



DÉCLARATION DU CCN SUR LE GÉNOTYPAGE ÉRYTHROCYTAIRE



SOUS-COMITÉ SUR LE GÉNOTYPAGE ÉRYTHROCYTAIRE

Membres du sous-comité :	Tanya Petraszko, M.D.; Présidente (CCN, SCS) Jennifer Fesser, M.D.; (CCN) Arjuna Ponnampalam, M.D.; (CCN) Meer-Taher Shabani-Rad, M.D.; (CCN) Gwen Clarke, M.D.; (Université de l'Alberta et Island Health) Philip Berardi, M.D., PhD; (Hôpital d'Ottawa) Celina Montemayor-Garcia, M.D., PhD; (SCS)
Président du CCN :	Andrew Shih, M.D.
Représentante du ministère provincial :	Katherine Logan (C.-B.)
Coordonnatrice du CCN :	Kendra Stuart
Date de publication :	9 mai 2024

Citer sous le titre suivant :

Petraszko T, Fesser J, Ponnampalam A, Shabani-Rad MT, Clarke G, Berardi P, Montemayor-Garcia C. Déclaration du CCN sur le génotypage érythrocytaire [Internet]. Ottawa : Comité consultatif national du sang et des produits sanguins ; 9 mai 2024 [cité aaaa MM JJ]. Disponible sur : <https://nacblood.ca/en/resource/nac-statement-rbc-genotyping>



TABLE DES MATIÈRES

SOUS-COMITÉ SUR LE GÉNOTYPAGE ÉRYTHROCYTAIRE	2
TABLE DES MATIÈRES.....	3
ABRÉVIATIONS	4
DÉFINITIONS.....	5
INTRODUCTION.....	7
ÉTAT ACTUEL AU CANADA	7
SOCIÉTÉ CANADIENNE DU SANG.....	8
L'HÔPITAL D'OTTAWA	8
INDICATIONS.....	9
BIBLIOGRAPHIE	11



ABRÉVIATIONS

DTT	Dithiothréitol
GR	Globules rouges (érythrocytes)
RPC	Réaction de polymérisation en chaîne
SCD	Drépanocytose
SCS	Société canadienne du sang
SNG	Séquençage de nouvelle génération
TDA	Test direct à l'antiglobuline



DÉFINITIONS

Alloanticorps : anticorps dirigés contre l'antigène des globules rouges différent de ceux du receveur.

Allo-immunisation : réponse immunitaire à des antigènes étrangers après exposition à des cellules ou tissus génétiquement différents; dans ce contexte, il s'agit d'antigènes étrangers présents sur les globules rouges auxquels une personne est exposée par transfusion ou pendant la grossesse.

Anomalies sérologiques : situations où différents antisérums entraînent des interprétations différentes de la présence ou de l'absence d'antigènes.

Anticorps privés : anticorps provenant d'une patiente enceinte et ciblant les antigènes héréditaires paternels de faible prévalence sur un fœtus ou un nouveau-né. Ces anticorps échappent aux tests standards à cause de la rareté des cibles antigéniques. La combinaison particulière d'anticorps et d'antigènes, unique à l'unité paternelle, maternelle et fœtale, est généralement détectée par un test d'antiglobuline néonatale direct positif avec anémie.

Antigènes de faible fréquence : antigènes érythrocytaires présents sur les globules rouges de moins de 1 % des sujets.

Antigènes de haute fréquence : antigènes érythrocytaires présents sur les globules rouges d'au moins 99 % des sujets.

Antigènes non ABO : antigènes érythrocytaires provenant d'un ou de plusieurs groupes sanguins non répertoriés par le système ABO (par exemple, les antigènes de groupes sanguins Rh, Kell, Kidd ou Duffy sont des antigènes non ABO).

Antisérums : réactifs contenant des anticorps utilisés dans les tests sérologiques pour déterminer la présence ou l'absence d'antigènes érythrocytaires spécifiques (ou le phénotype de l'antigène érythrocytaire).

Autoadsorption : méthodologie sérologique avancée pour différencier les anticorps multiples (allo et autoanticorps) dans le plasma du receveur en utilisant ses propres cellules.

Autoanticorps : anticorps dirigés contre un antigène érythrocytaire présent sur les globules rouges du receveur.

Génotype érythrocytaire : code génétique associé aux antigènes du groupe sanguin.

Hémoglobinopathie : groupe de troubles héréditaires dans lesquels se manifeste par une anomalie dans la production ou la structure de la molécule d'hémoglobine, anomalie qui entraîne une anémie chronique.

Panréactifs : se dit d'anticorps présents dans le plasma du receveur qui réagissent largement à tous les globules rouges réactifs testés.

Phénotype érythrocytaire : antigènes exprimés à la surface des globules rouges. Ceux-ci peuvent être détectés à l'aide de tests sérologiques ou prédits à l'aide de tests de génotypage.



Séquençage de nouvelle génération : méthode de séquençage d'ADN qui traite plusieurs fragments en parallèle, ce qui permet le séquençage à haut débit.

Séquençage de Sanger : méthode de séquençage de l'ADN qui ne traite qu'un seul fragment à la fois. Méthodologie de référence pour le séquençage de l'ADN.

Test sérologique : méthode de test en laboratoire basée sur les réactions aux anticorps antigéniques et leur détection. Ces tests peuvent être utilisés pour identifier les antigènes (phénotype) ou les anticorps érythrocytaires dans les tests prétransfusionnels.

Tests de géotypage : épreuves de laboratoire qui détectent des différences dans l'ADN pouvant entraîner des changements dans le phénotype. Ces tests peuvent être utilisés dans les épreuves prétransfusionnelles pour prédire les types d'antigènes érythrocytaires.

Transfusions chroniques : transfusions de globules rouges à intervalles réguliers s'échelonnant sur une longue période.



INTRODUCTION

Les transfusions ou les grossesses entraînent parfois une allo-immunisation contre les antigènes érythrocytaires. Aux États-Unis, selon une étude, jusqu'à 3 % des patients hospitalisés développent de tels alloanticorps¹. Ce taux grimpe jusqu'à 80 % chez les patients atteints d'hémoglobinopathies chroniques, notamment ceux souffrant de drépanocytose (ou anémie falciforme)².

L'appariement prophylactique des antigènes non ABO réduit l'allo-immunisation chez les patients transfusés chroniquement. Pour les patients déjà allo-immunisés, cet appariement devient thérapeutique, prévenant l'hémolyse post-transfusionnelle et facilitant des soins appropriés. Cependant, les méthodes de groupage sanguin présentent d'importantes limites : leur insensibilité aux variations mineures, mais cliniquement significatives des antigènes, l'absence de réactifs commerciaux pour les antigènes rares et la difficulté de différencier les cellules du donneur et du receveur chez les personnes récemment transfusées.³

Les tests de génotypage surmontent ces limitations et permettent de détecter efficacement les antigènes des groupes sanguins. Les avancées actuelles montrent une forte concordance entre les tests de génotypage et les méthodes sérologiques, ce qui favorise une adoption plus large.⁴ Ces tests étant coûteux et peu disponibles, il est cependant difficile de garantir un accès équitable à tous les patients potentiellement bénéficiaires. De plus, aucune directive publiée ne permet d'identifier précisément les patients qui en tireraient le plus grand avantage.

Ce document explore l'utilité du génotypage érythrocytaire dans divers scénarios cliniques. Ce génotypage permet de prédire les phénotypes, facilitant ainsi un appariement optimal des globules rouges. Cette approche vise à prévenir l'allo-immunisation ou à sélectionner les unités les plus sûres pour les patients déjà allo-immunisés. Cependant, l'interprétation des résultats nécessite une approche globale. Celle-ci doit tenir compte du contexte clinique, du phénotype sérologique et des antécédents d'allo-immunisation du patient. Toute discordance doit être signalée au Laboratoire d'immunohématologie national de référence qui doit mener une enquête et recommander une solution.

État actuel au Canada

Au Canada, hors Québec, deux acteurs majeurs proposent le génotypage érythrocytaire pour les antigènes non ABO et Rh : la Société canadienne du sang (SCS) et L'Hôpital d'Ottawa. Le sous-comité sur le génotypage érythrocytaire n'a identifié aucun autre fournisseur de ce service dans le pays.

Les puces à ADN employées au Canada pour le génotypage érythrocytaire ne détectent pas systématiquement les antigènes ABO à des fins transfusionnelles. Ces tests spécifiques sont disponibles dans des laboratoires de référence internationaux, où l'on utilise des méthodes validées. Cette approche implique l'analyse de multiples allèles. Elle recourt actuellement au séquençage de Sanger ou au séquençage de nouvelle génération (SNG) ciblé sur le locus ABO.

Le génotypage ABO se développe hors des laboratoires de médecine transfusionnelle. Les services d'histocompatibilité universitaires et cliniques l'utilisent pour les greffes d'organes.



Cependant, son utilisation en transfusion n'est pas encore validée. L'interprétation des résultats ambigus requiert une expertise spécifique. Il est crucial de souligner que les tests sérologiques ABO demeurent la référence. Pour les patients prétransfusionnels présentant des anomalies ABO, l'utilisation de sang O reste la norme de soins.

Société canadienne du sang

La Société canadienne du sang (SCS) propose un typage érythrocytaire à vaste spectre via le test IDCOREXT, homologué par Santé Canada. Ce test prédit 37 antigènes dans 10 systèmes de groupes sanguins en s'appuyant sur l'hybridation de sondes et la cytométrie de flux. La SCS offre également le génotypage RhD et avec la trousse Immucor BeadChip, aussi approuvée par Santé Canada. Ces tests peuvent prendre jusqu'à 14 jours. Pour les prélèvements complexes, la SCS propose un séquençage des gènes (Sanger ou SNG) via des références internationales. Ces services sont accessibles à tous les Canadiens hors Québec.

Hôpital d'Ottawa

L'Hôpital d'Ottawa propose le génotypage non ABO et RhD. Il utilise les trousse HEA BeadChip et RhD BeadChip d'Immucor. Les prélèvements complexes sont transmis à la Société canadienne du sang pour analyse approfondie. Ce service est accessible à tous les hôpitaux de la région desservis par l'établissement.



INDICATIONS

Le phénotypage complet doit précéder le génotypage, si possible, chez les patients candidats à cette analyse. Le génotypage complète le phénotypage sérologique. C'est pourquoi tous les résultats de génotypage nécessitent une confirmation sérologique du phénotype prédit.

Cas où l'on doit envisager le génotypage	
Patients atteints de drépanocytose	Les directives de l'American Society of Hematology et de la Canadian Hemoglobinopathy Association (CanHaem) sur la drépanocytose recommandent le génotypage plutôt que le phénotypage en raison de la détection supérieure des antigènes D, C et E et de la délimitation des variants GATA, qui sont essentiels dans cette population de patients. ^{5,6}
Recherches d'anticorps compliquées	<p>C'est le cas, par exemple, des patients que l'on soupçonne de présenter des anticorps contre des antigènes communs ou rares. Dans ce cas, l'absence de l'antigène dans les globules rouges du patient reste impossible à confirmer, faute d'antisérums commerciaux.</p> <p>Le génotypage peut aider à différencier un anticorps ciblant un antigène très répandu d'un autoanticorps présent chez un patient ayant récemment eu une transfusion de globules rouges.</p>
Patientes enceintes	<p>Reportez-vous à la Déclaration du CCN sur le génotypage du RhD chez les patientes enceintes.⁷</p> <p>Le génotypage peut également être utile dans le contexte de recherches d'anticorps compliquées (par exemple, les « anticorps privés », c'est-à-dire la réactivité aux globules rouges paternels, mais sans spécificité connue).</p>
Fœtus	Les recherches d'anticorps compliquées peuvent bénéficier du génotypage fœtal, paternel ou les deux.
Cas où le génotypage peut s'avérer utile	
Thalassémie et autres hémoglobinopathies où le phénotypage n'est pas disponible ou impossible	C'est notamment le cas des patients atteints d'hémoglobinopathie qui ne peuvent pas être phénotypés en raison d'une transfusion récente de globules rouges.
Patients chez lesquels les alloanticorps ne peuvent pas être exclus et le phénotypage n'est pas disponible ou pas faisable.	Le génotypage peut être utile chez les patients non phénotypés : 1) Recevant des anticorps monoclonaux tels que le daratumumab ou l'isatuximab qui présentent des tests



	<p>panréactifs et chez lesquels le traitement des globules rouges réactifs par le dithiothréitol (DTT) est infructueux ou impossible.</p> <p>2) Avec des autoanticorps chez lesquels les techniques avancées (autoadsorption/alloadsorption) ne sont pas réalisables ou échouent.</p>
<p>Patients à risque accru de former des alloanticorps érythrocytaires et chez lesquels le phénotypage n'est pas disponible ou pas faisable</p>	<p>C'est le cas, par exemple, des patients recevant des transfusions chroniques de globules rouges et ceux qui ont démontré une forte propension à former des alloanticorps érythrocytaires. On peut donner à de tels patients des unités de globules rouges compatibles sur le plan antigénique pour prévenir une (nouvelle) allo-immunisation. Les résultats du génotypage peuvent faciliter la sélection des unités.</p> <p>Le génotypage peut également être utile pour résoudre les divergences sérologiques (le plus souvent observées dans le contexte de l'antigène D), et ainsi prévenir l'allo-immunisation (veuillez vous référer à la Déclaration du CCN sur le génotypage RhD chez les patientes enceintes⁷ pour plus d'informations).</p>
<p>Patients subissant une greffe allogénique de cellules souches et qui présentent déjà des anticorps</p>	<p>On peut envisager, selon le cas, de soumettre le donneur au génotypage en plus du patient.</p>
Cas où le génotypage n'est pas recommandé	
<p>Recherche d'anticorps non compliquée</p>	<p>C'est le cas, notamment, lorsque l'on souhaite détecter la présence d'un ou de plusieurs anticorps et antigènes et que l'on trouve dans le commerce des antisérums ou des techniques sérologiques pour l'antigène correspondant.</p>
<p>Greffe de cellules souches post-hématopoïétiques sans greffe complète</p>	<p>Les technologies canadiennes actuelles ne donnent pas de résultats quantitatifs. Elles ne peuvent pas différencier les antigènes dérivés des donneurs des antigènes dérivés des receveurs, ce qui peut donner un faux résultat d'hétérozygotie.</p>



BIBLIOGRAPHIE

1. Tormey CA, Fisk J, Stack G. Red blood cell alloantibody frequency, specificity, and properties in a population of male military veterans. *Transfusion*. 2008 October; 48(10):2069-76. Disponible à l'adresse suivante : <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2008.01815.x>
2. Telen MJ, Afenyi-Annan A, Garrett ME, et coll. Alloimmunization in sickle cell disease: changing antibody specificities and association with chronic pain and decreased survival. *Transfusion*. 2015 Juin ; 55(6 Pt2) : 1378-87. Disponible à l'adresse suivante : <https://doi.org/10.1111/trf.12940>
3. Flegel WA, Gottschall JL, Denomme GA. Implementing mass-scale red cell genotyping at a blood center. *Transfusion*. 2015 novembre ; 55(11) : 2610–2615. Disponible à l'adresse suivante : <https://doi.org/10.1111/trf.13168>
4. Casas J, Friedman DF, Jackson T, Vege S, Westhoff CM, Chou, ST. Changing practice: red blood cell typing by molecular methods for patients with sickle cell disease. *Transfusion*. 2015 Janvier 09 ; 55(6 Pt2) : 1388-93. Disponible à l'adresse suivante : <https://doi.org/10.1111/trf.12987>
5. Chou ST, Alsawas M, Fasano RM, et coll. American Society of Hematology 2020 guidelines for sickle cell disease: transfusion support. *Blood Advances*. 2020 Janvier 28 ; 4(2) : 327-355. Disponible sur : <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2019001143>
6. The Canadian Haemoglobinopathy Association. *Transfusion*. Dans : Consensus Statement on the Care of Patients with Sickle Cell Disease in Canada [Internet]. Ottawa ; 2015. [cited February 2024]. Disponible à l'adresse suivante : <https://www.canhaem.org/wp-content/uploads/2018/05/Sickle-Cell-Consensus.pdf>
7. Pavenski K, Khandelwal A, Clarke G, Lane D. Déclaration du CCN sur le génotypage du RhD chez les patientes enceintes [Internet]. Ottawa : Comité consultatif national du sang et des produits sanguins ; 24 mai 2022 [mise à jour 2022 03 15 ; citée 2024 01 17]. Disponible sur : <https://nacblood.ca/fr/resource/genotypage-du-rhd-chez-les-patientes-enceintes>
8. Association for the Advancement of Blood & Biotherapies. Technical Manual: Methods and Appendices [Internet]. 20^e édition. Bethesda: Association for the Advancement of Blood & Biotherapies; 2020 [cité en novembre 2023]. Disponible sur : [technical-manual-20th-edition-methods-and-appendices.docx \(live.com\)](https://www.aabb.org/technical-manual-20th-edition-methods-and-appendices.docx)