Immunisation anti-D(RH1) sévère chez une patiente possédant un allèle *RHCE*CeRN* associé à une délétion du gène *RHD*

Babinet Jérôme[1], Floch Aline[2,3], Delaby Hélène[1], Da Silva Nelly[1], Tournamille Christophe[2], Huguet-Jacquot Stéphanie[1], Toly-NDour Cécile[1], Beaud Jenny[1], Modot Thomas[4], Guillemin Marie-Gabrielle[5], Maurice Paul[5], Mailloux Agnès[1].

1. Service d'Hémobiologie fœtale et périnatale, Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale CNRHP, Hôpital Saint-Antoine, 75012 Paris
2. Laboratoire de biologie médicale de référence en immunohématologie moléculaire, Etablissement francais du sang Ile-de-France, Créteil, France
3. Univ Paris Est Creteil, INSERM U955 Equipe « Transfusion et maladies du globule rouge », IMRB, Créteil, France
4. Laboratoire d'immuno-hématologie érythrocytaire, Etablissement francais du sang - Ile-de-France,- Site de Saint-Antoine, 72012 Paris France
5. UF clinique du CNRHP (Centre National de Référence en Hémobiologie périnatale), Hôpital Trousseau - DMU ORIGYNE - AP-HP. Sorbonne-Université.

1 Cas clinique

Patiente d'ascendance guinéenne née en 1998

1 fausse couche spontanée précoce en 2019

1ère grossesse menée à terme en 2020

- Groupage ABO-D - Phénotype RH-K (automate Néo – Immucor - CNRHP) :
  - **antigène C (RH2) variant** : affaibli et discordant entre réactifs
  - **antigènes D (RH1),** c (RH4) et e (RH5) **présents sans affaiblissement**
  - antigène E (RH3) absent

→ Exploration du gène *RHCE* (laboratoire EFS Site de Créteil) :
  - **présence de l'allèle *RHCE*CeRN*** à l'état hétérozygote, réputé produire des antigènes RH2(C) et RH5(e) d'expression affaiblie et partielle.
  - gène *RHD* non exploré car allèle *RHCE*CeRN* réputé associé à allèle *RHD* de type sauvage

- RAI négative (dépistage sur hématies natives) tout au long de la grossesse et à la veille de l'accouchement
- Accouchement spontané voie basse à 38 SA le 04/12/2020

2ème grossesse débutée le 06/07/2022

- découverte à 12SA d'une **immunisation anti-RH1 de niveau faible (0,2 UI/ml)**

→ Exploration moléculaire du gène *RHD* (technologie de puce à ADN BioArray® - Immucor – EFS Site de Créteil) :

Absence de gène *RHD* chez la patiente

- génotypage *RHD* fœtal sur sang maternel à 24SA (CNRHP) :
  → présence des exons 5, 7 et 10 d'origine fœtale
  → **Fœtus attendu de phénotype RH1(D) POSITIF**
- suivi de l'immunisation anti-D(RH1) tous les 15 jours par titrage et dosage pondéral et à 2 mois du post-partum (CNRHP)
  → niveau faible et stable de 12 à 28SA (titre< 2 /dosage # 0,2 UI/ml)
  → niveau modéré avec progression entre 30SA et 38SA (titre 4 à 16 /dosage 0,46 à 2,5 UI/ml)
  → **Niveau sévère à 2 mois du post-partum** (titre 32 / dosage 4,9 UI/ml)
- naissance anticipée à 38SA+1 j
  - **Bébé RH1(D) POSITIF – EDA POSITIF IgG3+ - Elution directe anti-D**
  → photothérapie intensive dès H2 pendant 2 jours ½
  → rebond hyperbilirubénie à J8 → complément photothérapie
  → injection érythropoiétine (Aranesp ®) à J13 - pas de besoin transfusionnel

Phénotypage RH1(D) de routine et explorations complémentaires

2

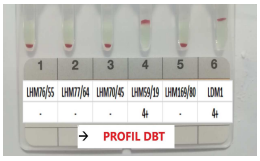
	Techniques automatisées				
	EFS - Ile-de-France			CNRHP	
Fournisseur	Grifols	Ortho	Diagast	Immucor	
Automate	WaDiana	Vision	Qwalys	Néo/Iris	
Clone anti-D(RH1)	P3x61	D7B8	P3x61	RUM-1	D157-2 +D415-1E4
Valeur lecteur			99	96,1	99
Résultat	**4+**	**4+**	**4+**	**4+**	**4+**

	Techniques manuelles (CNRHP)					
Fournisseur	Biorad		Ortho	Diagast	Diagast	Ortho
Technique	Gel filtration sans antiglobuline		Cassette Biovue	Tube centrifugation	Gel filtration avec antiglobuline	
Clone anti-D(RH1)	LHM59/20 175-2	ESD1M(DVI+) 175-2	D7B8	P3x61 P3x21223B10 P3x290, P3x35	HM16	D7B8 H1121G6 LORIFA
Résultat	**4+**	**4+**	**4+**	**4+**	**4+**	**4+**

→ aucun affaiblissement décelé

Etude avec panel d'anti-D monoclonaux
(ID-Partial RhD typing set Biorad)

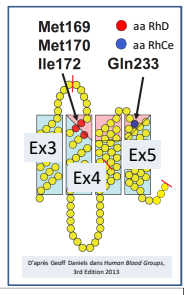
→Profil similaire à un antigène RH1 partiel de type DBT



Mécanismes moléculaires des variants *RHD*DBT* et *RHCE*CeRN*

3

Les protéines RhD et RhCe produites par ces 2 gènes variants issus de conversions géniques ont une séquence en acides aminés très voisines, identiques dans les boucles extracellulaires, mais différant de manière critique des protéines RhD et RhCE sauvages du fait de la jonction de l'exon 4 *RHD* et de l'exon 5 *RHCE*, qui modifie la séquence en acides aminés des 3ème et 4ème boucles extracellulaires. Cette séquence est également responsable de l'expression de l'antigène de faible fréquence RH32.



L'allèle variant *RHD*DBT* est un allèle peu fréquent décrit initialement en 1996 chez une femme de phénotype D+ avec anti-D (Br J Haematol - June 1996 - BECKERS - The genetic basis of a new partial D antigen D^{DBT})
2 des 5 sujets *RHD*DBT* identifiés par l'EFS-Ile de France – Site de Créteil ont également été découverts lors d'une immunisation anti-D alors que le phénotype est D+.

4 Commentaires :

1/ L'association de l'allèle *RHCE*CeRN* à un gène *RHD* délété a été décrite pour la 1ère fois par Vege and al. en 2016 chez une patiente immunisée de 61 ans.

2/ La présence de l'exon 4 du gène *RHD* dans l'environnement du gène *RHCE* permet l'expression d'épitopes normalement exprimés par la protéine RhD. En revanche, comme chez le sujet variant partiel de type DBT, de nombreux épitopes sont manquants, si bien que ces sujets sont à risque d'immunisation anti-RH1.

3/ Il est remarquable de constater que tous les clones anti-D(RH1) entrant dans la composition des réactifs commerciaux et servant au phénotypage RH1(D) de routine ont donné des réactions positives, sans affaiblissement objectivable. Cela a été la cause de l'erreur de phénotypage RH1 chez ce sujet porteur d'un allèle *RHCE*CeRN* associé à un gène *RHD* délété. Il en est probablement de même pour les sujets D partiel de type DBT.

4/ Aucune recommandation n'existe pour le dépistage des variants D partiel chez la femme enceinte. Certains de ces variants sont identifiés devant une expression RhD affaiblie (auquel cas l'immunoprophylaxie par IgRh est proposée) ou sinon, malheureusement, quand l'immunisation est avérée. *A contrario*, la réglementation oblige à utiliser des réactifs anti-RH1(D) qui donnent des réactions négatives chez les sujets D partiel de type DVI, alors que ceux-ci présentent un affaiblissement notable avec les réactifs capables de reconnaître les épitopes qu'ils présentent.

6/ L'haplotype constitué d'un gène *RHD* délété (ou silencieux) et d'un gène *RHCE*CeRN* est probablement rare, mais, compte-tenu du risque d'immunisation sévère anti-RH1, sa prévalence mériterait d'être évaluée chez les sujets porteurs de l'allèle *RHCE*CeRN*.

7/ L'idéal serait de disposer de réactifs anti-D commerciaux donnant des réactions négatives sur cet haplotype. L'alternative est l'étude systématique du gène *RHD* des femmes en âge de procréation et porteuses d'un allèle *CeRN* découvert lors de difficultés de phénotypage RH2 et/ou RH5.