

Mise en place du génotypage *RHc* fœtal non invasif au Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale (CNRHP)

Da Silva, N.R. (1), Huguet-Jacquot, S. (1), Toly-Ndour, C. (1), Oudin O. (1), Saulet P. (1), Oger M. (1), Cortey A. (2), B. Carbonne (2), A. Mailloux (1)
(1) Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale (CNRHP), Hôpital Saint-Antoine, pôle biologie médicale et pathologie, GHU Est Parisien, AP-HP, Paris
(2) Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale (CNRHP), Hôpital Trousseau, pôle périnatalité, GHU Est Parisien, AP-HP, Paris

Introduction

La gravité des incompatibilités fœto-maternelles (IFM) érythrocytaires est due à la fixation d'anticorps maternels traversant la barrière placentaire sur les antigènes fœtaux érythrocytaires correspondants, entraînant une immuno-hémolyse fœtale ou néonatale. Ce syndrome hémolytique se caractérise par une anémie et/ou une hyper production de bilirubine pouvant conduire à un hydrops fœtal, une encéphalopathie hyperbilirubinémique ou à la mort. Trois anticorps sont principalement associés au syndrome hémolytique fœtal : anti-RH1, anti-KEL1 et anti-RH4. Les femmes allo-immunisées anti-RH1 et anti-KEL1 disposent respectivement du génotypage *RHD* ou *KEL1* fœtal à partir de sang maternel pour diagnostiquer une incompatibilité fœto-maternelle et anticiper les complications en légitimant un suivi ante-natal lourd aux seules patientes allo-immunisées enceintes d'un fœtus incompatible. Actuellement les femmes enceintes allo-immunisées anti-RH4 ne disposent pas du génotypage *RHc* fœtal sur sang maternel. Sur 350 patientes/an suivies au CNRHP pour allo-immunisations anti-RH4, 100 patientes présentent des taux supérieures à 500 UCHP/ ml, seuil de déclenchement d'une surveillance clinique. Cette surveillance est déclenchée jusqu'à présent en cas de conjoint de phénotype RH:-2,4 ou RH:2,4, sans connaître le génotype *RHc* du fœtus. Le diagnostic d'incompatibilité fœto-maternelle par génotypage fœtal invasif sur liquide amniotique n'est jamais indiqué en première intention étant donné le risque de réactivation.

Le but de ce travail est de montrer la faisabilité ainsi que l'avantage d'intégrer le génotypage fœtal *RHc* sur sang maternel dans le suivi de la femme enceinte allo-immunisée anti-RH4.

Méthode

Génotypage fœtal *RHc* non invasif

Technique du génotypage fœtal *RHc*

(K Gutensohn et al, BJOG 2010;117:722-729)

3 x 5 ml sang de patientes enceinte d'au-moins 13SA collecté sur EDTA et reçu dans les 72h

↓ Centrifugation

6 x 1 ml plasma (-20° C)

Extraction

Kit QIAamp MinElute® Virus Vaccum Kit



Volume de plasma 500 µl
Volume d'élution 40 µl

Amplification ABI 7300



5 µl DNA dans 10 µl de volume final
PCR *RHc* en triplicate
1 PCR Maïs (témoin d'extraction)

Interprétation des résultats

PCR *RHc* } 3 négatifs
PCR *RHc* } ou
PCR *RHc* } 2 négatifs et 1 positif

PCR maïs } positif (Ct<35,0)

Fœtus négatif à vérifier sur une nouvelle extraction et amplification

PCR *RHc* } 3 positifs
PCR *RHc* } ou
PCR *RHc* } 2 positifs et 1 négatif

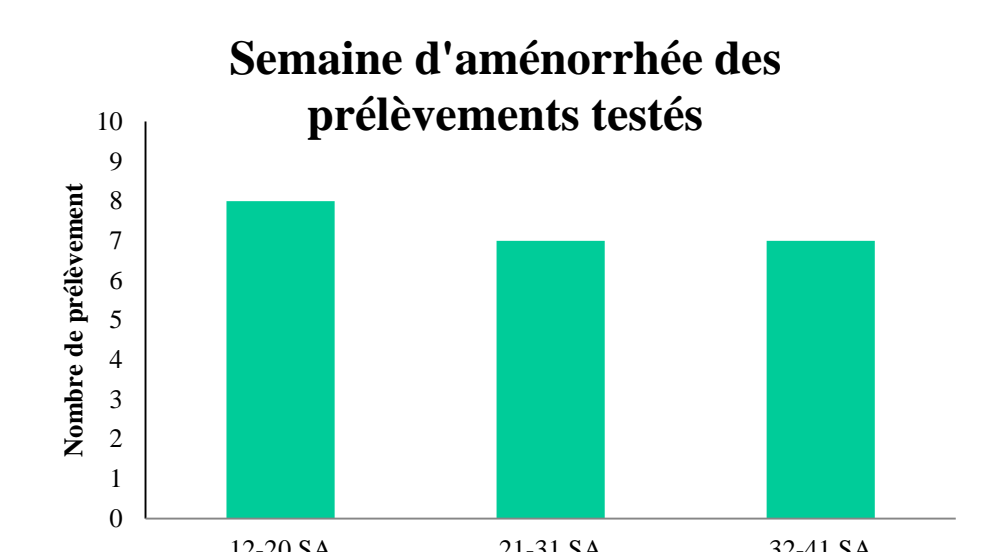
PCR maïs } positif (Ct<35,0)

Fœtus positif

Tous les résultats négatifs sont confirmés par sur un 2^{ème} prélèvement

Validation

19 patientes sur 23 prélèvements

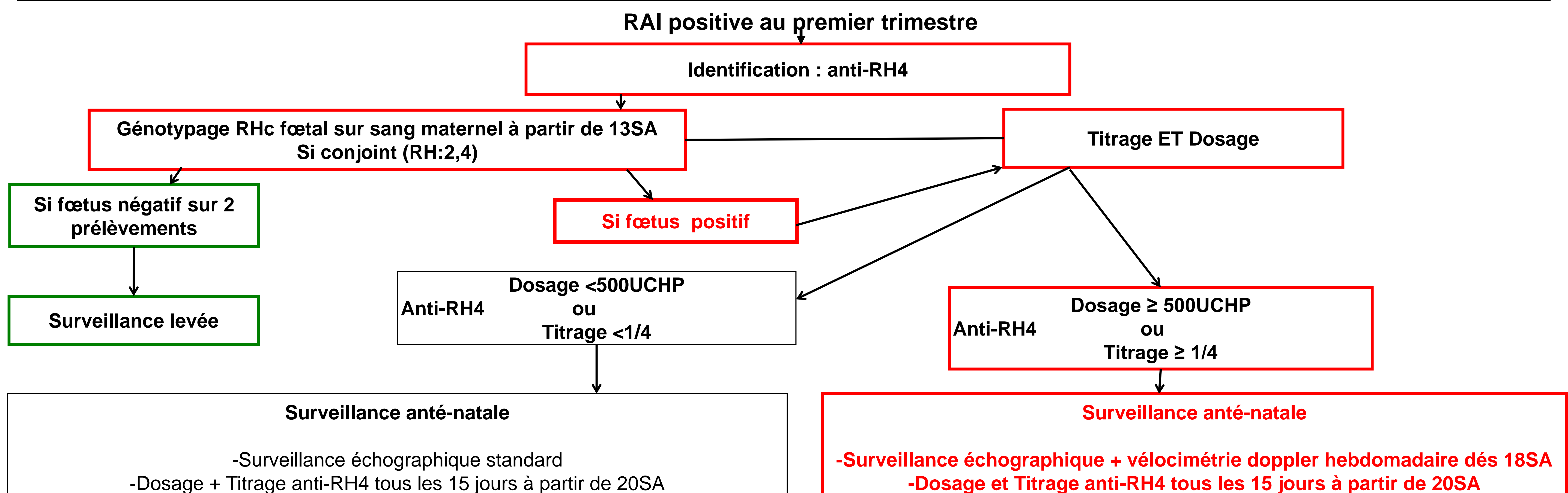


	Fœtus <i>RHc</i> -	Fœtus <i>RHc</i> +	Total
Test +	0	16	16
Test -	3	0	3
Total	3	16	19

Sensibilité : 100%
Spécificité : 100%
VPP : 100%
VPN : 100%

Grossesse avec allo-immunisation anti-RH4

Proposition de schéma de prise en charge



Conclusion

Comme le génotypage fœtal *RHD* et *KEL1* non invasif, le génotypage fœtal *RHc* non invasif peu devenir un outil précieux pour diagnostiquer des situations d'incompatibilité fœto-maternelle et permettre de légitimer une surveillance lourde et onéreuse aux seules femmes enceintes allo-immunisées anti-RH4 portant un fœtus incompatible *RHc* positif