
Difficultés du système Rh

Agnès Mailloux^a, Anne Cortey^a

^aCentre national de référence en hématologie périnatale (CNRHP), hôpital St-Antoine, AP-HP, 184 rue du Faubourg St Antoine 75012 Paris

Le site antigénique RH1 se situe sur une protéine spécifique du globule rouge produite par le gène *RHD* et constituée d'une mosaïque d'épitopes antigéniques (plusieurs dizaines), identifiables par des anticorps monoclonaux spécifiques. Lorsque tous les épitopes sont présents le nombre de sites antigéniques varie entre 15 à 30 000 par globule rouge.

Le sujet **RH : -1** est totalement dépourvu d'antigène RH1 (15 % dans la population caucasienne), il se caractérise génotypiquement par une délétion du gène *RHD* dans 99 % des cas et par un gène *RHD* non fonctionnel dans 1% des cas.

Outre le **variant RH1 sauvage** (99 % des sujets RH1 positif), on trouve d'autres variants RH1, schématiquement divisés en deux groupes : les **variants RH1 faibles (Du)** et les **variants RH1 partiels (1)**. Les **variants RH1 faibles** résultent de mutation ponctuelle d'un nucléotide du gène *RHD* sans modification qualitative de l'antigène RH1 mais avec une diminution d'expression de l'antigène RH1 (moins de 1000 sites par globule rouge) ; les sujets porteurs de ces variants ne peuvent pas s'immuniser contre l'antigène RH1. Les **variants RH1 partiels** résultent d'altération du gène *RHD* ce qui se traduit par des modifications qualitatives de l'antigène RH1 certains épitopes n'étant pas exprimés, ces sujets peuvent parfois s'immuniser contre les épitopes manquant à la suite de transfusion ou de grossesse. Etant donné la gravité potentielle de l'immunisation anti-RH1 il est essentiel d'identifier tous les **sujets RH :-1** de manière à prévenir chez eux une allo-immunisation anti-RH1 par contre il n'est nullement obligatoire d'identifier tous les sujets RH1 partiel lors d'un groupage en routine.

Difficultés pour conclure sur le statut RH1

Des cas concrets vous seront présentés pour illustrer ces difficultés :

- 1- Affaiblissement des réactions entre les hématies du patient et un réactif anti-RH1

Faut-il maintenir la technique indirecte à l'antiglobuline (TIA) et dans quelles circonstances ?

- 2- Réactions discordantes en fonction du réactif anti-RH1 utilisé

Envoi vers un laboratoire de référence ?

- 3- Présence d'un anticorps anti-RH1 chez un sujet RH1 positif

Patient RH1 partiel s'étant immunisé contre les épitopes manquants et/ou sujet RH1 positif (avec antigène RH1 affaibli) ayant reçu des IgRh ?

Immunoprophylaxie Rh.

Depuis 2006 en France elle repose sur l'injection d'IgRh chez la femme RH :-1 durant la grossesse de manière ciblée (amniocentèse, version, accouchement...) et systématique (recommandée à 28 SA) (2). Chez la femme RH1 partiel, les observations suivantes n'incitent guère à prôner une immuno-prophylaxie Rh sur les mêmes bases que chez la femme RH :-1. En effet l'immunisation anti-RH1 des femmes RH1 partiel ne donnent pas lieu, dans notre expérience, à des formes cliniques sévères de maladie foetale ou néonatales. Par ailleurs, l'action immunosuppressive des IgRh n'est pas documentée chez les femmes RH1 partiel, et l'on peut douter de cette efficacité lorsque leur hématies ont un fort pouvoir d'absorption (et donc de neutralisation) des anti-D contenus dans les Ig Rh. On peut toutefois la proposer à l'accouchement (si nouveau-né RH : 1 standard) et peut-être dans toutes les circonstances anténatales avec hémorragie foeto-maternelle documentée chez les femmes RH1 partiel avec expression affaiblie de l'antigène RH1. Chez les patientes RH1 partiel avec antigène RH1 fortement exprimé, on peut soit s'abstenir soit faire un test éprouvant la capacité de neutralisation des IgRh de leurs hématies en les mettant en présence de quantités d'IgRh simulant la dose d'IgRh administrée en routine.

Nous vous présenterons des moyens simples de contourner les difficultés d'interprétations des RAI après administration d'IgRh, avec l'utilisation de la technique de microtitrage, facilement applicable dans vos laboratoires.

Place du génotypage *RHD* foetal dans le suivi de la femme RH1 négatif

Actuellement, l'immunoprophylaxie Rh anténatale concerne toutes les femmes RH :-1 bien que 30 à 40 % d'entre elles portent un enfant RH :-1. La connaissance du génotypage foetal permettrait de modifier une pratique qui expose beaucoup de patientes à un médicament dérivé du sang. Une étude multicentrique (GENIFERH) a débuté en janvier 2009 afin d'évaluer l'impact médico-économique du génotypage *RHD* foetal dans le suivi de toutes les femmes enceintes RH1 négatif. Le génotypage *RHD* foetal sur échantillon de sang maternel occupe aujourd'hui une place centrale dans le suivi de la femme enceinte RH1 négatif. En cas d'alloimmunisation anti-RH1, le génotypage *RHD* foetal, réalisé dès 12 SA, permet d'affirmer le diagnostic d'incompatibilité foetomaternelle et ainsi d'adapter la surveillance anténatale. En cas de positivité une surveillance spécialisée est mise en place : 1) titrages et dosages pondéraux, 2) recherche de signe d'anémie foetale par vélocimétrie de l'artère cérébrale moyenne.

La technique de génotypage *RHD* foetal par PCR sur sang maternel est utilisée depuis une dizaine d'années au CNRHP et elle fait l'objet d'améliorations continues comme le recours à des réactifs normés CE, incluant un ADN traceur, l'automatisation de l'extraction de l'ADN plasmatique, l'application systématique de la PCR en temps réel, et récemment le choix d'une triple amplification de séquences spécifiques du gène *RHD* au niveau des exons 5, 7 et 10. Nous vous présenterons notamment les difficultés liées à ce diagnostic : risque de faux positifs et faux négatifs et les moyens d'y remédier.

(1) Gregory A. Denome. Rh discrepancies caused by variable reactivity of partial and weak D types with different serologic techniques. *Transfusion* 2008, 48:473-478.

(2) Cortey A., Brossard Y. Prévention de l'allo-immunisation Rhésus D foeto-maternelle. *J Gynecol Obst Biol Reprod* 2006 ;35 (suppl.ai n°1) :IS123-30