

LES INDICATIONS DE LA RECHERCHE DES ANTICORPS ANTI-ERYTHROCYTAIRES

INDICATIONS FOR THE SEARCH FOR ANTI-ERYTHROCYTE ANTIBODIES

I. BEN AMOR^{1,2,*} ET J. GARGOURI^{1,2}

1 : Centre régional de Transfusion sanguine de Sfax-Tunisie

2 : Faculté de Médecine de Sfax, Université de Sfax- Tunisie

*E-mail de l'auteur correspondant : ikrambenamor.hemato@gmail.com

Résumé

La recherche des anticorps irréguliers (RAI) anti-érythrocytaires représente une analyse fondamentale en immunohématologie. Elle permet d'assurer la sécurité immunologique des transfusions sanguines et le suivi immunohématologique de la femme enceinte. Il est crucial de respecter, aussi bien par les prescripteurs que par les biologistes, les règles et les recommandations relatives à la prescription et à l'exploitation des résultats de cette analyse que ce soit en pré- ou en post-transfusionnel. Nous aborderons, dans cette mise au point, la RAI en contexte transfusionnel. Nous discuterons les indications de la prescription de la RAI et pré- et en post-transfusionnel à partir des recommandations de la littérature.

Mots - clés: Anticorps ; Sécurité; Transfusion

Abstract

Screening of Red Blood cell antibodies is a cornerstone of immunohematology. It allows the prevention of immune-mediated hemolytic transfusion reaction and the follow-up of pregnancy. It's crucial, both for medical doctor and biologist, to respect the rules and recommendations relating to the prescription and the use of the results of this analysis. In this article, we will discuss the indications RAI prescribing on pre- and post-transfusion context on the basis of the recommendations of the literature.

Key - words: Antibodies; Safety; Transfusion

ملخص

يمثل البحث عن المضادات الجسدية غير المنتظمة للكريات الحمراء (RAI) تحليلاً أساسياً في علم المناعة يضمن السلامة المناعية لعمليات نقل الدم والمراقبة المناعية للمرأة الحامل. من الأهمية بمكان احترام القواعد والتوصيات المتعلقة بوصفة واستغلال نتائج هذا التحليل، سواء قبل أو بعد نقل الدم، سواء من قبل الوصفات أو من قبل المتخصصين في التحليلات البيولوجية. في هذا النص، سندرس البحث عن المضادات الجسدية غير المنتظمة للكريات الحمراء (RAI) في إطار نقل الدم. سنناقش حالات وصفة البحث عن هذه المضادات الجسدية غير المنتظمة (RAI) في عمليات ما قبل وبعد نقل الدم بناءً على التوصيات العلمية

الكلمات المفاتيح: المضادات الجسدية غير المنتظمة للكريات الحمراء ; سلامة نقل الدم

INTRODUCTION

La recherche des anticorps irréguliers (RAI) anti-érythrocytaires est une analyse immunohématologique prescrite dans 2 grandes indications : la sécurité immunologique de la transfusion sanguine et le suivi immunohématologique de la femme enceinte. En fait, tout individu exposé aux antigènes des groupes sanguins érythrocytaires, via la transfusion, la grossesse ou la transplantation et greffe, peut produire des alloanticorps anti-érythrocytaires.

En contexte transfusionnel, la RAI permet d'identifier les anticorps présents chez le receveur et dicte les règles de sélection des concentrés de globules rouges afin d'éviter les accidents immunohémolytiques, qu'ils soient immédiats ou retardés. Ceux-ci demeurent l'un des risques majeurs de la transfusion sanguine. Si ce risque est présent pour toute transfusion, il est particulièrement élevé chez les patients polytransfusés, notamment en hématologie, dans la mesure où ils sont exposés à la survenue d'une alloimmunisation plus fréquente et parfois plus complexe que dans d'autres domaines de la médecine.

Il est donc crucial de respecter, aussi bien par les prescripteurs que par les biologistes, les règles et les recommandations relatives à la prescription et à l'exploitation des résultats de cette analyse immunohématologique que ce soit en pré- ou en post-transfusionnel.

Le propos de cet article est de revoir les indications et les recommandations de la prescription de la RAI en contexte transfusionnel afin de prévenir les accidents immunohémolytiques transfusionnels. Les aspects purement techniques ainsi que l'application de la RAI en contexte obstétrical ne feront pas l'objet de ce document.

PRINCIPE

Le principe de la RAI est simple : il s'agit de détecter, dans le sérum ou le plasma du patient, un ou plusieurs anticorps dirigés contre un ou plusieurs antigènes de la surface du globule rouge, autres que ceux du système ABO. Pour ce faire, on fait réagir le sérum/plasma d'un patient avec une gamme d'hématies-tests de groupe O et de constitution phénotypique connue, appelée hématies détectrices ou **panel**. Selon la réglementation tunisienne, les hématies-tests doivent permettre la détection des anticorps dirigés contre 20 antigènes érythrocytaires :

D, C, c, E, e, K, k, Fya, Fyb, Jka, Jkb, M, N, S, s,

Lea, Leb, Lua, Lub, P1[1].

Actuellement, on dénombre plus de 350 antigènes à la surface des globules rouges [2]. Ce chiffre est appelé à la hausse vu les progrès accomplis dans le domaine du génotypage érythrocytaire. Le choix des 20 antigènes sus-cités a été dicté par leur immunogénicité estimée par la fréquence des anticorps correspondants chez les patients transfusés et définie comme étant la capacité d'un antigène à stimuler la production d'un anticorps chez un individu ne le possédant pas [3]. L'antigène D (RH1) est le plus immunogène. Quatre-vingt pour cent des individus immunocompétents Rhésus D négatif développeront un anticorps anti-D après transfusion de globules rouges D positif. Cette incidence est beaucoup plus faible chez les patients immunodéprimés [5,6]. Viennent ensuite, par ordre décroissant d'immunogénicité, les antigènes K, c (RH4), E (RH3), Fya, Jka[4]. Cette forte immunogénicité des antigènes C, E, c, e et K explique la stratégie de transfuser préférentiellement par des produits sanguins phénotypes RH-KEL compatibles. En pratique transfusionnelle, il n'est pas possible d'appliquer cette mesure sécuritaire pour les autres antigènes érythrocytaires. D'où l'intérêt de pratiquer une RAI pour dépister une éventuelle alloimmunisation et prévenir les accidents hémolytiques post-transfusionnels.

D'autres panels dits "rares" sont disponibles au niveau des laboratoires d'immunohématologie de référence, comme le panel "Public négatif" formé par des hématies-tests dépourvues d'antigènes publiques.

MÉTHODES

La RAI est prescrite par le médecin traitant (en charge du patient) ou à l'initiative du biologiste de l'établissement de transfusion sanguine. Il est primordial de préciser, sur le bon de la demande d'analyse biologique, les antécédents obstétricaux et transfusionnels de moins de 6 mois. Ces renseignements sont indispensables à l'interprétation des résultats obtenus. Leur méconnaissance peut conduire à des conclusions erronées, d'autant que l'épisode transfusionnel est récent et important.

Au laboratoire, la RAI se déroule en 2 étapes : une première étape de dépistage basée sur l'utilisation d'un panel, dit de dépistage, de 2 à 4 hématies exprimant les antigènes réglementairement définis. Un dépistage positif indique la présence, dans le

plasma/sérum du patient, d'un Ac anti-érythrocytaire ou plus. Il est suivi par la deuxième étape de la RAI qui est l'identification du ou des anticorps. Elle consiste à déterminer la spécificité du ou des anticorps présents par l'utilisation d'un panel d'au moins 10 hématies (panel d'identification). L'identification doit être complétée par le phénotypage du patient afin de confirmer l'absence de l'antigène correspondant à l'anticorps identifié.

Il est utile d'attirer l'attention sur la durée de réalisation de la RAI pour en tenir compte dans un contexte d'urgence. Ce délai est de 30 à 45 min pour le dépistage. L'identification de la spécificité de l'anticorps peut durer au minimum 1 heure et peut aller jusqu'à 2 - 3 jours. En effet, les identifications simples ne posent généralement pas de problèmes de validation. En revanche, les RAI complexes posent des difficultés d'interprétation dont la résolution fait souvent appel à des techniques complémentaires particulières et le recours à des réactifs rares ou difficilement disponibles. Ceci peut expliquer le retard de la transmission du compte rendu du laboratoire et, par conséquent, de la délivrance des produits sanguins. Il s'agit d'un point essentiel qui doit être connu et compris par les prescripteurs de produits sanguins.

INDICATIONS DE LA RAI EN PRÉ-TRANSFUSIONNEL

En Tunisie, les exigences réglementaires concernant la réalisation de la RAI figurent dans la circulaire ministérielle N° 32/2015 relative à la sécurité transfusionnelle [1]. La RAI n'est pas obligatoire en pré-transfusionnel dans notre pays. Elle est **indiquée** chez les polytransfusés et les femmes multipares.

Toutefois, dans le cadre de la prévention des accidents immunohémolytiques transfusionnels, il est préférable de réaliser la RAI chez tout patient susceptible d'être transfusé à court terme et/ou dans un contexte de greffe ou de transplantation. Malgré l'absence d'une obligation réglementaire et dans un souci d'optimisation de la sécurité transfusionnelle du receveur, on peut proposer de pratiquer la RAI chez tout patient ayant reçu au moins une transfusion de CGR : 1 à 3 mois après le dernier épisode transfusionnel ou avant un nouvel épisode transfusionnel.

Par ailleurs, la RAI donne une « photographie » du statut immunologique du patient à un moment donné. Il est donc crucial de fixer le délai maximal de validité et d'exploitation des résultats de la RAI.

En tenant compte de la cinétique des anticorps dans le temps, les bonnes pratiques transfusionnelles fixent le délai de validité de la RAI à 3 jours (à compter du prélèvement) en cas d'antécédents transfusionnels et/ou obstétricaux dans les 6 mois précédents [7]. Ce délai apparaît sécuritaire, puisque, dans une étude portant sur 2 932 patients, seulement 0,4 % ont développé un anticorps dans les 3 jours suivant une transfusion [3]. En l'absence de tels antécédents, ce délai peut être porté à 21 jours.

INDICATIONS DE LA RAI EN POST-TRANSFUSIONNEL

Le but de la RAI prescrite en post-transfusionnel est de détecter une alloimmunisation post-transfusionnelle. On s'interroge souvent sur le délai optimal de réalisation de la RAI après une transfusion ou une série de transfusions qui nous rassure quant au risque de passer à côté d'un alloanticorps d'apparition précoce et de disparition rapide ou, au contraire, d'un anticorps d'apparition tardive (plusieurs mois après la transfusion). Ce délai dépend de la cinétique d'apparition des anticorps ainsi que du délai de leur disparition, ces deux paramètres étant variables en fonction de la spécificité des anticorps [3]. La réponse à cette question reste encore incomplètement élucidée avec, particulièrement, une zone d'ombre en ce qui concerne la cinétique des anticorps au cours du premier mois post-transfusionnel. En fait, dans la majorité des études, la RAI était réalisée plusieurs mois voire plusieurs années après la transfusion, le plus souvent à l'occasion d'un nouvel épisode transfusionnel [8-11].

D'autres études ont décrit des réponses immunes primaires précoces se manifestant par l'apparition rapide des anticorps et, parfois, un test direct à l'antiglobuline positif avec ou sans réaction hémolytique post-transfusionnelle retardée [12-16]. Dans l'étude multicentrique et rétrospective de Shonewille et al. Portant sur 1778 patients transfusés, les anticorps anti-Kidd représentaient 20 % des anticorps détectés au cours du 1^{er} mois post-transfusionnel et 3 à 6 % quand la RAI était refaite après 3 mois de la transfusion [3]. Ces constatations expliquent l'implication de ces anticorps dans les réactions post-transfusionnelles hémolytiques retardées [17-19]. Dans une autre étude prospective de Heddleat al.[20], portant sur l'alloimmunisation post-transfusionnelle chez 2082 patients, 32 anticorps (anti-RH, K, FY, JK ou MNS) ont été nouvellement identifiés après une

médiane de 4 jours post-transfusionnels (extrêmes : 1 - 94 jours).

Par ailleurs, dans l'étude de Shonewille et al. les anti-duffy étaient plutôt classés dans la catégorie des anticorps d'apparition tardive et persistants dans le temps. Ils représentaient 5 à 8 % des anticorps identifiés au cours des 6 premiers mois post-transfusionnels. Cette fréquence s'élève à 27 % lorsque le dépistage était réalisé après 6 mois. De surcroît, ces anticorps persistaient plus de 5 ans après la transfusion [3].

Selon les données de la littérature, 64 % des anticorps deviennent indétectables avec le temps, dont 40 % disparaissent dans les 3 mois post-transfusionnels. La vitesse de l'évanescence des anticorps est variable en fonction de la spécificité : les anti-JKa disparaissent le plus vite, parfois en moins d'une semaine, puis viennent les anti-K, puis les anti-Fya, enfin les anti-E. Les anti-D apparaissent plus stables dans le temps.

Au vu de toutes ces données, les experts préconisent de pratiquer la RAI post-transfusionnelle à 2 reprises : une RAI précoce entre le 7^{ème} et le 21^{ème} jours post-transfusionnels pour détecter les réactions immunitaires primaires rapides ou les réactions secondaires, puis une RAI entre 1 à 3 mois, voire 6 mois après un épisode transfusionnel [21].

Une attention particulière est à réserver aux polytransfusés de façon itérative, chez lesquels le médecin doit prescrire la RAI au bon moment au cours du suivi des transfusions. Le "bon moment" est celui où l'on a le plus de chances d'observer un anticorps : la présence d'un anticorps décelable dépend en effet du rythme des transfusions et varie donc avec chaque patient. La répétition des transfusions à intervalles rapprochés peut amener à l'adsorption de l'alloanticorps sur les hématies transfusées incompatibles et empêcher leur détection par la RAI. Pour pallier la négativité de la RAI, il est vivement recommandé de pratiquer un test direct à l'antiglobuline (test de Coombs direct) qui permettra de détecter la sensibilisation des hématies du donneur par l'alloanticorps réactivé. En cas de positivité du TDA, l'éluion permettra d'identifier l'anticorps du receveur fixé sur les hématies transfusées.

CONCLUSION

Outre le respect des multiples exigences techniques, L'interprétation des résultats de la RAI doit être rigoureuse et menée en parallèle avec l'analyse du contexte clinique. Cela impose une

collaboration étroite entre le laboratoire d'immunohématologie et l'équipe médicale en charge du patient.

REFERENCES

- [1] Ministère de la santé. Circulaire N° 32/2015 relative à la sécurité transfusionnelle. République tunisienne.
- [2] Les groupes sanguins érythrocytaires. Baily P. Chiaroni J, Roubinet F. Edition John Libbey Eurotext, Paris, 2015.
- [3] Schonewille H, Van Watering LGL, Loomans D SE, Brand A. Red blood cell antibodies after transfusion : factors influencing incidence and specificity. *Transfusion.* 2006 ;46 :250-256.
- [4] Giblett ER. A critique of the theoretical hazard of inter vs. intra-racial transfusion. *Transfusion.* 1961;1:233-238.
- [5] Lichtiger B, Surgeon J, Rhorer S. Rh-incompatible platelet transfusion therapy in cancer patients: a study of 30 cases. *Vox Sang.* 1983;45:139-143.
- [6] Asfour M, Narvios A, Lichtiger B. Transfusion of RhD-incompatible blood components in RhD-negative blood marrow transplant recipients. *Med Gen Med.* 2004; 6:22.
- [7] Blood transfusion guidelines. 3rd version. Utrecht: Dutch Institute for Healthcare CBO; 2004.
- [8] Walker RH, Lin DT, Hartrick MB. Alloimmunization following blood transfusion. *Arch Pathol Lab Med.* 1989;113:254-261.
- [9] Fluit CR, Kunst VA, Drenthe-Schonk AM. Incidence of red cell antibodies after multiple blood transfusion. *Transfusion.* 1990;30: 532-535.
- [10] Spielmann W, Seidl S. Prevalence of irregular red cell antibodies and their significance in blood transfusion and antenatal care. *Vox Sang.* 1974;26:551-559.
- [11] Stiegler G, Sperr W, Lorber C, et al. Red cell antibodies in frequently transfused patients with myelodysplastic syndrome. *Ann Hematol.* 2001;80:330-333.
- [12] Kim HH, Park TS, Oh SH, et al. Delayed hemolytic transfusion reaction due to anti-Fyb caused by a primary immune response: a case study and a review of the literature. *Immunohematology.* 2004;20:184-186.
- [13] DePalma L, Criss VR, Roseff SD, et al. Presence of the red cell alloantibody anti-E in an 11-week-old infant. *Transfusion.* 1992;32:177-179.
- [14] Bacon N, Patten E, Vincent J. Primary immune response to blood group antigens in burned children. *Immunohematology.* 1991;7:8-11.
- [15] Patten E, Reddi CR, Riglin H, et al. Delayed hemolytic transfusion reaction caused by a primary immune response. *Transfusion.* 1982;22:248-250.
- [16] Albiero AL, Novaretti MC, Llacer PE, et al. Early primary immune response against erythrocytes: a case report. *Transfus Med.* 2003;13:93-97.
- [17] Vamvakas EC, Pineda AA, Reisner R, et al. The differentiation of delayed hemolytic and delayed serologic transfusion reactions: incidence and predictors of hemolysis. *Transfusion.* 1995;35:26-32.
- [18] Pineda AA, Vamvakas EC, Gordon LD, et al. Trends in the incidence of delayed hemolytic and delayed serologic transfusion reactions. *Transfusion.* 1999;39:1097-1103.
- [19] Ness PM, Shirey RS, Thoman SK, et al. The differentiation of delayed serologic and delayed hemolytic transfusion reactions: incidence, long-term serologic findings, and clinical significance. *Transfusion* 1990;30:688-693

[20] Heddle NM, Soutar RL, O'Hoski PL, et al. A prospective study to determine the frequency and clinical significance of allo-immunization post-transfusion. *Br J Hematol* 1995;91: 1000-1005.

[21] Rouger P, Salmon Ch. Prévention et diagnostic des accidents immunologiques transfusionnels. In: Rouger P, Salmon Ch. *La pratique des allo et auto-anticorps anti-érythrocytes*. Paris. Masson;1981. p 21-32.