

Allo-immunisation anti-RH1 (anti-D) après transfusion de concentrés plaquettaires issus de donneurs RH :1

Anti-RH1 (anti-D) alloimmunization after transfusion of platelet concentrates from RH :1 donors

S. Duboeuf¹
F. Flourié¹
R. Courbil¹
P. Oriol²
A. Benamara¹
M. Chartier¹
E. Rigal¹
O. Garraud¹

¹ Etablissement français du sang
Auvergne-Loire, Site de Saint-Étienne
<sebastien.duboeuf@efs.sante.fr>

² Service d'hémovigilance
et de sécurité transfusionnelle,
CHU de Saint-Etienne

Résumé. L'allo-immunisation anti-érythrocytaire peut survenir suite à la transfusion de concentrés plaquettaires, en réponse à la présence d'hématies résiduelles. L'immunisation contre l'antigène RH1 (D) est la plus fréquente, mais la délivrance de concentrés plaquettaires RH1 compatibles n'est pas toujours possible du fait des contraintes d'approvisionnement. Nous rapportons trois cas d'allo-immunisation anti-RH1 (anti-D) chez des sujets RH :-1 après transfusion de concentrés plaquettaires issus de donneurs RH :1. Les critères de sélection de concentrés plaquettaires sont nombreux et difficiles à respecter en pratique quotidienne. Le respect de la compatibilité RH1 n'est pas obligatoire, mais en cas de transfusion de concentrés plaquettaires RH1 incompatibles, l'immunoprophylaxie anti-RH1 doit être effectuée chez le receveur RH :-1 de sexe féminin en âge de procréer et sans immunosuppression profonde, selon les recommandations de l'Afssaps (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé). Ces données rappellent la nécessité de la recherche d'agglutinines irrégulières (RAI) post-transfusionnelle dans le cadre de la transfusion de concentrés plaquettaires.

Mots clés : *alloimmunization, hématies, plaquettes, rhésus, transfusion*

Abstract. Anti-erythrocyte alloimmunization may occur following the transfusion of platelet concentrates, in response to the presence of residual erythrocytes. Immunization against RH1 (D) antigen is the most frequent, but transfusion of RH1 compatible platelet concentrates is not always possible because of supply constraints. We report here three cases of anti-RH1 (anti-D) alloimmunization in RH :-1 patients after transfusion of platelet concentrates from RH :1 donors. Criteria for selection of platelet concentrates are numerous and difficult to achieve in practice. Respect of RH1 compatibility is not obligatory, but in case of transfusion of RH1 incompatible platelet concentrates, anti-RH1 immunoprophylaxis must be made for RH :-1 women of child-bearing age and without profound immunosuppression, as recommended by Afssaps (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé). These data point out the need to perform post-transfusional screening test for irregular erythrocyte antibodies as part of the transfusion of platelet concentrates.

Key words: *alloimmunization, erythrocytes, platelets, rhesus, transfusion*

Article reçu le 21 novembre 2008,
accepté le 9 février 2009

Les plaquettes n'expriment pas les antigènes du système Rhésus (RH). Cependant, une allo-immunisation peut être induite par transfusion de concentrés plaquettaires, du fait de la présence d'hématies résiduelles. Compte-tenu des besoins croissants d'approvisionnement et des difficultés de gestion des stocks, l'Établissement français du sang (EFS) n'est pas toujours en mesure de fournir des concentrés de plaquettes compatibles dans le système Rhésus des patients. Nous nous intéressons à l'antigène RH1 (D), qui est l'antigène du système Rhésus le plus fréquemment responsable d'allo-immunisation en cas de transfusion plaquettaire incompatible, immunisation pouvant faire l'objet d'une immunoprophylaxie spécifique par l'injection d'immunoglobulines anti-RH1 (anti-D). Nous rapportons trois cas d'allo-immunisation anti-RH1 chez des sujets RH :-1 après transfusion de concentrés plaquettaires issus de donneurs RH :1.

Les observations

Les cas cliniques présentés concernent trois allo-immunisations anti-RH1 très vraisemblablement dues à la présence d'hématies résiduelles dans les concentrés plaquettaires.

Cas clinique n° 1

Madame B., 62 ans, est atteinte de polyvasculopathie sévère. Suite à une ischémie digestive chronique, elle a été hospitalisée en chirurgie vasculaire pour une réimplantation de l'artère mésentérique supérieure dans un pontage aorto-bi-fémoral, puis en chirurgie digestive pour une reprise chirurgicale du fait d'une nécrose digestive. La patiente, de groupe O RH :-1, -2, -3, 4, 5, KEL :-1, a reçu deux mélanges de concentrés plaquettaires standards (MCPS) issus de donneurs O RH :1 (le 2/12/2007 et le 5/12/2007), puis un concentré de plaquettes d'aphérèse (CPA) issu d'un donneur O RH :1 (le 6/12/2007). La numération plaquettaire avant les transfusions respectives était 64 G/L, 18 G/L et 30 G/L. Elle était 89 G/L, 78 G/L et 65 G/L après transfusions, respectivement. La recherche d'agglutinines irrégulières (RAI), négative avant ces trois transfusions, était positive un mois après : un anticorps anti-RH1 isolé a alors été identifié. Les concentrés de globules rouges (CGR) transfusés ont tous été de groupe O RH :-1, -2, -3, 4, 5, KEL :-1.

Cas clinique n° 2

Monsieur N., 58 ans, a bénéficié d'un double pontage aorto-coronaire le 24/01/2008. Ce patient, de groupe A

RH :-1, -2, -3, 4, 5, KEL :-1, a reçu après l'intervention un MCPS issu de donneurs A RH :1. La numération plaquettaire avant et après transfusion était respectivement 34 G/L et 94 G/L. La RAI, négative avant transfusion, était positive 40 jours après. Un anticorps anti-RH1 et un anticorps anti-RH2 (anti-C) ont alors été identifiés. Ce profil peut aussi correspondre à un anti-RH12 (anti-G), anticorps reconnaissant un antigène présent sur les hématies RH :1 et/ou RH :2. Les CGR transfusés ont tous été de groupe A RH :-1, -2, -3, 4, 5, KEL :-1.

Cas clinique n° 3

Madame A., 72 ans, suivie pour une splénomégalie myéloïde, a été hospitalisée dans le service de chirurgie pour une splénectomie. Cette patiente, de groupe A RH :-1, -2, -3, 4, 5, KEL :-1, a reçu le 12/06/2008, jour de son intervention, un MCPS issu de donneurs O RH :1 et un MCPS issu de donneurs A RH :1. La numération plaquettaire avant et après transfusions était respectivement 68 G/L et 103 G/L. La RAI, négative avant ces transfusions, était positive un mois après : un anticorps anti-RH1 isolé a alors été identifié. Les CGR transfusés ont tous été de groupe A RH :-1, -2, -3, 4, 5, KEL :-1.

Le point de vue du biologiste

La RAI a été effectuée par hémagglutination en filtration sur colonne de microbilles Ortho sur automate Innova (Ortho-Clinical Diagnostics, Raritan, États-Unis). L'identification a été réalisée par hémagglutination en gel/filtration sur carte Coombs anti-IgG-C3d Scangel (Biorad, Hercules, États-Unis) avec un panel de 15 hématies fournies par le Centre national de référence des groupes sanguins (CNRGS, Paris, France).

Les plaquettes expriment faiblement les antigènes du système ABO, mais pas les antigènes du système Rhésus, qui sont strictement érythrocytaires. L'immunisation anti-RH1 suite à la transfusion de plaquettes survient donc en réponse à la présence d'hématies résiduelles dans les concentrés plaquettaires. L'Afssaps (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé) recommande de transfuser des concentrés plaquettaires RH1 isogroupes [1]. Les patients RH :-1 devraient donc idéalement recevoir des concentrés plaquettaires préparés à partir de dons de phénotype RH :-1, en raison de la possibilité d'allo-immunisation anti-érythrocytaire. En pratique, du fait de la durée de conservation limitée des concentrés plaquettaires (péremption à cinq jours) et des contraintes d'approvisionnement, l'EFS peut être amené à délivrer des concentrés plaquettaires RH1 incompatibles. L'allo-immunisation

anti-RH1 suite à la transfusion de concentrés plaquettaires est cependant relativement peu fréquente : 3 cas au CHU de Saint-Étienne dans la période de l'étude de 19 mois, pour 4 495 concentrés plaquettaires délivrés (3 245 CPA et 1 250 MCPS). Deux patientes sont multipares, il n'est donc pas totalement exclu que pour ces deux sujets, la RAI post-transfusionnelle ait révélé une réactivation d'un anti-RH1 gravidique plutôt qu'une immunisation primaire. Si dans la plupart des cas de transfusions plaquettaires, l'antigène RH1 est responsable de l'allo-immunisation, d'autres antigènes de groupes sanguins peuvent être concernés, notamment dans le système Rhésus (RH2, 3, 4 et 5). Seule l'immunisation contre l'antigène RH1 fait l'objet d'une immunoprophylaxie spécifique, commercialisée en France sous le nom de Rhophylac® (LFB Biomédicaments, Les Ulis, France). Par ailleurs, la transfusion de concentrés plaquettaires peut aussi induire une immunisation anti-HLA (*human leukocyte antigen*) classe I et/ou anti-HPA (*human platelet antigen*), liée à des antigènes plaquettaires.

En cas de délivrance de concentré plaquettaire RH1 incompatible, un document est fourni au service prescripteur en même temps que le produit, demandant au clinicien d'effectuer une RAI avant transfusion afin de connaître le statut immunologique du patient.

L'immunoprophylaxie anti-RH1 n'a pas été effectuée pour les cas rapportés dans cette étude et n'était d'ailleurs pas obligatoire selon les recommandations de l'Afssaps de juin 2003. Elle l'est uniquement pour les patients de sexe féminin en âge de procréer et sans immunosuppression profonde. Elle consiste en l'injection dans les 72 heures de 200 ou 300 µg d'immunoglobulines anti-RH1. Il est admis qu'une dose peut protéger le receveur jusqu'à concurrence de 10 transfusions pour des CPA, sur une période maximale de 3 semaines [1].

Peu d'études ont été réalisées concernant la quantité minimale d'hématies susceptible d'induire une immunisation anti-RH1. Néanmoins, environ 30 à 40 % des patients immunocompétents RH :-1 développent un anti-RH1 après transfusion de 0,5 à 1 mL d'hématies RH :1 [2]. La quantité minimale immunisante serait de l'ordre de 15 à 30 µL (étude portant sur huit patients) [3], mais cet effectif restreint ne permet pas d'affirmer ce chiffre avec certitude. Il n'est donc pas exclu que de plus faibles quantités d'hématies RH :1 puissent entraîner une stimulation antigénique, surtout si cette exposition est répétée. Par ailleurs, le risque d'allo-immunisation anti-RH1 n'est pas uniquement fonction de la quantité d'hématies transfusées. Il dépend aussi de l'état de compétence du système immunitaire et probablement aussi de facteurs propres au receveur, codés génétiquement (dans le système HLA et/ou d'autres systèmes). Ainsi, le risque d'allo-

immunisation suite à la transfusion de concentrés plaquettaires RH1 incompatibles est faible pour les patients immunodéprimés tels que les patients d'oncologie et d'onco-hématologie [4-9]. Notons que la transfusion plaquettaire avec incompatibilité majeure dans le système ABO est considérée comme un facteur protecteur de l'immunisation anti-RH1, en diminuant la réponse immunitaire du patient à une transfusion de concentrés plaquettaires issus de donneurs RH :1 [2, 10, 11]. Cependant, une transfusion plaquettaire avec incompatibilité ABO majeure fait courir un risque de mauvais rendement plaquettaire et n'est pas en adéquation avec les recommandations actuelles de l'Afssaps, qui sont de transfuser des concentrés plaquettaires ABO compatibles [1].

Le volume d'hématies résiduelles dans un concentré plaquettaire est très variable en fonction de la technique de préparation. Les quantités rapportées dans la littérature sont inférieures à 7 µL par unité pour un CPA et de 200 à 500 µL pour un concentré plaquettaire issu du sang total préparé par la méthode de Plasma Riche en Plaquettes (PRP) [2, 4, 5, 8, 10, 12, 13]. Une étude rapporte une quantité de l'ordre de 590 µL (\pm 250 µL) pour un concentré plaquettaire issu du *buffy coat* [5]. En Europe, presque tous les MCPS sont issus de *buffy coats*, exceptionnellement de PRP, contrairement aux États-Unis où ils sont principalement issus de PRP.

Dans notre établissement, le taux d'hématies résiduelles dans les concentrés plaquettaires n'est pas quantifié en routine. Une concentration déterminée sur 11 MCPS préparés à partir de *buffy coats* a montré une valeur moyenne de $1,40 \times 10^6$ hématies/mL (valeur minimale $0,9 \times 10^6$ h/mL, valeur maximale $2,09 \times 10^6$ h/mL), correspondant à un volume moyen de 45 µL par poche. En routine, le contrôle du produit fini est visuel à partir d'abaques, apprécié sur la coloration rosée de la préparation. Le MCPS est recentrifugé pour une concentration d'hématies résiduelles supérieure à 4×10^6 par mL, soit une quantité de l'ordre de 130 µL par poche.

Ainsi, les patients RH :-1 bénéficiant d'une transfusion de CPA issus de donneurs RH :1 ont un plus faible risque d'allo-immunisation anti-RH1, qui pour certains auteurs ne nécessite pas une immunoprophylaxie anti-RH1, au contraire des patients RH :-1 bénéficiant d'une transfusion de MCPS issus de donneurs RH :1 [13]. Toutefois, même si le nombre d'hématies résiduelles dans un CPA a diminué progressivement ces vingt dernières années, l'absence d'immunoprophylaxie semble être une démarche encore prématurée. En effet, le nombre d'hématies résiduelles dans un CPA est susceptible de varier d'un établissement à l'autre et au sein d'un même site préparateur en fonction du type de séparateur utilisé pour la thrombophérèse. Les données de la littérature concernant le volume

minimum d'hématies susceptible d'induire une allo-immunisation sont actuellement insuffisantes pour établir ces recommandations.

Le point de vue du clinicien

Les critères prioritaires dans la sélection des concentrés plaquettaires (CPA ou MCPS) sont :

1. le contenu en plaquettes (principe actif) présent dans le concentré plaquettaire tenant compte de la posologie préconisée par l'Afssaps ($0,5$ à $0,7 \times 10^{11}$ plaquettes pour 7 kg de poids chez l'adulte et $0,5 \times 10^{11}$ plaquettes pour 5 à 7 kg de poids en pédiatrie) [1]. Le respect de cette posologie minimale préconisée est fondamental, notamment en période de pénurie où les concentrés plaquettaires d'aphérese sont parfois divisés afin de satisfaire l'ensemble des demandes ;
2. la durée de conservation du concentré plaquettaire avec un objectif idéal de produits délivrés entre J_1 et J_3 . Le respect de ce principe est parfois difficilement tenu, notamment en période d'abondance de concentrés plaquettaires où les produits à péremption proche sont délivrés en priorité ;
3. le respect de la compatibilité ABO, non indispensable stricto sensu, permet de bénéficier de l'intégralité du principe actif sans perte du rendement transfusionnel.

Ces 3 critères prioritaires ont en commun d'avoir une réelle influence sur le rendement plaquettaire post-transfusionnel (recirculation des plaquettes) et donc sur le bénéfice thérapeutique pour le patient. La numération post-transfusionnelle permet de déterminer l'efficacité de la transfusion au regard de la cible choisie, qui varie en fonction de l'état clinique, du besoin thérapeutique ou parfois prophylactique.

En plus de ces 3 critères prioritaires, d'autres peuvent se rajouter et notamment pour certaines situations particulières :

1. la qualification « CMV négatif » pour des indications précises (receveur CMV négatif de cellules souches hématopoïétiques d'un donneur CMV négatif, receveur de greffe de poumon, quel que soit son statut sérologique vis-à-vis du CMV, femme enceinte CMV négative ou de statut sérologique inconnu vis-à-vis du CMV, nouveau-né dont la mère est séronégative ou de statut sérologique inconnu vis-à-vis du CMV). Les indications « élargies » de cette qualification rendent très difficile le respect de ces recommandations pour non disponibilité des produits ad hoc ;
2. les qualifications « phénotypé » et « compatibilisé » réservées aux transfusions de CPA dans le cadre d'état réfractaire avec allo-immunisation anti-HLA ou anti-HPA.

Le non respect de ces deux critères supplémentaires, lorsqu'ils sont indiqués, peut avoir des conséquences délétères pour le patient.

Ainsi les critères de sélection pour la transfusion de concentrés plaquettaires étant déjà nombreux et difficiles à respecter en pratique quotidienne, on peut s'interroger sur la pertinence d'inclure de nouvelles contraintes. En période d'augmentation exponentielle des besoins en transfusion plaquettaire (+ 28 % en région Auvergne-Loire entre le premier semestre 2007 et le premier semestre 2008) où la priorité est avant tout de satisfaire l'ensemble des besoins, il ne paraît pas réaliste d'inclure de nouveaux critères à prioriser. Le respect de la compatibilité RH1 ne doit apparaître que secondaire dans ce contexte. Compte tenu de la forte tension sur la disponibilité des immunoglobulines anti-RH1, du coût lié à leur utilisation et des recommandations de l'Afssaps, la stratégie la plus cohérente en pratique reste que :

- le statut RH1 du receveur est non prioritaire dans les critères de sélection des concentrés plaquettaires à transfuser ;
- en revanche, chez le receveur RH :-1 de sexe féminin en âge de procréer et sans immunosuppression profonde, lorsque la transfusion de concentrés plaquettaires RH :1 est envisagée, l'injection dans les 72 heures d'immunoglobulines anti-RH1 doit être effectuée ;
- chez les autres receveurs RH :-1, aucune prévention de l'allo-immunisation anti-RH1 n'est à effectuer ;
- dans tous les cas, une surveillance de RAI post-transfusionnelle est à effectuer systématiquement 1 à 3 mois après (en l'absence de tout autre épisode transfusionnel).

Conclusion

Le respect de la compatibilité RH1 des concentrés plaquettaires n'est pas toujours possible. La quantité résiduelle d'hématies dans ces concentrés, le degré d'immunosuppression du patient ainsi que la présence d'un « bruit de fond génétique » modulent le risque d'allo-immunisation. Si l'immunisation contre l'antigène RH1 est la plus fréquente, d'autres antigènes, notamment dans le système Rhésus, peuvent être impliqués. Ces notions doivent inciter les prescripteurs à une surveillance régulière de la RAI de leurs patients, même dans le cadre de la transfusion de concentrés plaquettaires.

Remerciements. Nous remercions Patricia Chavarin, Madeleine Vidal et Bénédicte Rivat pour leur contribution apportée à la réalisation de cet article.

Références

1. Afssaps. Transfusion de plaquettes : produits, indications. Recommandations. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, juin 2003.
2. Menitove JE. Immunoprophylaxis for D- patients receiving platelet transfusions from D+ donors? *Transfusion* 2002 ; 42 : 136-8.
3. Jakobowicz R, Williams L, Silberman F. Immunization of Rh-negative volunteers by repeated injections of very small amounts of Rh-positive blood. *Vox Sang* 1972 ; 23 : 376-81.
4. Atoyebi W, Mundy N, Croxton T, Littlewood TJ, Murphy MF. Is it necessary to administer anti-D to prevent RhD immunization after the transfusion of RhD-positive platelet concentrates? *Br J Haematol* 2000 ; 111 : 980-3.
5. Cid J, Ortin X, Elies E, Castellà D, Panadés M, Martín-Vega C. Absence of anti-D alloimmunization in hematologic patients after D-incompatible platelet transfusions. *Transfusion* 2002 ; 42 : 173-6.
6. Lichtiger B, Surgeon J, Rhorer S. Rh-incompatible platelet transfusion therapy in cancer patients. A study of 30 cases. *Vox Sang* 1983 ; 45 : 139-43.
7. Lichtiger B, Hester JP. Transfusion of Rh-incompatible blood components to cancer patients. *Haematologia (Budap)* 1986 ; 19 : 81-8.
8. Molnar R, Johnson R, Sweat LT, Geiger TL. Absence of D alloimmunization in D- pediatric oncology patients receiving D-incompatible single-donor platelets. *Transfusion* 2002 ; 42 : 177-82.
9. Schiffer CA, Anderson KC, Bennett CL, Bernstein S, Elting LS, *et al.* Platelet transfusion for patients with cancer : clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol* 2001 ; 19 : 1519-38.
10. Chamouni P, Josset V, Bastit D, Tavolacci MP, Lenain P, Varin R, *et al.* Transfusions de concentrés plaquettaires Rhésus incompatible au CHU de Rouen : pratiques et conséquences. *Transfus Clin Biol* 2005 ; 12 : 306-12.
11. Lozano M, Cid J. The clinical implications of platelet transfusions associated with ABO or Rh(D) incompatibility. *Transfus Med Rev* 2003 ; 17 : 57-68.
12. Haspel RL, Walsh L, Sloan SR. Platelet transfusion in an infant leading to formation of anti-D : implications for immunoprophylaxis. *Transfusion* 2004 ; 44 : 747-9.
13. Cid J, Lozano M. Risk of Rh(D) alloimmunization after transfusion of platelets from D+ donors to D- recipients. *Transfusion* 2005 ; 45 : 453 (author reply : 453-4).



SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE BIOLOGIE CLINIQUE

Secrétariat technique
194, avenue de Strasbourg
54000 - Nancy
sfbc@orange.fr

BUREAU

Président : A. Legrand
Past-président : P. Gillery
Vice-président : P. Gambert
Secrétaire général : J.P. Bali
Secrétaires généraux adjoints : I. Aimone-Gastin, J. Watine
Trésorier : H. Tronel

Présidents du comité scientifique : P. Carayon, V. Ducros
Rédacteur en chef des Annales de biologie clinique : J.L. Beaudoux
Responsable de la commission pédagogique : J.P. Bali
Responsable du site internet www.sfbc.asso.fr : R. Couderc

Conseil d'administration

I. Aimone-Gastin (Nancy), M. Arock (Paris), J.P. Bali (Montpellier), P. Carayon (Marseille), J.L. Carré (Brest), P. Corberand (Toulouse), R. Couderc (Paris), D. de Mouy (Paris), D. Delaville (Antony), V. Ducros (Grenoble), F. Felden (Nancy), A. Feuillu (Rennes), P. Gambert (Dijon), R. Garnotel (Reims), N. Lahlou (Paris), A. Legrand (Paris), J.P. Lepargneur (Toulouse), C. Perier (St Etienne), J. Pfeffer (Bagnole), H. Tronel (Nancy), J. Watine (Rodez).