



Transfusion sanguine

3^e année de médecine

Janvier 2014

Dr. Sophie Waldvogel

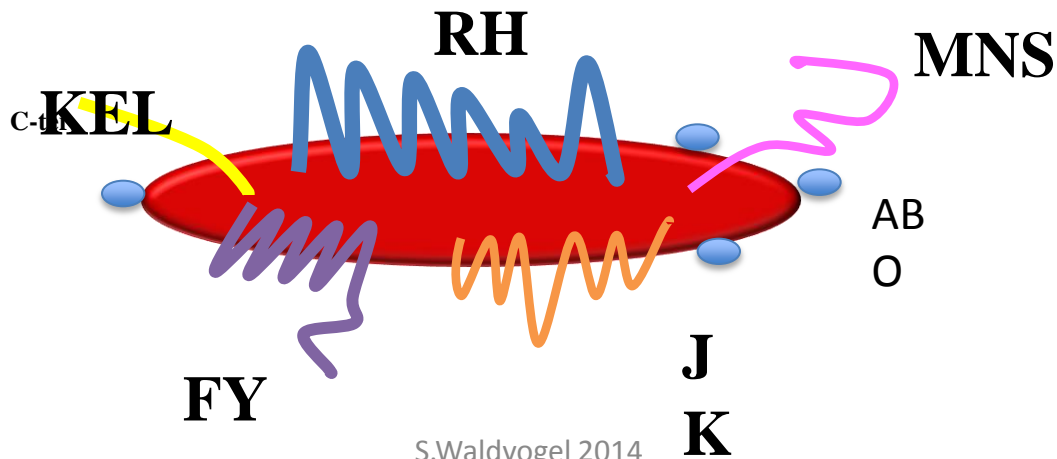
Médecin responsable du laboratoire
d'immuno-hématologie transfusionnelle

Objectifs (3^e année)

- Groupes sanguins d'intérêt clinique
- Pathologies liées aux anticorps anti-érythrocytaires
- Techniques immuno-hématologiques de base
- Compatibilité ABO en transfusion
- Test pré-transfusionnels et contrôle ultime au lit du malade

Plan (3^e année)

- Groupes sanguins : nature biochimique et fonction; classification; nomenclature; implication clinique.
- L'acte transfusionnel

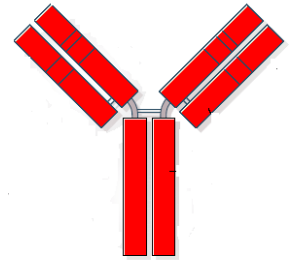


Groupes sanguins érythrocytaires

- Ensembles d'antigènes allotypiques, exprimés à la surface des érythrocytes, d'origine protéique ou glucidique, transmis génétiquement, qui par la biais d'un anticorps peuvent s'opposer aux grossesses et aux transfusions.

Dans tous les cas, un anticorps polyclonal humain est identifié.

AC dirigé contre un antigène



Auto-anticorps

Allo-anticorps

Antigène de l'individu :
anémie hémolytique
autoimmune

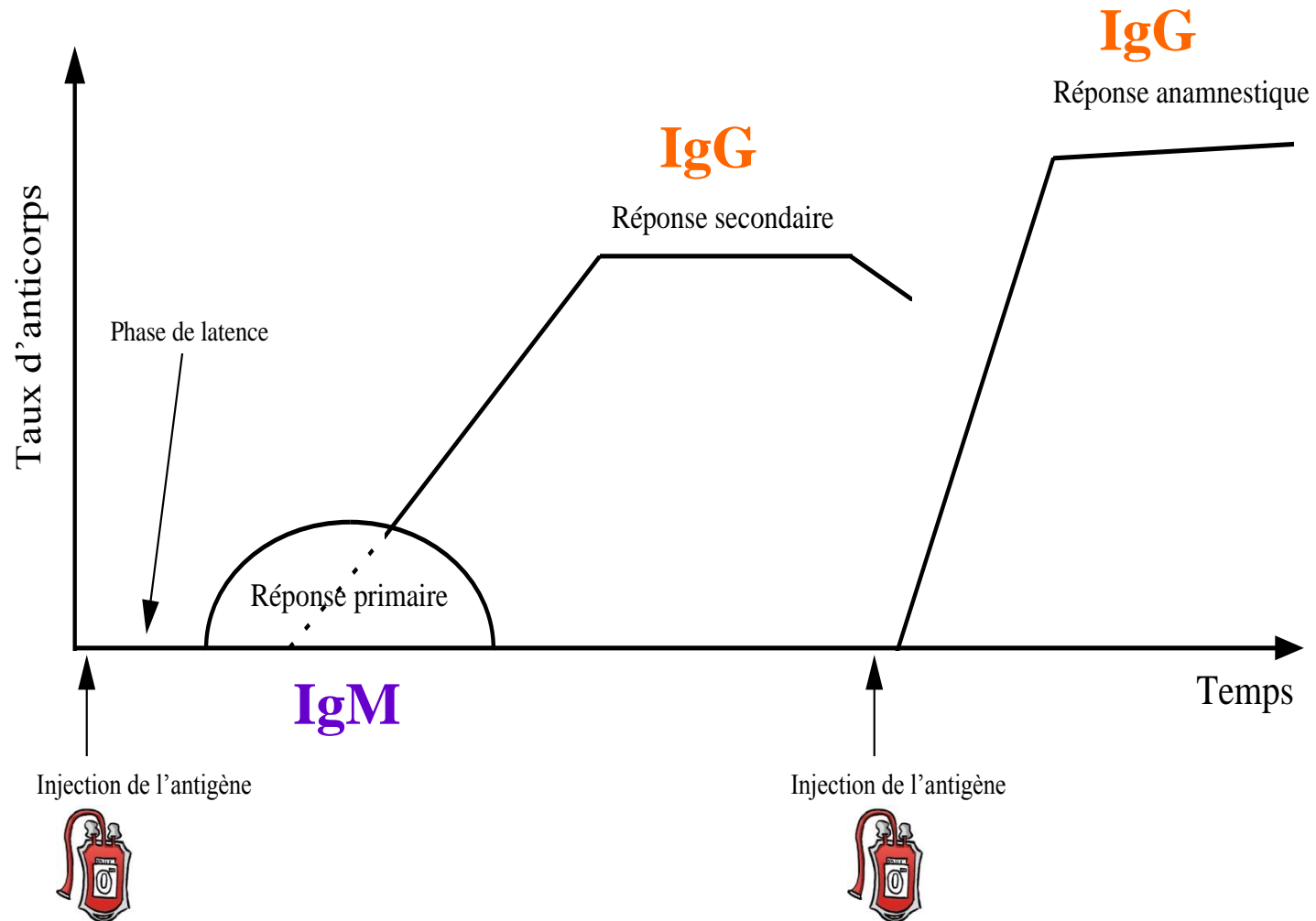
Antigène de l'individu de
la même espèce :
alloimmunisation

Anticorps en immuno-hématologie

- Hétéroanticorps (allo-anticorps naturels):
IgM >> IgG
- Alloanticorps : IgG >> IgM
- Autoanticorps chauds : IgG >> IgA, IgM
- Autoanticorps froids : IgM >> IgA, IgG

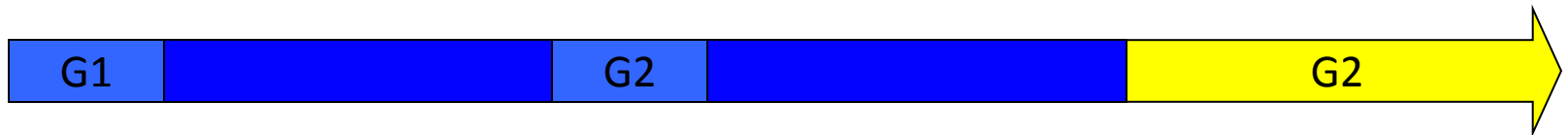
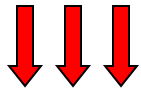
IgM : ne franchissent pas la barrière placentaire.

Alloimmunisation transfusionnelle



Allo-immunisation obstétricale (exemple)

- patiente 3G-2P
 - 2003 : Enfant mort in-utero (39SA)
 - 2005 : AVB (enfant O-) ; mise en évidence d'anti-D et anti-C durant grossesse.
- Ø laboratoire : 3^e grossesse de 26SA ; anti-D (1/2048)
indication doppler à la transfusion fœtale (>1.5M).



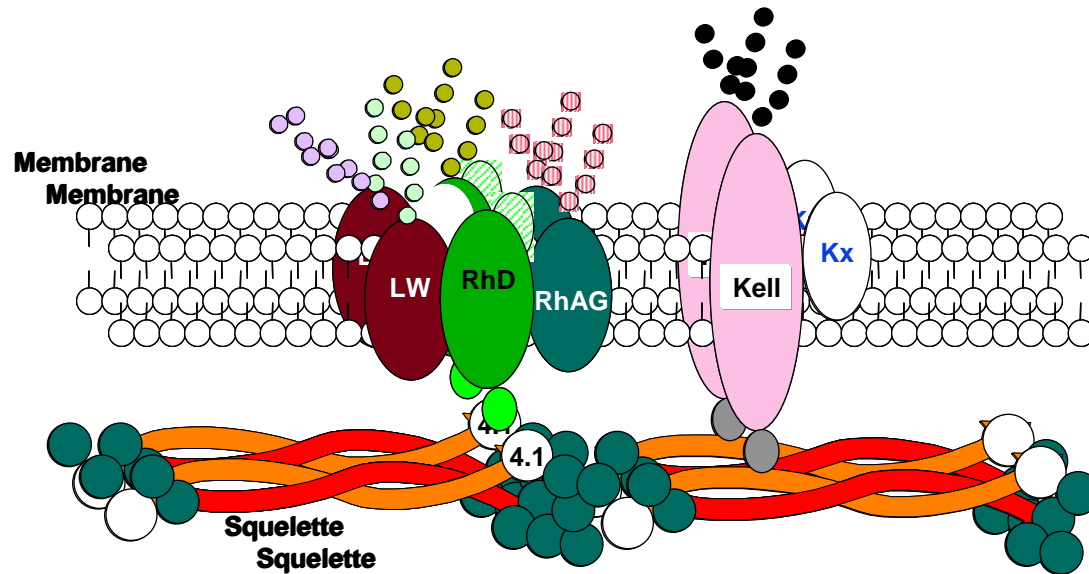
 anti-D anti-C

En 2013

- 339 antigènes répartis en 33 (297 antigènes) systèmes, collections ou séries
- Antigènes courants d'importance transfusionnelle ou obstétricale :
ABO, RH, KEL, FY, MNS, JK

Groupes sanguins : fonction

- Parfois plus qu'un antigène...



Groupes sanguins : répartition tissulaire

- Expression variable d'un tissu à l'autre :
Érythropoïétique (RH)
Hématopoïétique (HLA classe II)
Cellules de l'ensemble de l'organisme (ABO)

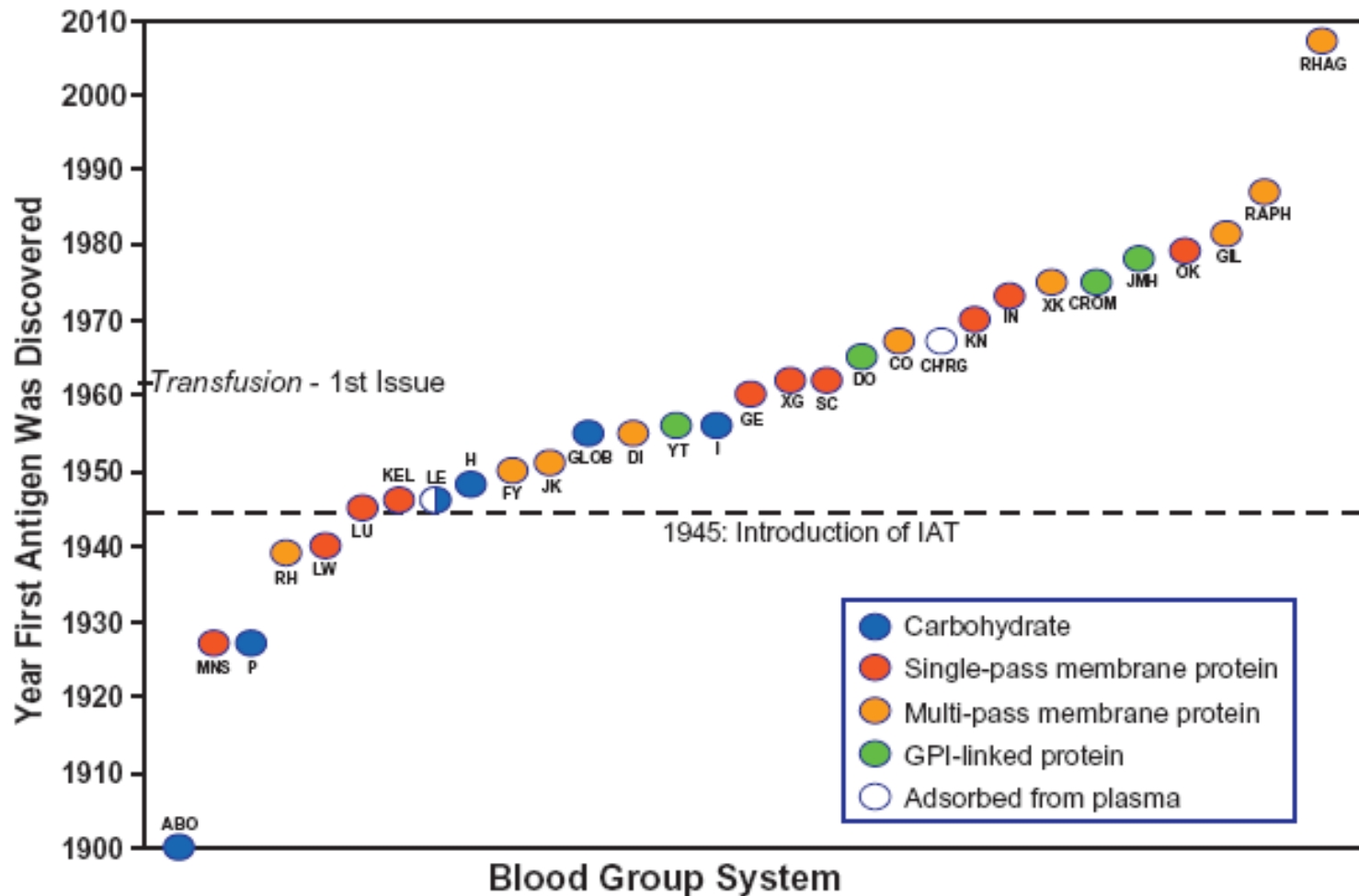
Certaines particularités des antigènes érythrocytaires

- Certains AG ne sont pas produits par les érythroblastes mais **adsorbés** à la surface des hématies : CH, RG, LE

Les antigènes **anti-thétiques** résultent l'expression de variants alléliques d'un même gène et sur la même position.

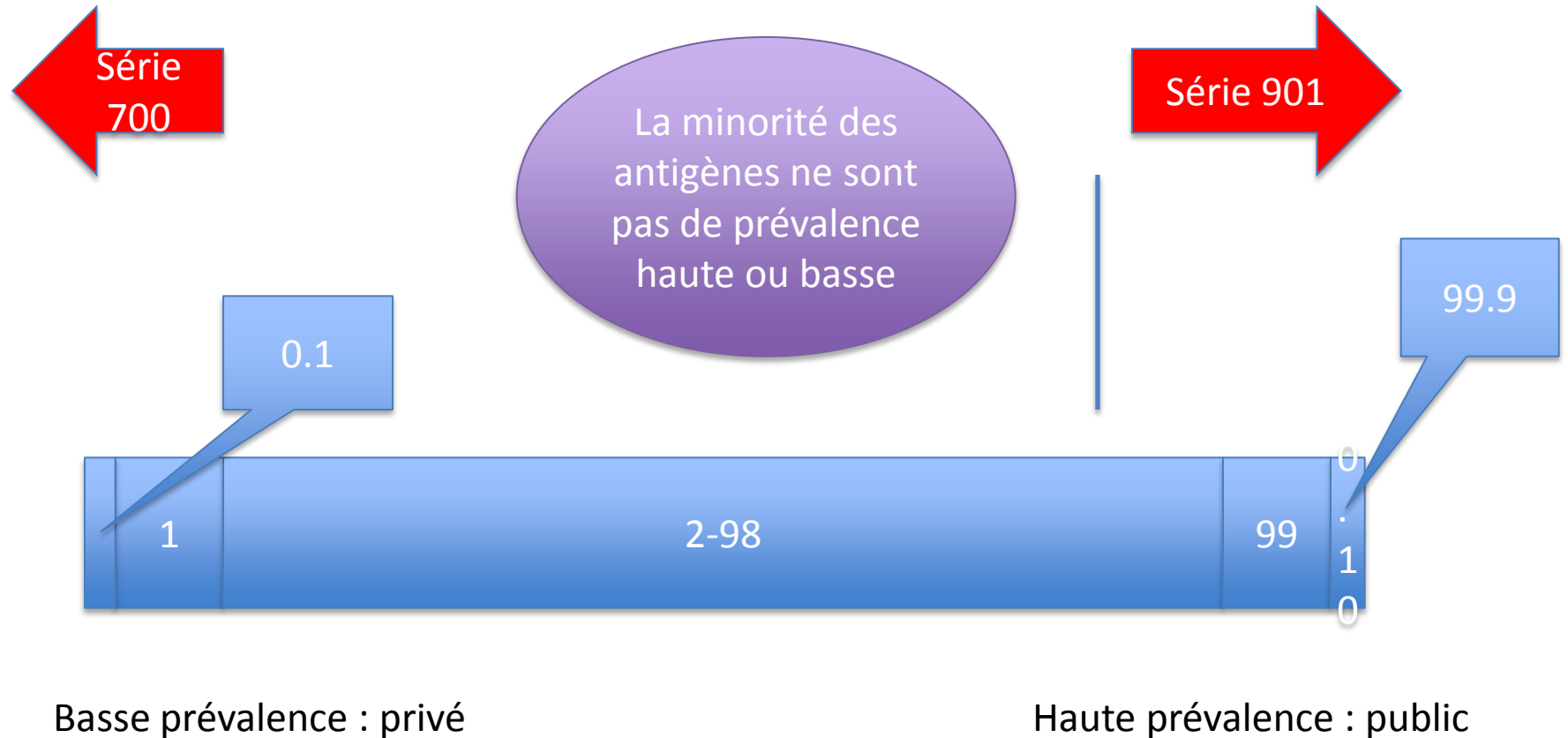
Ex : KEL1 → KEL2, 578 C>A

Des antigènes antithétiques sont **équilibrés** s'il y a autant de cas hétérozygotes que homozygotes (ex : JK1 et JK2)



G.Daniels TRANSFUSION 2010;50:281-289●

Prévalence des antigènes érythrocytaires



Prévalence : RHD négatif

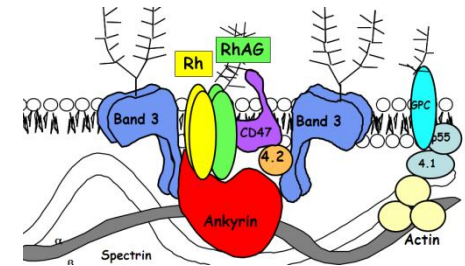
- Caucasiens : 15% ; **délétion complète du gène.**
- Asiatiques : <1% ; majoritairement délétion complète du gène.
- Noir-Africains : \approx 3-5% dont 66% **gène Ψ (pseudogène)** ; 15% **gène hybride RHD-(C)ce-D^s** ; sinon délétion.

Nature biochimique des antigènes érythrocytaires

- Epitopes **de nature glucidique**, dont l'antigène est une glycoprotéine ou un glycolipide
 - ABO
- Epitopes de **nature peptidique** portés par des protéines ancrées dans la membrane erythrocytaire
 - Via un domaine: Duffy
 - via plusieurs segments transmembranaires : Rhésus
 - via glycosylphosphate inositol: Cromer

Antigène Rhésus

- Protéine 417 AA
- 97% homologie avec RHCE
- Transport CO_2 et ammonium
- Absence de site de glycosylation
- Associée au complexe RH (RHCE, LW, Glycophorine, bande 3 , RHAg)



Antigène Jr

- Système 32, introduit en 2012, déséquilibré.
- ABC (ATP binding cassette) ou BCRP (breast cancer resistance proteine)
- Glycoprotéine P
- Efflux actif transmembranaire de substance (ex : anthracyclines,...)
- Individus Jra neg? Risque de toxicité?

Classification en cinq catégories fonctionnelles des antigènes

- Transporteurs et canaux : RH, Jr
- Récepteurs et ligands : LU
- Molécules d'adhésion
- Enzymes : KEL, DI, YT
- Protéines de structure

TARSE

Antigènes et maladies infectieuses

- O : tendance hémorragique ↑ (taux de fVW diminué)
- P1 : récepteur Parvovirus B19
- Lewis et H : récepteur pour H. pylori
- FY : -1,-2, protection plasmodium vivax
- MNS : -5, protection plasmodium falciparum
- XG :-1, granulomatose chronique
- AnWj (série 901) : récepteur H. Influenzae

Transfusion medicine reviews, vol 14, 2000: 291-301

Nomenclature



- Société Internationale de Transfusion Sanguine (ISBT) : critères de validation 1980
- Groupes : système, collections ou séries
- Code numérique à 6 chiffres : système (001-026), la collection (205-210) ou la série (700 ou 901)

Classification (selon le niveau de connaissance scientifique de l'antigène)

- **Systèmes : RH, P1PK, MNS, KEL, FY**

- **Collections : VEL, COST...**

- **Séries :**

Antigènes de **faible fréquence**, série 700
(low incidence antigens, 700 series) ex : Batty

Antigènes de **haute fréquence**, série 901
(high incidence antigens, 901 series) ex : Sid

Systèmes

- Les systèmes de groupes sanguins sont constitués **d'antigènes contrôlés par**
 - un seul locus chromosomique ou par
 - 2 ou plusieurs gènes en relation étroite et ayant peu ou pas de recombinaisons méiotiques entre eux (haplotypes).
Exemple : RH, MNS

Définis
génétiquement

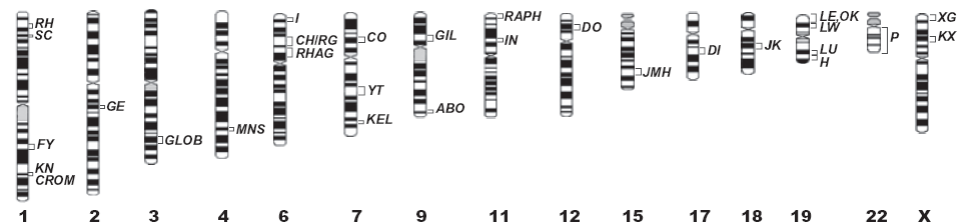


Fig. 2. Blood group systems and their chromosome assignments. The location of genes encoding blood groups on 15 of the chromosomes are depicted.

Terminologie ISBT

- Nomenclature usuelle :
- Ex : $Fy(a+b-)$
- Nomenclature internationale :
- Ex : FY:1,-2
- www.isbt.org

www.gene.ucl.ac.uk

HUGO

- Certains gènes ont déjà été « baptisés » avant qu'ils soient connus comme appartenant à des groupes sanguins.
- Ex : Cartwright (YT) est un antigène codé par le gène *ACHE*.

Nomenclature et terminologie

- Les antigènes sont indiqués par un code alpha-numérique ou numérique :
 - Les 3 premiers correspondent au groupe
 - **Kell 006**
 - Les 3 derniers à la spécificité
 - **Kp^a: 006003**
 - Il est aussi possible de décrire un antigène en utilisant le symbole du système
 - **KEL003** ou **KEL3**

Nomenclature et terminologie

- Les phénotypes sont indiqués par :
 - le **symbole du système**
 - suivi de la liste des numéros des antigènes
 - séparés par une **virgule**
 - Les **antigènes absents** de la membrane érythrocytaire sont **précédés du signe moins**
 - **KEL** :-1,2,-3,4

Nomenclature et terminologie

- Les gènes sont indiqués par:
 - le **symbole du système en italique**
 - suivi d'un **espace** ou d'un astérisque (*),
 - puis **du numéro de l'antigène**
 - ***KEL* 3**

!≠ locus : 7q32q36

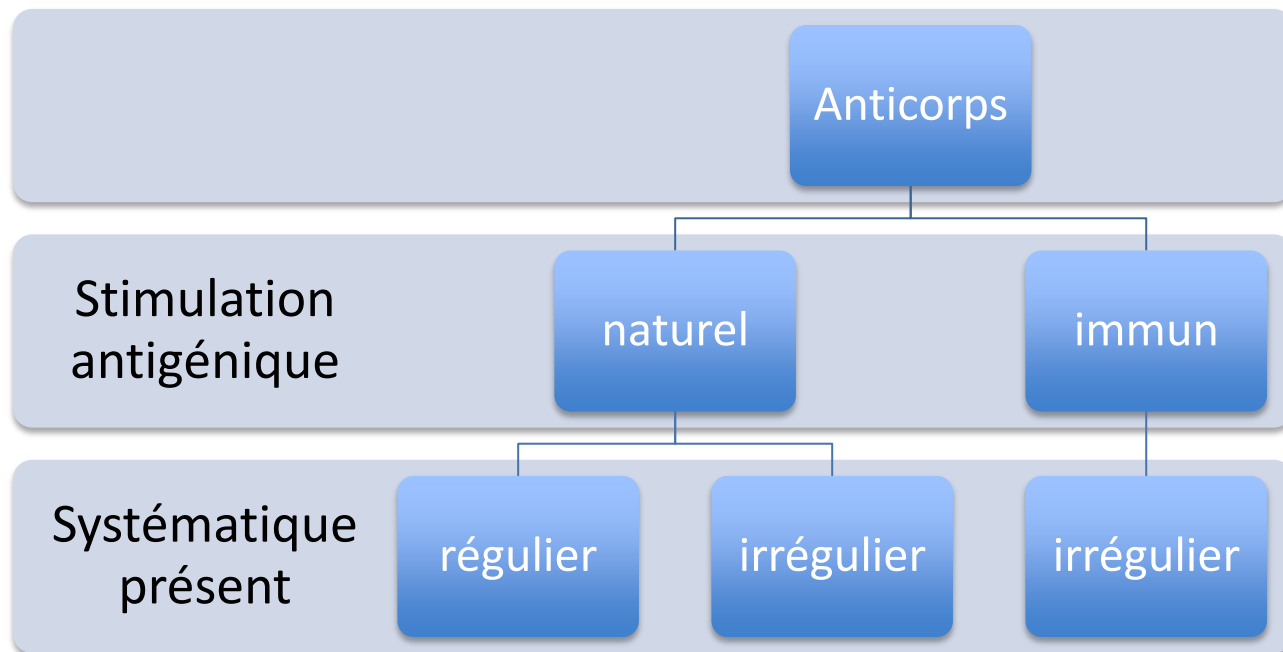
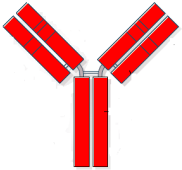
Nomenclature et terminologie

- Les génotypes sont indiqués en *italique* par:
 - le **symbole du système**
 - suivi d'un **astérisque**
 - suivi des **numéros des gènes, allèles ou haplotypes**, séparés par une **barre oblique**
 - ***KEL*2,3/2,4***
 - Les **gènes amorphes** sont indiqués par un ***0***
 - ***KEL*2,3/0***

Exemples de nomenclatures d'antigène, de phénotype, de gène et de génotype

	Nomenclature traditionnelle	ISBT (SITS)
Antigène	Lu ^a	005001 ou LU1
Phénotype	Lu(a-b+)	LU :-1,2
Gène	Lu ^a	LU*1
Génotype	Lu ^b Lu ^b	LU*2/2
	Lu ^a Lu ⁸ /Lu ^b Lu ¹⁴	LU*1,8/2,14

Anticorps : classification



Analyses effectuées au laboratoire d'immuno-hématologie

Groupe ABO et Rhésus

Phénotypes autres systèmes

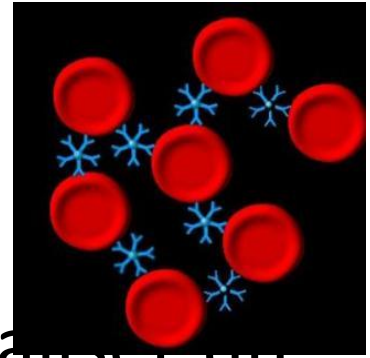
Test direct de Coombs

Test de Coombs indirect

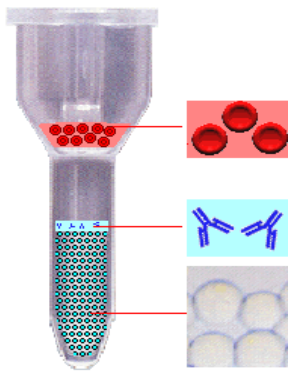
Test de compatibilité

HUG Hôpitaux Universitaires de Genève DMGL-Service de Médecine de Laboratoires LABORATOIRE D'IMMUNO-HEMATOLOGIE TRANSFUSIONNELLE Tél: 022 372 72 70 - Fax 022 372 72 90 mail: Reception.Lst@hug.ch		INFORMATIONS CONCERNANT LE PATIENT Nom : Nom de jeune fille : Prénoms : Service : BipiG :	
		<div style="border: 2px solid red; padding: 5px; color: red; text-align: center;"> Formulaire incomplet Original papier à 4 feuillets à commander au Magasin article 16336 </div>	
FORMULAIRE POUR DEMANDE HUG EN CAS DE PANNE INFORMATIQUE ET REAPPROVISIONNEMENT DES DUV <u>Obligatoire pour tous les nouveau-nés de moins de 3 mois : identité complète de la mère</u> Nom : Prénom : Date de naissance :			
ANALYSES : Date et heure du prélèvement : Le à h. <input type="checkbox"/> Groupe sanguin adulte et RAI (recherche d'anticorps irréguliers) <input type="checkbox"/> Groupe sanguin nouveau-né <input type="checkbox"/> sang de cordon <input type="checkbox"/> veineux <input type="checkbox"/> capillaire <input type="checkbox"/> Test direct à l'anti-globuline (Coombs direct) <input type="checkbox"/> Recherche d'agglutinines froides (doit arriver au LHT sans délai après prélèvement et à une température la plus proche possible de la température corporelle) <input type="checkbox"/> Autres (à préciser) :			
PRODUITS SANGUINS : indiquer la quantité dans la case			
HUG Cluse-Roseaie Degré d'urgence : <input type="checkbox"/> NORMAL 1 heure si RAI négative, > 1 heure si RAI + et/ou profil immuno-hématologique complexe <input type="checkbox"/> EXTREME URGENCE 20 mn bâtiment des lits, 25 mn maternité/pédiatrie Le sang sera donné sans tests sous la responsabilité du médecin prescripteur <input type="checkbox"/> Concentré érythrocytaire <input type="checkbox"/> Plasma frais congelé <input type="checkbox"/> Concentré plaquettaire Qualification spéciale : <input type="checkbox"/> Irradié <input type="checkbox"/> CMV négatif <input type="checkbox"/> Autres (à préciser) :		HUG hors Cluse-Roseaie Transfusion prévue le (date) : <input type="checkbox"/> Concentré érythrocytaire <input type="checkbox"/> Plasma frais congelé <input type="checkbox"/> Concentré plaquettaire Qualification spéciale : <input type="checkbox"/> Irradié <input type="checkbox"/> CMV négatif <input type="checkbox"/> Autres (à préciser) : Les commandes doivent parvenir la veille de la transfusion au LHT. En cas d'urgence non anticipée, contacter le laboratoire.	
ENTREPOSAGE : Réservé aux chirurgies à risque : <input type="checkbox"/> Concentré érythrocytaire <input type="checkbox"/> Irradié <input type="checkbox"/> CMV négatif Transfusion prévue le (date) : Motif :			
REAPPROVISIONNEMENT DUV (DEPOT D'URGENCE VITALE) : indiquer la quantité dans la case Concentré érythrocytaire <input type="checkbox"/> O+ <input type="checkbox"/> O- Unité :			

Hémagglutination



- Technique de base permettant de visualiser un résultat immunohématologique.
- Favorisé par la centrifugation, le réactif de LISS et le réactif de Coombs.



gel

positif



tube

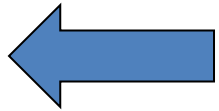
Matériel de laboratoire

Phénotype?
ABO : épreuve
globulaire

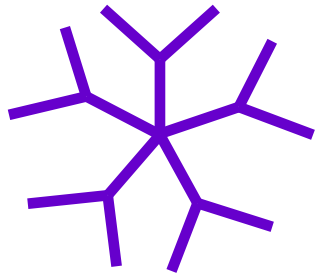


rlm0056 www.fotosearch.com

Anticorps irréguliers
ou autoanticorps
ABO : épreuve sérique



Hématies
à tester



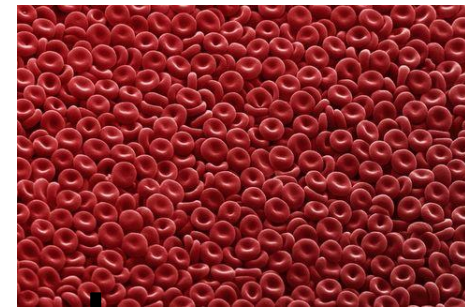
serum-test



Plasma
à tester



hématies-test

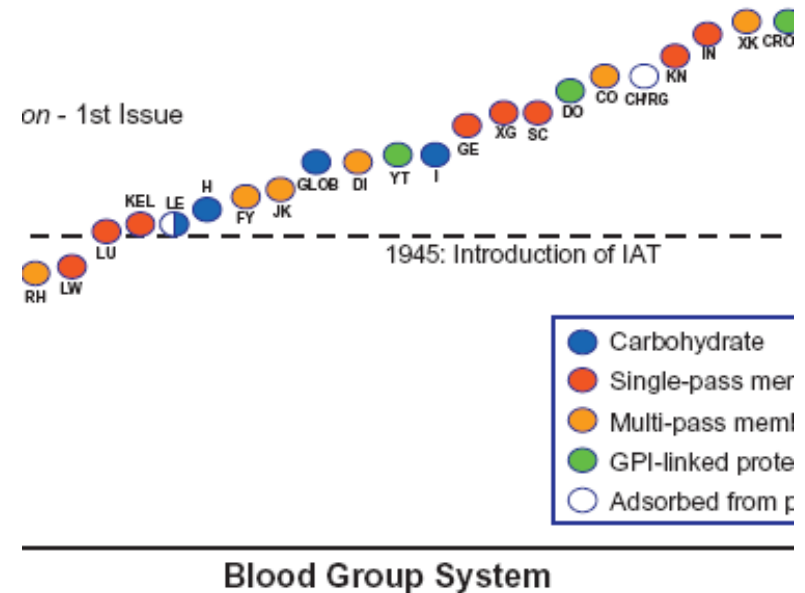
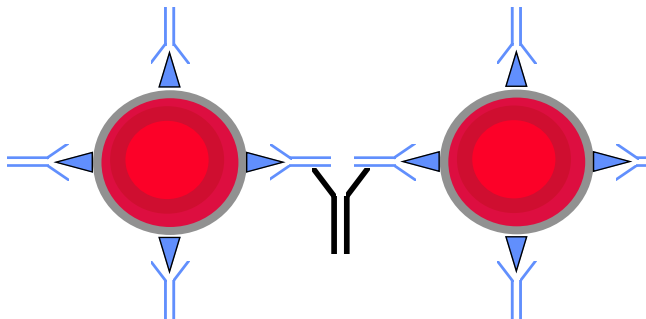


Solutions et réactifs de Coombs

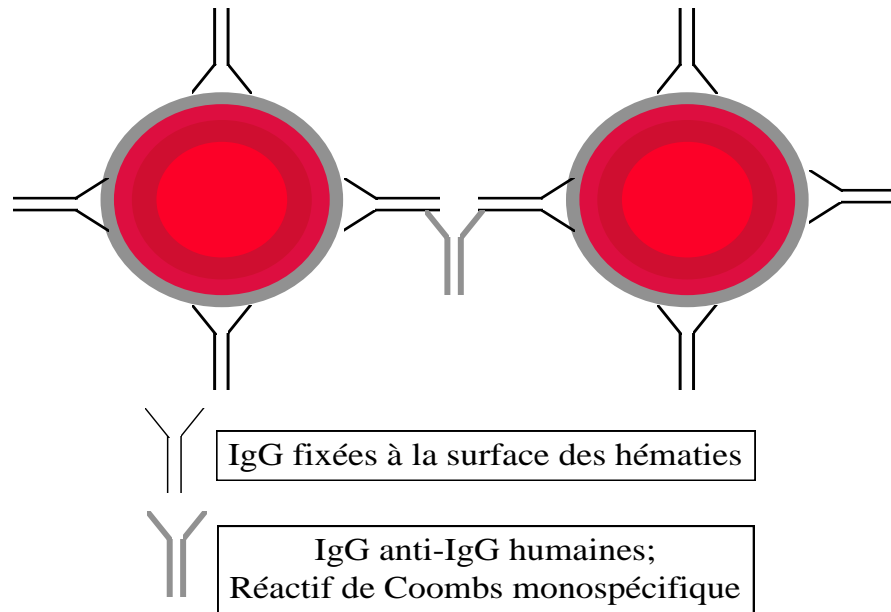


Réactif de Coombs

- Anticorps anti-anticorps humain qui favorise l'agglutination d'hématies couvertes d'anticorps.



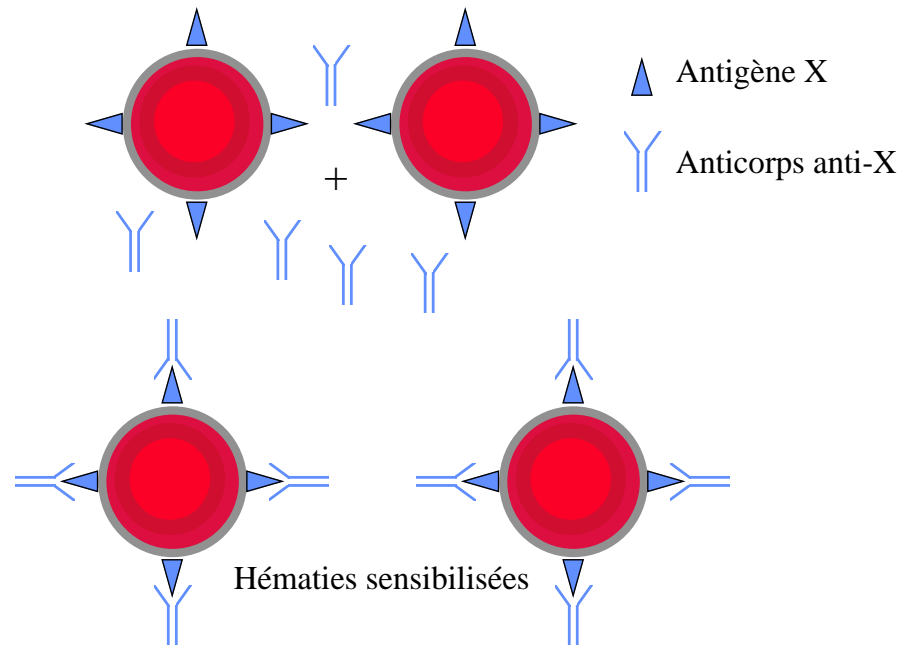
Test de Coombs direct



Les anticorps sont fixés in vivo (1 étape)

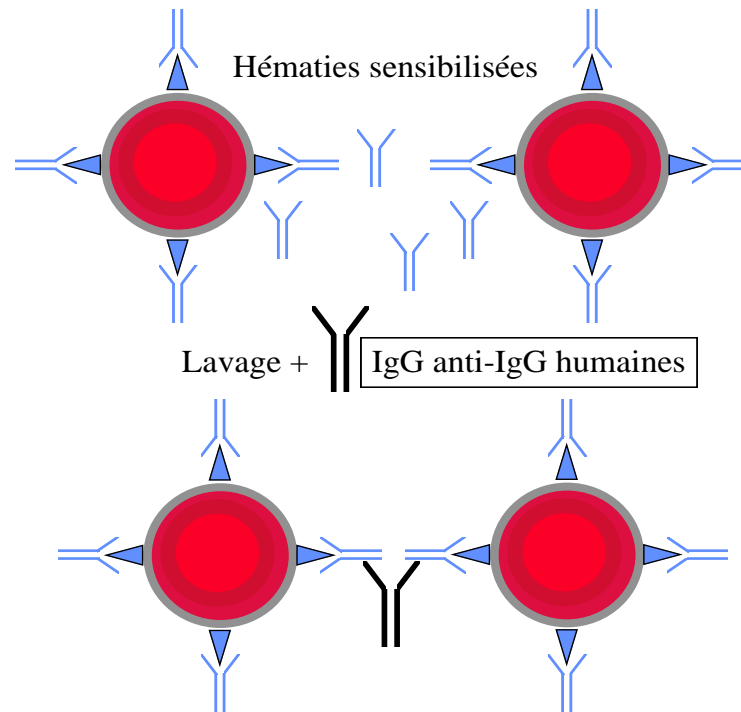
Après lavage des globules rouges (élimination des Igs plasmatiques), le réactif de Coombs est ajouté (**IgG anti-IgG humaines**). Création de **ponts** entre les **IgG fixées** à la surface des hématies **permettant de détecter une agglutination**

Test de Coombs indirect: première étape



- **Sensibilisation des hématies.** On incube des hématies avec un plasma/sérum contenant des anticorps (anti-X) ou avec un antisérum anti-X. **Si l'antigène X est présent à la surface des hématies, les anti-X se fixent sur les globules rouges.**

Test de Coombs indirect: **seconde** **étape**



- Après lavage des hématies, **on ajoute du réactif de Coombs**. La présence d'une agglutination traduit une réaction entre les antigènes X des hématies et les anticorps anti-X du plasma/sérum.

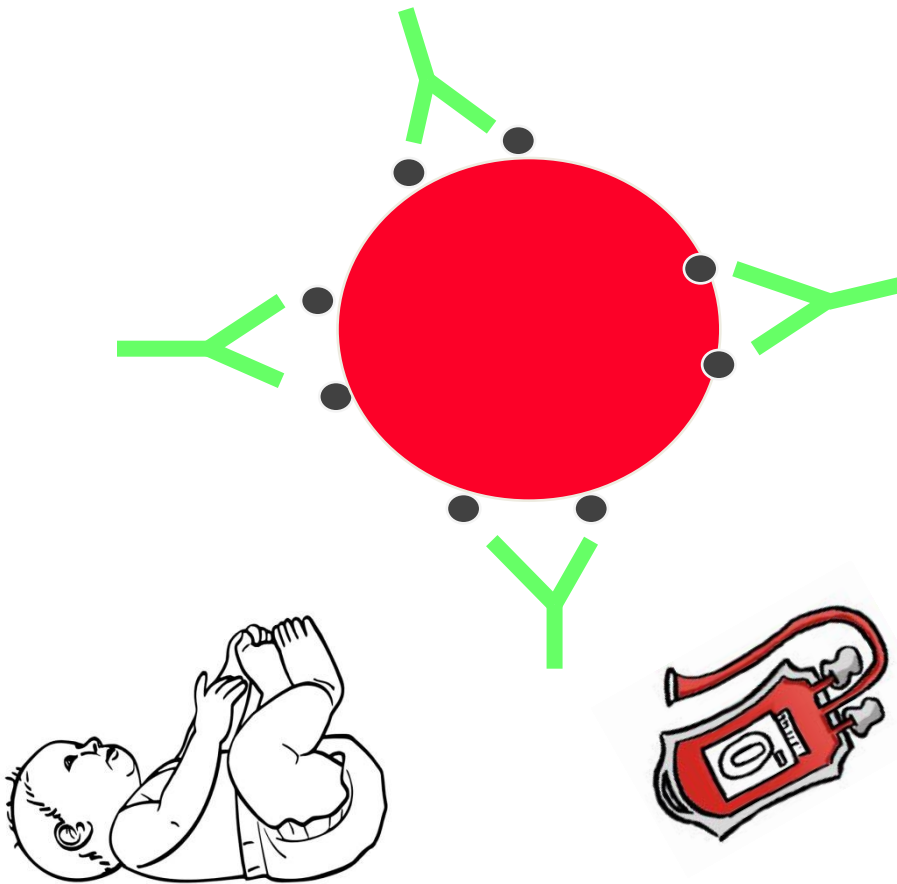
Test direct à l'antiglobuline = test de Coombs positif

Diagnostic différentiel :

Maladie hémolytique du nouveau-né
(enfant)

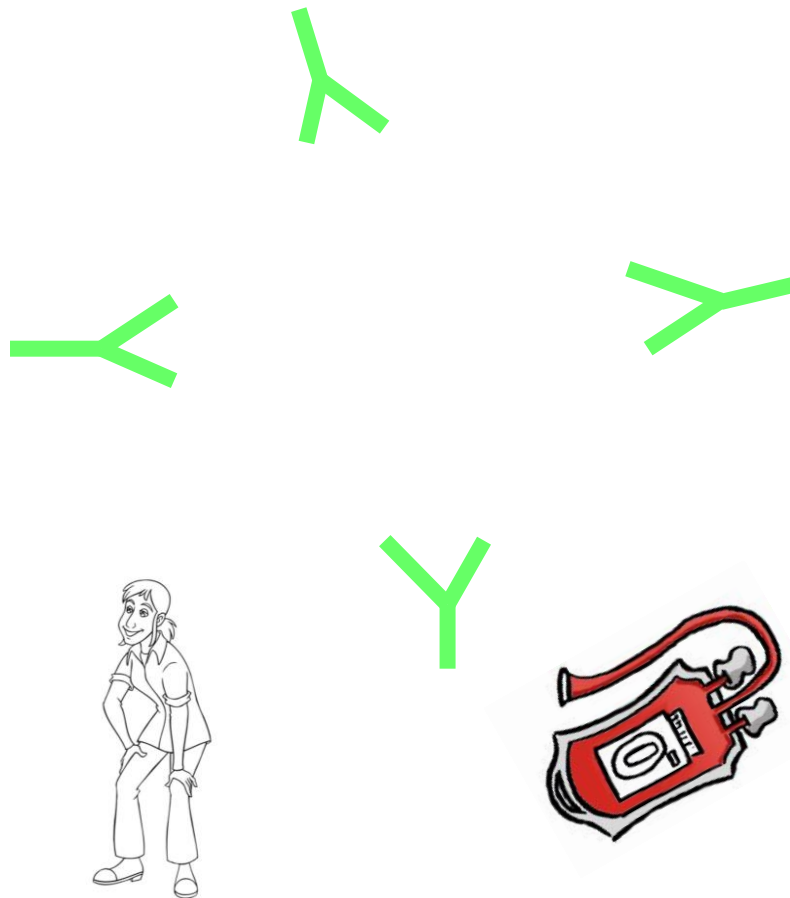
Autoimmunité

Alloimmunisation post-transfusionnelle



Anticorps fixés

Test indirect à l'antiglobuline = test indirect de Coombs : positif




Diagnostic différentiel :

Maladie hémolytique du nouveau-né
Autoimmunité
Alloimmunisation post-transfusionnelle

Anticorps circulants

Dépistage (anticorps irrégulier)



DiaMed-ID
Micro Typing System
CE
0123

Antikörper-Suchtest

Antigen screening

Recherche d'anticorps

ID-DiaScreen

Antigen-Tabelle

Antigen-Table

Table d'antigènes

Rbtr	Spender Donor	Donneur	Antigen-Table																Spzr. Antigene sensit types sensibil part	Resultat Result Résultat	LUS/Coombs	Enzyme	4°C									
			D	C	E	e	C	K	K ₂	D ₂	a	b	a ₂	b ₂	Lu	a ₁	b ₁	F						MNS	S	s	Lu ^a	Lu ^b	Xg ^a	Xg ^b	Xg ^c	
I	C ⁺ CD ⁻ ee	R ₁ *R ₁	202482	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	+	+	M					
II	cCD ⁻ EE	R ₂ R ₂	434789	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	M					
III	ccddee	rr	128246	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	0	+	+						
IV	CCD ⁻ ee	R ₁ R ₁	066097	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	+	M					
V	C ⁺ CD ⁻ ee	R ₁ *R ₁	050079	+	+	0	0	+	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	M					
VI	cc ⁻ EE	R ₂ R ₂	972694	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	F					

Spzr. Antigene
sensit types
sensibil part

I	05900 54 y	IV	05930 54 y
II	05910 54 y	VP	05940 54 y
III	05920 54 y	VIP	05950 54 y

(Japan: 0594 54 yy)
(Japan: 0595 54 yy)

Die farblich gekennzeichneten Antigene können im Enzymtest unterdrückt oder zerstört werden.
Shaded columns indicate antigens destroyed or diminished in reactivity by enzyme treatment.
La réaction peut être inhibée avec les antigènes des systèmes MNSs, Duffy et Xg, si les hématies sont traitées avec enzymes protéolytiques.

s = stark/strong/fort
w = schwach/weak/faible
nt = nicht getestet/not tested/pas testé

V.I.P. Software Ch.-B.:
V.I.P. Software lot no.:
V.I.P. Software no. lot:

S632

LOT

Set I-VI	45070 54 y	Set I-IV	45200 54 y
Set V+VI	45210 54 y	Set V+VI	45210 54 y

(Japan: 4521 54 yy)

Exponkontrolle
Autocontrol
Autocontrôle

2009.12.21
(Japan: 21.12.09)

Name/name/nom

Blutgruppe + Antigene
Bloodgroup + antigens
Groupe de sang + antigènes

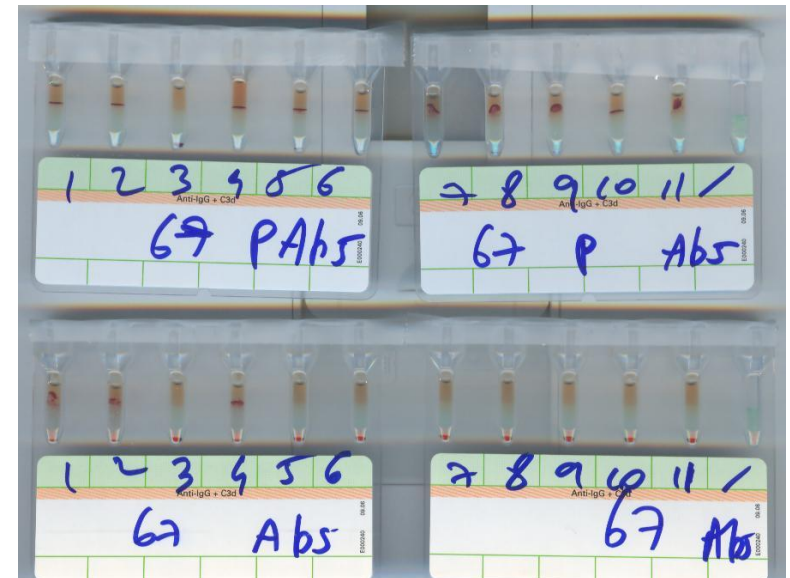
Interpretation
Interpretation
Interprétation

Untersuchungsdatum
Examined on
Date de l'analyse

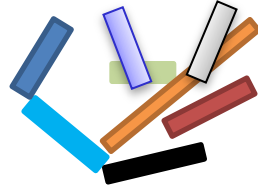
000419 - 08-08

20-09-2009/11-10

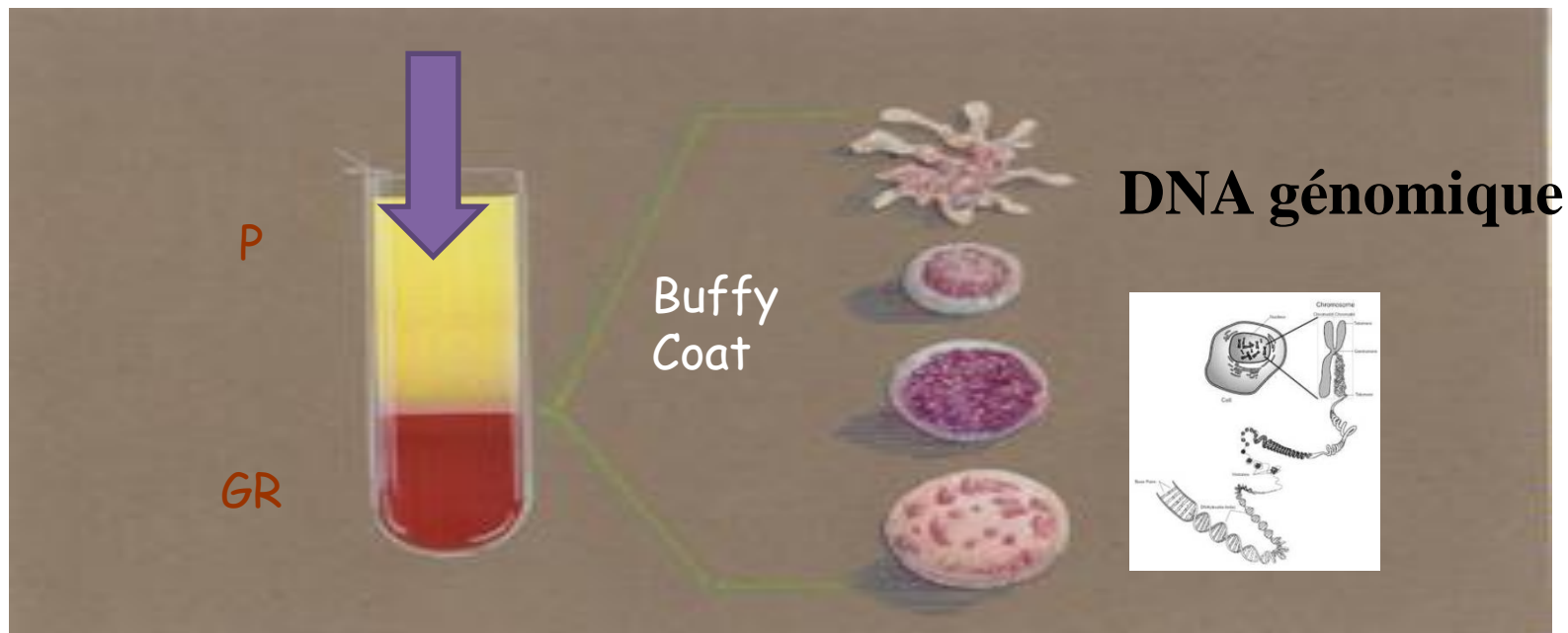
DiaMed GmbH, 1180 Grenchen (FR), Switzerland - www.dia-med.com



échantillons d'analyse : génotypage (biologie moléculaire)



DNA extra-cellulaire

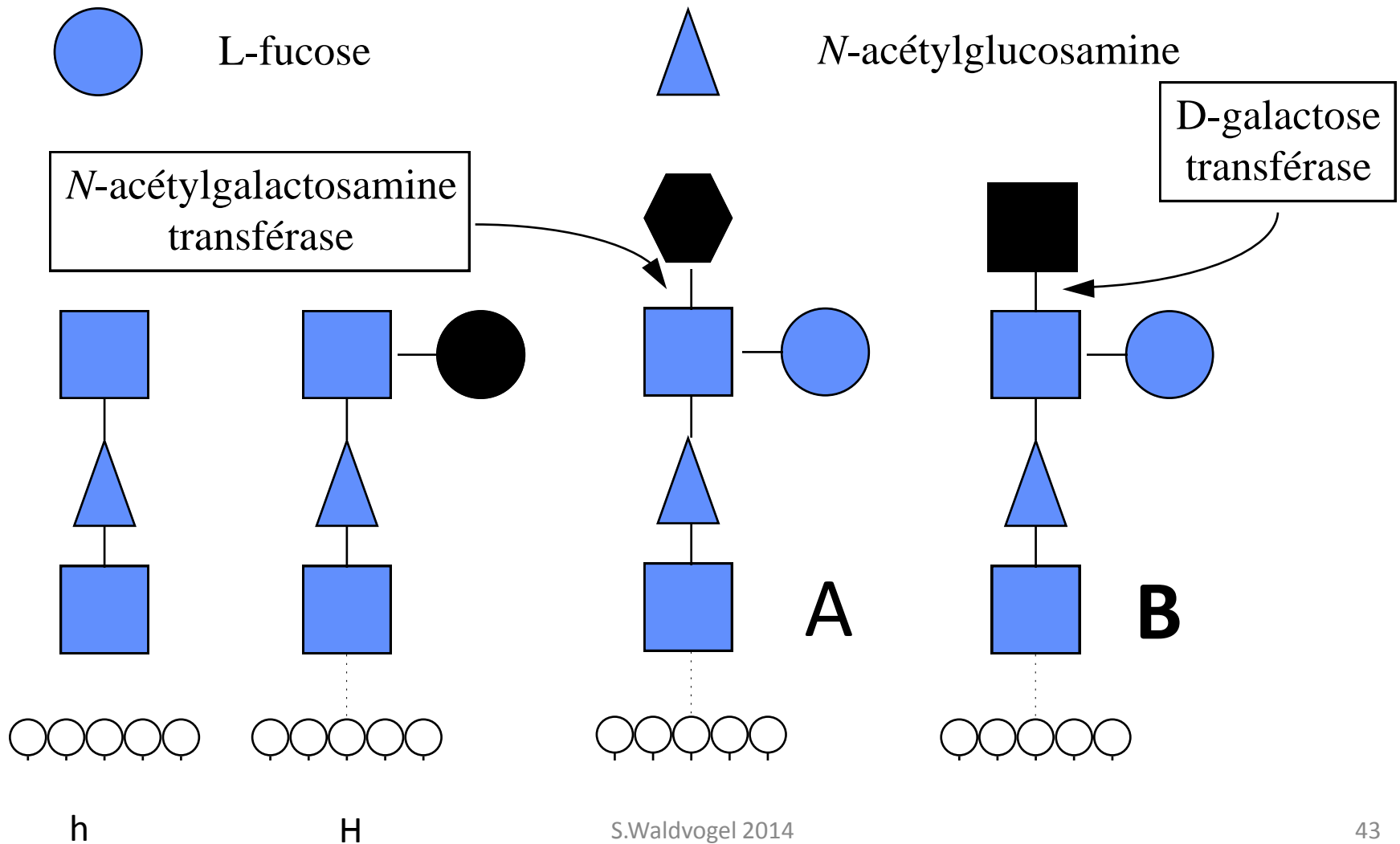


Groupe ABO

- Épitopes glucidiques
- Anticorps naturels et réguliers
- Encore aujourd'hui, accidents transfusionnels les plus fréquents, les plus dangereux et les plus facile à éviter.



Groupe ABO



ABO

Système	Symbole	Numéro	Ag	Ag. associés	Locus
ABO	ABO	001	4		9q34

Double définition du système ABO

	Antigènes érythrocytaires	Hétéroanticorps
Groupe A	A	Anti-B
Groupe B	B	Anti-A
Groupe O	H	Anti-A, -B, -AB
Groupe AB	A, B	-



ABO

La compatibilité dans le système ABO doit être respectée lors de transfusions de globules rouges et de plasma, en raison du risque de complications sévères en cas d'incompatibilité. Il en va de même lors des greffes d'organes solides.



Signification clinique des anticorps du système ABO

La transfusion de sang incompatible dans le système ABO est généralement immédiatement suivie par une **réaction hémolytique**, pouvant causer une **coagulation intravasculaire disséminée**, une **insuffisance rénale** et la mort.

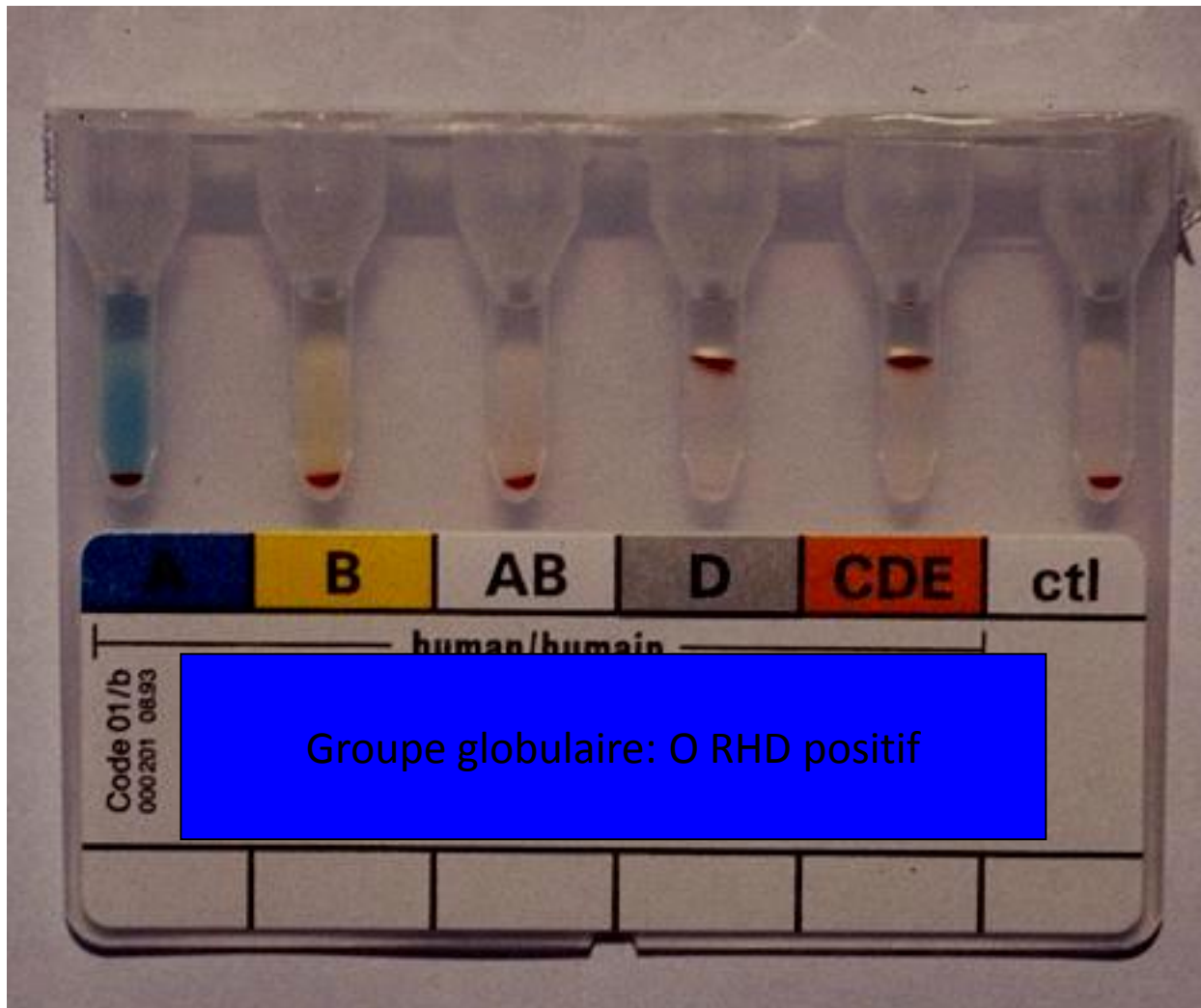
Groupage ABO

La détermination des groupes ABO est basée sur 2 épreuves complémentaires:

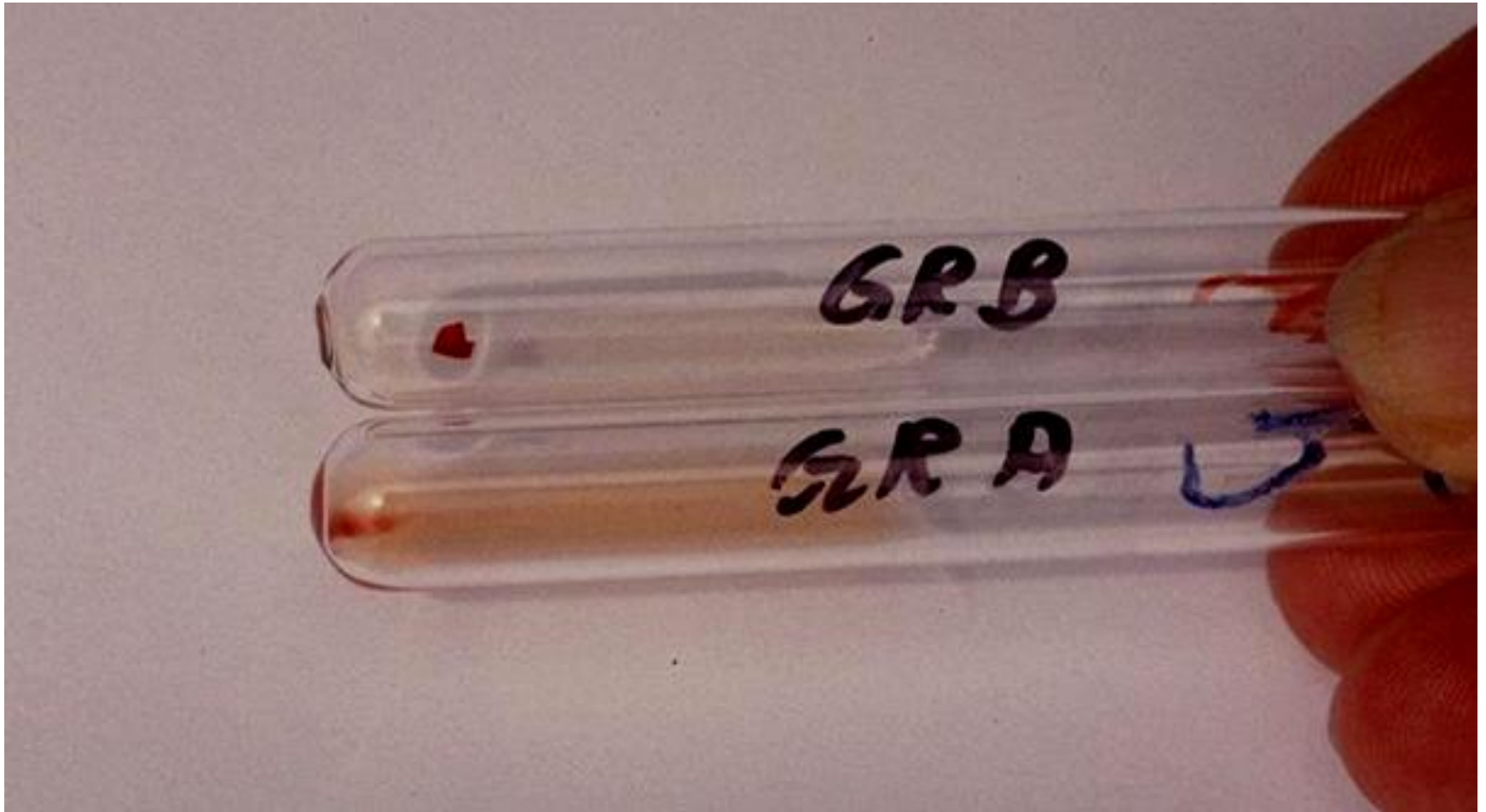
L'épreuve globulaire (Beth-Vincent)

L'épreuve plasmatique (Simonin)

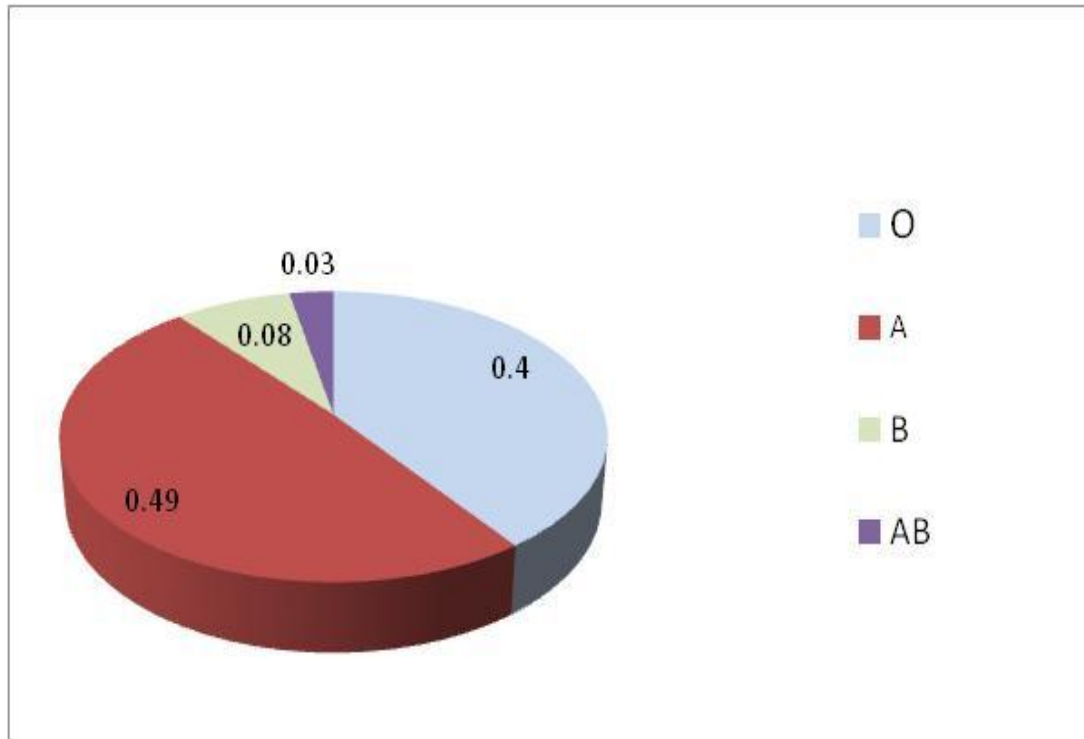
Epreuve globulaire



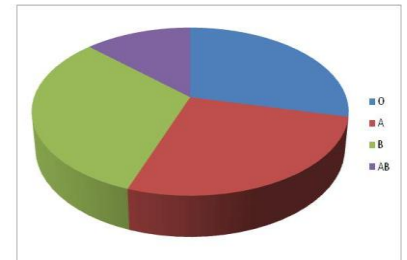
Epreuve sérique



Répartition des groupes sanguins (Suisse)



Beijing



Production : concentré érythrocytaire, plasma et mélange de plaquettes



prélèvement



centrifugation



séparation

plasma

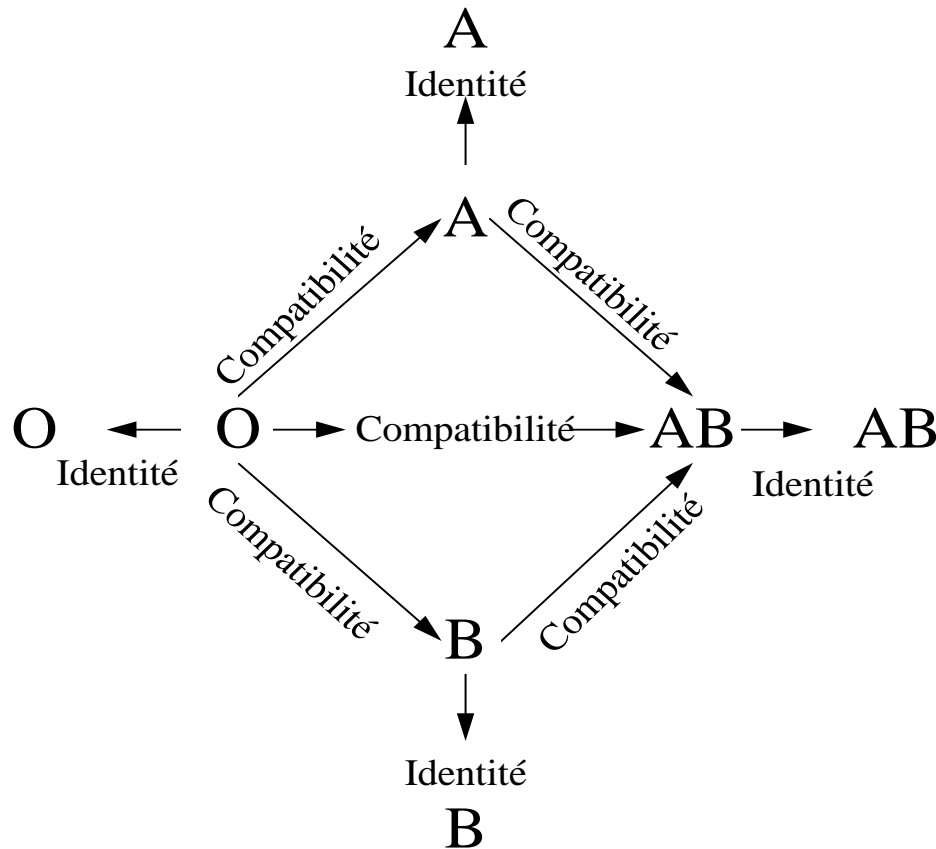


filtration

plaquettes (buffy coat)

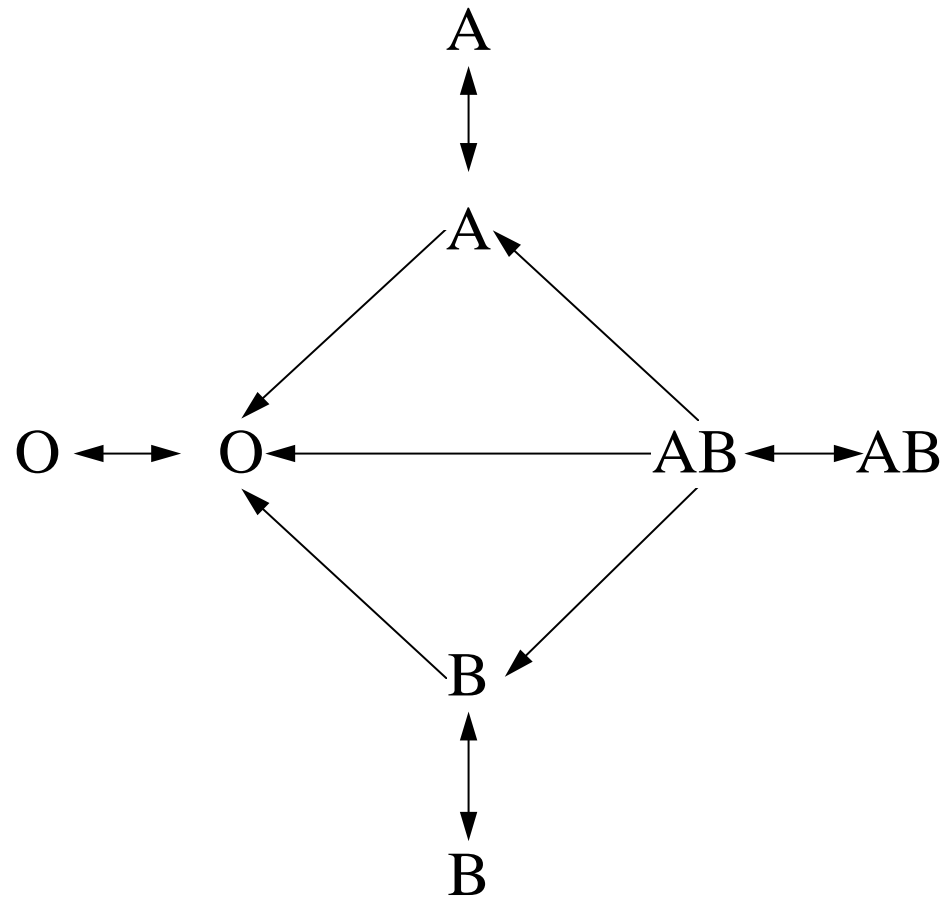
NB : tous les produits plaquettaires sont inactivés

Schéma de compatibilité érythrocytaire



Ce schéma est d'utilisation simple lors de transfusion de **concentrés érythrocytaires dépourvus de plasma.**

Identité et compatibilité plasmatique



Les règles théoriques inverses des règles de la transfusion érythrocytaire

Contrôle ultime au lit du malade

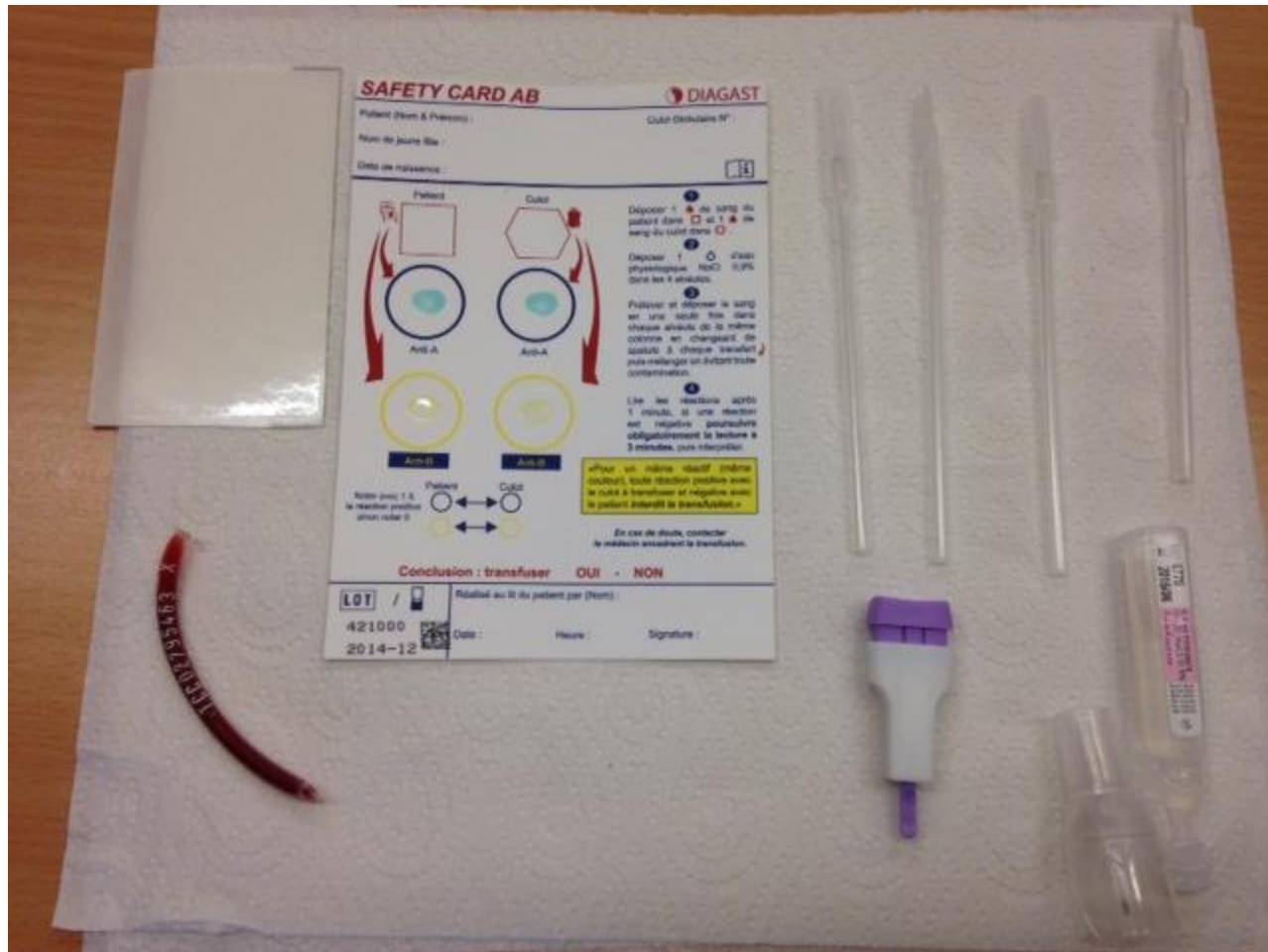
- Epreuve globulaire du patient et du concentré érythrocytaire



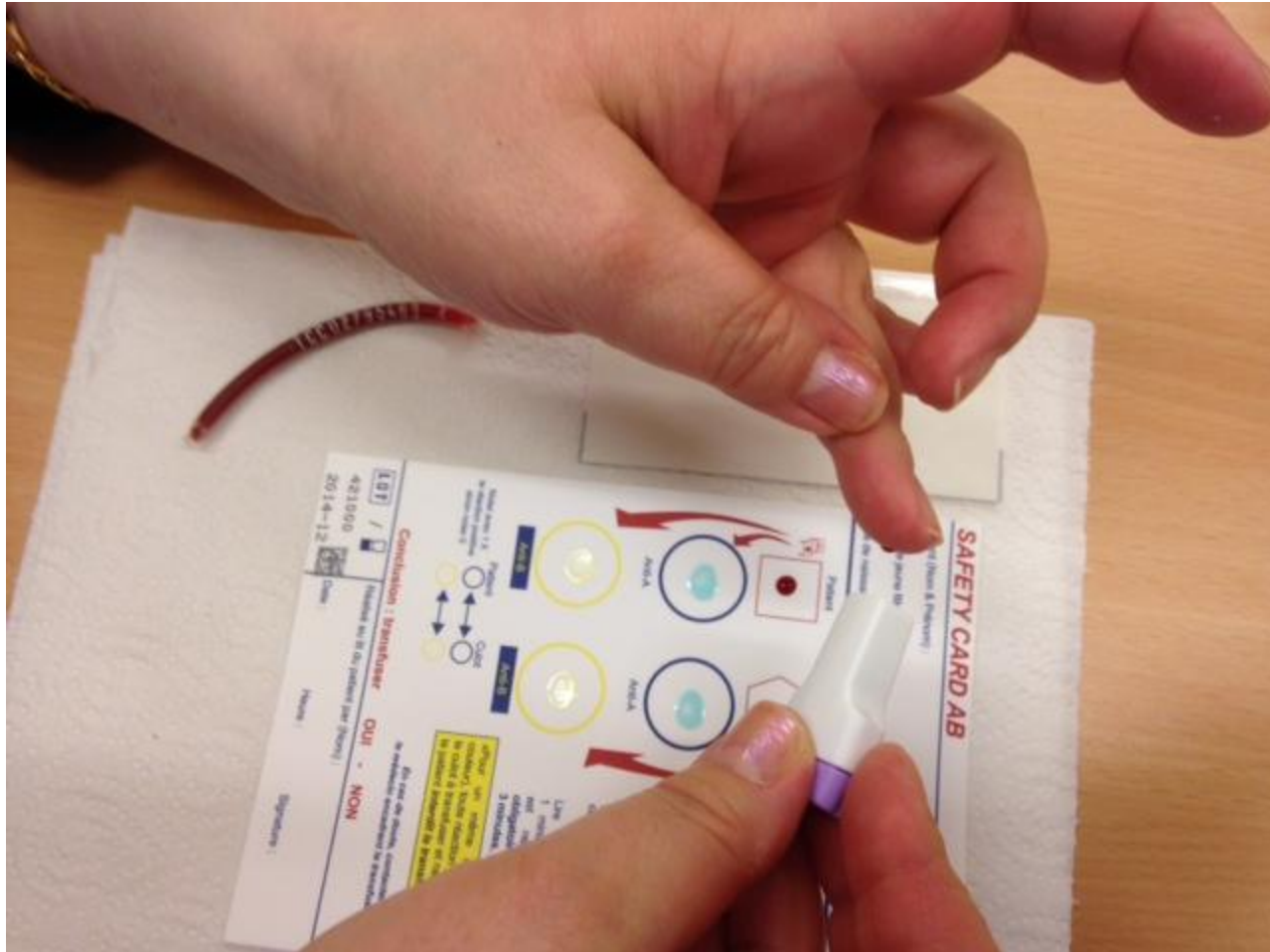
Kit fermé



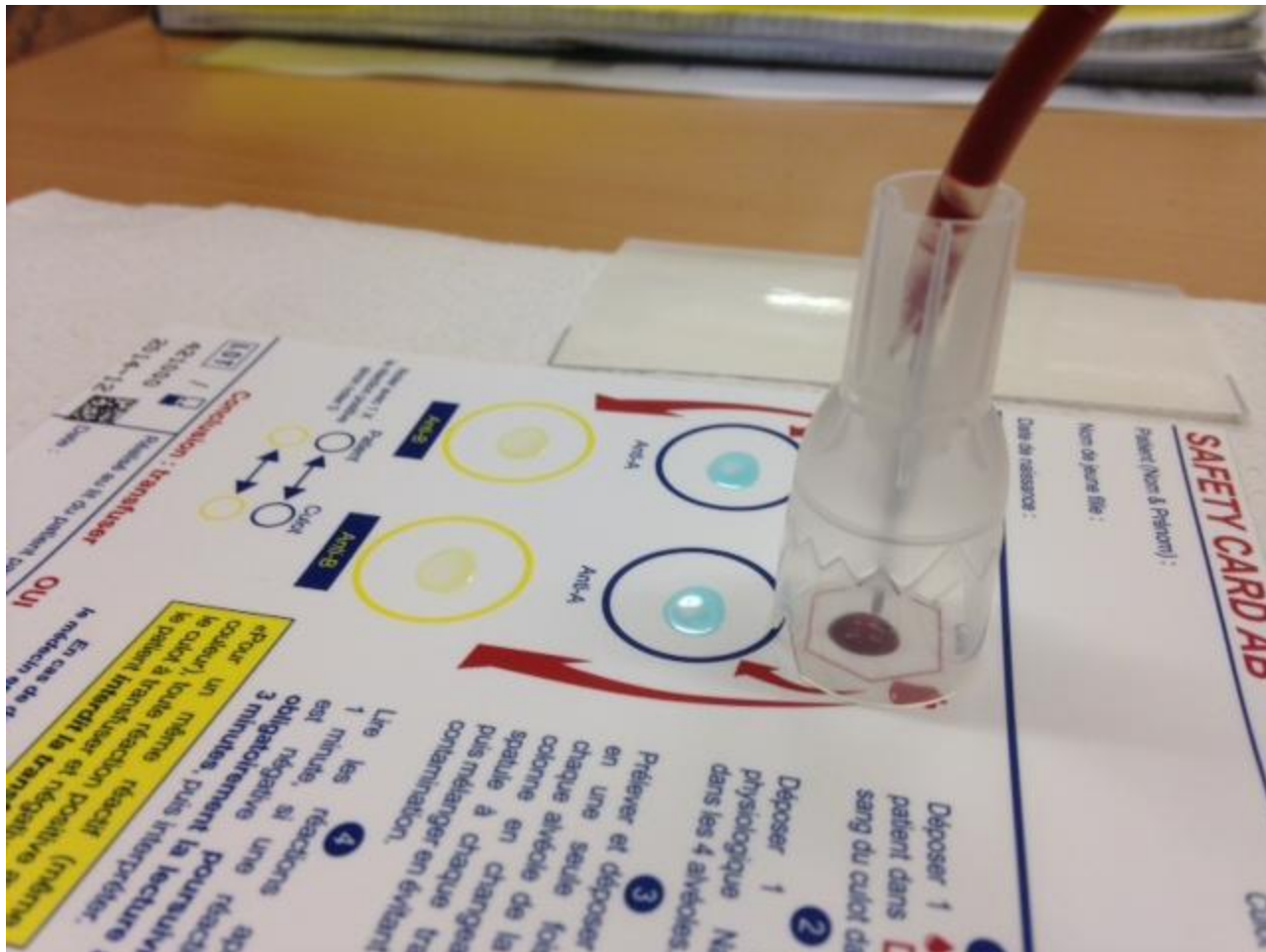
Kit ouvert



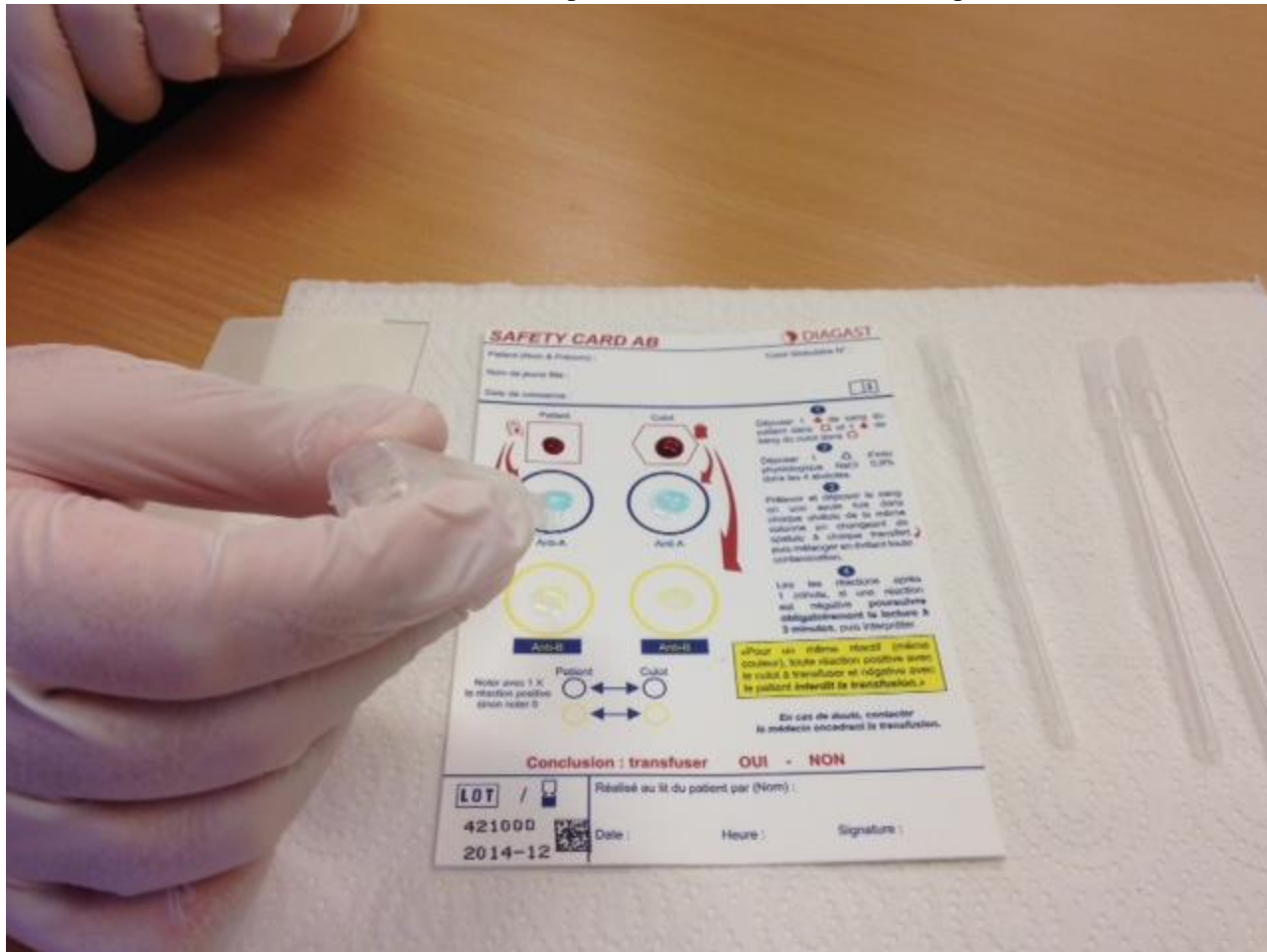
ponction



Prélèvement CE



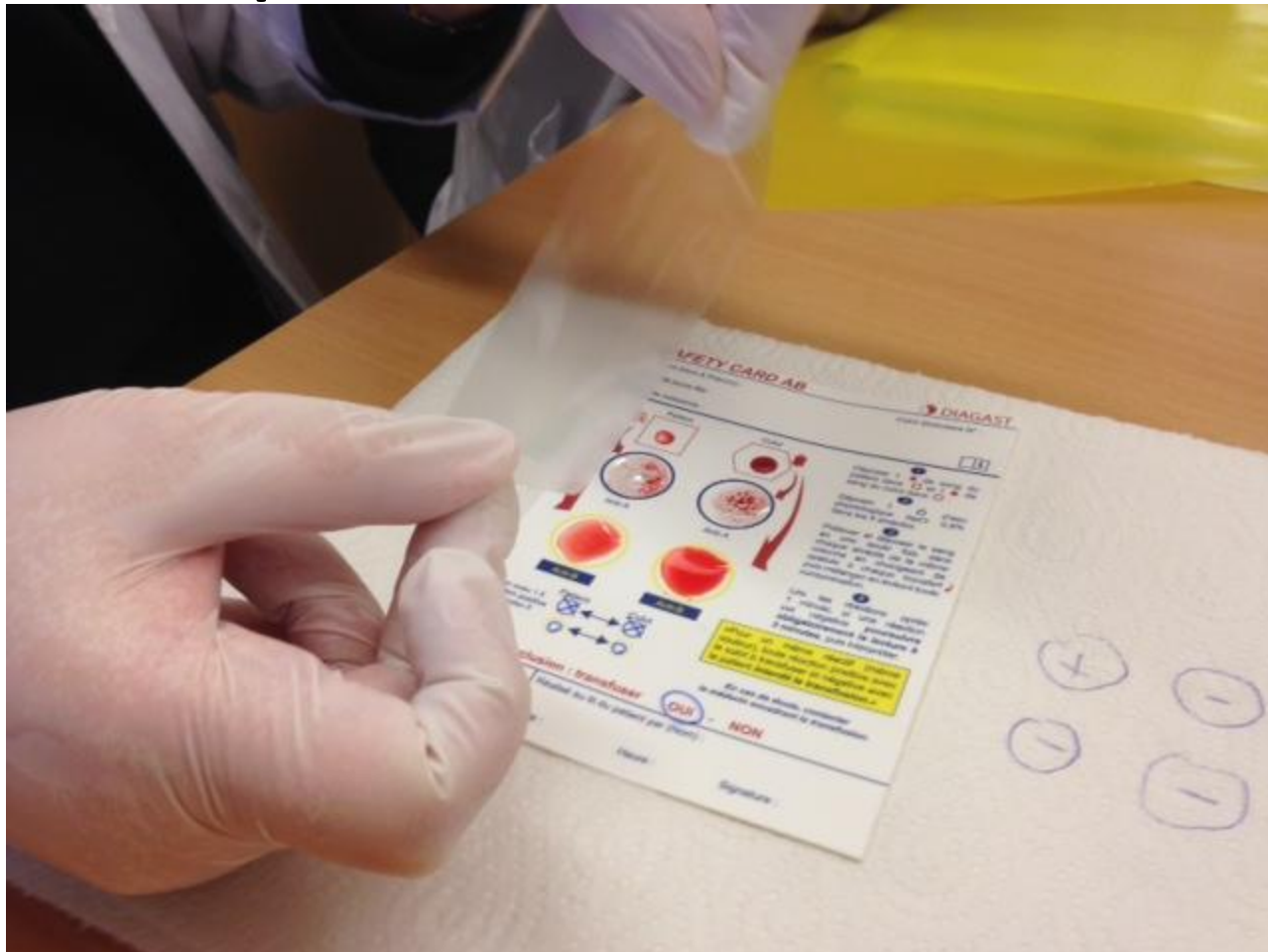
NaCl (dilution)



Mélange : sang-réactif



Interprétation, couverture



Organisation

Mardi :

- Groupes : 50, 51, 52, 53 à 11h15
- Groupes : 54, 55, 56, 57 à 11h40

Vendredi :

- Groupes : 150, 151, 152, 153 à 15h15
- Groupes : 154, 155, 156, 157 à 15h40

En savoir plus

- www.transfusion.ch
- www.isbtweb.org
- www.ints.fr
- Transfusion sanguine, 4ème édition Jean-Jacques Lefrère, Philippe Rouger