

# L'alloimmunisation transfusionnelle (Dr BENNAOUM)

# introduction

- L'allo immunisation est un conflit immunologique entre des AG (du donneur ou du Nne) et le système immunitaire du receveur qui produit des AC contre ces AG reconnus comme étrangers.
- AG érythrocytaires (RhD ABO et les autres systèmes immunogènes)
- leucoplaquettaire : HLA, HPA

# introduction

- L'alloimmunisation constitue un problème de santé publique chez les malades polytransfusés et chez les femmes enceintes ou en âge de procréer d'où la nécessité de la prévenir :
  - ✓ Peut survenir dès la première transfusion
  - ✓ Peut bloquer toute possibilité de transfusion lorsqu'elle est multiple.

# physiopathologie

## les Ag concernés

- *AG érythrocytaires: D Puis K> E> c> fya > Jka > e > C> Ss*
- *AG leucoplaquettaire : systèmes plaquettaires (HPA1, HPA2)*
- AG HLA
- Groupes sériques.

# physiopathologie

**Circonstances d'apparition** : La survenue de l'Alloimmunisation dépend de plusieurs facteurs:

a- **Immunogénicité des Ag** : facilité avec laquelle un Ag déclenche une synthèse d'Ac.

- Les **Ac anti-HLA sont les plus fréquents**, et sont les 1ers à apparaître chez les polytransfusés,
- Les Ag les plus immunogènes sont dans l'ordre d'immunogénécité : D > K1 > E > c > Fya > Jka > e > C > S > S.

b- **fréquence de l'Ag** :

- Ag Rh positif : (Ag D) 84% plus de chance de transfuser du Rh + à un Rh-
- Ag Kell négatif : ( $k_2 = K$ ) 91% ( $k_1 = 9\%$ ) moins de chance de transfusion un sujet  $K^-$  avec du sang  $K^+$

c- **les transfusions** :

- Nombre de transfusion : Augmentation du risque avec le nombre de PSL transfusés.
- Rythme des transfusions (stimulation) Les Ac apparaissent et disparaissent ; leur concentration varie avec le temps, au rythme des stimulations. Chez les malades soumis à des séries de transfusion,

d- **Le receveur** :

- Sexe : les femmes s'immunisent deux fois plus que les hommes.
- Age : personnes âgées et les nouveaux nés s'immunisent moins.
- Maladies : les malades atteints de cirrhose hépatique ou de thalassémie s'immunisent très facilement, alors que ceux atteints d'hémopathies malignes, déficit immunitaires produisent peu d'Allo Ac,

# Alloimmunisation anti érythrocytaire

- Les plus graves, surviennent quand les GR du donneur introduisent l'Ag contre lequel le receveur possède l'Ac correspondant. Les Ac du receveur vont se fixer sur les GR des donneurs qui portent l'Ag et une violente hémolyse intravasculaire peut survenir, soit une phagocytose au sein du système réticuloendothéliale.

# Alloimmunisation anti érythrocytaire

## Les systèmes immunogènes :

### système Rhésus :

- l'Ag Rh standard (D) : étant le plus immunisant des Ag de groupe sanguin, tout receveur Rh nég doit être transfusé avec du sang rhésus nég ; les donneurs font donc l'objet d'une détection, de l'Ag Rh D complété par l'Ag D faible (D<sup>u</sup>) à considérer comme rhésus positif et des Ag du complexe Rh (CcEe)
- D partiel : se caractérise par des mutations spécifiques et le sujet peut s'immuniser contre le fragment Rh qu'il ne possède pas, soit suite à une transfusion ou à une grossesse ; il sera dépisté à la suite d'un accident transfusionnel ou MHNN chez une femme Rh+. Il apparaît comme un sujet Rh+ possédant paradoxalement un allo Ac anti-D dans le sérum, il est considéré comme un sujet Rh négatif sur le plan transfusionnel.
- sujets rhésus nég : lorsque les donneurs de sang sont rhésus négatif on doit vérifier leur Ag C et E de tel sorte que seuls ceux qui sont négatifs pour les trois Ag seront répertoriés comme rhésus négatif

Système Kell : L'Ag Kell a le pouvoir immunogène le plus fort après l'Ag D

Système Duffy : L'Ag Fy<sup>a</sup> est l'Ag du système Duffy le plus immunogène.

Système Kidd : L'Ac anti-JK<sup>a</sup> peut non seulement être dangereux, mais aussi très difficile à identifier. Il faut parfois recourir à des techniques plus sensibles.

Système ABO : erreur transfusionnelle Le principe de la sécurité transfusionnelle est d'éviter la rencontre d'un Ag avec son Ac spécifique. Dans le système ABO, c'est l'Ac du receveur qui doit être pris en compte. Il faut transfuser en iso groupe iso rhésus phénoïdétiques. A défaut on utilise des CG compatibilisés. Les anticorps naturels (IgM) peuvent donner une réaction dès la 1ere transfusion.

# Alloimmunisation anti érythrocytaire

**mécanisme de l'hémolyse** : De nombreux facteurs influent sur la destruction des hématies incompatibles : L'Ac, La classe ou sous classe des Ig, La capacité de fixer le complément , Le volume du sang transfusé, Le nombre de sites antigéniques .

» Hémolyse intravasculaire :

- Survient dans les vaisseaux par une activation complète du complément.
- La coagulation est activée et peut conduire à une CIVD
- Libération de substances vaso-actives associée à une anoxie tissulaire favorisant le collapsus cardiovasculaire et risque d'insuffisance rénale aigue.

» Hémolyse extravasculaire :

- C'est la plus fréquente, elle survient dans la rate et dans le foie ; la phagocytose dans la rate concerne des Ac à prédominance IgG qui ne fixent pas le complément in vitro, tq l'anti Rh, anti Kell, et anti Duffy. La disparition des hématies sensibilisées est plus lente que dans l'hémolyse IV.



# Alloimmunisation anti érythrocytaire

## Aspect clinique :

**le choc hémolytique** : les réactions observées sont : Céphalée ; rougeur de la face ; douleurs lombaires ; chute de la tension artérielle ; saignement des plaies opératoires ceci devrait immédiatement conduire à l'arrêt de la transfusion.

**accidents mineurs** : ces accidents moins sévères comportent :

- La transfusion inefficace.
- La réaction frisson hyperthermie (signe d'une immunisation HLA)
- Ictère et subictère le jour ou lendemain de la transfusion. On peut observer de légers signes d'insuffisance rénale (oligurie, augmentation de l(urée sanguine) ceci devrait conduire à des analyses immunologiques plus approfondies.
- Ictère retardé (3 à 7 jours après la transfusion) peut être du à un donneur universel dangereux, il peut s'agir d'une réaction retardée causée par la réactivité d'un allo Ac méconnu (TCD devient positif et l'Ac responsable doit être élué et identifié)

**conséquences futures de l'incompatibilité transfusionnelle** :

- L'allo immunisation peut s'étendre aboutissant à une impasse transfusionnelle.
- Compromettre l'avenir obstétrical de jeunes femmes par allo immunisation et risque de survenue de MHNN.

# Alloimmunisation anti érythrocytaire

## *Méthodes d'étude :*

- La mise en évidence de l'allo immunisation est réalisée par des techniques d'agglutination, d'hémolyse et de réactions de fixation du complément.
- Les Ac peuvent correspondre à plusieurs classes et sous classes mais le plus important est de définir leur spécificité et d'apprécier leur activité in vivo à partir des tests in vitro, Leur amplitude thermique et leur affinité pour le complément.

# Alloimmunisation anti érythrocytaire

**Groupage ABO-Rh** : réaction d'agglutination active directe nécessite deux épreuves :

- *Globulaire : Beth-Vincent : détecter les allo Ag présents à la surface des GR en utilisant des sérums-tests spécifiques (antiB, antiA, antiAB)*
- *Sérique : Simonin : recherche des Ac sériques en utilisant des hématies-tests au phénotype connu (B, A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>)*
- *Pour valider les deux épreuves, il faut qu'il y ait une négativité des 3 témoins :*
  - *témoin auto : GR et sérum du malade*
  - *témoin allo : GR O avec sérum du malade pour valider la Simonin*
  - *témoin AB : Sérum AB (pool de sérum de 5 donneurs minimum) pour valider la Beth-Vincent, et l'absence de discordance entre les deux épreuves sérique et globulaire valide le groupage.*
- *groupage Rhésus :*
- *Consiste à rechercher l'Ag D à la surface des GR en utilisant un sérum test contenant l'anti-D d'origine monoclonal.*

# Alloimmunisation anti érythrocytaire

## **Phénotype Rh- Kell :**

- La recherche des Ag C, c, E , e rentre dans le cadre du phénotype basée sur une agglutination directe par des sérums.
- Test monospécifique (anti-C, anti-c, anti-E, anti-e et anti-kell)

## **Phénotype étendu :**

- Dans les autres érythrocytaires Duffy, Kidd, MNS chez les sujets polytransfusés, femmes en âge de procréer.

# Alloimmunisation anti érythrocytaire

## RAI :

- À l'aide de gammes d'hématies tests O on dépiste puis on identifie dans le sérum ou le plasma des Ac dirigés contre les Ag érythrocytaires autres que A et B. On utilise pour cela différents milieux :
  - Milieu Coombs indirect : La sensibilisation des hématies : le sérum à étudier est mis en contact avec des hématies possédant le ou les Ag correspondant aux Ac recherchés.  
phase de révélation : par un Ag humaine qui sert de lien entre les globines fixées à la surface des GR qui sont ainsi agglutinés
  - Milieu enzymatique : (papaine) les hématies utilisées sont traitées par un enzyme afin de mettre en évidence les Ag cryptés.
- La RAI se fait en deux étapes
  - Dépistage par un pannel de trois hématies-tests ; si positif on passe à
  - identification qui consiste à déterminer la spécificité du ou des Ac par un panel d'au moins 10 hématies-tests.
- **NB** : Une RAI négative n'élimine pas la présence d'Ac irréguliers ; ces derniers peuvent être présents à un taux faible comme ils peuvent être tous fixés sur les hématies
- La RAI est obligatoire chez les polytransfusés et après transfusion entre le 5<sup>eme</sup> et le 10<sup>eme</sup> jour. Chez la femme enceinte.
- Elle a une validité de 72h.

# Alloimmunisation anti érythrocytaire

## Test de Coombs direct

- Basé sur la mise en évidence des Ac fixés sur les hématies avec un sérum antiglobuline humaine qui en servant de lien entre les Ac fixés provoque l'agglutination des hématies.
- NB : un test de Coombs direct n'élimine pas la présence d'Ac fixés sur les GR.

## L'épreuve d'élution :

- Dans les premiers jours suivant la transfusion l'Ac est absent du sérum, il est adsorbé sur les hématies et donc une élution est nécessaire par l'éther ou par chauffage à 56°C, puis faire une RAI sur l'éluât pour rechercher l'Ac élué (c.a.d la spécificité)

# Alloimmunisation anti érythrocytaire (prévention)

Respect de certaines règles simples et obligatoires permettant d'éviter le risque d'allo immunisation:

- groupage sanguin :réalisé 2 fois sur 2 prélèvements différents par 2 techniciens et par 2 lots de réactifs en appliquant les 2 épreuves avec recherche du D<sup>u</sup> chez les donneurs de sang.
- la sélection du sang à transfuser : En fonction du phénotype du patient dans les systèmes les plus immunogènes
- épreuve de compatibilité au labo et au lit du malade : Par un test de Coombs indirect et un Cross match
- RAI: Doit être effectuée dans les 72 h avant toute transfusion et vers le 5eme et 10eme jour après une transfusions.
- Le contrôle ultime au lit du malade: obligatoire et consiste en :
  - La vérification administrative de l'identité civile du receveur
  - La concordance de l'état civile et du document transfusionnel
  - la concordance entre groupe sanguin ABO du patient et de l'unité qui va lui être transfusée.
- La fiche transfusionnelle : assure la traçabilité des analyses immuno- hématologiques (date, laboratoire, nature de l'analyse, résultat) et des transfusions de PSL (date, nature, numéros des unités transfusées, observations)
- Recherche d'hémolysines : Chez les donneurs de sang de groupe O.

# Alloimmunisation leucoplaquettaire

## Alloimmunisation HLA:

- L'allo immunisation anti HLA est plus précoce que l'immunisation anti érythrocytaire elle concerne les Ag HLA A B et HLA DR rarement HLA C.
- La transfusion provoquerait l'apparition d'Ac anti HLA dans 20% des cas après la transfusion de 10 unités, et dans 50% des cas après 30 unités de sang non filtrés et de donneurs multiples
- Les leucocytes s'avèrent encore plus immunogènes que les plaquettes
- L'apparition d'Ac immunisants de classe IgG fixant le complément et des sous classes IgG1 et IgG3 se fait parfois vite 4-10 jours après la transfusion, actifs entre 20-37°C.
- Divers méthodes permettent leur détection à savoir :
  - **Lymphocytotoxicité** : consiste à révéler par un colorant la lésion membranaire suite à l'action de l'activité cytotoxique spécifique en présence du complément en excès.
  - **Agglutination** : met en évidence l'Ac leuco- agglutinant
- La surveillance de l'apparition des Ac anti HLA nécessite le choix du moment et la répétition du dépistage.
- La prévention : transfusion de PSL déleucocytés : la déleucocitation systématique des produits cellulaires (CG, CPA) et la filtration du plasma sont obligatoires pour diminuer le risque d'allo immunisation anti HLA.



# Alloimmunisation leucoplaquettaire

**Alloimmunisation non HLA:** L'allo immunisation non HLA est mise en évidence chez les malades qui ont reçus des CPA HLA compatibles et chez lesquels on constate une inefficacité transfusionnelle, ceci suggère l'existence d'Ac développés contre les Ag non HLA.

**Ac dirigés contre les granulocytes :** Plus précisément contre les Ag spécifiques leucocytaires PN : HNA1, HNA2 Dans le sérum les Ac sont mis en évidence par : des techniques d'agglutination (révélation par une Antiglobuline marquée à l'iode 125 ), ELISA (identifier un Ac dirigé contre les GP granulocytaires).

**Ac dirigés contre les Ag plaquettaires :**

- Ag HPA<sub>1a</sub> est toujours en cause (plus fréquent en incompatibilité foetomaternelle).
- Ag HPA<sub>1b</sub> (plus fréquent en transfusion) HPA<sub>5</sub>, HPA<sub>2</sub> +/-
- Les Ac sont de classe IgG à l'exception des Ac anti HPA<sub>2</sub> qui sont des IgM
- les Ac cytotoxiques fixant le complément agglutinant leur cible les GP : Ia, IIb, IIIa (IIIb et V).
- l'Ac peut être transitoire, concomitant d'épisodes infectieux et leurs titres peuvent être fluctuant.
- Ils sont mis en évidence par IFI par une antiglobuline marquée à l'iode 125 ou à la fluoresceine ou par MAIPA.

# Alloimmunisation leucoplaquettaire

**Manifestations cliniques :** L'expression clinique est variable :

## → Réactions bénignes :

- frissons, hyperthermie, céphalée, tachycardie, HTA, modérée qui dure quelques heures et disparaissent ils s'agit d'Ac anti HLA et anti HPA.
- neutropénie post transfusionnelle (Ac anti HNA)
- thrombopénie post transfusionnelle peut apparaître au 8 eme jour Ac anti HPA.

## → Réactions latentes :

- transfusion inefficace de leucocyte (HLA) et de plaquette (HPA)
- destruction splénique ou hépatique des plaquettes

## → Réactions graves :

- Choc pyrogénique : oedeme pulmonaire lesionnel post transfusionnel s'installe quatre à six après la transfusion avec fièvre et HTA, les diagnostic repose sur la mise en évidence d'Ac anti granuleux ou anti HLA
- Purpura thrombopénique post transfusionnel : survient au 8 eme jour après une transfusion chez un polytransfusé, le taux de plaquette est très bas pouvant entrainer un syndrome hémorragique grave. qui disparaît en quelques jours.

# Alloimmunisation leucoplaquettaire

**Prévention de l'allo immunisation leuco- plaquettaire :** Elle se justifie chez les polytransfusés et les futurs transfusés et chez les femmes en âge de procréer :

- il faut utiliser des préparations dépourvues de GB et de plaquettes obtenues par filtration.
- utiliser des CUP déleucocytés obtenus par cytophérèse
- sélectionner des donneurs HLA compatibles

# Alloimmunisation anti protéines plasmatiques

L'existence de variations allotypiques au niveau des protéines plasmatiques et au pouvoir immunogène de certaines d'entre elles quoique limité explique l'apparition chez les polytransfusés d'allo immunisation à divers constituants protéiques du plasma.

## immunisation aux immunoglobulines :

- **Allo immunisation anti IgG** : un événement rare et sans conséquences clinique
- **Allo immunisation anti IgA et risque de choc anaphylactique** : dans la majorité des cas il s'agit d'Ac isotypique anti IgA apparaissant chez des sujets ayant un déficit isolé en IgA.
- La prévention : PSL déplasmatisés et lavés.

## Allo immunisation aux facteurs plasmatiques de coagulation :

- L'apparition de l'Ac anti facteur VIII est une complication redoutable du traitement transfusionnel des hémophiles A, car cet Ac est puissant qui a le pouvoir d'inhiber le facteur VIII injecté.
- ce sont des IgG<sub>3</sub> ou des IgG<sub>4</sub> inhibants l'activité du facteur VIII circulant.
- certains Ac anti facteurs de la coagulation sont rares : anti I, anti V, anti FVW.

## anti fibrinogène :

- Réaction fébrile chez les polytransfusés exceptionnellement anti enzymes ou anti haptoglobuline.

# Conclusion

- La compréhension des mécanismes de l'alloimmunisation est important pour la prise en charge et l'instauration d'une prévention efficace.