

## Comment déterminer le génotype foetal Rhésus D sur prélèvement sanguin maternel ?

*Pour éviter l'allo-immunisation des mères RHD négatives porteuses d'enfant RHD positif, il est pratiqué, depuis plus de quarante ans, une immunoprophylaxie par administration d'immunoglobulines IgG anti-D, sans doute inutile si le génotype Rhésus D de l'enfant était connu avant sa naissance. Une nouvelle approche de détermination du génotype foetal par PCR est en voie de commercialisation.*

**A**ctuellement en France, environ 160 000 femmes bénéficient d'une immunoprophylaxie par administration d'immunoglobulines IgG anti-D, dans les 72 heures qui suivent la naissance d'un enfant RHD négatif, mais également à la suite d'avortement spontané, d'IVG ou d'amniocentèse. On estime que cette prophylaxie systématique, notamment quand le Rhésus de l'enfant n'est pas connu, est inutile dans 40 % des cas. Ce constat en amène un autre : si l'on connaissait le génotype Rhésus D de l'enfant à naître, on ne traiterait la maman RHD négative que si ce dernier était positif.



### Le génotype Rhésus

Le locus RH comporte deux gènes homologues *RHD* et *RHCE*, identiques à 96 % et étroitement liés, sur le chromosome 1p34-36. Dans la population caucasienne, 85 % des individus sont dits RH positifs, c'est-à-dire qu'ils possèdent les deux gènes *RHD* et *RHCE*, alors que l'haplotype RH négatif ne contient que le gène *RHCE*. Par ailleurs, on a pu mettre en évidence l'existence de phénotypes RH négatif qui correspondent pourtant à un génotype RH positif. Il s'agit soit de fragments de gène *RHD*, formant un pseudo-gène *RHD* (plus fréquents chez les

personnes africaines), soit d'insertion de fragment *RHCE* dans le gène *RHD*, conduisant à des gènes hybrides (on parle de *RHD* silencieux), soit de mutations non-sens, délétions ou insertions modifiant le cadre de lecture. Le *RHD* dit faible correspondrait à un gène D contenant des mutations ponctuelles dans les domaines transmembranaires ou les boucles intracellulaires. La fréquence de ces phénotypes rares varie selon les ethnies.

### ADN foetal circulant et technique PCR

Cette connaissance du génotype Rhésus a conduit à mettre au point des techniques PCR à partir d'ADN des cellules amniotiques ou de villosités chorales, donc très tôt dans la grossesse.

- **Le premier test par PCR** utilisait uniquement des amorces spécifiques du gène *RHD* situé au niveau de l'exon 10, mais du fait des nombreux variants, il s'avère préférable d'utiliser plusieurs couples d'amorces.

- Par ailleurs, la mise en évidence d'ADN foetal et d'acides nucléiques foetaux circulant dans le sang maternel a permis d'envisager, dès la dixième semaine d'aménorrhée, un **test sérique (donc non invasif)** par PCR classique ou en temps réel, utilisant des amorces correspondant aux exons 7 et 10. La concentration d'ADN foetal serait de l'ordre de 25 à 300 copies/mL, ce qui représente 3 à 6 % de l'ADN plasmatique maternel. L'algorithme pourrait être le suivant :

- **si le génotype foetal est positif** : on vérifie l'absence de RH silencieux sur les cellules mononucléées de la mère, et l'immunoprophylaxie prend alors son plein intérêt ;
- **avant 15 semaines d'aménorrhée**, si le génotype foetal est négatif, il sera contrôlé plus tard, avant 28 semaines, et s'il est confirmé, la mère ne recevrait pas d'immunoprophylaxie et la recherche itérative d'anti-D serait inutile.

### Quels écueils ?

Au-delà de la nécessaire étape de standardisation de cette technique PCR et de son étape préalable d'extraction d'ADN, l'écueil majeur est aujourd'hui l'absence de contrôle positif, qui prouverait la présence d'ADN foetal circulant dans l'échantillon de sérum maternel (et cela d'autant plus que le résultat de la PCR donne un résultat négatif). Dans le cas de fœtus de sexe masculin, il est possible de contourner la difficulté en détectant un fragment du gène SY, mais le problème resterait entier pour les fœtus de sexe féminin. Une deuxième source potentielle de contrôle de présence d'ADN foetal serait le fait que l'ADN foetal aurait un degré de méthylation très inférieur à l'ADN maternel (étude actuellement sur le gène *maspin* des cellules placentaires).

### Un double impact

La mise au point de trousse commerciales est actuellement en cours dans certains laboratoires et il est tout à fait vraisemblable et attendu qu'un agrément soit nécessaire pour réaliser en routine le génotype foetal Rhésus D.

Cette nouvelle approche aurait ainsi un double impact : réduire la recherche itérative des agglutinines irrégulières uniquement aux mamans RHD négatives porteuses de fœtus RHD positif, et réduire l'administration prophylactique d'IgG anti-D. ▀

### Rose-Marie Leblanc

Biologiste, Bordeaux (33)  
rmlleblanc@style-info.com

### Source

Communication du docteur J.-P. Cartron, lors du 35<sup>e</sup> Colloque national des biologistes des hôpitaux, Saint-Malo, septembre 2006.