

66. TRANSFUSION SANGUINE. BASES IMMUNO-HEMATO-LOGIQUES, INDICATIONS, COMPLICATIONS

1. Expliquer les caractéristiques biochimiques, génétiques, immunologiques de répartition cellulaire des systèmes ABO et Rhésus (y compris le D faible et partiel).
2. Expliquer les circonstances d'apparition et les conséquences immuno-hématologiques d'une hémolysine anti-A et/ou anti-B.
3. Expliquer l'intérêt immuno-hématologique des sous-groupes A1 et A2.
4. Décrire les caractéristiques immunologiques et l'intérêt immuno-hématologique des systèmes apparentés aux systèmes ABO et Rhésus.
5. Justifier selon l'indication clinique le choix des produits sanguins stables et labiles.
6. Expliquer les principes et les indications des tests de Coombs direct et indirect.
7. Préciser les règles transfusionnelles et les tests immuno-hématologiques à respecter de façon absolue en fonction du produit sanguin labile transfusé.
8. Expliquer les mécanismes physiopathologiques des différents accidents transfusionnels.
9. Planifier la prise en charge d'un accident transfusionnel.
10. Etablir les mesures préventives des complications transfusionnelles




La transfusion sanguine est un acte thérapeutique majeur qui a pour objectif d'apporter au receveur les constituants de sang qui lui manquent pour corriger une perte ou un déficit.

En pratique, la transfusion sanguine implique des règles de sécurité immunologique et infectieuse qu'il faut absolument respecter pour prévenir les complications post-transfusionnelles immédiates ou retardées.

Les règles de sécurité immunologique de la transfusion sanguine se basent sur la connaissance des groupes sanguins érythrocytaires et de leurs caractéristiques (polymorphisme, immunogénicité). Ainsi les règles de compatibilité transfusionnelle reposent sur la détection des antigènes de groupes sanguins et des anticorps correspondants.

1. Expliquer les caractéristiques biochimiques, génétiques, immunologiques de répartition cellulaire des systèmes ABO et Rhésus (y compris le D faible et partiel)

Système ABO	Système Rhésus
ANTIGENES	
<ul style="list-style-type: none"> - 2 antigènes A et B déterminant 4 groupes sanguins principaux : A, B, AB et O définis par la présence ou l'absence des antigènes A et/ou B sur la membrane des GR (Ag H, précurseur biochimique des Ag A et B). - Importance capitale en transfusion sanguine car le respect de la compatibilité transfusionnelle ABO est impératif 	<ul style="list-style-type: none"> - 5 antigènes D, C, E, c, e. - Ag D = définit le phénotype RhD Une personne le possédant est dite Rhésus positif Une personne ne le possédant pas est dite Rhésus négatif
<ul style="list-style-type: none"> - Glucidiques* - Ubiquitaires dans la nature - Ubiquitaires dans l'organisme : GR, lymphocytes et plaquettes, autres tissus (sauf tissu conjonctif, cornée, os et système nerveux central) - Groupes tissulaires - Maturation post-natale - Antigènes A, B et H(précurseur biochimique des antigènes A et B.) retrouvés sous forme soluble dans plasma, glandes muqueuses du tube digestif, glandes salivaires, tractus génito-urinaire, tractus respiratoire, larmes et lait maternel. 	<ul style="list-style-type: none"> - Protidiques** - Propres à l'homme - Propres aux GR - Groupes érythrocytaires - D'emblée mature à la naissance
<p>* Sucres branchés sur des chaînes latérales de glycolipides ou glycoprotéines membranaires (fig.1)</p> <ul style="list-style-type: none"> • synthèse de l'Ag H par l'attachement d'un fucose sur un précurseur • puis synthèse des Ag A ou B selon le génotype du sujet sur l'Ag H: - sucres spécifiques de l'Ag A = N acétyl galactosamine - sucres spécifiques de l'Ag B = Galactose <p>Les produits des gènes A, B sont des enzymes :</p>	<p>** Protéines RhD (portant l'Ag D) et RhCE (portant les antigènes C, E, c, e) :</p> <ul style="list-style-type: none"> • protéines transmembranaires • Variants de D <ul style="list-style-type: none"> - D faibles - D partiels - <p>D faible (Du)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Réactivité Rh faible. - Chez ces sujets, nombre de molécules antigéniques présentes à la surface du GR plus faible que dans les cas habituels (anomalie quantitative)

<p>sucres particuliers, sur un substrat donné (substance H)</p> <p>Gène A → enzyme : N - acétyl galactosaminyl transférase.</p> <p>Gène B → enzyme : D galactosyl transférase</p>	<p>- Lors de la détermination du groupe sanguin, la recherche de l'expression de l'antigène D peut se révéler négative alors que le sujet exprime réellement l'Ag D à la surface de ses GR. Mise en évidence du D faible fait appel au test de Coombs indirect. Tout sujet Du positif est considéré comme Rh D positif.</p> <p>Recherche du Du obligatoire chez :</p> <ul style="list-style-type: none"> les donneurs de sang RhD négatifs les femmes enceintes RhD négatifs le nouveau-né de mère Rh D négatif <p>D partiel</p> <ul style="list-style-type: none"> - structure de l'antigène D modifiée (anomalie qualitative) - peuvent développer des anticorps anti-D 		
	D habituel	D faible (Du)	D partiel
Représentation des GR			
Font-ils des allo-anticorps anti-D ?	Non	Possible Quand ils sont exposés à des GR exprimant le D habituel	Oui Quand ils sont exposés à des GR exprimant le D habituel
Résultats sérologiques	Forte agglutination des GR Rh + avec les réactifs anti-D usuels	Du non identifiable par les réactifs anti-D usuels Possible discordance dans groupage Rh (une fois D+, une autre fois D -)	Possible réaction négative avec certains réactifs anti-D (monoclonaux) Possible discordance dans groupage Rh (une fois D+, une autre fois D -)
Sérologiquement, distinction impossible entre Du et D partiel			

L'expression des antigènes ABH sur les hématies est contrôlée par 2 systèmes génétiques qui fonctionnent sur un mode diallélique: le système ABO et le système Hh. Les gènes codent pour des enzymes appelées glycosyltransférases. Les Ag ABH sont les produits indirects des gènes.

Le locus Hh sur le chromosome 19 présente deux variants alléliques : H et h. L'allèle H code pour une fucosyl-transférase qui ajoute un fucose à l'extrémité terminale de la chaîne oligosaccharidique de base, formant l'antigène H.

L'allèle h, gène amorphe est non fonctionnel. Sa présence à l'état homozygote détermine le très rare phénotype Bombay caractérisé par l'absence de l'Ag H.

Le locus ABO est localisé sur le chromosome 9. Les allèles A et B codent respectivement pour une N-acétyl-galactosamine-transférase et une galactosyl-transférase.

La synthèse des antigènes A et B nécessite la présence de l'antigène H (figure 1).

La N-acétyl-galactosamine-transférase (enzyme A) ajoute une N-acétyl-galactosamine sur l'Ag H pour donner l'Ag A. La galactosyl-transférase (enzyme B) ajoute un galactose sur l'Ag OH pour donner l'Ag B.

L'allèle O est non fonctionnel du fait d'une délétion importante de la séquence codante qui produit une enzyme inactive. 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

Les allèles A et B sont codominants par rapport à l'allèle O

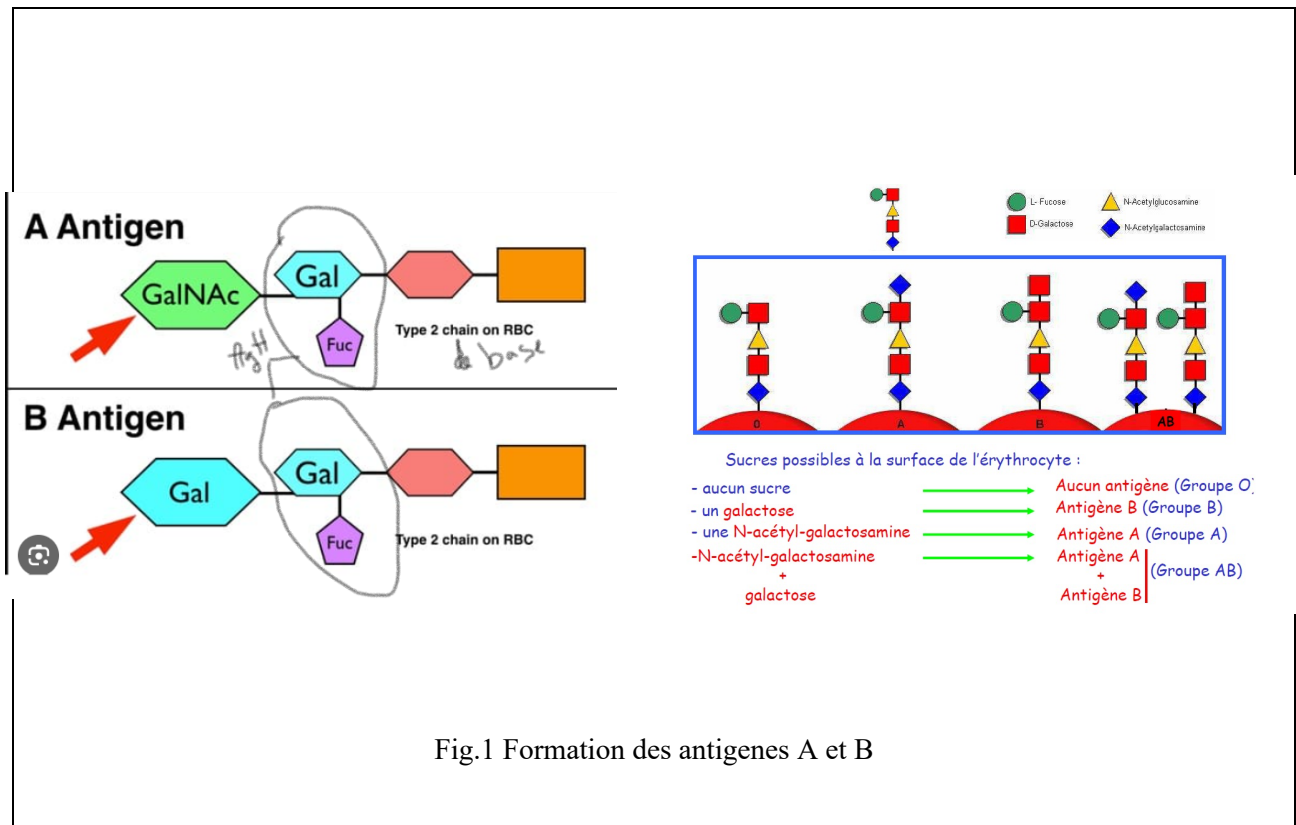


Fig.1 Formation des antigènes A et B

ANTICORPS

Système ABO

ANTICORPS NATURELS (IgM)

- Préexistent à toute stimulation antigénique par transfusion ou grossesse

REGULIERS = CONSTANTS

- Dirigés contre les Ag absents du GR
- Issus de l'hétéroimmunisation par les bactéries de la flore intestinale (Apparition spontanée chez le nourrisson entre 3-6 mois)
- Actifs à des températures basses
- Plus sévères
 - Très dangereux en cas d'une transfusion de GR ABO incompatibles : formation de complexes Ag-Ac → hémolyse INTRAvasculaire aiguë par activation du système du complément → nécessité d'une stricte compatibilité ABO entre donneur et receveur (cf objectif 7)

Système Rhésus

ANTICORPS IMMUNS (IgG)

- Apparaissent après stimulation antigénique par transfusion ou grossesse : alloimmunisation transfusionnelle ou foeto-maternelle

IRREGULIERS = INCONSTANTS

- Dirigés contre l'Ag immunisant
- Plus actifs à 37°C
- N'activent pas le complément
- Hémolyse EXTRA-vasculaire des GR couverts d'Ac
- Entraînent une maladie hémolytique du nouveau-né parce que les IgG traversent le placenta

Les Ac du système Rhésus sont des Ac d'alloimmunisation ou d'autoimmunisation.

- Dans le cas de l'alloimmunisation, les anticorps sont la conséquence de l'exposition du sujet à l'Ag qu'il n'exprime pas via la grossesse ou la transfusion sanguine incompatible. L'Ag D est considéré comme le plus immunogène, suivi par les antigènes E et c. Ces alloanticorps peuvent être impliqués dans les réactions hémolytiques post-transfusionnelles et dans la maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN).
- Les auto-anticorps dirigés contre les antigènes du système Rhésus sont retrouvés dans les anémies hémolytiques auto-immunes.

LES ANTICORPS IMMUNS DU SYSTEME ABO OU HEMOLYSINES (Voir Objectif 2)																						
Danger constant dès la 1 ^{ère} transfusion	Danger potentiel obstétrical et transfusionnel																					
GENETIQUE																						
<ul style="list-style-type: none">• Expression des Ag ABH sur les GR contrôlée par 2 systèmes génétiques qui fonctionnent sur un mode biallélique: système ABO et système Hh. Les gènes codent pour des enzymes appelées glycosyl-transférases intervenant de façon séquentielle dans la synthèse de ces déterminants antigéniques. Ag ABH sont les produits indirects des gènes	<ul style="list-style-type: none">- 2 gènes très proches sur le chromosome 1<ul style="list-style-type: none">• le gène RHD exprime la protéine RhD porteuse de l'Ag D => sujet Rhésus +• si gène RhD absent ou muté et inactif => absence de l'Ag D (d)• le gène RHCE exprime selon les formes alléliques C ou c ainsi que E ou e gène RhCE: 4 allèles: CE, Ce, cE, ce																					
<p>Le locus Hh sur le chromosome 19 présente deux variants alléliques : H et h.</p> <ul style="list-style-type: none">- L'allèle H code pour une fucosyl-transférase qui ajoute un fucose à l'extrémité terminale de la chaîne oligosaccharidique de base, formant l'antigène H- L'allèle h, gène amorphe, non fonctionnel. Sa présence à l'état homozygote détermine le très rare phénotype Bombay caractérisé par l'absence de l'Ag H.• Le locus ABO localisé sur chromosome 9. Les allèles A et B codent respectivement pour une N-acétyl-galactosamine-transférase et une galactosyl-transférase. La synthèse des Ag A et B nécessite la présence de l'antigène H (Fig.2).- La N-acétyl-galactosamine-transférase (enzyme A) ajoute une N-acétyl-galactosamine sur l'AgH pour donner l'Ag A.- La galactosyl-transférase (enzyme B) ajoute un galactose sur l'AgH pour donner l'Ag B.- Allèle O non fonctionnel. A l'état homozygote, il conduit à l'absence d'Ag A ou B sur les GR, correspondant au phénotype O. Les individus de groupe O possèdent une large quantité d'Ag H sur leurs GR.- Transmission mendélienne<ul style="list-style-type: none">• A et B codominants• A et B dominants par rapport à O	<ul style="list-style-type: none">• Codés par 2 gènes homologues, RHD et RHCE, adjacents, localisés sur le chromosome 1.- Gène RHD code pour l'Ag D, déterminant le phénotype RhD positif (90% de la population tunisienne). La délétion du locus RHD(notée d) à l'état homozygote conduit à l'absence de production de l'Ag D, déterminant le GS RhD négatif (10% population tunisienne).- Ag C et c sont antithétiques ainsi que Ag E et e → si l'un est absent, l'autre est forcément présent.- Tout GR C– est nécessairement c+ (GR homozygote cc) et tout GR c – est C+ (GR homozygote CC)- Tout GR E– est nécessairement e+ (GR homozygote ee) et tout GR e – est E+ (GR homozygote EE) <p>En fonction des formes alléliques, on distingue 8 haplotypes : DCe, DcE, dce, Dce, dCe, dcE, DCE et dCE.</p> <p>La compatibilité Rhésus D doit être respectée en transfusion sanguine. Pour les autres Ag du système Rhésus (C,E,c,e), le respect de la compatibilité est indiqué en Tunisie pour les fillettes et les femmes en âge de procréation ainsi que pour les polytransfusés.</p>																					
<table><tr><th>Génotypes</th><th>Phénotypes</th><th>Fréquence</th></tr><tr><td>A1/A1 A1/A2 A1/O</td><td>A1</td><td>36 %</td></tr><tr><td>A1/B</td><td>A1B</td><td>2,4 %</td></tr><tr><td>A2/A2 A2/O</td><td>A2</td><td>9 %</td></tr><tr><td>A2/B</td><td>A2B</td><td>0,6 %</td></tr><tr><td>B/B B/O</td><td>B</td><td>9 %</td></tr><tr><td>O/O</td><td>O</td><td>43 %</td></tr></table>		Génotypes	Phénotypes	Fréquence	A1/A1 A1/A2 A1/O	A1	36 %	A1/B	A1B	2,4 %	A2/A2 A2/O	A2	9 %	A2/B	A2B	0,6 %	B/B B/O	B	9 %	O/O	O	43 %
Génotypes	Phénotypes	Fréquence																				
A1/A1 A1/A2 A1/O	A1	36 %																				
A1/B	A1B	2,4 %																				
A2/A2 A2/O	A2	9 %																				
A2/B	A2B	0,6 %																				
B/B B/O	B	9 %																				
O/O	O	43 %																				

A1 DOMINE A2

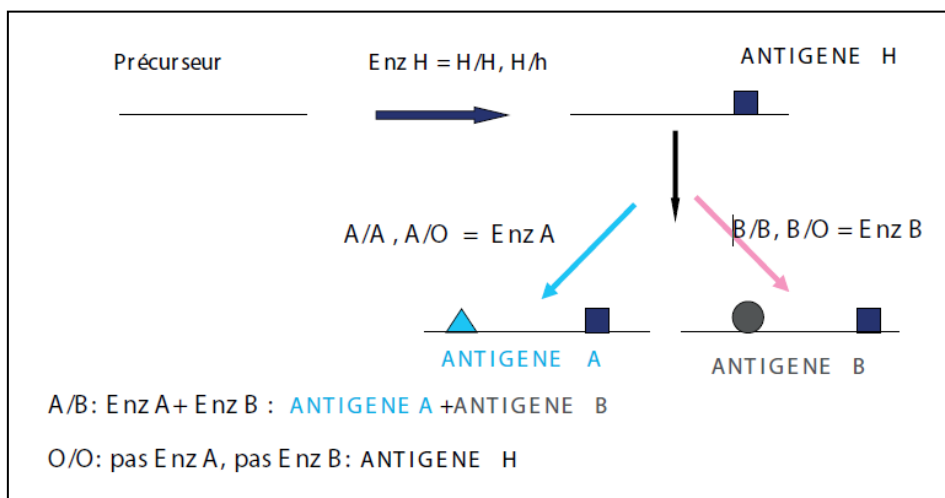


Fig 2. Biosynthèse des Ag ABH

4 principaux phénotypes ABO érythrocytaires.

GS (Phénotype)	Antigène (GR)	Anticorps (Plasma ou sérum)	Génotype
A	A	anti-B	AA ou AO
B	B	anti-A	BB ou BO
O	-	anti-A et anti-B	OO
AB	A + B	-	AB

2- Expliquer les circonstances d'apparition et les conséquences immuno-hématologiques d'une hémolysine anti-A et/ou anti-B

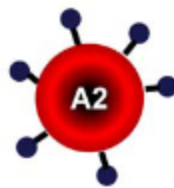
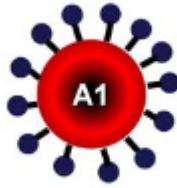
- **Hémolysines** = Ac anti-A ou anti-B **immuns**;
- **IgG** observées le plus souvent chez le sujet O. Actives à 37°C. **Fortement hémolysants**
- Ces Acs sont « **acquis** » par **stimulation immunitaire** (transfusion incompatible (plaquettes), grossesse, sérothérapie, vaccination...).
- **Dangereux** en transfusion et **responsables d'accident d'hémolyse** (les Acs du donneur agressent les GR du receveur)
- **Peuvent traverser la barrière fœto-placentaire** et donner des **maladies hémolytiques du n-né**.
- Sujets de GS O, possédant des hémolysines, sont appelés **O dangereux (donneurs universels dangereux)**.
- Produits Sanguins Labiles issus de ces dons à transfuser en isogroupe ABO.

3- Expliquer l'intérêt immuno-hématologique des sous-groupes A1 et A2

- **Le groupe A comporte 2 sous-groupes : A1 et A2. 80% des sujets de GS A sont A1 et 20% sont A2.**
- On distingue également 2 sous-groupes A1B et A2B au sein du groupe AB.
- Différence entre GR A1 et GR A2 quantitative et qualitative : - Nombre de copies de l'Ag A sur les GR A1 plus élevé que celui porté par les GR A2. Différence quantitative secondaire à **l'activité enzymatique de la N-acétyl-galactosamine transférase, plus active chez les sujets A1 que chez les sujets A2.** Ainsi, **il persiste plus de substance H chez les sujets A2 et moins de substance A.**

L'enzyme A1, convertit toute la substance H en Ag A.

- Différence qualitative expliquée par la nature du substrat de base H qui est différente.



- Quantité d'Ag H décroît dans l'ordre suivant en fonction du GS : O > A2 > B > A2B > A1 > A1B.
- Ac anti-A1 naturels irréguliers peuvent exister chez des sujets A2 et A2B. N'ont aucune conséquence transfusionnelle.
- En pratique transfusionnelle, aucun intérêt de la subdivision du groupe A en sous-groupes A1 et A2.

4- Décrire les caractéristiques immunologiques et l'intérêt immuno-hématologique des systèmes apparentés aux systèmes ABO et Rhésus

ABO et « associés » - Lewis - MNSs - P - Lutheran	Rhésus et ses « collègues » - Kell - Duffy - Kidd
- même construction moléculaire supportant plusieurs spécificités - ordre de fonctionnement des différents gènes: Li => Hh => ABO => Lewis Lewis = signal « stop »	- Chaque système fonctionne indépendamment et possède sa propre molécule - Systèmes importants en pathologie humaine car très immunogènes, pouvant être responsables d'accident hémolytique de transfusion gravissime et d'incompatibilité foeto-maternelle.
<u>Système Lewis</u> - n'est pas un système de groupe sanguin au sens strict du terme, mais un système de sécrétion, voire un système tissulaire. - 2 Ag Le^a et Le^b définissent, 4 phénotypes: Le(a+b-), Le(a-b+), Le(a-b-) et Le(a+b+). - Ac anti-Lewis sont des Ac naturels irréguliers essentiellement de type IgM. - Ont peu d'intérêt en transfusion. Ne passent pas à travers la barrière foeto-placentaire et ne sont pas impliqués dans la maladie hémolytique du nouveau né MHNN (les antigènes Lewis sont absents des hématies fœtales).	<u>Système Kell</u> - Le plus immunogène après le système RHD - 2 antigènes principaux antithétiques : K et k, portés par une glycoprotéine membranaire dont l'expression se trouve restreinte aux GR. - La plupart des sujets sont K nég. Seuls 10% possèdent l'Ag. - Ac anti-K sont des Ac immuns dangereux pouvant causer des accidents hémolytiques post-transfusionnels et une MHNN. - Respect de la compatibilité Kell indiqué en Tunisie pour les fillettes, femmes en âge de procréation et polytransfusés
<u>Système MNSs</u> - 2 paires d'Ag antithétiques M/N et S/s - Anti-M et anti-N: peu d'intérêt clinique. Anti-M cause rarement une MHNN. - Anti-S et anti-s sont des Ac immuns, bien que des anti-S naturels soient décrits. Impliqués dans des réactions transfusionnelles et peuvent causer des MHNN sévères ou fatales.	<u>Système Duffy</u> - 2 Ag principaux : Fya et Fyb définissant 4 phénotypes : Fy (a+b-), Fy (a-b+), Fy (a+b+) et Fy (a-b-). - Ac anti-Fya et anti-Fyb peuvent être impliqués dans des accidents hémolytiques post-transfusionnels ou dans la MHNN. - Respect du phénotype Duffy indiqué en cas

- Ag S et s moins immunogènes que ceux des autres systèmes.	d'immunisation.
	<p>Système Kidd</p> <ul style="list-style-type: none"> - 2 Ag : Jka et Jkb déterminent les phénotypes suivants : Jk(a+b-), Jk(a-b+), Jk(a+b+) et Jk(a-b-). - Ac anti-Jka et anti-Jkb peuvent être impliqués dans des accidents hémolytiques post-transfusionnels parfois graves ou dans la MHNN. - Respect du phénotype Kidd indiqué en cas d'immunisation.
<p>Immunogénicité des Ag érythrocytaires décroît dans l'ordre suivant :</p> <p>D > K > E > c > Fya > Jka > S > s.</p>	

5- Justifier selon l'indication clinique le choix des produits sanguins stables et labiles.

Produits sanguins labiles

Labiles = brève durée de conservation, soit parce qu'il s'agit de :

- cellules vivantes de durée de vie limitée,
- ou de protéines plasmatiques dont l'activité biologique se dégrade en quelques heures

Obtenus par séparation des éléments du sang.

Caractéristiques communes: chaque unité thérapeutique est issue d'un don de sang ; durée de conservation limitée (de quelques jours à un an); règles strictes de conservation, de transport et d'utilisation (règles de compatibilité immunologique).

• Concentré de globules rouges standard (CGR)

Indications : Anémies cliniquement mal supportées ou n'ayant pas de traitement médical

Différents types de CGR

- **CGR phénotypé**
(Tient compte des antigènes C, c, E, e du système Rhésus et de l'antigène K du système Kell)
Filles et femmes en âge de procréation
Malades déjà allo-immunisés
Prévention de l'allo-immunisation chez les polytransfusés
- **CGR déleucocyté (filtré)** (grâce à une filtration permettant de baisser le nombre de leucocytes)
Prévention de l'alloimmunisation due aux antigènes leuco-plaquettaires
Prévention des réactions frissons-hyperthermie
Prévention de la transmission de virus contenus dans les leucocytes (CMV, HTLV)
Réduit le risque d'immunisation HLA
- **CGR déplasmatisé (lavé)**
But : éliminer les protéines plasmatiques résiduelles
Indications : Déficit en IgA avec anticorps anti-IgA (risque de choc anaphylactique par transfusion d'IgA), Réaction allergique post-transfusionnelle sévère ou résistante à la prémédication
Est indiquée pour la prévention des accidents allergique
- **CGR irradié** (exposé à une dose de rayonnement ionisant)
But de l'irradiation : bloquer la potentialité de mitoses des leucocytes, empêchant ainsi une réaction greffon contre l'hôte chez des patients immunodéprimés incapables d'éliminer les leucocytes transfusés
Indications : Greffe de moelle, patients immunodéprimés, transfusion in-utéro

- **CGR CMV négatif**
(Collectés auprès de donneurs CMV négatifs). Prévention de l'infection à CMV chez les immunodéprimés, les nouveau-nés de mères CMV négatives
- **CGR congelé** (conservé à -80°C)
Indications : Groupes rares, Polyimmunisés ou immunisés contre les antigènes publics
- **Sang total reconstitué** (CGR + Plasma) :
Indication : Exsanguino-transfusion du nouveau-né
- **Concentrés plaquettaires (CP)**
Concentré plaquettaire standard (CPS)
Préparé à partir d'un don de sang total après soustraction des GR et de la plus grande partie du plasma.
Indications : Prévention et traitement des hémorragies liées aux thrombopénies ou aux thrombopathies
- Concentré plaquettaire d'aphérèse (CPA) ou concentré unitaire de plaquettes (CUP) : obtenu par cytaphérèse à partir d'un seul donneur.**
Indications : prévention et traitement des hémorragies-
 - Concentré de plaquettes phénotypé (groupe HLA et/ou groupe plaquettaire) : indiqué chez les patients immunisés
 - Concentré de plaquettes compatibilisé : idem
 - Concentré de plaquettes CMV négatif : mêmes indications que le CGR CMV négatif
 - Déleucocytés, irradiés, déplasmatisés,Indications : mêmes que les CGR transformés.
- **Plasma frais congelé (PFC)**
Indications :
 - CIVD grave avec effondrement du taux de tous les facteurs de coagulation.
 - Hémorragie aiguë avec déficit global des facteurs de la coagulation
 - Déficits complexes et rares en facteurs de la coagulation lorsque les fractions coagulantes correspondantes ne sont pas disponibles.
 - Echange plasmatique dans le purpura thrombotique thrombopénique et la microangiopathie thrombotique ou le syndrome hémolytique et urémique.
 - Ne doit plus être utilisé comme solution de remplissage
- **Cryoprécipité**
Préparé par cryoprécipitation d'un PFC congelé puis décongelé à +4°C.
Indications : De plus en plus abandonné du fait du risque viral résiduel et de la disponibilité des concentrés de facteurs de la coagulation spécifiques. Utilisé pour le traitement de l'hémophilie A, maladie de Willebrand, hypo- ou afibrinogénémies et coagulopathies de consommation.

Produits sanguins stables (médicaments dérivés du sang) dérivés de pools de plasma subissant un fractionnement physico-chimique.

Caractéristiques communes: conservation longue (1-3 ans) ; inactivation virale pendant le processus de fabrication.

• **Facteurs coagulants**

- Facteur VIII anti-hémophilique A : hémophilie A,
- Facteur IX anti-hémophilique B : hémophilie B,
- Facteur Willebrand : maladie de Willebrand,
- Fibrinogène : a-, hypo-, dys-fibrinogénémies,

• **Complexe prothrombinique (PPSB)** : contient Prothrombine (facteur II), Proconvertine (VII), le facteur Stuart (X) et facteur anti-hémophilique B (IX).

Indications : hémorragies aux anti-vitamine K, hypovitaminose K, traitement des déficits combinés ou isolés en ces facteurs

• **Immunoglobulines humaines** (polyvalentes : Indications : déficits immunitaires, cytopénies immunologiques...ou spécifiques : Ig anti-D pour la prévention de l'alloimmunisation à l'Ag D, Ig anti-HBs pour la prévention de l'hépatite B en cas de contamination accidentelle, Ig anti-tétanos, Ig anti-rubéole...)

• **Albumine** (à **4%** : brûlures étendues, remplissage en cas de choc non hémorragique ne répondant pas aux cristaalloïdes, à **20%** : cirrhose, hypoalbuminémie profonde) prévention du risque d'ictère nucléaire en cas de MHNN

5 Expliquer les principes et les indications des tests de Coombs direct et indirect.

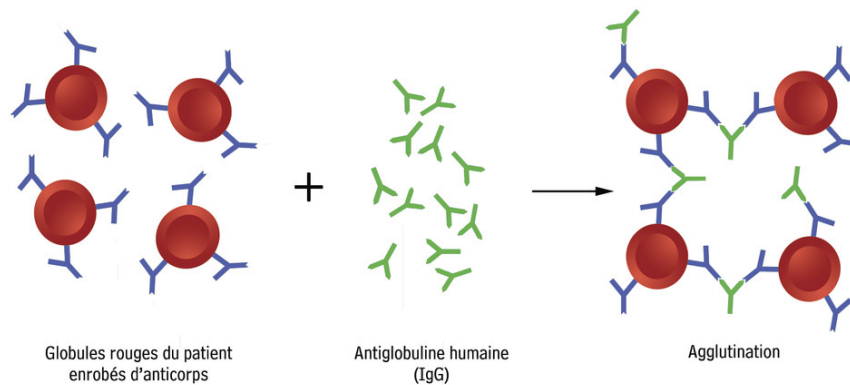
• **Test de Coombs direct** (ou test à l'antiglobuline) :

- Confirme le mécanisme immunologique d'une hémolyse.
- Détecte la présence d'anticorps ou de complément (*signe de passage d'un Ac*) fixés *in vivo* à la surface des GR du malade, en utilisant un Ac anti-globulines humaines.
- Technique d'agglutination artificielle dont le but est de mettre en évidence la sensibilisation des GR par des Ac et/ou des fractions du complément

Technique : Consiste à tester les GR du malade par un antisérum animal contenant des Ac dirigés spécifiquement contre ces protéines ; le test de Coombs direct est positif s'il survient une agglutination des hématies. Le réactif utilisé pour le test de Coombs direct porte le nom d'anti-immunoglobuline humaine polyvalente car il reconnaît à la fois les IgG et le C3 humain activé. Lorsque le test de Coombs direct a été trouvé positif avec une anti-immunoglobuline polyvalente, l'utilisation d'anti-immunoglobulines spécifiques, anti-IgG ou anticomplément, permet de préciser la nature de la positivité: IgG seule, IgG plus complément ou complément seul.

Test de Coombs Direct

(D'après Roselyne l'Italien, Immunohématologie)



Indications :

- Mise en évidence d'auto-anticorps dans les anémies hémolytiques auto-immunes
- Mise en évidence d'anticorps maternels fixés sur les GR du nouveau-né dans MHNN par incompatibilité fœto-maternelle
- Anémies hémolytiques immuno-allergiques
- Accident hémolytique post-transfusionnel

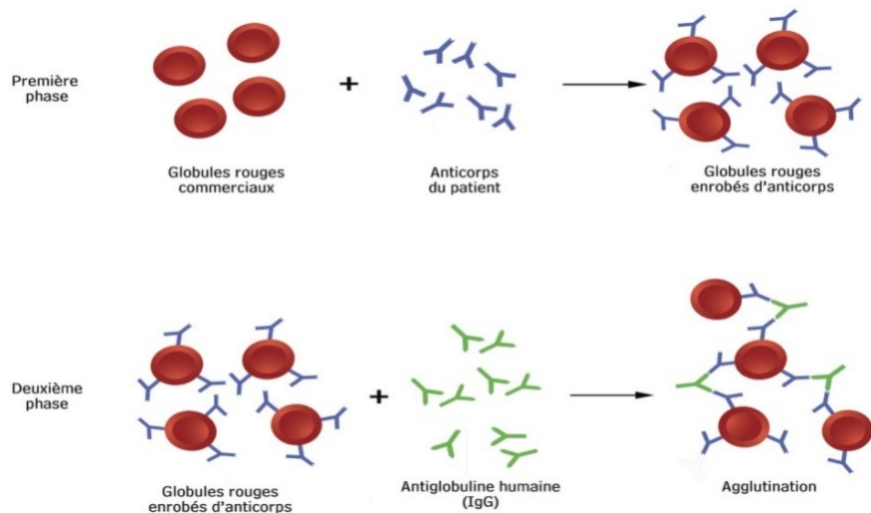
• **Test de Coombs Indirect** ou test indirect à l'antiglobuline :

Utilisé en particulier pour détecter les Ac IgG contre les GR présents dans le plasma d'un patient.

Se déroule en 2 temps :

- plasma du patient incubé avec des GR de phénotype connu
- puis est ajouté un Ac contre les IgG humaines ou anti-IgG humaines.

Si une agglutination se produit, des Ac IgG (auto- ou allo-Ac) contre les GR sont présents.



(D'après Roselyne l'Italien, Immunohématologie)

Applications du TCI:

- Recherche d'anticorps irréguliers (RAI)
- Test de compatibilité au laboratoire
- Détermination de certains phénotypes érythrocytaires en particulier la détermination du D faible

6- Préciser les règles transfusionnelles et les tests immuno-hématologiques à respecter de façon absolue en fonction du produit sanguin labile transfusé.

Cinq examens immuno-hématologiques clés permettent de prévenir les complications immunologiques de la transfusion érythrocytaire.

1- groupage sanguin ABO/RhD

Obligatoire. La transfusion de CGR implique obligatoirement le respect de la compatibilité ABO et de la compatibilité RhD.

La transfusion de PFC implique obligatoirement le respect de la compatibilité ABO.

Règles de compatibilité transfusionnelle :

Les GR à transfuser (du donneur) doivent être compatibles avec les Ac sériques du Receveur. Règle = ne jamais transfuser des GR correspondant à l'Ac présent dans le sérum du receveur. Ce qui donne le schéma suivant :

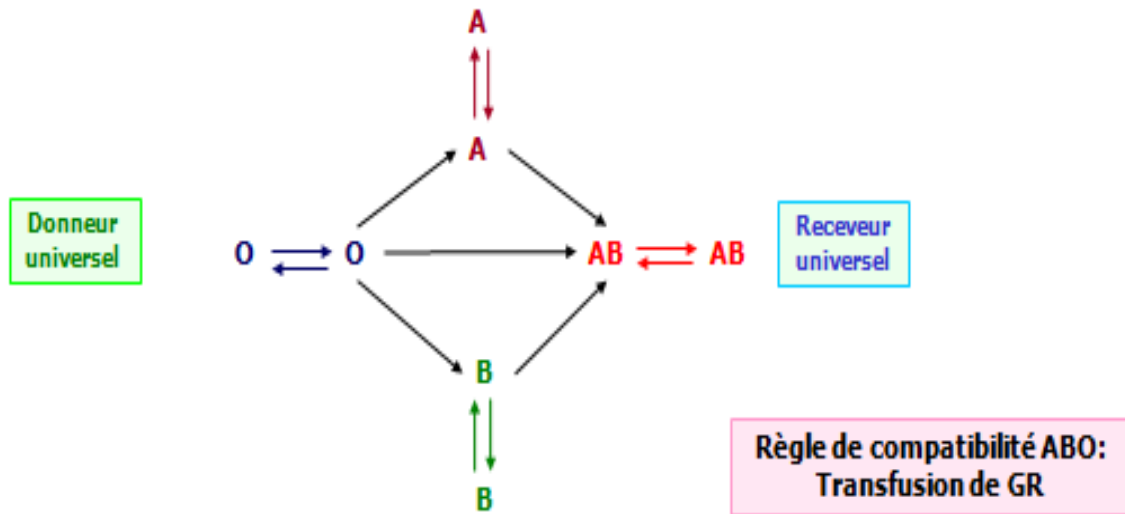


Figure 4 : Règles de compatibilité ABO pour la transfusion érythrocytaire

Cette règle a une exception : le **Donneur O dangereux**.

Pour la transfusion de plasma frais congelé, la règle s'inverse : **ne pas apporter les Ac correspondants à un Ag présent sur les GR du receveur** (figure 5) :

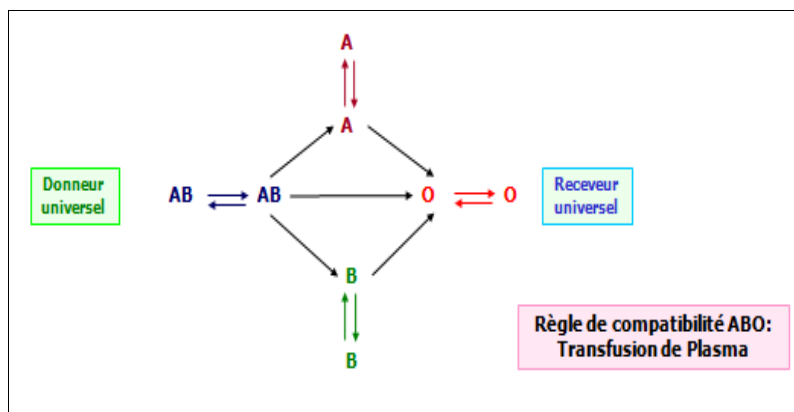


Figure 5: Règles de compatibilité ABO pour la transfusion de plasma

Le respect de la compatibilité érythrocytaire Rhésus D est obligatoire (figure 6).

Etant donnée la rareté du phénotype RHD négatif, les CGR RHD négatifs sont réservés pour les sujets RHD négatif sauf dans certaines situations particulières.

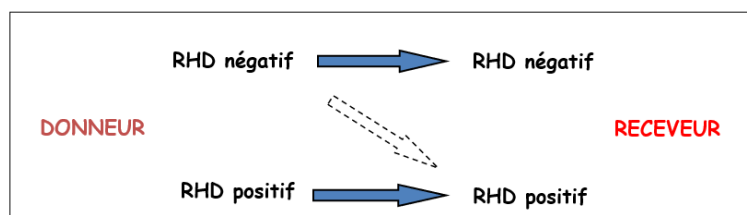


Figure 6 : Règles de compatibilité RH D pour la transfusion érythrocytaire

2- Phénotypage Rhésus et Kell

Il comporte la recherche de l'expression des antigènes : E,e,C,c, K à la surface des GR.

En Tunisie, il est **indiqué** chez la petite fille, la femme en âge de procréer et le polytransfusé

3- Recherche d'anticorps irréguliers (RAI)

Consiste à tester le sérum du patient vis-à-vis d'une gamme d'hématies-tests (panel) de phénotype connu permettant de détecter et d'identifier les anticorps correspondants aux Ag érythrocytaires les plus immunogènes (Rhésus, kell, duffy, kidd...) et ce par au minimum, un test à l'antiglobuline. En cas de positivité de la RAI, le résultat doit être consigné sur la carte de groupe sanguin.

En Tunisie, la RAI est **indiquée** chez les polytransfusés et les multipares. Sa durée de validité est de **72 heures maximum**. (Délai le plus court d'immunisation d'environ 3 jours après la rencontre d'un antigène)

En l'absence d'évènement immunisant (grossesse, transfusion, greffe, transplantation) dans les 6 mois précédents l'acte transfusionnel, la durée de validité d'une RAI négative est de 21 jours

4- Epreuve de compatibilité au laboratoire (EDCL)

Consiste à tester le sérum du receveur vis-à-vis des GR à transfuser par, au minimum, un test à l'antiglobuline (TCI). Permet une attribution **nominative** du produit érythrocytaire compatible.

L'EDCL est **obligatoire** avant toute transfusion de produit érythrocytaire (CGR) en Tunisie. Sa durée de validité est de 72 heures.

5- Epreuve ultime au lit du malade

Epreuve obligatoire avant toute transfusion. Permet d'éviter une erreur ABO. Comporte 2 étapes : **ABO SEULEMENT**

- 1^{ère} étape : **Obligatoire pour tous les produits sanguins** : Contrôle de la concordance de l'identité et des documents :

- Demander au patient de décliner son identité
- Vérifier la concordance entre l'identité du patient et celle sur la carte de groupe sanguin
- Vérifier la concordance du groupe sanguin du patient (carte de groupe) avec celui du CGR
- Vérifier que l'épreuve de compatibilité au laboratoire a été effectuée
- Vérifier l'aspect, l'intégrité et la date limite de validité du CGR à transfuser
- S'assurer de la concordance entre les résultats des RAI et le phénotype du CGR

NE REMPLACE PAS EDCL

- 2^{ème} étape : **Contrôle ultime de compatibilité en présence du patient : obligatoire avant la transfusion de CGR**

Peut se faire selon l'une des méthodes suivantes:

- Contrôle du groupe ABO du patient et du CGR à transfuser par une **épreuve globulaire**.
- Contrôle direct de la compatibilité entre plasma du patient et CGR à transfuser

8- Expliquer les mécanismes physiopathologiques (Ph) des différents accidents transfusionnels

9- Planifier la prise en charge d'un accident transfusionnel (Tt)

10- Etablir les mesures préventives (Pr) des complications transfusionnelles.

8- Mécanismes physiopathologiques (voir détails ci-dessous)

- immunologiques (hémolyse aigue par incompatibilité ABO, Ictère post-transfusionnel précoce,

accident hémolytique retardé, allo-immunisation anti-érythrocytaire, réactions frissons-hyperthermie, réactions allergiques)

- métaboliques et surcharge
- infectieux

ACCIDENTS IMMUNOLOGIQUES

• Hémolyse aigue intra-vasculaire par incompatibilité ABO

Physiopathologie (Ph) :

Receveur possédant des Ac réguliers dirigés contre les Ag des GR du donneur absents chez le receveur, ce qui provoque une hémolyse massive par activation de toute la cascade du complément.

- souvent conséquence d'une incompatibilité majeure ABO. Plus rarement, du à une incompatibilité dans d'autres systèmes (anti-D, anti-c, anti-K, anti-Fya, anti-Fyb, anti-Jka...).

Traitement (Tt):

- Arrêt immédiat de la transfusion
- Maintenir la voie d'abord pour la perfusion d'un soluté
- Tt du choc (oxygénothérapie remplissage amines, vasopressives, - transfert en réanimation)
- surveiller la diurèse
- Tt de l'insuffisance rénale (Lasilix)
- Vérifier la compatibilité au lit du patient :
- Vérifier l'identité du malade, son groupe (carte) et celui des poches de sang (étiquettes)
- Vérifier l'épreuve ultime au lit du malade
- Envoi de toutes les poches de sang, transfusées et non transfusées à la banque de sang - Bilan d'hémolyse
- Déclarer l'incident au service de transfusion.

Prévention (Pr):

Respecter les règles de sécurité transfusionnelle :

- réalisation correcte du groupe sanguin et de l'épreuve ultime au lit du patient :
- 1- vérifier l'identité du receveur, de son groupe (carte) et celui de la poche de sang (étiquette)
- 2- vérifier la compatibilité entre le plasma du patient et le CGR à transfuser

Tt (suite)

- Affirmer l'hémolyse : Plasma de teinte rosée, Hémoglobinurie, Hémoglobinémie, LDH élevées, Haptoglobine effondrée
L'élévation de la bilirubinémie libre est retardée

- Affirmer son origine immunologique :

Vérification du groupe ABO-RHD, du phénotype Rh-Kell du malade et du reste de la poche Test de Coombs direct sur un prélèvement post-transfusionnel

Test d'élution

RAI et test de compatibilité sur les prélèvements pré et post transfusionnels

• Ictère post-transfusionnel précoce

Ph : Dû à une hémolyse transfusionnelle subaiguë secondaire à la présence, au moment de la transfusion, chez le receveur d'Ac anti-érythrocytaires, de titre et d'affinité faibles, n'activant pas la cascade du complément jusqu'au complexe d'attaque des membranes.

Le conflit Ag-Ac sera responsable d'une hémolyse intra-tissulaire.

Transfusion généralement bien tolérée mais le lendemain apparaît un ictère ± oligurie et ↑urée sanguine.

Ne pas le confondre avec l'ictère dû à l'hémolyse normale du sang transfusé (7mg bilirubine /CGR transfusé).

• Accident hémolytique retardé		
Ph - Dû à la réactivation d'un Ac préexistant chez un receveur déjà immunisé (par transfusion et/ou grossesse) ou à l'apparition d'un Ac d'allo-immunisation primaire (de novo) provoqué par la transfusion. - Habituellement bénin et infraclinique, souvent non diagnostiqué. - Peut se manifester par la survenue d'une hémolyse au 5 ^{ème} -6 ^{ème} jour après la transfusion avec apparition d'un ictère ± fièvre. Traduit, en particulier chez des patients polytransfusés, un risque potentiel de réactions sévères pour les transfusions ultérieures.		Pr - RAI dans le suivi des polytransfusés - Respect des Ac identifiés à vie
Sur le plan biologique, ↓ hémoglobine ↑ rétic, ↑ bilirubine. Diagnostic biologique a pour objectif de préciser la nature immunologique de l'hémolyse par un TCD et de préciser la nature de l'Ac par l'éluion des Ac fixés in vivo par une RAI.		
• Allo-immunisation anti-érythrocytaire		
Ph : - développement d'allo-Ac anti-érythrocytaires chez les patients polytransfusés. - due au polymorphisme antigénique des antigènes érythrocytaires entre donneur et receveur. - Ac apparaissent généralement entre le 7 ^{ème} - 21 ^{ème} jour (parfois plusieurs mois) après une transfusion apportant un Ag que le receveur ne possède pas. - Ces allo-Ac peuvent être à l'origine d'accidents hémolytiques post-transfusionnels (de sévérité variable) lors des transfusions ultérieures. - détectés dans le sérum des patients grâce à la RAI.	Tt : Tout patient présentant ou ayant présenté un ou plusieurs allo-Ac anti-érythrocytaire doit être transfusés par des CGR dépourvus de l'Ag correspondant à l'allo-Ac présent chez le patient	Pr : - Transfusion de GR phénotypés
• Réactions frissons–hyperthermie ou Réactions transfusionnelles fébriles non hémolytiques		
Ph : - liées soit à la présence chez le receveur d'Ac anti-leuco-plaquettaires (anti-HLA, anti-plaquettaire) suite à des transfusions ou des grossesses préalables soit à la libération au cours de la conservation des produits sanguins de cytokines pyrogènes par les granuleux et les plaquettes.	Tt : - Antipyrétiques (Paracetamol), - Corticoïdes	Pr : - Transfusion de PSL déleucocytés - Sélection de PSL HLA-compatibles

• **Lésion pulmonaire aiguë post-transfusionnelle (transfusion-related acute lung injury –TRALI)**

Ph : - due à des anticorps anti-HLA et/ou antigranulocytes présents dans le plasma du donneur qui agglutinent et entraînent la dégranulation des granulocytes du receveur dans le poumon.	Tt : - traitement de support permet généralement une guérison sans séquelles - éviter diurétiques	Pr : - utiliser des dons de sang d'hommes réduit le risque de cette réaction - éviction des femmes multipares du don
---	--	---

• **Alloimmunisation anti-HLA**

- Les GB contenus dans les CGR et les concentrés plaquettaires sont susceptibles d'immuniser le receveur contre les Ag HLA
- Ac anti-HLA produits → mauvais rendement transfusionnel.

• **Purpura post-transfusionnel aigu**

Ph : - rare. secondaire à la transfusion de concentrés plaquettaires (ou de CGR contenant des plaquettes) chez un malade immunisé contre un Ag plaquettaire qu'il ne possède pas (généralement patient HPA-1b ayant des anti-HPA-1a). - Cette transfusion de plaquettes incompatibles suscite un phénomène immunologique où les propres plaquettes du receveur sont détruites en même temps que les plaquettes transfusées. - survient 8 à 15 jours après la transfusion chez un sujet polytransfusé ou une femme multipare. On indique la recherche d'anticorps anti HPA>1a	Tt : - immunoglobulines IV à forte dose - éviter toute transfusion supplémentaire de plaquettes ou de GR - si hémorragie sévère, transfusion de plaquettes HPA1a-négatives	Pr : - Transfusion de plaquettes phéno-compatibles chez les patients immunisés
---	--	--

• **Réaction du greffon contre l'hôte (Graft versus Host Disease - GvH)**

Ph : - rare mais très grave. - attaque de l'organisme d'un receveur immunodéprimé par les cellules immunocompétentes stimulées (Lc T) contenues dans le PSL transfusé.		Pr : - transfusion de PSL irradiés chez les immunodéprimés.
---	--	---

• **Réactions allergiques**

Ph: - présence dans le plasma du receveur d'IgE réagissant contre les protéines du plasma contenu dans le PSL transfusé - présence dans le plasma du donneur d'IgE dirigées contre un allergène du plasma du receveur - réaction à une substance médicamenteuse ou alimentaire à laquelle le receveur a été exposé avant ou pendant la transfusion - existence d'Ac anti-IgA chez le receveur ayant un déficit en IgA	Tt : - arrêter la transfusion - injection d'anti-histaminiques et de corticoïdes - rechercher un déficit en IgA si réaction de type choc anaphylactique	Pr : - Prescription systématique d'antihistaminiques avant la transfusion - Transfusion de CGR déplasmatisés chez les patients ayant déjà développé des réactions allergiques importantes sévères et résistantes à la prémédication ou ayant un déficit en IgA
---	---	--

COMPLICATIONS METABOLIQUES ET DE SURCHARGE**• Surcharge volémique**

Ph: transfusion rapide et/ou massive de produits sanguins, particulièrement chez un insuffisant cardiaque, insuffisant rénal ou âgé.

Tt:

- arrêter la transfusion
- installer le malade en position assise
- Oxygène
- administration de diurétiques (furosémide)

Pr

- Transfusion lente avec injection de diurétiques si besoin chez les patients exposés notamment les insuffisants cardiaques ou pulmonaires.
- Surveillance régulière du patient.

• Surcharge en citrate

Ph :

- Le citrate de la solution anticoagulante présente dans les PSL peut par chélation du calcium provoquer chez le receveur une acidose et une hypocalcémie.
- observée essentiellement dans les transfusions massives de plasma.

Tt :

- arrêt de la transfusion
- injection de gluconate de calcium à 10% en IV lente
- reprise plus lente de la transfusion

Pr :

- éviter les transfusions rapides
- injection préventive de Ca^{2+} dans les transfusions à risque

• Surcharge en potassium

Ph :

- Pendant la conservation, le potassium (K^+) fuit progressivement des GR et augmente la kaliémie du produit sanguin.
- s'observe essentiellement lors des transfusions massives de sang conservé particulièrement chez l'insuffisant rénal qui a déjà une kaliémie élevée

Tt :

- Lasilix, gluconate de calcium

• Hypothermie

Ph :

CGR conservés entre 2-8°C. Une transfusion massive peut entraîner une hypothermie avec risque d'acidose et

Pr :

Réchauffement des CGR

d'arythmie cardiaque.

Hémochromatose		
Ph : - Un CGR apporte 200 à 250 mg de fer. - Chez les polytransfusés (thalassémiques, syndromes myélodysplasiques...), existe un risque de surcharge en fer lequel peut se déposer au niveau des tissus de divers organes : foie, rate, pancréas, et cœur	Tt : - chélation du fer systématiquement associée aux transfusions Déféroxamine : voie injectable Défériprone, déférasirox: voie orale	Pr : - chélation du fer systématiquement associée aux transfusions Déféroxamine : voie injectable Défériprone, déférasirox: voie orale
COMPLICATIONS INFECTIEUSES		
• Choc septique ou endotoxinique		
Ph : - Accident gravissime secondaire à la transfusion d'un PSL contaminé par des bactéries : germe Gram négatif le plus souvent. - contamination bactérienne du produit sanguin peut être liée au matériel de prélèvement du donneur, à des mesures d'asepsie insuffisantes, au non respect de la chaîne du froid ou des conditions de stockage des PSL, à l'ouverture d'un système clos ou à une bactériémie chez le donneur.	Tt : - Arrêter immédiatement la transfusion - Entamer les mesures de traitement et de surveillance - Réaliser le bilan nécessaire pour confirmer le diagnostic : - Adresser le PSL incriminé correctement clampé au plus vite au laboratoire de bactériologie pour examen direct et mise en culture - Hémocultures (souvent négatives car choc toxinique) - Eliminer une incompatibilité érythrocytaire	
• Transmission de maladies infectieuses		
Syphilis		
Ph : - Tous les produits sanguins frais, conservés moins de 3 jours à +4°C ou -20°C peuvent être vecteurs du tréponème. - Actuellement, risque majeur associé aux concentrés plaquettaires.	Tt "voir questions correspondantes dans chapitre des maladies infectieuses"	Pr : dépistée systématiquement chez tout donneur de sang.
Hépatites virales B et C		
Ph : - produits sanguins vecteurs sont tous les PSL non viro-atténués.	Tt "voir questions correspondantes dans	Pr : - risque résiduel actuel de transmission des virus des

- produits sanguins stables sans risque.	chapitre des maladies infectieuses"	hépatites devenu très faible grâce aux mesures de prévention - sélection des donneurs, dépistage systématique de l'Ag HBs et des anticorps anti-VHC chez tout donneur de sang.
HIV		
Ph : - Actuellement risque de transmission transfusionnel du VIH très réduit	Tt "voir questions correspondantes dans chapitre des maladies infectieuses"	Pr : - dépistage systématique chez les donneurs
Infection par le parvovirus B19		
- à redouter chez les receveurs immunodéprimés et les patients atteints d'anémie hémolytique chronique qui pourront développer une érythroblastopénie.	Tt "voir questions correspondantes dans chapitre des maladies infectieuses"	
Infection à CMV		
Ph : - transmis par les GB transfusés	Tt "voir questions correspondantes dans chapitre des maladies infectieuses"	Pr : - transfusion de PSL déleucocytés et/ou CMV négatif.
Paludisme transfusionnel		
Ph : - transmis par les GR infectés - risque existe avec le PSL contenant des GR (CGR et concentrés plaquettaires). - grave chez les immunodéprimés	Tt "voir questions correspondantes dans chapitre des maladies infectieuses"	Pr : - Exclusion des donneurs ayant séjourné en zone d'endémie - goutte épaisse ± dépistage d'Ac anti-plasmodium chez donneurs à risque.