en vérifiant l'identité du patient de façon rigoureuse.

Toute erreur d'identité expose le patient à un risque de transfusion ABO incompatible, et donc à un risque d'accident hémolytique grave ou mortel (dans un cas sur 2 pour un individu de groupe O).

Au laboratoire, un groupe sanguin ne sera validé qu'après la réalisation de 2 déterminations du groupe, réalisées sur 2 prélèvements différents.

Une détermination du groupe ABO correspond à l'analyse simultanée des antigènes érythrocytaires (épreuve globulaire ou de Beth-Vincent) et des anticorps naturels plasmatiques (épreuve sérique ou de Simonin) par des techniques d'agglutination.

On doit, chaque fois, s'assurer de la concordance des 2 épreuves globulaire et sérique.

L'analyse des antigènes D, C, E, c, e et Kell suivent les mêmes principes en se limitant à l'étude de la réactivité des hématies par deux anticorps anti-D, anti-C, anti-E, anti-c, anti-e, et anti-Kell différents.

A l'heure actuelle, l'utilisation d'automates de groupages et de validation informatique des résultats, représente une avancée majeure dans la sécurité transfusionnelle.

B. LE PHENOTYPAGE ETENDU

Il s'agit de la détermination des différents antigènes immunogènes autres que Rhésus et Kell.

En pratique, on se limite le plus souvent à l'étude des systèmes Duffy, Kidd et MNS, mais de nombreux autres antigènes peuvent être déterminés si besoin est.

Le phénotypage étendu se préconise :

- chez tout sujet présentant une allo-immunisation post-transfusionnelle, dans le but de prévenir la production de nouveaux anticorps qui rendraient difficiles la sélection de culots globulaires compatibles lors de transfusions ultérieures ;
- chez la femme jeune avec antécédent d'immunisation fœto-maternelles ;
- dans les hémopathies chroniques (thalassémie, drépanocytose, anémies réfractaires) ou malignes.

La détermination du phénotype étendu chez ces sujets s'impose dès le diagnostic et avant les premières transfusions, car les transfusions répétées ultérieures vont gêner le phénotypage.

C. LA RECHERCHE D'ANTICORPS IRREGULIERS (RAI)

Le principe de la RAI repose sur la détection de l'existence d'anticorps irréguliers chez un patient en faisant réagir son sérum vis à vis d'une gamme d'hématies tests de groupe O et de phénotypes connus.

Ces hématies-tests présentent l'ensemble des antigènes potentiellement dangereux en transfusion sanguine (Rhésus, Kell, Duffy, Kidd, MNS, etc...).

Avant toute transfusion de globules rouges une Recherche d'Agglutinines Irrégulières s'impose (durée légale de validité : 3 jours) :

Mais ce qui serait recommandé :

- **24H** si transfusion < 3 semaines
- **72H** si le patient a eu une transfusion il y a plus de 3 semaines et moins de 6 mois
- **3 semaines** si pas de transfusion ou antécédents obstétricaux depuis moins de 6 mois

En post transfusionnel, le médecin prescrit une RAI. La recherche sera effectuée de préférence entre la 3ème et 5ème semaine car il s'agit du moment idéal pour détecter l'apparition d'un anticorps. En effet le taux plasmatique peut chuter jusqu'à devenir indétectable dans les semaines qui suivent.

La RAI fait partie du bilan de suivi de la femme enceinte, selon des modalités bien précises.

D. IV - L'EPREUVE DE COMPATIBILITE DIRECTE AU LABORATOIRE (EDC)

Il s'agit d'une RAI "personnalisée" qui consiste à mettre en présence le sérum du patient et les hématies à transfuser.

Cet examen ne peut donc être réalisé que dans le laboratoire de l'Etablissement Français du Sang, qui possède les échantillons d'hématies à transfuser.

Cette analyse complète la RAI (elle ne la remplace pas), et peut mettre en évidence des anticorps anti-"privés", c'est à dire des anticorps dirigés contre des antigènes rarement rencontrés dans la population, que l'on peut rencontrer chez la femme enceinte.

L'EDC s'applique :

- avec un résultat de RAI positif ou douteux (anticorps sans spécificité bien définie),
- et en cas d'antécédent de réaction hémolytique même mineure.

E. V - LE CONTROLE ULTIME AU LIT DU MALADE

Il s'agit de la vérification ultime de la compatibilité ABO entre le sang du receveur et du donneur, systématiquement réalisée "au lit du malade", immédiatement avant la transfusion de chaque culot globulaire (homologue et autologue)

Elle s'effectue sous la responsabilité directe du médecin qui prescrit la transfusion.

Elle comporte 2 phases :

- le contrôle de la concordance entre l'identité du patient et l'identité portée sur la carte de groupe sanguin, et entre le groupe sanguin mentionné sur cette carte et sur l'unité de sang à transfuser.

- la vérification des groupes ABO du receveur et de l'unité de sang à transfuser au lit du malade. Cela consiste à rechercher la concordance ABO entre le sang du receveur et le sang de la poche à transfuser, en faisant réagir les hématies avec des anti sérums connus.

~~~~~