

A large, irregular red ink splatter or blotch is centered on a white background. The splatter has a dark red core that fades to a lighter red and then to white at the edges. The text is overlaid on this splatter.

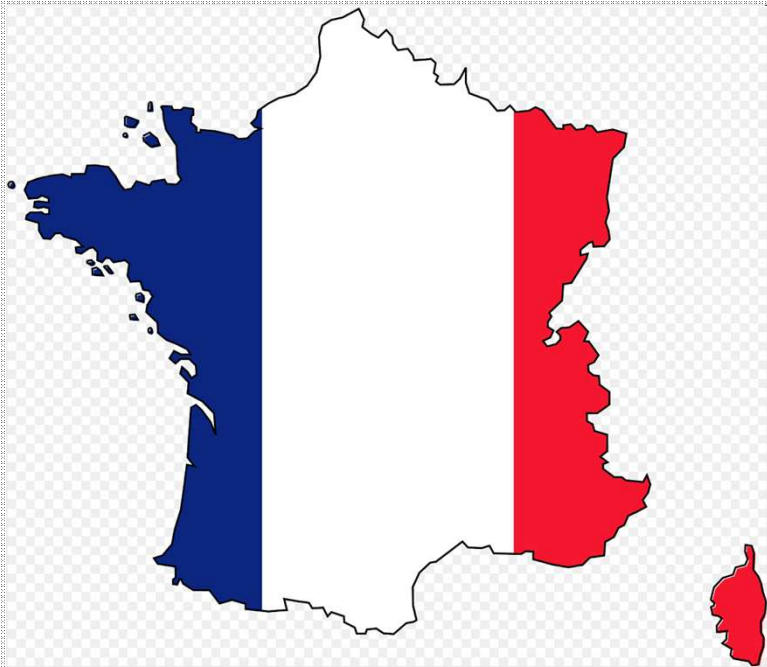
Génotypage RhD fœtal non invasif sur sang maternel

Fernando Guerra

CPDPN - Strasbourg

Mars 2019

En France...



- 1,1 million de conceptions par an – NV, FCS, GEU, IMG, IVG
- RhD nég (RH: -1):
 - 15% caucasiennes
 - 35% basques
 - 2 à 7 % africaines
 - 0,3 asiatiques
- Parmi les femmes enceintes RH: -1, 60% fœtus RhD pos (RH:1)
- 150 000 à 165 000 femmes RH: -1
- 90 000 enceintes d'un fœtus RH: 1 *

*Branger & Winer. Epidémiologie de l'allo-immunisation anti-D pendant la grossesse. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris) 2006;35(Suppl. 1):1S87-92.

Contexte

Baisse spectaculaire des nouvelles allo-immunisations en raison de la prévention par immunoglobulines anti-D.

L'allo-immunisation anti-RhD est devenue une pathologie rare .

Contexte

Risques:

- Anémie fœtale grave
- Anasarque
- Mort fœtale in utero (spontanée ou secondaire au traitement par TIU)
- Ictère et anémie néonatales graves

Les immunoglobulines restent des produits dérivés du sang et leur utilisation devrait être limitée au minimum.



Rationnel scientifique

- La connaissance du génotype Rhésus D foetal , ***dès la fin du premier trimestre de la grossesse:***
 - Eviter les injections d'immunoglobulines inutiles aux mères ***RHD*** négatif dont l'enfant est lui aussi ***RHD*** négatif.
 - Adapter les modalités de surveillance des grossesses des patientes ***RHD*** négatif ***déjà immunisées***, en ne réservant un suivi lourd et spécialisé aux seules grossesses qui le nécessitent

LE GENOTYPAGE *RHD* FŒTAL

ADN fœtal dans le plasma maternel

Suite à la découverte de la présence d'ADN fœtal dans le plasma des femmes enceintes (1 à 6 % d'ADN d'origine fœtale sous forme acellulaire)

LO Y.M. et al. Am J Hum Genet, 1998, 62 : 768-775.

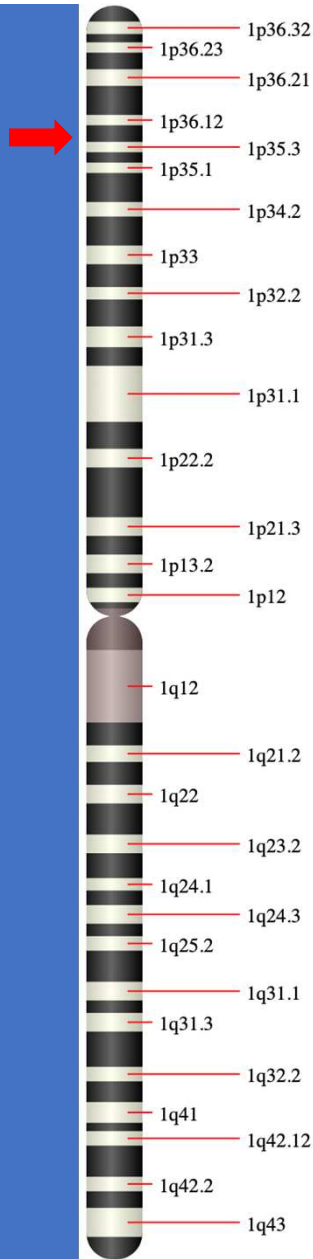
Génotype *RHD* fœtal à partir du sang des femmes enceintes RhD –

- Diagnostic non invasif

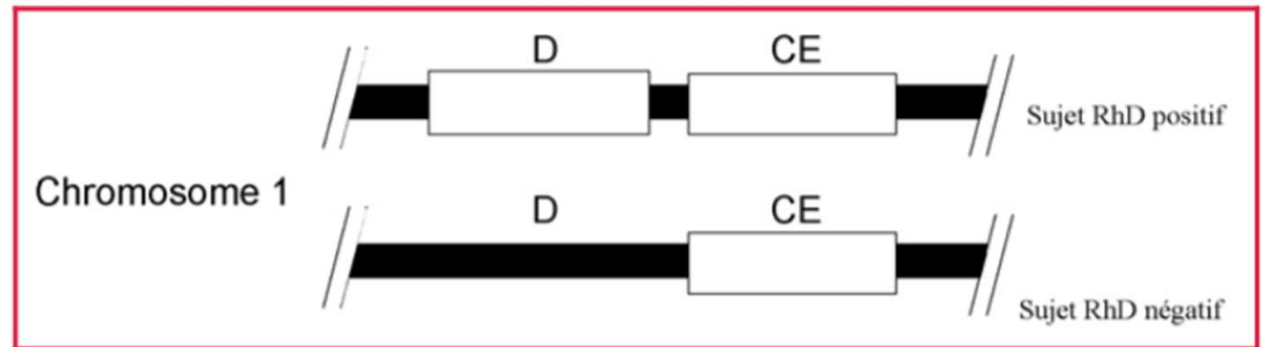
	Quantité de Génomes (copies par ml de plasma maternel)	Isolement	Persistance <i>in vivo</i>
ADN fœtal dans le plasma	25 (3 à 70) à 15 S.A. 290 (77 à 769) à terme	Rapide, simple	Demi-vie < 1 heure

Le gène *RHD*

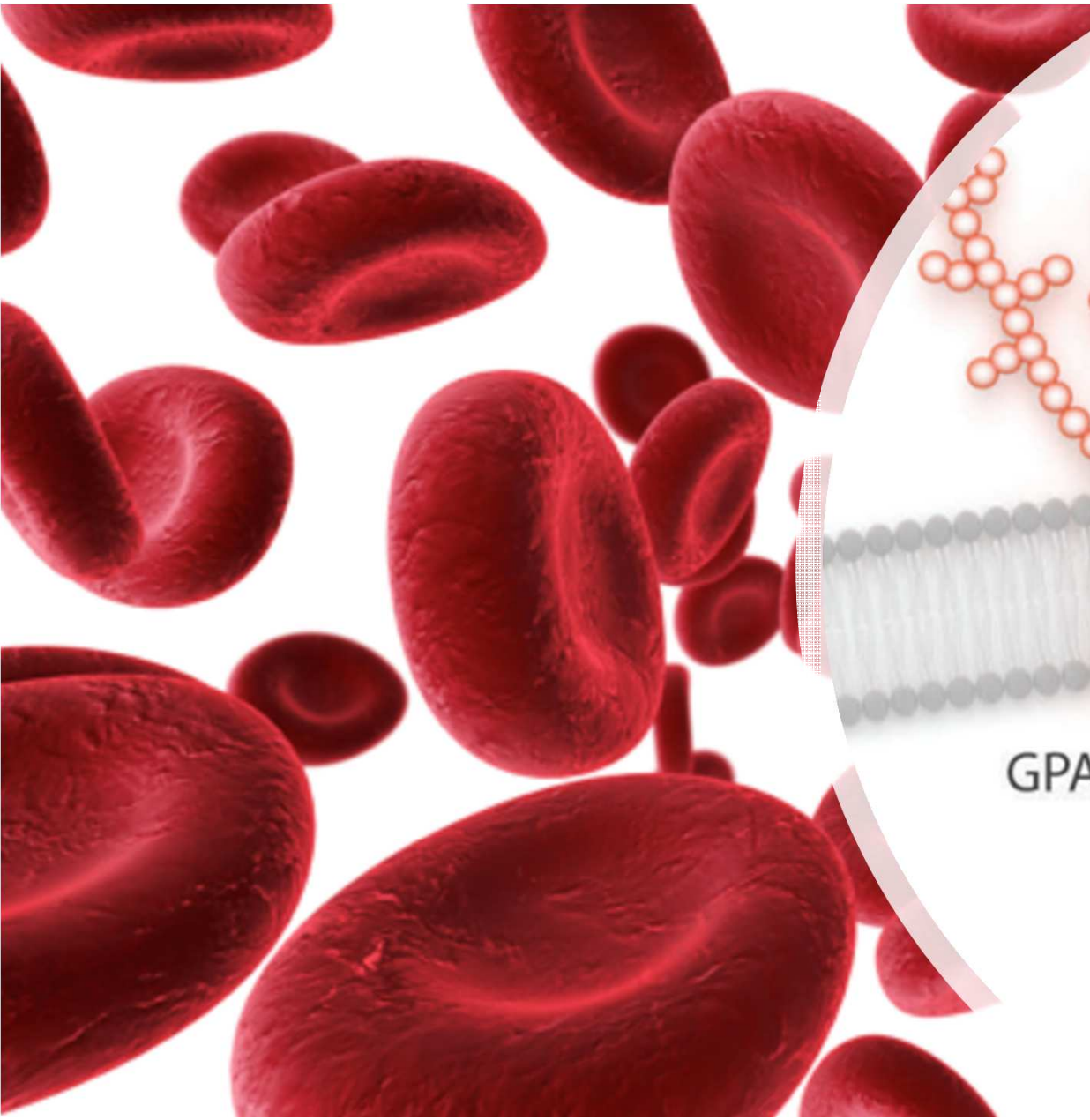
1p36.11,
bras court(p)
[chromosome 1](#)
position 36.11)



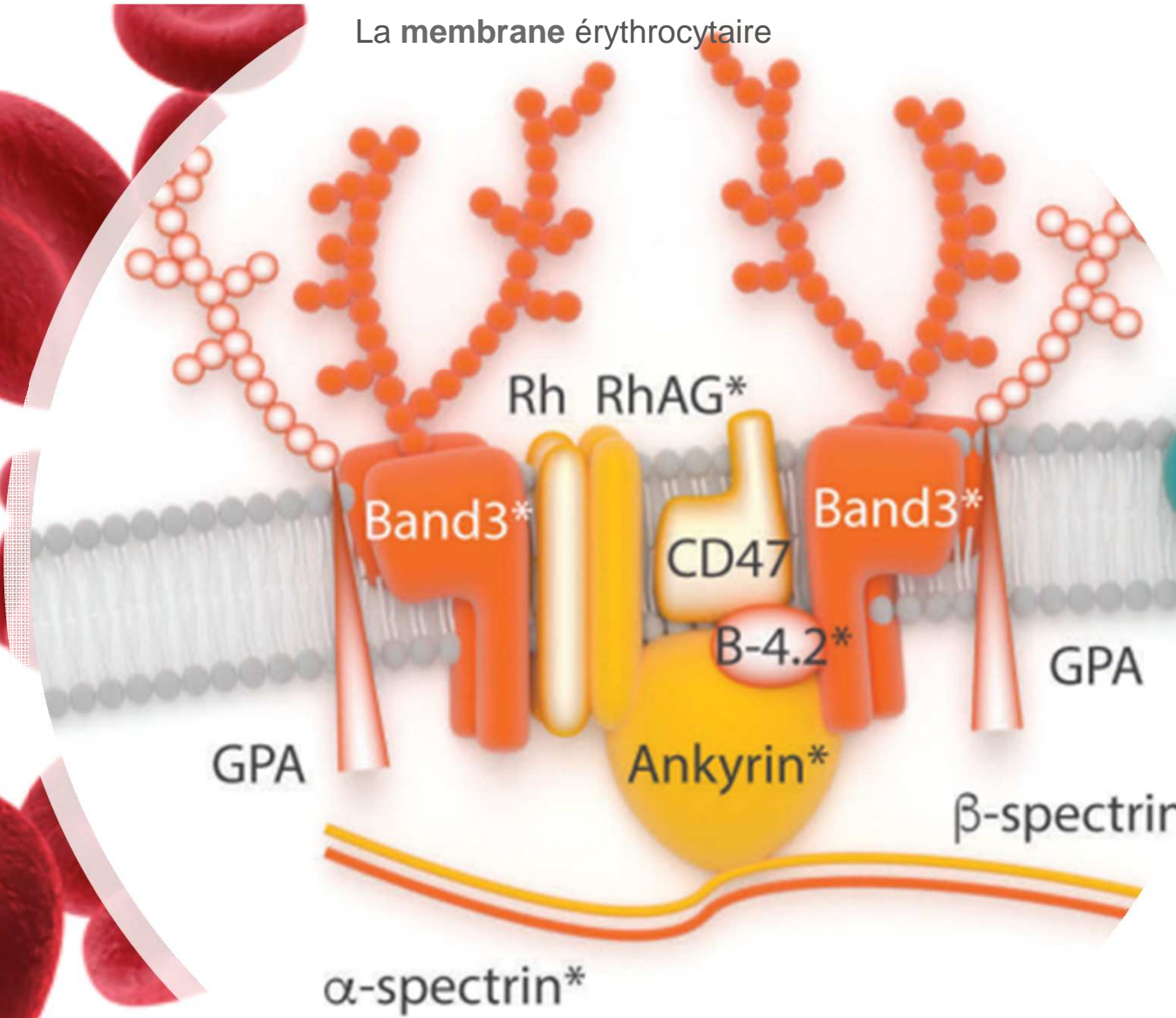
- L'organisation du Système Rhésus décrite en 1991* est très complexe et polymorphe.
- Il comprend d'autres marqueurs membranaires que l'antigène D (RH1), C (RH2), E (RH3), c (RH4), e (RH5).
- Le gène D codant pour la protéine de l'antigène D,
- Le gène CE, codant pour les autres antigènes.



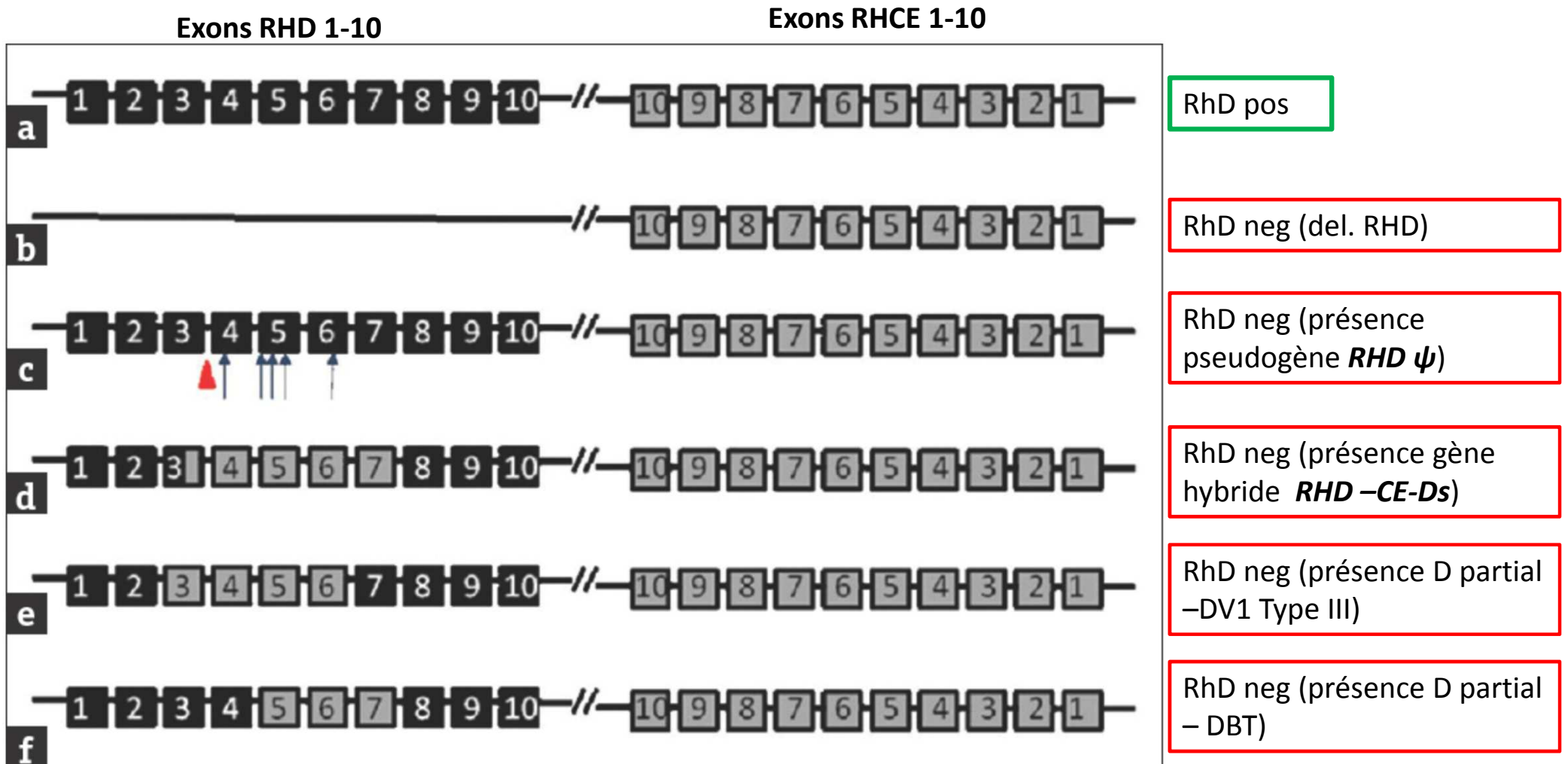
*Colin Y et al. Genetic basis of the RhD-positive and RhD-negative blood group polymorphism as determined by Southern analysis. *Blood* 1991.



La membrane érythrocytaire



Alleles RHD



Profil génotypique RhD des personnes RhD négatif

	Caucasiens RhD négatif (15 %)	Noirs africains RhD négatif (3 %)	Exon 7	Exon 10
Gène <i>D</i> délété	> 98 %	10–25 %	–	–
Gène <i>D</i> muté non fonctionnel	< 1 %	60–70 %	+	+
Gène hybride <i>D-CE-D</i>	< 1 %	10–20 %	–	+

Carbone et al. Gynécologie Obstétrique & Fertilité 36 (2008) 200-2003..

Le gène *RHD*

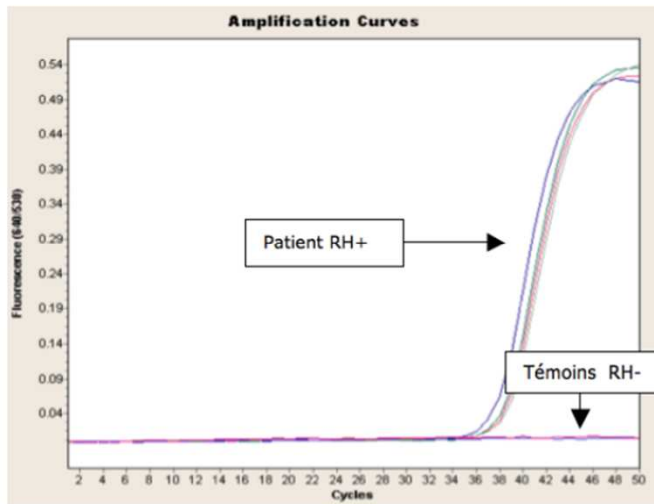
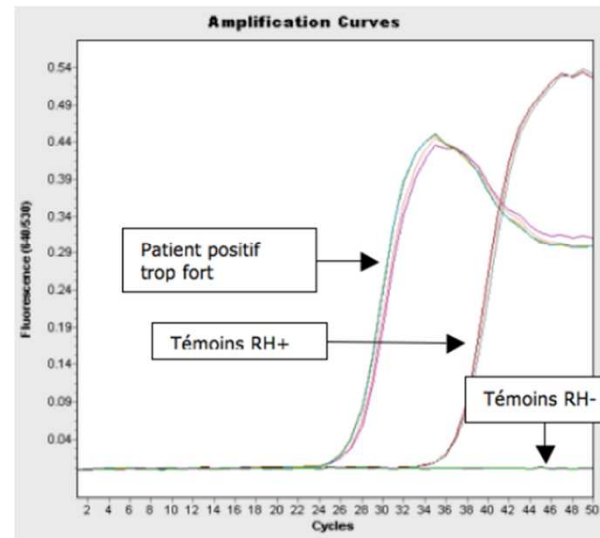
- Le gène CE est toujours présent.
- Le gène D est absent chez la plupart (> 98 %) des sujets RhD négatif (gène D délété).
- Beaucoup plus rarement (< 2 %), le phénotype RhD négatif peut correspondre à une mutation du gène D ou à des gènes hybrides D- CE-D

TECHNIQUE DU GENOTYPAGE NON INVASIF



Technique d'amplification du gène *RHD*

- Test génétique effectué par PCR en temps réel, avec amplification de 3 des 10 exons du gène RHD.
- L'ADN du plasma maternel est purifié /concentré dans un éluat.
- Amplification par **PCR quantitative** ou **PCR en temps réel** des séquences spécifiques (3 des 10 exons) du gène ***RHD***:
 - **EXON 10** (plus sensible mais moins spécifique)
 - **EXON 7** (plus spécifique mais moins sensible)
 - **EXON 5** (permet l'exclusion d'un maximum de variant du gène D silencieux)

A**B**

- Les 3 amplifications distinctes permettant d'augmenter la sensibilité du test et de détecter un maximum de variant du système Rhésus

Technique
d'amplification
du gène *RHD*

INDICATIONS D'UTILISATION DU GENOTYPAGE SUR SANG MATERNEL



En pratique:

INDICATIONS
D'UTILISATION DU
GENOTYPAGE SUR
SANG
MATERNEL



- **Dans un contexte d'allo-immunisation maternelle,**
 - **En dehors de tout contexte d'allo-immunisation, parmi tout les femmes RHD-1.**
-
- *Remboursé par la CPAM depuis juillet 2017*
 - *Réalisé à partir de 11 SA.*



Femmes RhD négatif ayant une alloimmunisation anti-RhD

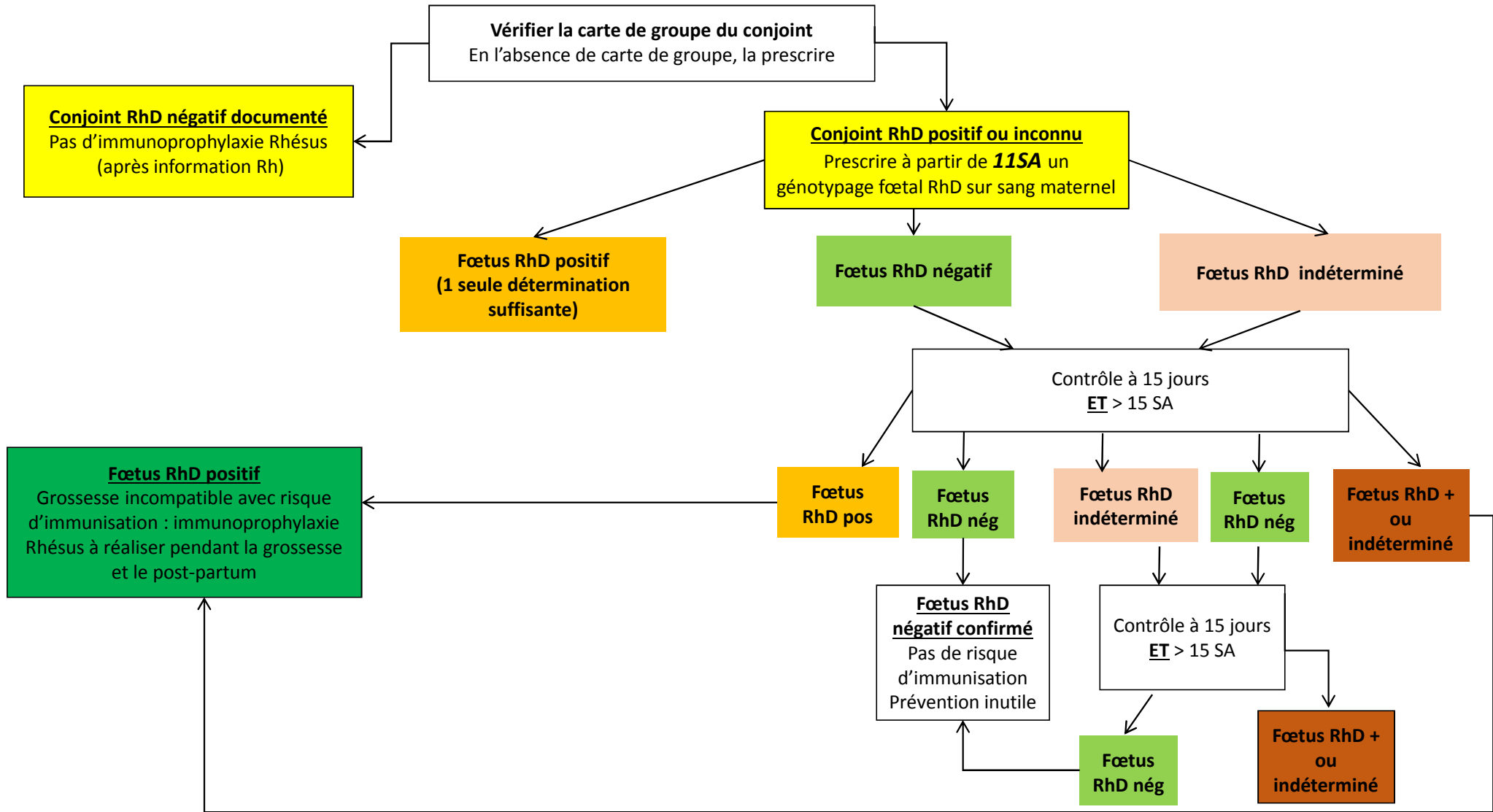
En cas de génotype RhD fœtal négatif:

- confirmé sur deux prélèvements sanguins espacés de 2 semaines,
- le risque d'anémie fœtale est absent, quelle que soit la sévérité de l'allo-immunisation.

En cas de génotype RHD fœtal positif:

- titrages et dosages pondéraux d'anticorps anti-D,
- recherche de signes d'anémie fœtale par l'échographie et surtout le Doppler (pic systolique de vélocité de l'artère cérébrale moyenne).

Prescription du génotypage RhD foetal et interprétation des résultats





merci