

Le groupage sanguin : difficultés d'interprétation

Blood grouping : difficulties of interpretation

O. Bhalil, N. Benseffaj, S. Ouadghiri, A. Drissi Bourhanbour, M. Essakalli

Service de Transfusion et d'Hémovigilance, Hôpital d'Enfants, CHU Ibn Sina, Rabat
UPR d'Immunologie, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat

Résumé

Le groupage sanguin est un examen prétransfusionnel obligatoire pour la prévention des accidents immuno-hémolytiques de la transfusion sanguine. Dans cette étude, nous rapportons les difficultés de groupage rencontrées au service de transfusion sanguine et d'hémovigilance du centre hospitalo-universitaire de Rabat et la démarche utilisée pour les résoudre. Le but de ce travail est d'améliorer la prise en charge des patients afin d'éviter un retard de l'acte transfusionnel. A partir des demandes de sang de patients candidats à une transfusion sanguine, 700 groupages sanguins ont été effectués. En cas de difficulté d'interprétation, l'utilisation de tests complémentaires a été nécessaire: lavage des globules rouges, chauffage du sérum ou réalisation de témoins. Cette étude a montré que les difficultés d'interprétation du groupage sanguin sont rencontrées chez 22 patients (3,14 %). L'analyse de ces difficultés révèle une image de double population dans 59 % des cas, essentiellement dans le phénotype Rhésus-Kell (77 %). Les discordances entre les épreuves globulaire et plasmatique représentent 23 %. Dans 18 % des cas, l'apparition tardive d'une agglutination faible ne permet pas d'identifier le groupe. La démarche suivie pour résoudre ces difficultés a permis de valider le groupage chez 21 patients (95,45 %). Notre étude montre l'existence de difficultés de groupage sanguin chez les patients candidats à une transfusion. Le suivi d'une démarche précise permet la validation du groupage et ainsi l'éviction d'un retard transfusionnel.

Mots clés : Groupage sanguin ; discordances ; double population ; transfusion

*
Auteur correspondant :
Ouahiba BHALLIL
ouahibabhalil@gmail.com

Abstract

The Blood grouping is a obligatory pre-transfusion test for the prevention of immune hemolytic transfusion accidents. We report the blood group discrepancies encountered in the blood transfusion and haemovigilance service of the university hospital of Rabat and the approach used to resolve them. The aim of this work is to improve the management of patients in order to reduce any delay in a blood transfusion. 700 blood groupings were studied from the requests of blood transfusion of patients. In case of difficulty in interpretation, the use of additional tests were necessary: washing red blood cells, perform ABO reverse grouping using pre-warm technic or perform of controls. This study showed blood group discrepancies in 22 patients (3.14 %). The analysis of these problems revealed a mixed field agglutination in 59 % of cases, mainly in the Rhesus Kell phenotype (77 %), reactions in the forward grouping do not match the reactions in the reverse grouping represent 23 % and weak agglutination in 18 % of cases. This approach has resolved these discrepancies in blood typing for the 21 patients (95.45 %). Our study shows the existence of difficulties in blood grouping of patients candidates for blood transfusion and the strategy to resolve them. The followed of this specific approach has reduced the delay of blood transfusion.

Key words : Blood grouping ; ABO discrepancies ; mixed field ; transfusion

Introduction

Le groupage sanguin est une analyse particulière qui engage la sécurité transfusionnelle et donc la vie des patients transfusés [1, 2]. Une rigueur sans faille doit donc être appliquée lors de la réalisation et de l'interprétation de cette analyse [3-5]. Dans la pratique transfusionnelle, l'attribution des produits sanguins labiles compatibles nécessite en premier lieu la réalisation du groupage sanguin ABO et du phénotype Rhésus-Kell du patient. La détermination du groupage sanguin ABO comporte obligatoirement deux épreuves qui doivent être cohérentes entre elles. L'une est l'épreuve globulaire ou épreuve de Beth-Vincent (BV) qui permet grâce à des sérums-tests anti-A, anti-B et anti-AB de mettre en évidence les antigènes A et/ou B à la surface des hématies. L'autre est l'épreuve plasmatique ou épreuve de Simonin (SM) qui détecte dans le plasma les anticorps dirigés contre les antigènes absents des érythrocytes par l'utilisation d'hématies-tests A1 et B. Le phénotypage Rhésus-Kell consiste à rechercher les antigènes D, C, E, c, e et Kell à la surface des globules rouges à l'aide d'antisérum tests [3, 6]. Le groupage sanguin ABO et le phénotypage Rhésus-Kell sont basés sur une technique d'agglutination pouvant être réalisée sur différents supports : plaque d'opaline, tube, microplaque ou carte gel. La détermination du groupe sanguin repose sur deux réalisations

effectuées par deux techniciens différents à l'aide de deux techniques distinctes et deux lots de réactifs différents comme le préconise la loi marocaine [4]. L'interprétation des résultats du groupage peut toutefois présenter certaines difficultés. Les principales difficultés rencontrées sont : la double population (DP) visualisée sous forme d'un tapis d'agglutinats sur un fond d'hématies libres. Les autres difficultés relèvent d'une discordance entre les deux épreuves globulaire et plasmatique, soit par défaut ou par excès d'agglutination. La nécessité d'une démarche précise peut permettre de contourner certaines difficultés et de valider le groupage sanguin. Dans cette étude, nous rapportons les difficultés de groupage ABO Rhésus-Kell rencontrées au service de transfusion sanguine et d'hémovigilance du centre hospitalo-universitaire (CHU) de Rabat, ainsi que les moyens utilisés pour tenter de valider le groupage. Ceci dans le but d'améliorer la prise en charge des patients et d'éviter un retard de l'acte transfusionnel.

Matériel et méthodes

A partir des demandes de sang (DDS) de patients candidats à une transfusion sanguine, 700 groupages sanguins ont été effectués sur une période de 1

mois. Ces DDS proviennent des différents services médico-chirurgicaux du CHU de Rabat et comportent les renseignements cliniques concernant le patient à transfuser. Elles sont accompagnées de deux prélèvements sanguins réalisés sur anticoagulant. La conformité entre les données inscrites sur les DDS et celles de l'étiquetage des prélèvements est vérifiée systématiquement. La détermination du groupage sanguin ABO Rhésus-Kell est effectuée sur microplaque (réactif Diagast, France) et sur carte gel (Ortho Biovue, USA) en suivant les recommandations du fournisseur. Face à une incohérence réactionnelle ou toute autre anomalie observée, l'utilisation des contrôles de qualité interne permet de s'assurer de la qualité des réactifs utilisés. Par ailleurs, différents témoins sont réalisés. Le témoin autologue consiste à mettre en présence le plasma du sujet et ses propres hématies et permet de détecter des auto-anticorps. Le témoin allo réalisé en mettant en présence des hématies-tests "O" avec le plasma du sujet permet de détecter des allo-anticorps. Ce témoin, s'il est négatif, valide l'épreuve plasmatique.

En cas de difficulté du groupage sanguin, celui-ci est systématiquement refait par la méthode standard utilisant la technique en tube qui consiste à préparer une suspension saline avec le culot globulaire dans du sérum physiologique selon une dilution à 5 %. Pour réaliser les deux épreuves, les sérums et les hématies sont répartis dans des tubes puis centrifugés à 1000 tr/min pendant 1 minute. La lecture est immédiate en secouant légèrement les tubes [7]. Certaines difficultés d'interprétation peuvent être résolues par 3 à 4 lavages des globules rouges en solution saline (mettre les hématies avec du sérum physiologique et centrifuger à 3000 tr/min pendant 1 minute puis aspirer et jeter à chaque fois le surnageant) pour effectuer à nouveau l'épreuve globulaire, ou par le chauffage du sérum dans le bain marie à 37°C pour refaire l'épreuve plasmatique.

Résultats

Sur 700 groupages sanguins effectués, 22 cas présentaient des difficultés d'interprétation, soit une fréquence de 3,14 %. Les différents types de difficultés de groupage rencontrés dans notre série sont montrés sur la figure 1. La démarche suivie pour résoudre les différentes difficultés rencontrées lors du groupage sanguin a permis de valider ce dernier chez 21 patients (95,45 %).

L'analyse de ces difficultés de groupage révèle une image de DP pour 13 cas (59 %) intéressant les antigènes Rhésus-Kell dans 10 cas (77 % des DP), les antigènes ABO, Rh et Kell dans 1 cas et les antigènes ABO dans 2 cas (Figure 2).

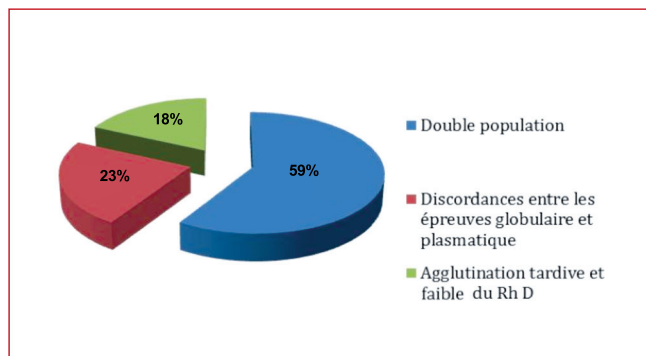


Figure 1 : Répartition des différents types de difficultés de groupage sanguin rencontrées (n=22).

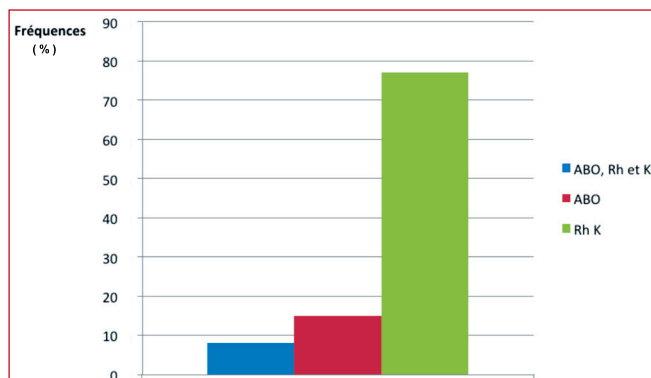


Figure 2 : Fréquences des antigènes ABO, RH et K concernés par l'aspect de double population

L'enquête révèle une origine transfusionnelle non isophénotype et/ou non iso-groupe dans tous les cas. 23 % des difficultés (5 cas) sont des discordances entre les épreuves globulaire et plasmatique (tableau I). Une agglutination des hématies tardive et faible est rencontrée lors de la détermination du Rhésus D (Rh D) dans 4 cas (18 %). Dans 2 cas, le groupage a été refait sur le prélèvement initial. Cette deuxième détermination montre toujours une faible agglutination dans un cas et un Rh D négatif dans l'autre cas. Dans les 2 autres cas, il y avait une discordance entre les deux techniques: la première (microplaque) montrant l'agglutination tardive et faible et la deuxième (carte gel) montrant un Rh D positif. Le groupage est refait, sur un deuxième prélèvement montrant un Rh D positif dans ces 2 cas.

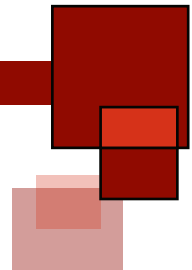


Tableau I : Démarche suivie pour valider le groupage sanguin dans les différents cas de discordances [17]

Cas de discordances du groupage sanguin	Démarche suivie pour résoudre les discordances	Validation
Cas 1 : BV : AB SM : O Auto: positif Allo: positif	Groupage refait en tube après lavage des globules rouges du patient en solution saline pour effectuer à nouveau l'épreuve globulaire	BV : O SM : O
Cas 2 : BV : A SM : AB Auto : négatif Allo : négatif	Enquête : absence d'agglutination lors du SM en rapport avec une dilution du plasma (des anticorps) par les solutés de remplissage. Groupage a été refait en tube sur un 2 ^{ème} prélèvement	BV : A SM : A
Cas 3 : BV : O SM : AB Auto : négatif Allo : négatif	Enquête: absence d'agglutination en SM en rapport avec l'hémolyse des hématies tests mal conservées. Groupage refait en tube avec d'autres hématies tests	BV : O SM : O
Cas 4 : BV : O SM : AB Auto : négatif Allo : négatif	Enquête: absence d'agglutination en SM en rapport avec l'âge, il s'agit d'un nouveau-né	BV : O
Cas 5 : BV : A SM : O Allo: négatif Auto : positif	Groupage refait en tube et l'épreuve plasmatique refaite après chauffage du sérum à 37°C	BV : A SM : A

BV : Beth-Vincent; SM : Simonin

Discussion

La détermination du groupe sanguin ABO Rhésus-Kell est un acte diagnostique essentiel à la sécurité transfusionnelle. La réalisation technique de ce groupage repose sur des principes simples. L'interprétation des résultats peut toutefois présenter quelques difficultés [8, 9].

Notre travail montre l'intérêt de suivre une démarche bien définie devant toutes difficultés pour la validation du groupage ABO Rhésus-Kell. La précision de cette démarche a permis la résolution des problèmes dans 95,45 %. Dans notre étude, l'analyse des 700 groupages

sanguins réalisés montre la présence de difficultés d'interprétation dans 3,14 % des cas. Ce chiffre dépasse largement les 0,04 % rapportés par une étude multicentrique effectuée par dix laboratoires Alpes-Méditerranée en France et dont la majorité des difficultés de groupage ABO et/ou Rh observée est due à des erreurs humaines (erreur de prélèvement ou d'enregistrement) [10]. Les valeurs élevées observées dans notre étude peuvent s'expliquer par l'impossibilité de transfuser des poches iso-phénotypes de façon systématique.

Dans notre étude 59 %, des groupages posant un problème présentaient une image de DP qui sont toutes d'origine transfusionnelle. Au Maroc, il est difficile, à l'heure actuelle, d'utiliser des poches iso-phénotype Rhésus-Kell pour tous les patients puisque le nombre de donneurs (3 % de la population globale) est inférieur à celui recommandé par l'OMS (5 %) [11]. Le groupage sanguin, dans ces cas, doit être réalisé à distance des transfusions (3 à 4 mois) d'où l'intérêt de mentionner la date de la transfusion sur la DDS [12].

En dehors d'une transfusion récente, il est important de chercher un autre contexte clinique pouvant expliquer une DP. En effet, une origine congénitale peut être la cause d'un aspect de DP qui est parfois observé chez des jumeaux dizygotes en raison de la greffe de tissu hématopoïétique pendant la vie embryonnaire. Elle peut également se voir chez le sujet âgé en raison d'une diminution de la réactivité des antigènes ABO [13, 14]. Les autres causes de cet aspect sont acquises par la greffe de cellules souches hématopoïétiques non identiques au receveur pour les antigènes érythrocytaires ABO. Cette DP observée est transitoire et disparaît progressivement au profit des cellules du donneur en cas de prise de greffe [15,16]. Une DP peut également être observée lors du groupage sanguin effectué chez des patients présentant une leucémie ou tout autre hémopathie maligne de type myélo-proliférative, et disparaît en cas de rémission [14-17].

L'interprétation du groupage sanguin ABO nécessite une cohérence réactionnelle entre les résultats observés dans l'épreuve globulaire et dans l'épreuve plasmatique.

En cas d'excès de réaction concernant l'épreuve globulaire avec un témoin autologue positif (cas 1, tableau I), il s'agit le plus souvent d'une sensibilisation *in vivo* des hématies par des auto-anticorps [6]. Ces derniers peuvent entraîner l'inhibition de l'agglutination des globules rouges par les antisérums.



Pour lever cette inhibition, il convient de réaliser l'épreuve globulaire sur des hématies lavées en solution saline 0,15 M. Si le témoin autologue est négatif, il s'agit très probablement d'un phénomène de poly-agglutinabilité qui est aujourd'hui rarement observé du fait de la généralisation de l'utilisation de réactifs monoclonaux dont les milieux de culture ne contiennent pas d'anticorps dirigés contre les antigènes responsables de ce phénomène [13].

Certaines discordances secondaires à un défaut de réaction à l'épreuve plasmatique (cas 3, tableau I) montre que toute anomalie ou discordance de groupe ABO impose la vérification de la conformité des antisérums utilisés et des hématies tests. D'autres (cas 4, tableau I) peuvent être évitées par une simple prescription correcte de la demande de sang mentionnant par exemple, l'âge du patient. Les renseignements cliniques sont souvent nécessaires et parfois suffisants pour expliquer certaines difficultés et minimisent le retard de l'acte transfusionnel. Un défaut de réaction à l'épreuve plasmatique ou globulaire peut s'expliquer par un affaiblissement des antigènes chez le sujet âgé ou une immaturité physiologique du système immunitaire chez le nouveau-né. En effet, les anticorps naturels anti-A et anti-B n'apparaissent dans le plasma du nouveau-né qu'après le troisième mois [18].

Notre étude montre que si toutes les hématies tests sont agglutinées et le témoin auto est positif (cas 5, tableau I), la réalisation de l'épreuve plasmatique à +37°C permet de valider le groupage sanguin. Dans ce cas, il s'agit probablement d'auto-anticorps froids [18]. Dans d'autres situations, il peut s'agir d'un phénomène de rouleaux secondaire à une forte concentration en fibrinogène, à la présence de grandes quantités de protéines anormales (myélome, cirrhose), à la gelée de Wharton ou autres macromolécules. Pour effectuer le groupage, il convient de laver les hématies à tester au minimum 3 fois en solution saline 0,15 M et de diluer le plasma au demi ou au tiers [13].

La complexité de l'expression de l'antigène D est à l'origine de discordances observées au cours d'un groupage sanguin Rh D, ou d'erreur d'interprétation du Rh D considéré à tort comme négatif. Il existe des phénotypes particuliers du Rh D dont le phénotype D partiel, caractérisé par des modifications qualitatives de la protéine Rh D. En fonction de l'épitope manquant, des réactions négatives ou faibles peuvent être observées avec certains anticorps monoclonaux. Il en est de même pour le phénotype D faible qui est caractérisé par une expression membranaire diminuée de l'antigène D.

Dans ces cas, il est utile de faire appel à des techniques sérologiques complémentaires comme le test indirect à l'antiglobuline, voire la fixation-élution pour pouvoir mettre en évidence de faibles quantités d'antigène D sur un globule rouge [19]. Le génotypage Rh D peut parfois être nécessaire [20, 21].

Chez les européens, il s'agit le plus souvent d'un antigène Rh D faible qui ne présente aucun risque d'allo-immunisation en cas de transfusion avec des hématies Rh D positif. Par ailleurs, la prévalence du phénotype Rh D faible dans la population marocaine est de 0,4 % [22]. En Afrique subsaharienne, cette réactivité est le plus souvent le fait d'un antigène Rh D partiel, et le sujet est susceptible de s'immuniser en cas de transfusion avec des hématies Rh D positif [23].

Dans notre contexte, lorsque la détermination du Rh D montre toujours une agglutination faible, le patient est transfusé par des concentrés de globules rouges Rh négatif afin d'éviter une allo-immunisation anti-D. Dans notre étude, l'enquête a révélé une altération de l'échantillon dans les 2 cas de discordances du Rh D. En effet, les prélèvements sanguins sont susceptibles de s'altérer et cette altération peut modifier le comportement des antigènes. Dans ce cas, les risques d'erreurs sont très importants et peuvent être à l'origine de discordance. Ainsi, pour valider le groupage sanguin de ces 2 cas, ce dernier a été refait sur un 2^{ème} prélèvement.

Conclusion

Cette étude montre l'existence des difficultés d'interprétation du groupage sanguin chez certains patients nécessitant une transfusion. Ces difficultés peuvent engendrer un retard de l'acte transfusionnel et sont à l'origine d'une mauvaise gestion du stock de produits sanguins labiles (utilisation abusive des concentrés de globules rouges O négatif ou de plasma AB négatif).

La majorité des discordances ABO et/ou Rh observée est due à une image de double population qui pourrait être évitée par le recours à une stratégie d'utilisation prospective de culots globulaires phénotypés Rhésus-Kell. L'importance d'une demande de sang bien renseignée a été soulignée, précisant les antécédents transfusionnels ou les pathologies pouvant d'emblée expliquer une anomalie de groupage et permettant d'éviter un retard dans l'acte transfusionnel.

Références

- 1- Clavier B. Le groupage sanguin en question: actualité et perspectives. RFL. 2012; 439: 43-8.
- 2- Chiaroni J. Risque immuno-hémolytique des transfusions sanguines et analyses d'immuno-hématologie érythrocytaire. RFL. 2003; 355:45-51.
- 3- Chiaroni J, Legrand D. La sécurité immuno-hématologique des receveurs. Hématol. 2010;16(2):156-61.
- 4- Bulletin officiel N°4336-13 Rejeb 1416 (6-12-95) Décret N°2-94-20 Joumada II 1416 (16-11-1995) pris pour l'application de la loi N°03 relative au don, au prélèvement et à l'utilisation du sang humain.
- 5- Khan MN, Khan TA, Ahmed Z. Discrepancy in ABO blood grouping. J Coll Physicians Surg Pak. 2013; 23(8):590-2.
- 6- Ferrera V, Legrand D, Chiaroni J. L'immuno-hématologie des receveurs de sang: quels tests utiles ? Hématol. 2008;14(2):143-50.
- 7- Roback JD, Barclay S, Hillyer CD. An automatable format for accurate immunohematology testing by flow cytometry. Transfus. 2003; 43(7):918-27.
- 8- Chabrière C, Linget C, Ferrera V. Prestations de conseils en immuno-hématologie érythrocytaire. Feuillet de Biologie. 2013;313:39-45.
- 9- Chiaroni J, Lauroua P, Roubinet F et al. Aide à la décision en immuno-hématologie: Interprétation du groupage sanguin ABO et de ses difficultés. Transfus Clin Biol. 2000;7(1):84-95.
- 10- Ferrera-Tourenc V, Gouvitsos J, Chabrières C et al. Incidence des discordances ABO mises en évidence en EFS Alpes-Méditerranée: analyse des causes sur huit ans et au niveau régional. Transfus Clin Biol. 2012;19:280-310.
- 11- Atouf O, Brick C, Benseffaj N et al. Recherche des anticorps anti-érythrocytaires en milieu hospitalier: à propos de 2027 patients. Immuno-Analyse et biologie Spécialisée. 2013;28:240-4.
- 12- Trophilme C, Klaren J. Les cinq étapes du processus transfusionnel. Institut National de la Transfusion Sanguine Université Médicale Virtuelle Francophone: Polycopié national de sécurité transfusionnelle; 2007:1-13.
- 13- Hong X, Ying Y, Xu X et al. A dispermic chimera was identified in a healthy man with mixed field agglutination reaction in ABO blood grouping and mosaic 46, XY/46, XX karyotype. Transfus Apher Sci. 2013; 48(2): 223-8.
- 14- Mannessier L, Chiaroni J, Roubinet F et al. Les difficultés du groupage sanguin ABO. Rev Hématol. 2002; 8(5):370-5.
- 15- Lapierre V, Kuentz M, Tiberghien P. Pratiques transfusionnelles érythrocytaires après greffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques. Transfus Clin Biol. 1999;6(2):148-52.
- 16- Mathieu-Nafissi S, Janot C. Le suivi immuno-hématologique et la sécurité transfusionnelle dans les allogreffes de cellules souches hématopoïétiques. Transfus Clin Biol. 2003;10:51-60.
- 17- Kahn A, Boivin P, Wroklans M et al. Erythroleucémie avec double population érythrocytaire: coexistence dans une même population d'un affaiblissement d'un antigène de groupe, d'un déficit majeur en adénylate-kinase et d'une augmentation de la fraction A 2 de l'hémoglobine. Nouv Rev Fr Hématol. 1972;12(5):609-30.
- 18- Roubinet F, Mannessier L, Chiaroni J. Les difficultés techniques en immuno-hématologie clinique. Transfus Clin Biol. 2003;10(3):252-57.
- 19- Chiaroni J, Ferrera V, Dettori I, Roubinet F. Groupes sanguins érythrocytaires. EMC-Hématologie. 2005;2:53-112.
- 20- Credidio DC, Pellegrino Jr, Castilho L. Serologic and molecular characterization of D variants in Brazilians: impact for typing and transfusion strategy. Immuno Hematol. 2011;27(1):6-11.
- 21- Denomme GA, Dake LR, Vilensky D et al. Rh discrepancies caused by variable reactivity of partial and weak D types with different serologic techniques. Transfus. 2008;48(3):473-8.
- 22- Kabiri Z, Benajiba M H, Ajjout K et al. Prévalence du phénotype Rh D faible chez les donneurs de sang Rh D négatif au Maroc. Immuno-Anal Biol Spécialisée. 2013;28(1):36-8.
- 23- Boiron JM, Chiaroni J, Morel P et al. Transfusion sanguine: débats d'actualité 2010. Hématol. 2010;16(1): 29-46. ■