

23 & 24 MAI 2024

Palais des Congrès de Paris Porte Maillot



Discordance dans la détermination du Rhésus D entre deux méthodes : à propos d'un cas



K. Hkimi (1), I. Guediri (1), C. B.Dhiab(1), R. Aloui (1), S. Gara (1,2)

¹ Faculté de médecine de Tunis, Université Tunis El Manar, Tunisie

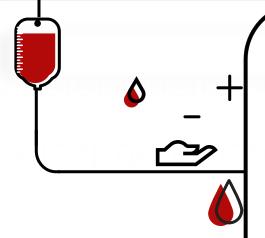
² Laboratoire de biologie médicale, Institut Salah Azaiz de Tunis, Tunisie



Présenté par: Dr. Khouloud Hkimi

Introduction:

Le test de groupage sanguin de routine nécessite la détermination des antigènes ABO et Rhésus D.



L'antigène D (RH1) est le plus immunogène du système Rhésus et l'exposition à des GRs qui l'expriment chez un patient Rhésus D négatif induit une allo-immunisation pouvant être responsable de réactions hémolytiques graves.

I. Introduction:

La dichotomie entre Rhésus D positif et Rhésus D négatif n'est pas aussi simple qu'on pourrait le penser.

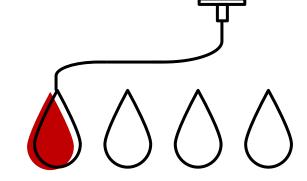


I. Introduction:

Il existe toute une gamme de variants qui peuvent avoir des implications importantes en médecine transfusionnelle et en obstétrique.



Introduction:





Objectif: rapporter le cas d'une femme qui présente une discordance dans la détermination de l'antigène Rhésus D entre deux méthodes de groupage.

Patiente âgéë de 49 ans, GII.PII, ménopausée. Adénocarcinome du moyen rectum il y'a une année.

Admise pour réparation d'une fistule recto-vaginale.

Radio-chimiothérapie néoadjuvante.
Résection antérieure avec anastomose colorectale protégée + annexectomie bilatérale.



Pas de notion de transfusion récente.



Détermination du groupe sanguin ABO Rhésus D



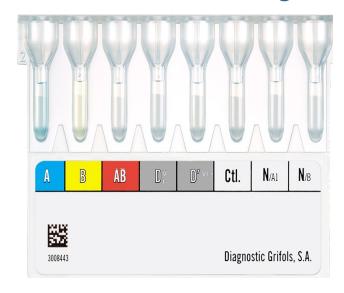
Deux techniques de groupage sanguin



Méthode sur plaque d'opaline



Méthode sur carte gel

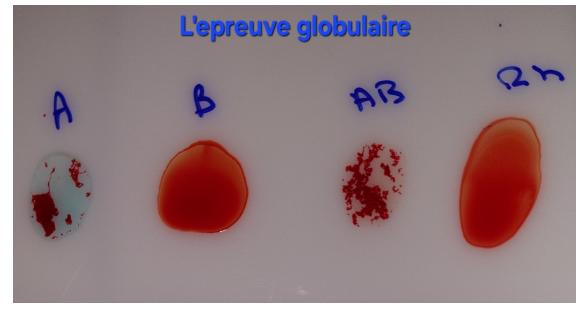


carte gel Grifols DG ABO/Rh (2D)®



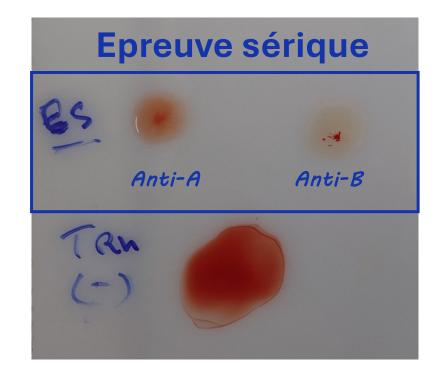


Méthode sur plaque d'opaline



GS: A négatif

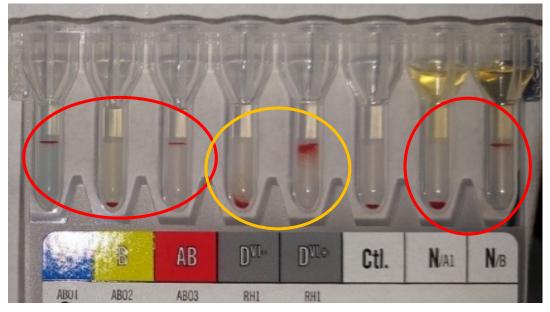
Témoin Rhésus: négatif







Méthode sur carte gel



→ Phénotypage Rhésus + Kell



GS ABO: «A»

Puit DVI-: +/-

Puit DVI+: 3+

Carte Grifols DG Gel Rh Pheno+Kell®

Phénotype: « CEK» négatifs

Puit DVI+: 2+



Tous les contrôles étaient négatifs.



Aucune autre anomalie n'a été constatée dans la série des patients du jour avec l'anti-D: des résultats Rhésus D + et -.



La validité: stabilité / péremption / conditions de stockage des réactifs et des réactifs auxiliaires ont été vérifiés.



L'identité de la patiente, l'étiquetage du tube et l'aspect de l'échantillon ont été vérifiés.



Le même résultat a été obtenu dans un autre laboratoire utilisant les mêmes cartes gel, et a été confirmé sur un autre prélèvement.



RAI sous-traitée (DG Gel® Coombs) : négative.



Conclusion: Variant « D ».

La patiente a été étiquetée «Rhésus D faible ou partiel», étant donné la non-disponibilité du génotypage du Rhésus D.

Il a été recommandé de la traiter comme étant « Rhésus D

négatif » pour les transfusions et « positif » pour les dons de sang.

L'Ag « D » est une protéine trans-membranaire portée par les la globules rouges.

Codée par le gène RHD: chromosome 1p36.11

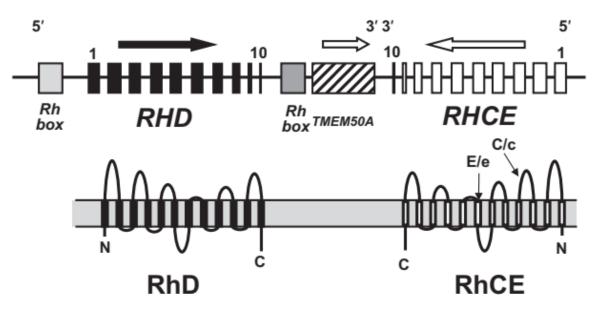


Fig. 1. Organization of *RHD* & *RHCE* and diagram to demonstrate the conformation of the RhD and RhCE protein in the membrane.

3 phénotypes pour l'Ag « D »:

- Rhésus D positif
- Rhésus D négatif
- Les variants D

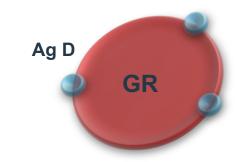
3 phénotypes pour l'Ag « D »:

- ▶ Rhésµs Dpesitif
- Rhásuspartiégatif
- Les variants D : Phénotype DEL

→ La résultante de mutations du gène RHD: insertion/délétion/ substitution/ hybridation avec le gène RHCE...

Le D faible: anomalie quantitative.





Plusieurs types et sous-types (Rhesus database).

La classification est basée sur le séquençage du gène.



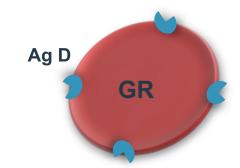
Les patients présentant des variants D faibles peuvent être faussement étiquetés « Rhésus D négatif ».

Certains sont capables d'induire une allo-immunisation.

utilisé.

▶ Le D partiel: anomalie qualitative.

Ag dépourvu de certain es.



Plusieurs types et sous-

La classification est l





Ces patients peuvent faussement positifs en fon

de la méthode et du <mark>réactif anti-D</mark>

es à tort comme D négatifs ou

Induit une allo-immunisation.



- ➤ Le phénotype le plus fréquent: D positif 90%.
- → Le stock de D négatif est faible et il faut le préserver.
- ➤ Le variant D faible le plus fréquent est: le D faible 4.0 (0.47%).
- ➤ Le variant partiel le plus fréquent est le DVII.

Moussa H, Tsochandaridis M, Chakroun T, Jridi S, Abdelneji B, Hmida S, et al. Molecular background of D-negative phenotype in the Tunisian population. Transfus Med Oxf Engl. 2012 Jun;22(3):192–8.

Ouchari M, Romdhane H, Chakroun T, Abdelkefi S, Houissa B, Hmida S, et al. Weak D in the Tunisian population. Blood Transfus Trasfus Sangue. 2015 Apr;13(2):295–301. Ouchari M, Romdhane H, Abdelkefi S, Houissa B, Chakroun T, Hmida S, et al. Occurrence of partial RhD alleles in the Tunisian population. Transfus Med Oxf Engl. 2015 Dec;25(6):426–7.



La réactivité des variants D avec les réactifs anti-D peut être:

- Normale
- Faible
- Intense



Dépend de la sensibilité et de la spécificité des Anti-D et de la méthode du groupage.

Daniels G. Variants of RhD--current testing and clinical consequences. Br J Haematol. 2013 May;161(4):461–70.

Person RD de M, Arnoni CP, Muniz JG, Vendrame TA de P, Latini FRM, Cortez AJP, et al. Serologic strategy in detecting RHD altered alleles in Brazilian blood donors. Hematol Transfus Cell Ther. 2020;42(4):365–72.

Différence en intensité de réaction entre les 2 méthodes et même entre les 3 microtubes.









Une réactivité différente des anti-D commercialisés avec les variants D.



On utilise dans notre laboratoire:



Le sérum anti-D monoclonal de SIREBIO Technologies.

Mélange d'anti-D IgG+IgM monoclonaux d'origine humaine.

Clones:

- **IgG: MS-26** ■
- ▶ IgM: MS-201



On utilise dans notre laboratoire:



Le sérum anti-D monoclonal de SIREBIO Technologies.

Mélange d'anti-D IgG+IgM monoclonaux d'origine humaine.

Clones:

- **IgG: MS-26**
- ▶ IgM: MS-201



On utilise dans notre laboratoire:



■ IgG: MS-26

▶ IgM: MS-201

Ces deux clones combinés détectent la plupart des D faibles, mais réagissent faiblement ou ne réagissent

même pas avec certains variants faibles et partiels. Utilisés en TCI (test de confirmation): ils peuvent

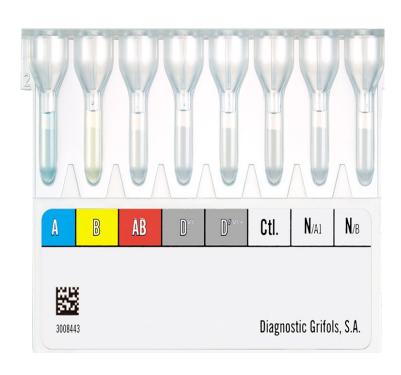
donner une réaction de meilleure intensité+++

Campos FCA, Mota MA, Aravechia MG, Torres KB, Bub CB, Kutner JM, et al. Variant RHD Types in Brazilians With Discrepancies in RhD Typing. J Clin Lab Anal. 2016 Apr 13;30(6):845–8.

Person RD de M, Arnoni CP, Muniz JG, Vendrame TA de P, Latini FRM, Cortez AJP, et al. Serologic strategy in detecting RHD altered alleles in Brazilian blood donors. Hematol Transfus Cell Ther. 2020;42(4):365–72.



On utilise dans notre laboratoire:

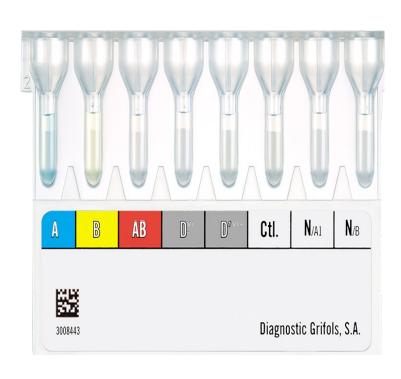


Carte gel Grifols DG ABO/Rh (2D)®

- Puit DVI-:
 - Un anti-D monoclonal (IgM d'origine humaine, clone P3x61).
- Puit DVI+:
 - Un anti-D monoclonal (IgM d'origine humaine, clones P3x61+ESD-1M).



On utilise dans notre laboratoire:

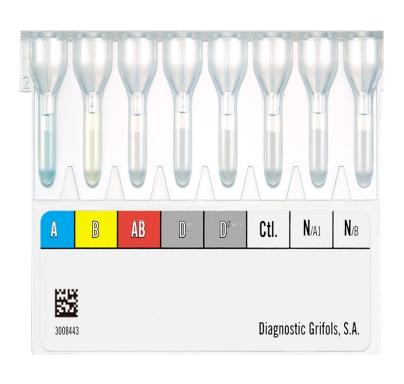


Carte gel Grifols DG ABO/Rh (2D)®

- Puit DVI-:
 - Un anti-D monoclonal (IgM d'origine humaine, clone P3x61).
- Puit DVI+:
 - Un anti-D monoclonal (IgM d'origine humaine, clones P3x61+ESD-1M).



On utilise dans notre laboratoire:



clone P3x61

Ne détecte pas le variant DVI

<mark>Le plus fréquemment</mark> associé à <mark>l'allo-</mark>

immunisation dans la population

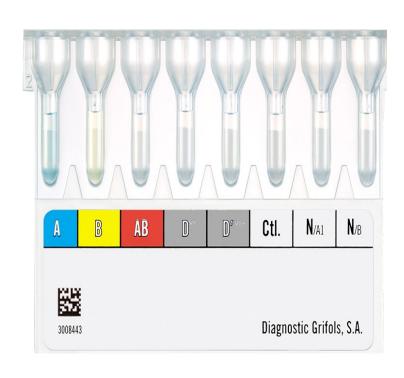
européenne.

Ne détecte pas certains variants D faibles.

Campos FCA, Mota MA, Aravechia MG, Torres KB, Bub CB, Kutner JM, et al. Variant RHD Types in Brazilians With Discrepancies in RhD Typing. J Clin Lab Anal. 2016 Apr 13;30(6):845–8.



On utilise dans notre laboratoire:



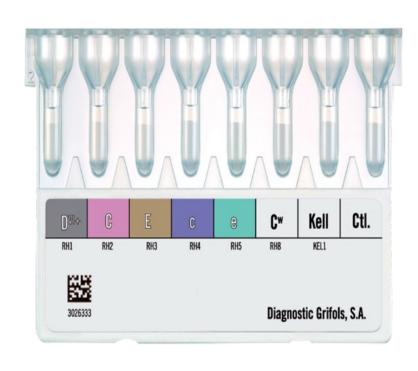
Clone ESD-1M

Détecte la plupart des variants D y compris le variant DVI.

Campos FCA, Mota MA, Aravechia MG, Torres KB, Bub CB, Kutner JM, et al. Variant RHD Types in Brazilians With Discrepancies in RhD Typing. J Clin Lab Anal. 2016 Apr 13;30(6):845–8.



On utilise dans notre laboratoire:



Carte Grifols DG Gel Rh Pheno+Kell®

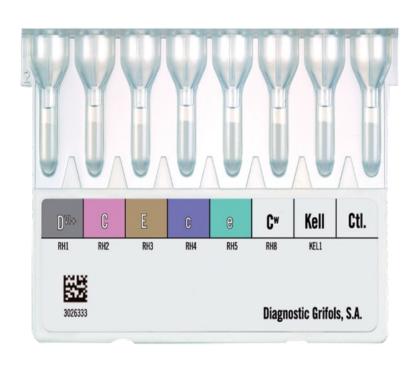
Puit DVI+:

Un anti-D monoclonal (IgM d'origine

humaine, clones RUM1+ESD-1M).



On utilise dans notre laboratoire:



RUM1

IgM qui détecte la plupart des variants D mais ne détecte pas le DVI.

Jones J, Scott ML, Voak D. Monoclonal anti-D specificity and Rh D structure: criteria for selection of monoclonal anti-D reagents for routine typing of patients and donors. Transfus Med Oxf Engl. 1995 Sep;5(3):171–84.



Il n'existe pas d'anti-D monoclonal qui réagit avec tous les variants D.





L'absence ou la faiblesse de la réaction avec certains anticorps n'est pas toujours due à l'absence de l'épitope mais plutôt à sa faible expression.





Donc les anticorps anti-D commercialisés ne permettent pas de différencier entre D faible et partiel avec certitude.



Le succès du groupage sanguin dépend:



de la méthode choisie



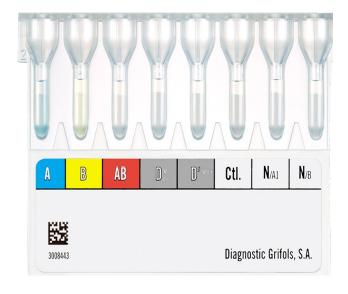
des réactifs utilisés

Méthode sur plaque d'opaline





Méthode sur carte gel



Bonne sensibilité



Le choix des réactifs dépend de:







laboratoire destiné à déterminer les GS des receveurs ou des donneurs.

La prévalence des variants susceptibles d'induire une alloimmunisation dans la population.

La sensibilité et la spécificité des anti-D.

Person RD de M, Arnoni CP, Muniz JG, Vendrame TA de P, Latini FRM, Cortez AJP, et al. Serologic strategy in detecting RHD altered alleles in Brazilian blood donors. Hematol Transfus Cell Ther. 2020;42(4):365–72.

IV. Conclusion:



Le choix de méthodes de groupage sensible et des réactifs anti-D avec prudence est crucial pour minimiser le risque d'erreurs.



Un dépistage du D partiel ou faible est recommandé devant tout Rhésus D négatif sur plaque d'opaline.



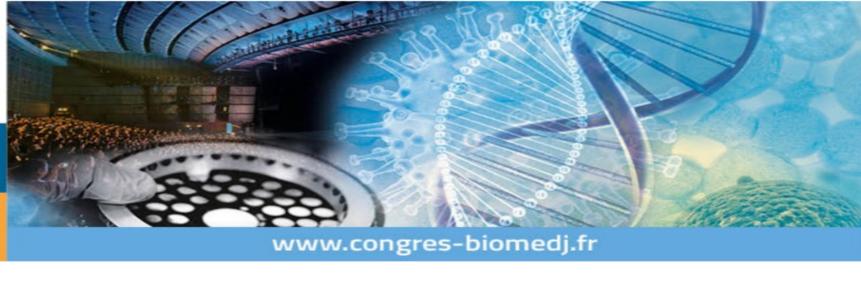
La transfusion de globules rouges Rhésus D négatif est recommandée en cas de discordance, dans l'attente du génotypage.

British Committee for Standards in Haematology, Milkins C, Berryman J, Cantwell C, Elliott C, Haggas R, et al. Guidelines for pre-transfusion compatibility procedures in blood transfusion laboratories. British Committee for Standards in Haematology. Transfus Med Oxf Engl. 2013 Feb;23(1):3–35. Sandler SG, Chen LN, Flegel WA. Serological weak D phenotypes: a review and guidance for interpreting the RhD blood type using the RHD genotype. Br J Haematol. 2017 Oct;179(1):10–9.



23 & 24 MAI 2024

Palais des Congrès de Paris Porte Mail<u>lot</u>



Merci pour votre attention

2 Des questions?

Gmail: hkimikhouloud@gmail.com

WhatsApp: +21627767304