

IMMUNO-HÉMATOLOGIE ÉRYTHROCYTAIRE

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 situation de conflit immunologique s'exprime dans deux domaines de la pathologie : les **accidents immunologiques transfusionnels** et l'**incompatibilité fœto-maternelle**.

L'histoire des groupes sanguins débute avec la découverte du système ABO par Karl Landsteiner en 1900. A l'heure actuelle, 25 systèmes de groupes sanguins et près de 300 antigènes sont définis. Certains sont de nature **glucidique**, comme les systèmes ABO, Hh ou Lewis, dont les antigènes sont portés par les extrémités terminales de glycoprotéines ou de glycolipides membranaires. D'autres sont de nature **peptidique**, expression directe des gènes, et ancrés dans la membrane des hématies.

Au contraire des antigènes de nature peptidique, dont l'expression est souvent restreinte aux cellules sanguines et souvent limitée à l'homme, les antigènes glucidiques sont des antigènes tissulaires, présents dans de nombreux organes, et exprimés dans de nombreuses autres espèces, y compris les bactéries. Les anticorps anti-érythrocytes dirigés contre ces systèmes de groupes sanguins, en se fixant sur la membrane érythrocytaire, sont souvent responsables d'une diminution de la durée de vie des hématies et d'une hémolyse retardée par phagocytose, et peuvent parfois induire une hémolyse intra-vasculaire massive par activation du complément.

Les implications cliniques des conflits immunologiques mettant en jeu les antigènes de groupes sanguins sont très importantes, mais il faut distinguer 2 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 »** impose de sélectionner des hématies (donneurs) compatibles pour les transfusions ultérieures.

1. Les systèmes ABO et Hh

1.1. Aspects génétiques et biochimiques

Les antigènes A, B et H sont des oligosaccharides portés par des glycolipides membranaires des héma-

ties, des cellules épithéliales et endothéliales. Ils sont également présents dans le plasma, la salive ou le lait.

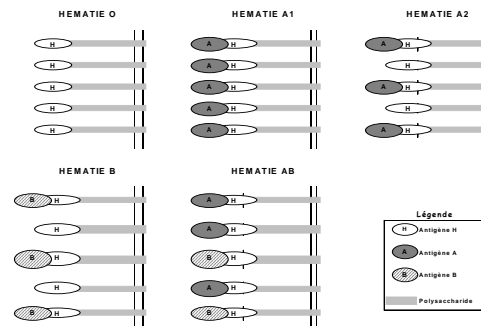
L'expression de ces antigènes sur les hématies est contrôlée par 2 locus distincts dont les gènes codent pour des enzymes appelées glycosyltransférases. Ces 2 systèmes génétiques fonctionnent sur un mode **diplélique codominant**, ce qui veut dire que la présence de 2 allèles fonctionnels différents conduit à l'expression phénotypique de 2 antigènes différents.

Le locus ABO sur le chromosome 9 présente 4 principaux allèles : A1, A2, B et O.

Les allèles **A1 et A2** codent pour une N-acétylgalactosamine-transférase. Chez les sujets de phénotype A2, l'antigène H persiste à la surface cellulaire. Les sujets de phénotype A1 ont au contraire une enzyme très active et l'antigène H, totalement masqué, ne peut plus être détecté. La distinction A1/A2 n'a 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.

L'allèle **O** est non fonctionnel du fait d'une délétion importante de la séquence codante, et aucune enzyme active n'est produite. 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 grande quantité d'antigène H sur leurs hématies.



Représentation schématique de l'expression des antigènes A, B et H à la surface de l'érythrocyte

Le tableau suivant présente les fréquences des 4 principaux phénotypes ABO. Il existe d'autres phénotypes rares, généralement déficients, qui sont l'affaire du spécialiste.

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



1.2. Les anticorps anti-A et anti-B

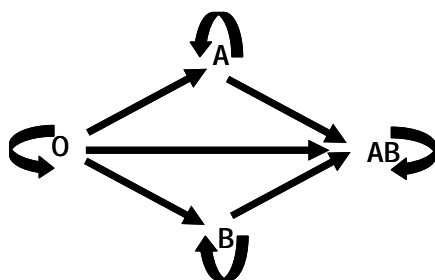
Les anticorps anti-A et anti-B, dirigés contre les antigènes du système ABO, sont des **anticorps naturels réguliers**, c'est à dire qu'ils sont **présents de façon constante chez tout individu adulte qui ne possède pas le(s) antigène(s) A et/ou B**, en dehors de toute stimulation antigénique. En fait, les antigènes A et B sont largement répandues dans l'environnement, en particulier chez les bactéries, et 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 n'ont pas d'anticorps naturel dans le système ABO.

L'intérêt clinique de ces anticorps naturels anti-A et anti-B est considérable, car 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 parfois mortelle. Ces anticorps sont de classe 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

1.3. Cas particulier : le phénotype 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.

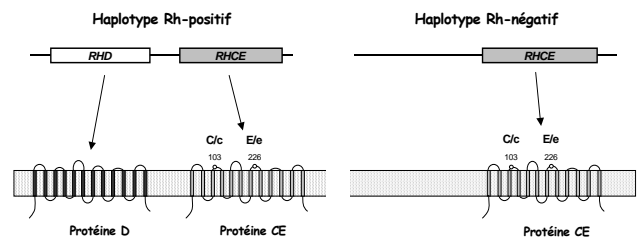
Il correspond à un **gène H non fonctionnel** à l'état homozygote (allèle *h*) dans des familles consanguines. Le groupage sanguin donne apparemment un groupe O, mais ces individus possèdent, en plus des anti-A et anti-B, un **anticorps naturel anti-H** qui agglutine donc toutes les hématies à l'exception des hématies Bombay elles-mêmes. Ils ne peuvent donc être transfusés qu'avec des hématies Bombay.

2. Le système Rhésus (RH)

2.1. Aspects génétique et biochimique

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

L'expression de ces antigènes est contrôlée par 2 gènes (*RHD* et *RHCE*), adjacents et de structure très voisine, localisés sur le chromosome 1.



Les haplotypes Rhésus positif et Rhésus négatif

Le **gène RHD** détermine l'expression d'une protéine exprimant l'antigène D. Il est présent chez 85% des individus en France qui sont donc 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- (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%

Les haplotypes Rhésus positif et Rhésus négatif



Le gène **RHCE** est responsable de l'expression des antigènes C, c, E et e.

Il existe 4 allèles possibles pour le gène **RHCE** : RHcE, RHCE, RHcE, et RHce.

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.

2.2. Les anticorps anti-Rhésus

Contrairement aux anticorps anti-A ou anti-B dits naturels, la grande majorité des anticorps dans le système Rhésus résultent 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, chez des sujets E négatifs qui n'ont jamais été en contact avec l'antigène E.

L'antigène D est 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 immuno-hémolytiques graves.

La fréquence et l'importance transfusionnelle des anticorps anti-D justifient le respect systématique et obligatoire de la compatibilité RHD en transfusion sanguine, sauf cas particuliers de transfusion massive. Ces anticorps sont également les plus fréquemment impliqués dans les problèmes d'incompatibilité fœto-maternelle.

Les autres antigènes du système Rhésus sont significativement moins immunogènes et l'apparition d'anticorps est donc moins fréquente après transfusion ou grossesse incompatible. Cependant, leur fréquence n'est pas négligeable et leur présence contre-indique toute transfusion incompatible pour chacun des antigènes C, E, c, e.

Il est donc important de respecter la compatibilité 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.

3. Le système Kell (KEL)

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 est restreinte à la lignée érythrocytaire. La fréquence de l'antigène K est de 9% seulement dans la population

française, alors que l'antigène k est présent chez plus de 99% des individus.

Les anticorps anti-K (KEL1) sont fréquents et dangereux. Compte tenu de la fréquence élevée de donneurs de sang de phénotype K- (91 %), il n'est pas difficile d'obtenir du sang compatible pour les sujets présentant un anticorps anti-K. En revanche, les anticorps anti-k (KEL2) sont très rares, 0,2 % seulement de la population n'exprimant pas l'antigène k. Ils sont cependant aussi dangereux que les anti-K et peuvent conduire à des situations d'impasse transfusionnelle, la fréquence des donneurs compatibles étant très faible.

4. Autres systèmes d'intérêt 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. Il s'agit des systèmes Duffy (FY), Kidd (JK) et MNS.

4.1. Le système Duffy

Il s'agit également d'un système immunogène. Il comprend 2 antigènes principaux, Fy^a (FY1) et Fy^b (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 sujets de race noire où un grand nombre de sujets sont porteurs à l'état homozygote d'un allèle silencieux, avec un phénotype érythrocytaire Fy(a-b-). Chez ces sujets, la glycoprotéine Duffy est absente des érythrocytes mais présente dans les autres tissus de l'organisme. Le phénotype Fy(a-b-) est exceptionnel dans la race blanche.

Les fréquences respectives des phénotypes Duffy chez les noirs et les caucasiens sont les suivantes :

Génotype		Phénotype	Fréquence caucasiens	Fréquence chez les Noirs
Allèle 1	Allèle 2			
Fy ^a (FY1)	Fy ^a (FY1)	Fy(a+b-)	20 %	20 %
Fy ^a (FY1)	Fy ^b (FY2)	Fy(a+b+)	47 %	2 %
Fy ^b (FY2)	Fy ^b (FY2)	Fy(a-b+)	33 %	10 %
-	-	Fy(a-b-)	Très rare	68 %

Les anticorps anti-Fy^a et Fy^b peuvent être impliqués dans des accidents transfusionnels immunologiques ou dans des problèmes d'incompatibilité fœto-maternelle. Une recherche d'anticorps irréguliers est donc indispensable pour détecter ces anticorps avant toute transfusion de globules rouges. Lorsqu'ils sont présents, ils imposent la recherche d'une unité de globules rouges immunologiquement compatible.

La protéine Duffy est également le récepteur de Plasmodium vivax à la surface des hématies et permet son intégration dans la cellule et son parasitisme. 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.

4.2. Le système Kidd

Il est également représenté par 2 antigènes principaux, Jk^a (JK1) et Jk^b (JK2), portés par une glycoprotéine membranaire et aussi immunogène que ceux du système Duffy.

Deux allèles codominants localisés sur le chromosome 18, JK1 et JK2, sont responsables de leur expression. Il s'agit d'un système diallélique équilibré, comme le montrent les fréquences phénotypiques dans le tableau suivant :

Génotype		Phénotype	Fréquence Race blanche
Allèle 1	Allèle 2		
Jk ^a (JK1)	Jk ^a (JK1)	Jk(a+b-)	27 %
Jk ^a (JK1)	Jk ^b (JK2)	Jk(a+b+)	50 %
Jk ^b (JK2)	Jk ^a (JK2)	Jk(a-b+)	23 %

Les anticorps anti-Jk^a et Jk^b sont également dangereux et relativement fréquents et doivent être systématiquement dépistés avant la transfusion.

4.3. Le système Mns

Deux antigènes principaux sont à prendre en compte dans ce système, S (grand S – MNS3) et s (petit S – MNS4). La fréquence de ces antigènes dans la population française est respectivement de 70% pour S et 88% pour s.

Les anticorps anti-S et anti-s peuvent être responsables de réactions hémolytiques transfusionnelles et de maladies hémolytiques fœto-maternelles. De ce fait ils doivent également être recherchés dans un contexte transfusionnel ou lors du suivi d'une grossesse.

5. Les examens biologiques et la sécurité immunologique des transfusions

5.1. Le groupage sanguin ABO-D

Du fait des conflits immunologiques potentiels et de leurs conséquences, l'identification des antigènes ABO et D (RH1) est obligatoire avant toute transfusion sanguine. Cet examen doit être absolument maîtrisé et sans défaut.

Des protocoles stricts et bien définis doivent être suivis tout au long de la chaîne allant du prélèvement au rendu du résultat biologique.

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 plasmatique ou de Simonin) par des techniques d'agglutination. Cette analyse doit être réalisée par 2 fois, par 2 personnes différentes et avec 2 séries de réactifs. On doit chaque fois s'assurer de la concordance des 2 épreuves globulaire et sérique.
- sous certaines conditions strictes d'automatisation et d'informatisation du laboratoire, une détermination peut être validée avec une seule réalisation du groupage.

L'analyse de l'antigène D (et des autres antigènes de groupe sanguin) suit les mêmes principes en se limitant à l'étude de la réactivité des hématies par deux anticorps anti-D 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.

Les résultats observés lors des épreuves globulaires et sériques pour les principaux phénotypes ABO sont présentés dans le tableau suivant :

Phénotype	Epreuve globulaire Sérums-tests			Epreuve sérique Hématies-tests	
	Anti-A	Anti-B	Anti-A+B	A1	B
A1	+++	-	+++	-	+++
A2	+++	-	+++	-	+++
B	-	+++	+++	+++	-
A1B/A2B	+++	+++	+++	-	-
O	-	-	-	+++	+++

Principes de réalisation et de validation d'un groupage sanguin

5.2. La recherche d'anticorps irréguliers (RAI)

Le principe de la RAI est de détecter 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 doivent présenter l'ensemble des antigènes potentiellement dangereux en transfusion sanguine (Rhésus, Kell, Duffy, Kidd, MNS, ...etc....).

La RAI est obligatoire avant toute transfusion de globules rouges.

