

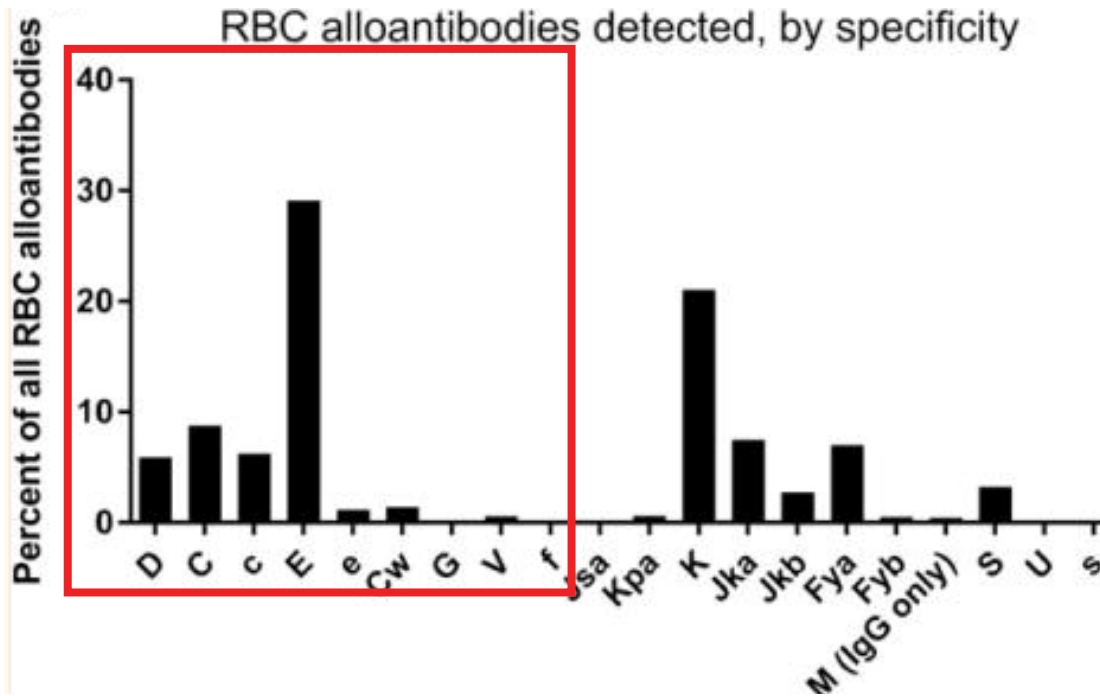
Rode Kruis
Vlaanderen

**RH serologie vs genotypering:
verbeterpunten voor het capteren van RH varianten**

Van Sandt Vicky

25 februari 2025

Waarom Rhesus ?



Matthews et al Annals of blood 2018

Positive screen test AB n = 319 177

Clinically significant allo Abs n = 6597

~50 % RhABs

Molecular genetics of the Rh blood group system: alleles and antibodies—a narrative review

Aline Floch^{1,2,3,4}

2021

¹Univ Paris Est Creteil, INSERM, IMRB, Creteil, France; ²Etablissement français du sang Ile-de-France, IMRB, Créteil, France; ³Laboratory of Excellence GR-Ex, IMRB, Créteil, France; ⁴Immunohematology and Genomics Laboratory, New York Blood Center, Long Island City, New York, USA
Correspondence to: Dr. Aline Floch. Etablissement français du sang, 5 rue Gustave Eiffel, 94000 Creteil, France. Email: aline.floch@efs.sante.fr.

Review Article

Page 1 of 19

RH genetic variation and the impact for typing and personalized transfusion strategies: a narrative review

Margaret A. Keller

2022

American Red Cross Biomedical Services, Philadelphia, PA, USA
Correspondence to: Margaret A. Keller, PhD. American Red Cross Biomedical Services, 700 Spring Garden Street, Philadelphia, PA 19123, USA.
Email: Margaret.keller@redcross.org.

Review Article

Page 1 of 14

Impact of *RHCE* variability and complexity in transfusion medicine: a narrative review

Emilia Sippert^{1#}, Carine Prisco Arnoni^{2#}, Maria Rios¹

2023

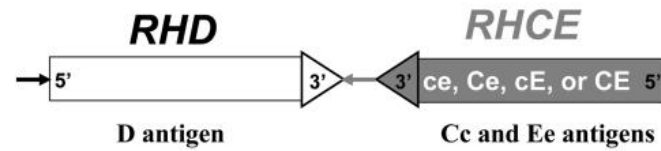
¹Office of Blood Research and Review (OBRR), Center for Biologics Evaluation and Research (CBER), U.S. Food and Drug Administration, Silver Spring, MD, USA; ²Technical Scientific Department, Colsan-Associação Beneficente de Coleta de Sangue, Indianópolis, São Paulo, SP, Brazil
Contributions: (I) Conception and design: All authors; (II) Administrative support: None; (III) Provision of study materials or patients: None; (IV) Collection and assembly of data: E Sippert, CP Arnoni; (V) Data analysis and interpretation: E Sippert, CP Arnoni; (VI) Manuscript writing: All authors; (VII) Final approval of manuscript: All authors.



Het RH systeem

Het RHD en RHCE gen codeert voor

- klassieke antigenen **RhD** en **RhCcEe**



1	2	3	4	5
D	C	E	c	e
int	int	int	int	int
			ref	ref

Het RH systeem

Het RHD en RHCE gen codeert voor

- klassieke antigenen **RhD** en **RhCcEe**

- **Hoog frequente antigenen: HFA**

Aanwezig bij de meeste mensen

Afwezig bij enkelen, specifieke bevolkingsgroepen

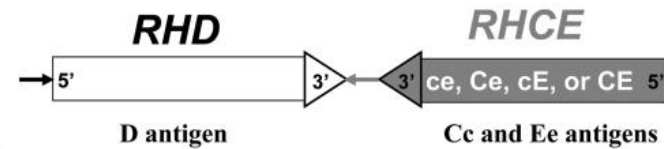


Vb: hrB, RH31

Voorkomen

Wereldwijd = zeer hoog

Sub Sahara Africa populatie: tot 15% = hrB negatief

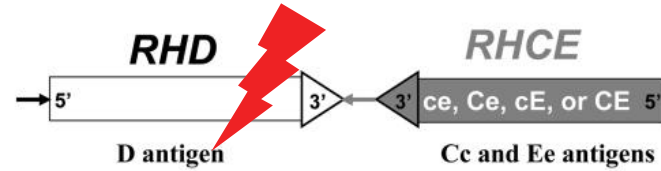


											RHD	RHCE		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
D	C	E	c	e	f	Ce	C ^w	C ^x	V	E ^w		1	10	
int	int	int	int	int	int	int	low	low	low	low				
			ref	ref	ref									
13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24			
				Hr _o	Hr	hr ^s	VS	C ^G	CE	D ^w		1	6	
				high	high	high	low	low	low	low				
				ref	ref	ref								
25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36			
	c-like	cE	hr ^H	Rh29	Go ^a	hr ^B	Rh32	Rh33	Hr ^B	Rh35	Be ^a	1	10	
	high	int	low	high	low	high	low	low	high	low	low			
	ref			ref		ref			ref					
37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48			
		Rh39	Tar	Rh41	Rh42	Crawford	Nou	Riv	Sec	Dav	JAL	1	9	
		int	low	int	low	low	high	low	high	high	low			
			DVII				ref		ref	ref				
49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60			
STEM		MAR	BARC	JAHK	DAK	LOCR		CEST	CELO	CEAG	PARG	2	10	
low		high	low	low	low	low		high	high	high	low			
		ref						ref	ref	ref				
			RHD*06.02/03 (on Ce)				c.286A							
61	62	63												
CEVF	CEWA	CETW											0	3
high	high	low												
ref	ref													
											6	48		

Het RH systeem

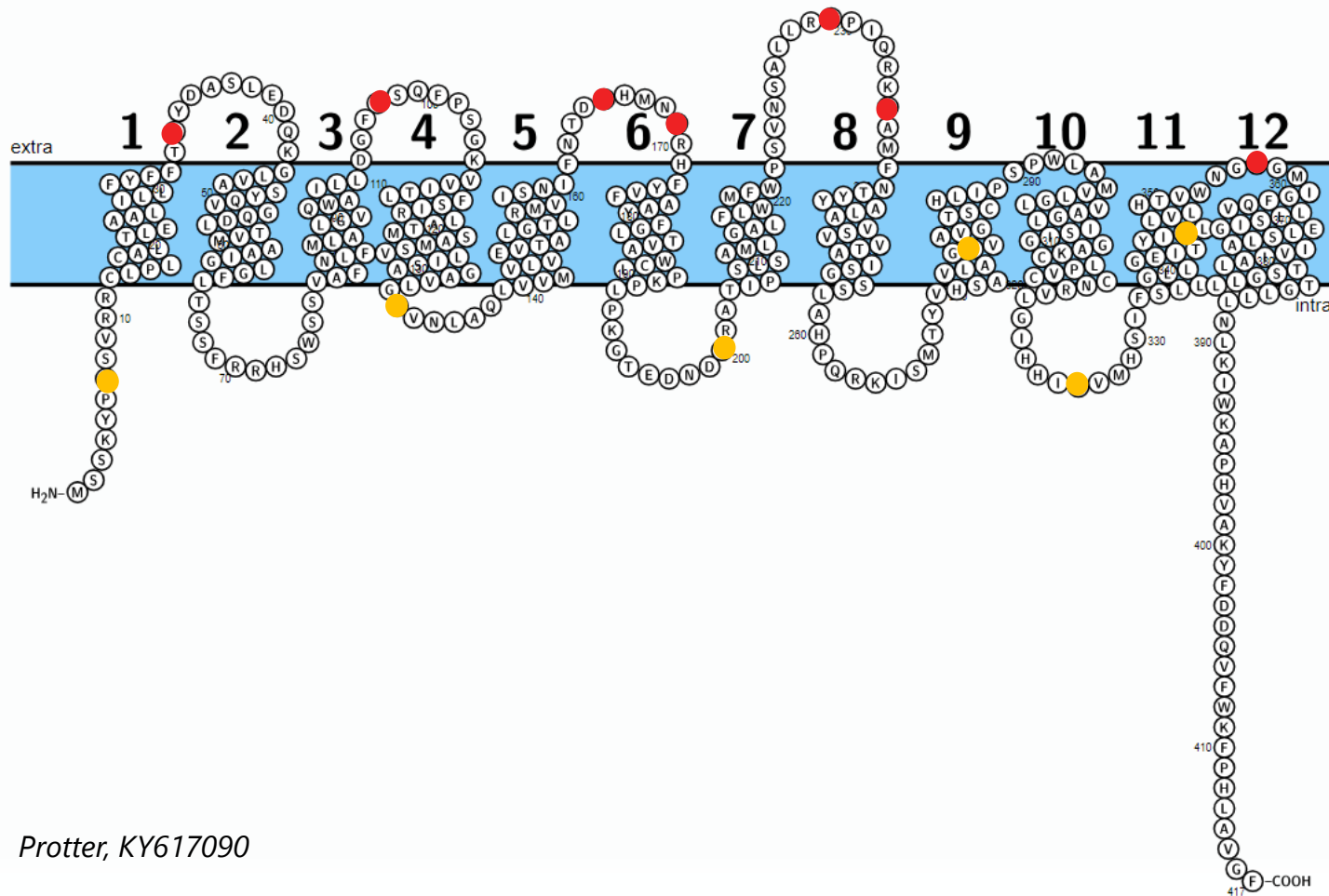
Wijzigingen in RHD en/of RHCE gen
kan een impact hebben op

- Presentatie en klassieke antigenen RhD en RhCcEe:
 - Zwakke en partiële D
 - Zwakke en partiële c, C, e, E
- De afwezigheid van hoog frequente antigenen: HFA
- De aanwezigheid van laag frequente antigenen: LFA



RHD

Wijzigingen in de presentatie van het **antigen RhD**



Partiële Ds

Wijzigingen extracellulair van de RHD epitopen.

Impact op het fenotype en transfusie advies



RHD NEG

Zwakke Ds

Wijzigingen intramembranair of intracellulair

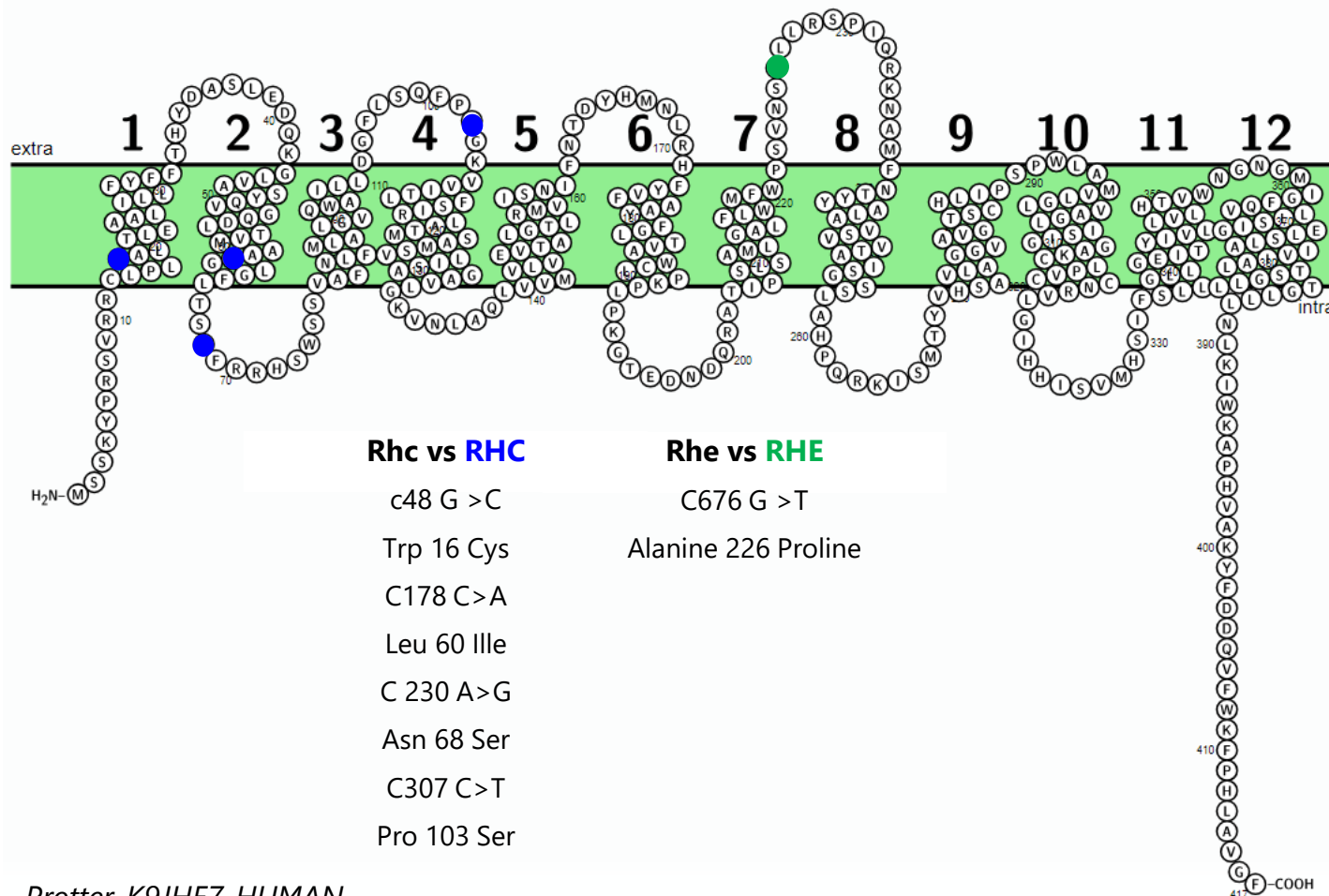
Impact vaak beperkt tot wijziging expressieniveau / antigendensiteit.



Zwakke D types 1,2,3: RHD POS
Andere Zwakke D: RHD NEG

Zwakke en Partiële CcEes

Wijzigingen in de presentatie van de antigenen RhCcEe



Partiële RHCE

Wijzigingen in de presentatie van de RhCcEe antigenen

Impact op het fenotype en transfusie advies



partial = als mogelijk NEG

Zwakke RHCEs

Wijzigingen intramembranair of intracellulair

Impact vaak beperkt tot wijziging expressieniveau / antigenensiteit.



weak = ?

Het RH systeem

**Wijzigingen in RHD en/of RHCE gen
kan een impact hebben op**

- Presentatie en klassieke antigenen **RhD** en **RhCcEe**

Laag Frequente Antigenen
door SNP kan een extra (neo) laag frequent
antigen ontstaan.

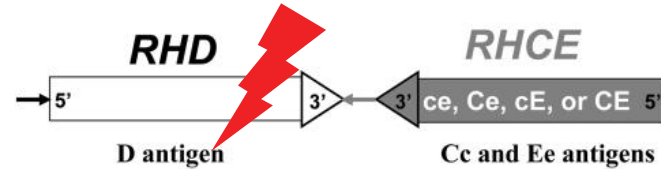
Patiënt: geen impact

Donor: extra (zeldzaam) antigen donor heeft mogelijk
Allo immunisatie risico in patiënt.

Voorbeeld:

RHCE*01.20.03 VS (RH20) positief.

Patiënt ccee VS (RH20) negatief heeft risico op alloimmunisatie.

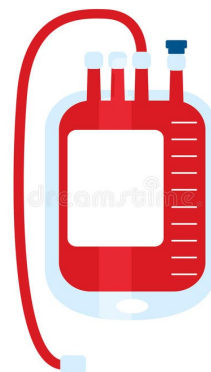
[illegible]

ce

RHCE*01

HFA hrB (RH31) POS

LFA VS (RH20) NEG



ce variant

RHCE*01.20.03

HFA hrB (RH31) NEG

LFA VS (RH20) POS



Risico allo-immunisatie door
ontbrekend HFA

Risico allo-immunisatie door
extra LFA

Zijn deze HFA en LFA klinisch significant?

The clinical importance for most antibodies in patients carrying variant RhCE phenotypes is not easy to determine:

- individual variability to alloimmunization
- data is often incomplete, particularly serology
- the classification of allo- or auto-antibody is difficult, allo and auto adsorption can be inconclusive in weak expressing variants
- Genotyping information is not always present
Or biased based on different techniques used – **different testlimitations / ambiguities present.**

→ **Studies with conflicting data**

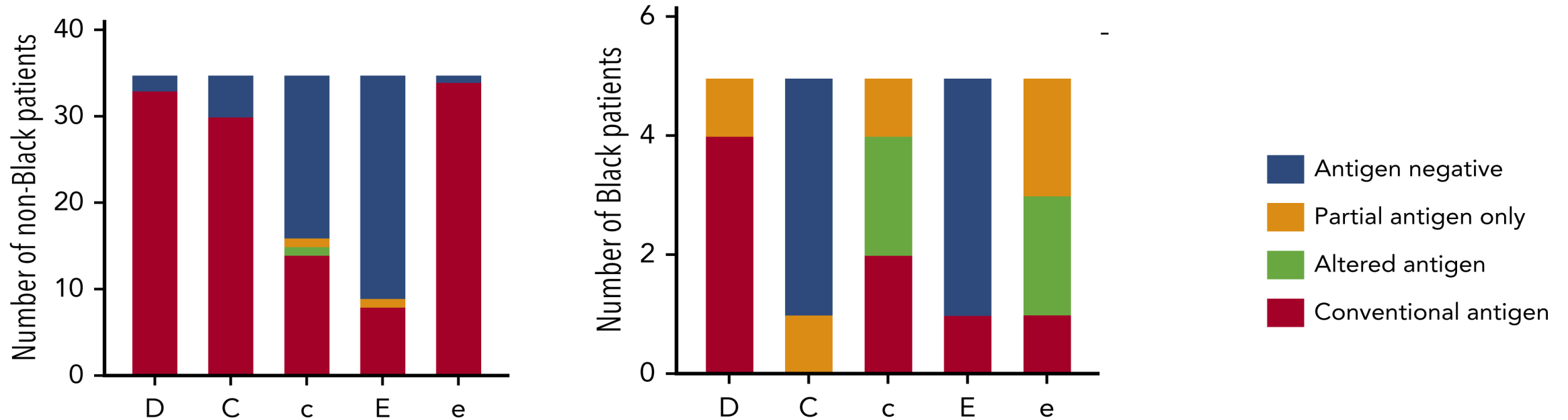
→ **Lack of consensus on the clinical significance of *RHCE* variants**

TO BE INVESTIGATED



Wanneer verwachten we varianten?
Wanneer moeten we genotyperen?

Voorkomen RH varianten



Waldis et al. 2021

Origine Sub-Sahara Afrika hints: mogelijk RH variant.

Voorkomen RH varianten

Eigen studie:

Populatie Sub Sahara Africans

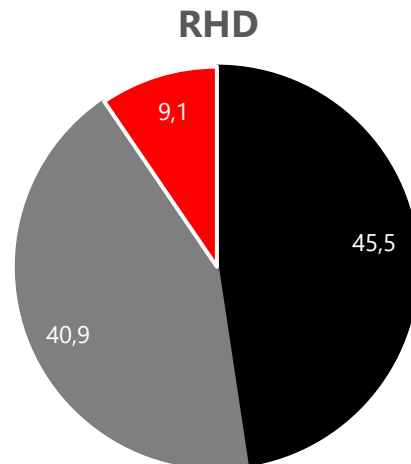
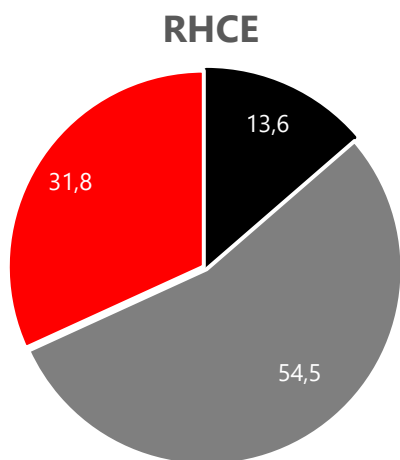
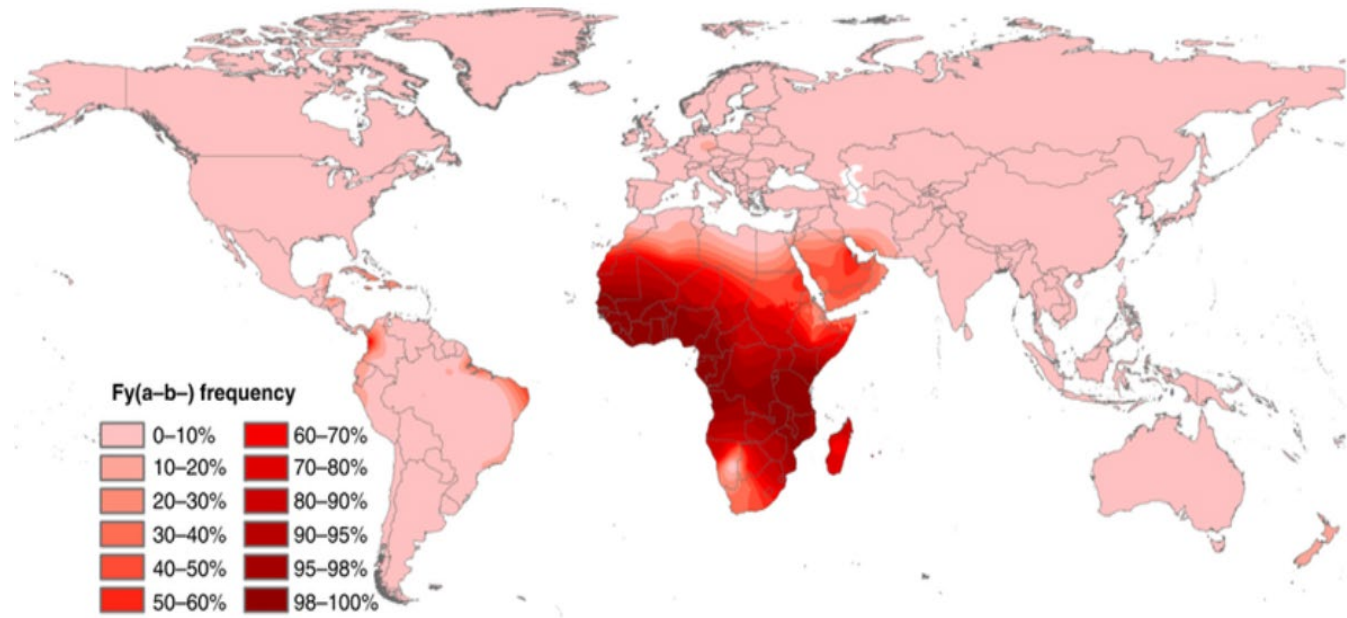
PROXY = FYGATA mutatie

n =22

Geen variant

1 variant

2 varianten



**Rode Kruis
Vlaanderen**

Hoe goed is het vangnet/ de serologie voor het capteren/detecteren van RH varianten ?



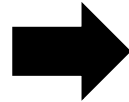
RHD

RhD fenotypering

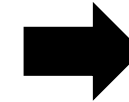
ORTHO VISION Swift
Kaarten glaspapels



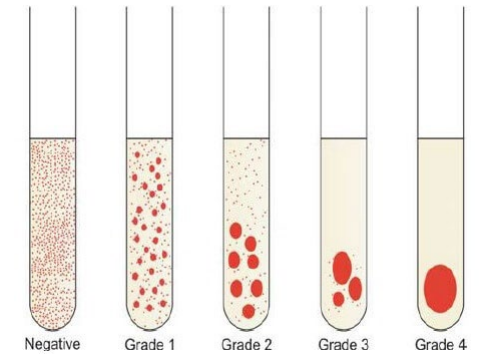
2+
1+
MF
?



BIORAD MANUEEL
Kaarten gelmatrix



BIORAD MANUEEL
Tube methode



0: RHD NEGATIEF
3+, 4+: RHD POSITIEF



Capteren we hiermee alle/de meeste RHD varianten?

100 cassettes 707155

9/9 D category VI cells tested negative

100 cassettes 6901906

DVI: frequente, klinisch relevante Kaukasische variant is negatief.

Three Molecular Structures Cause Rhesus D Category VI Phenotypes With Distinct Immunohematologic Features

By Franz F. Wagner, Christoph Gassner, Thomas H. Müller, Diether Schönlitzer,
Friedrich Schunter, and Willy A. Flegel

Blood, 91, 1998

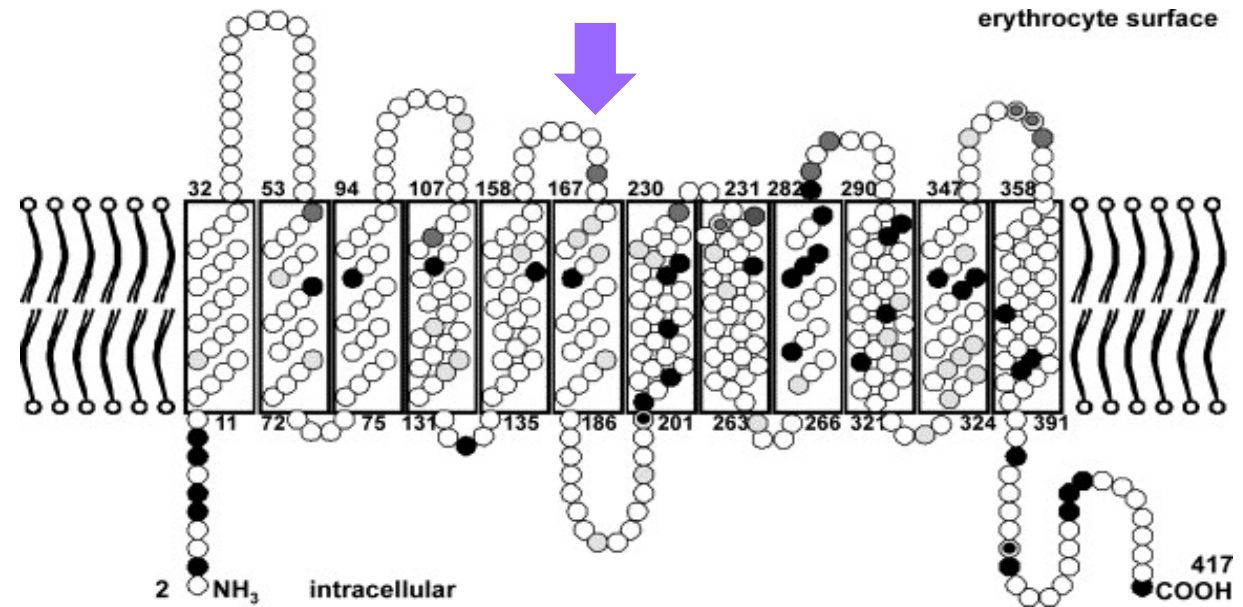
D category VI (D^{VI}) is the clinically most important partial D. Severe cases of hemolytic disease of the newborn have occurred in RhD positive babies born to D^{VI} mothers with anti-D.¹⁴ D^{VI} is the most abundant serologically defined partial D occurring among weak D samples. D^{VI} is reported to comprise about 6% to 10% of weak D samples^{8,15}

Monoclonaal D7B8 IgM

Target= Epitope: 6.4 (30 epitopen model)

Oa. 2^{de} helft loop 3

Nt 486 – 516 (begin exon 4)



Theoretische analyse

RHD VARIANTEN KUNNEN GEMIST WORDEN:

1) 'VALS' NEGATIEF RESULTAAT:

- **D VI varianten: 'by design'**
(meest voorkomende partial variant Kaukasiërs)
- **Andere partial D varianten met wijzigingen ter hoogte van epitope 6.4:** oa. begin exon 4
- **Heel zwakke Ds en DELs (enkel aantoonb. adhv adsoptie en elutie)**

DVI: SNPs ter hoogte van exon 4 en 5: geen WT loop 3

Vb: DFR 1, 2, 3, 4, 5 (Begin exon 4 SNPs: 505, 509, 514) = negatief

Lage antigen densiteit



0

1+

2+

3+

4+

Theoretische analyse

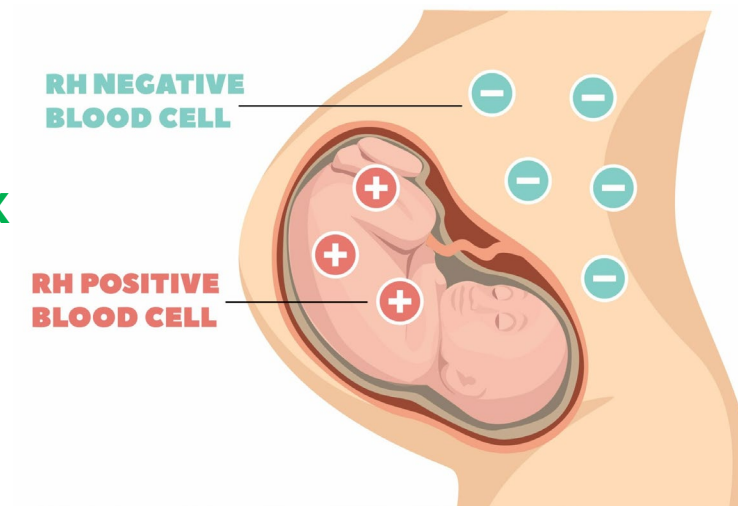
1) SEROLOGIE geeft VALS NEGATIEF RESULTAAT:
Is dit een probleem?

Patiënt = OK



Donor = NOK

Zwangerschap: Moeder = OK

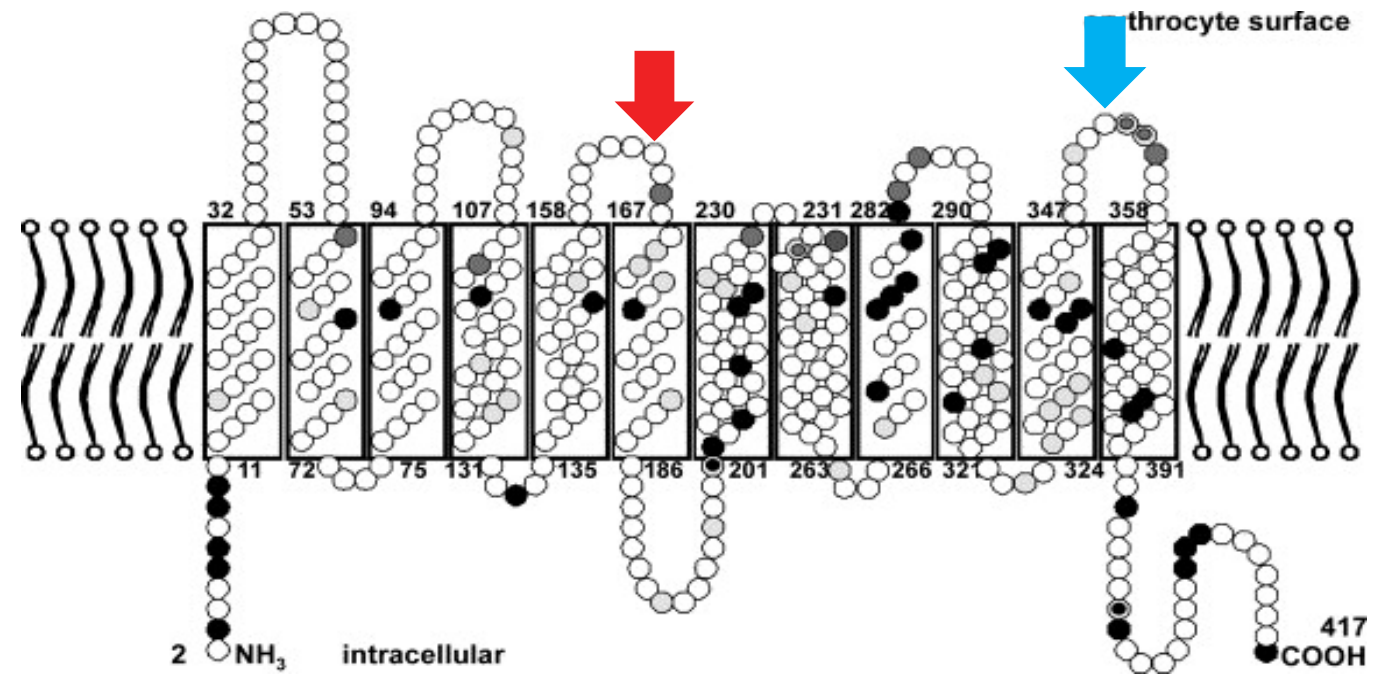


Baby (HDFN) = NOK

Theoretische analyse

BIJ BABY: gebruik anti-DVI:

ESD-1M (IgM), epitope 4.1



Theoretische analyse

Worden hiermee alle mogelijke varianten aanwezig in de baby opgevangen?

1) Is er een risico op het vals negatief typeren door ontbrekende epitopen?

SNP analyse obv ISBT tabel: (ISBT 004) RHD blood group alleles v6.4 31-JUL-2023

Varianten met SNPs in:	Betrokken varianten
Negatief met D7B8 clone Loop 3 SNPs: nt 486 – 516 (exon 4)	Factsbook: DVI, DFR SNP analyse: DOL1-4, DFR 1-5, DFW, DFL, D-SPM, DDN, DHQ, DMI, RHD*61, RHD*63 DEL: RHD*DEL44: RHD-CE(4-9)-D, RHD*DEL47
Negatief met ESD-1M clone SNPs: 1053 -1061	Factsbook: DII, DIVb, DBT, DHAR SNP analyse: DIV type 3, 4, 5, DBU (RHD*23), DWN (RHD*49), RHD*50, RHD*58

Theoretische analyse

Worden hiermee alle mogelijke varianten aanwezig in de baby opgevangen?

1) Is er een risico op het vals negatief typeren door ontbrekende epitopen?

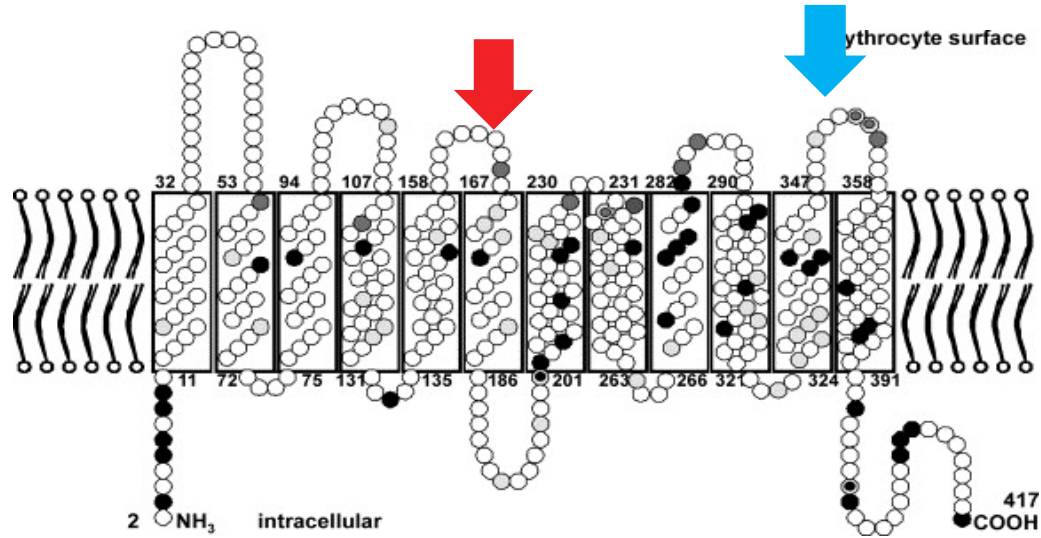
SNP analyse obv ISBT tabel: (ISBT 004) RHD blood group alleles v6.4 31-JUL-2023

Varianten met SNPs in:	Betrokken varianten
Negatief met D7B8 clone Loop 3 SNPs: nt 486 – 516 (exon 4)	Factsbook: DVI, DFR SNP analyse: DOL1-4, DFR 1-5, DFW, DFL, D-SPM, DDN, DHQ, DMI, RHD*61, RHD*63 DEL: RHD*DEL44: RHD-CE(4-9)-D, RHD*DEL47
Negatief met ESD-1M clone SNPs: 1053 -1061	Factsbook: DII, DIVb, DBT, DHAR SNP analyse: DIV type 3, 4, 5, DBU (RHD*23), DWN (RHD*49), RHD*50, RHD*58
Negatief met beide?	GEEN

→ obv van deze lineaire analyse worden er geen varianten gemist door ontbrekend epitopen

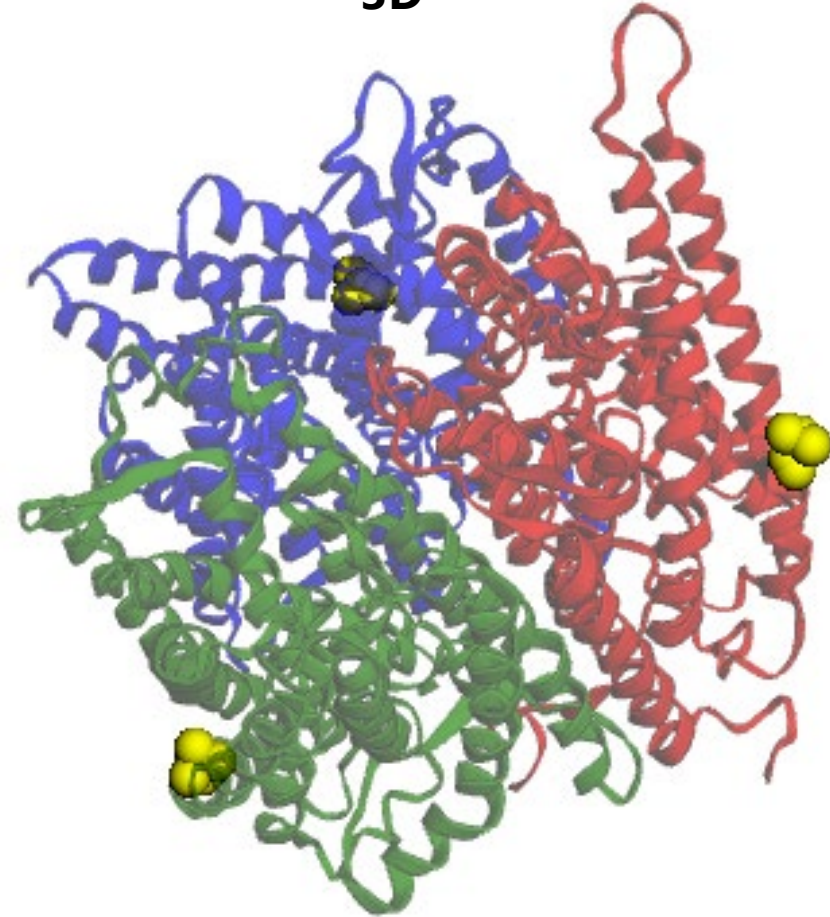
Theoretische analyse

Lineaire analyse



vs

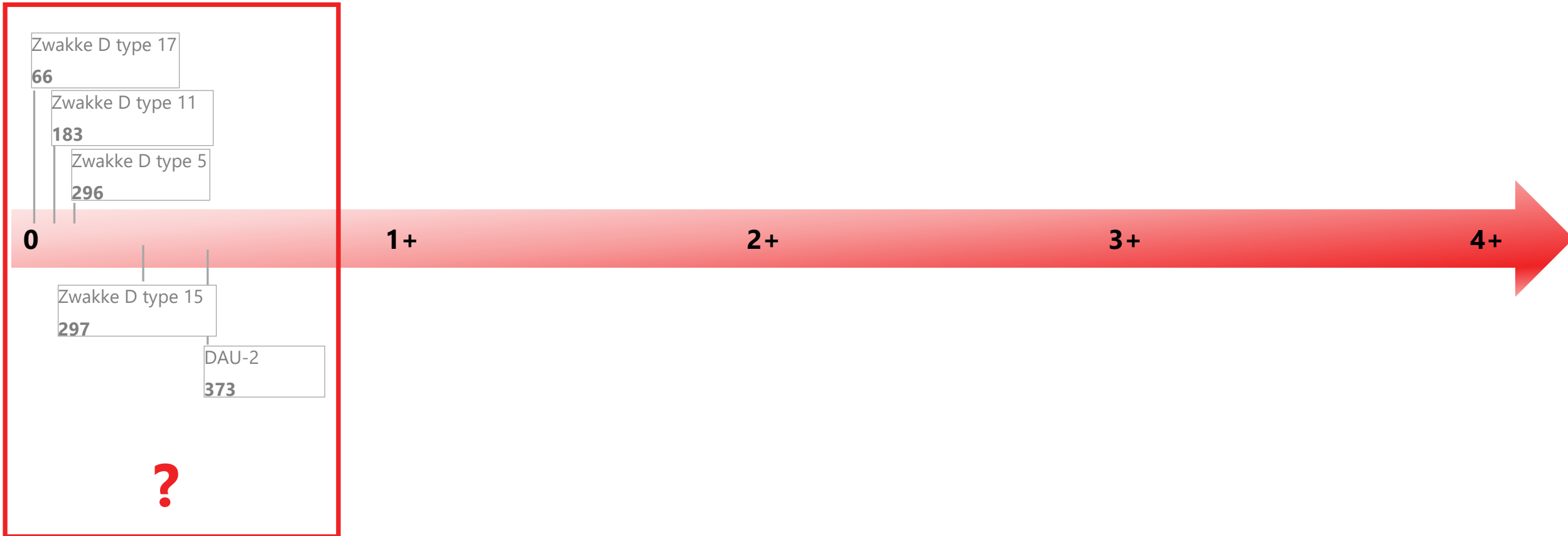
3D



→ af te toetsen in praktijk!

Theoretische analyse

2) Is er een risico op het vals negatief typeren door lage antigen densiteit ?

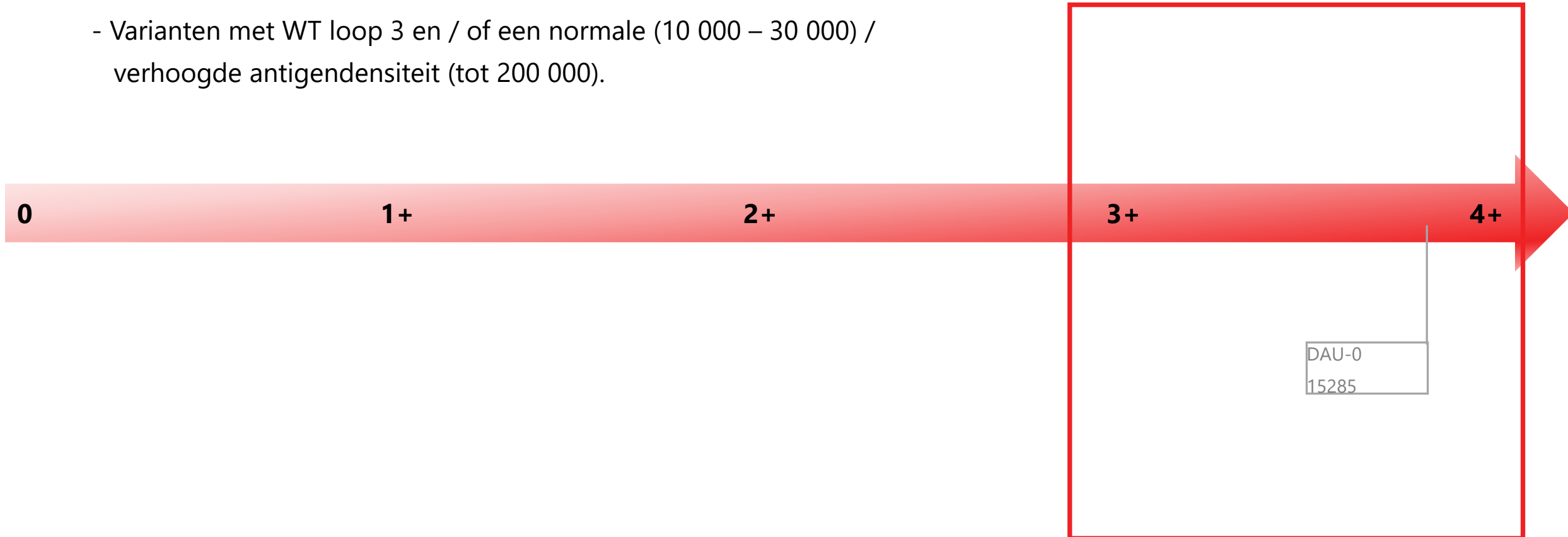


Theoretische analyse

RHD VARIANTEN WORDEN GEMIST:

1) SEROLOGIE geeft TE STERK: VALS POSITIEF RESULTAAT:

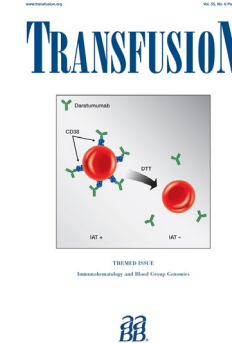
- Varianten met WT loop 3 en / of een normale (10 000 – 30 000) / verhoogde antigendensiteit (tot 200 000).



Analyse uit de praktijk: Evaluatie serologie vs genotypering Vlaanderen 2006 -2015

RHD variants in Flanders, Belgium

Vicky S.T. Van Sandt,^{1*} Christoph Gassner,^{2*} Marie-Paule Emonds,¹ Tobias J. Legler,³
Sarah Mahieu,^{1,4} and Günther F. Körmöcz⁵



[Volume 55, Issue 6pt2](#)
[Special Issue: Immunohematology and Blood Group Genomics](#)
June 2015
Pages 1411-1417

TABLE 3. Overview of comparable studies with more than 30 samples included

Study	Provenience	Type all	Weak D*			Type others	Highest weak D type		Reference
			Type 1	Type 2	Type 3		ID-number	observed	
1	Germany, Southwest	159	95 (59.7)	43 (27.0)	7 (4.4)	14	16		Wagner et al. ²³
2	Australia	89	38 (42.7)	48 (53.9)	3 (3.4)	n.a.	3		Cowley et al. ²⁴
3	Austria, Tyrol	130	43 (33.1)	10 (7.7)†	65 (50.0)†	12	14		Müller et al. ²⁵
4	Germany, North	260	169 (65.0)†	44 (16.9)	45 (17.3)	2	21		Müller et al. ²⁵
5	France	68	30 (44.1)	21 (30.9)	3 (4.4)	14	39		Ansart-Pirenne et al. ²⁶
6	Canada, Ontario	32	16 (50.0)	8 (25.0)	1 (3.1)	7	5		Denomme et al. ²⁷
7	Czech Republic	169	98 (58.0)	17 (10.1)	33 (19.5)	21	NA		Araujo et al. ²⁸
8	Portugal	99	16 (16.2)†	63 (63.6)†	14 (14.1)	6	4		Araujo et al. ²⁸
9	Spain, Catalonia	43	21 (48.8)	14 (32.6)	4 (9.3)	4	4		Araujo et al. ²⁸
10	France, West	230	93 (40.4)	63 (27.4)	11 (4.8)	63	43		Le Marechal et al. ²⁹
11	Austria, North	128	72 (56.3)	29 (22.7)	19 (14.8)	8	49		Polin et al. ³⁰
12	France, South	141	37 (26.2)	59 (41.8)	4 (2.8)†	41	61		Silvy et al. ³¹
13	Argentina	55	21 (38.2)	9 (16.4)	8 (14.5)	17	59		Brajevich et al. ³²
14	Belgium, Flanders	495	265 (53.5)	146 (29.5)	13 (2.6)	71	17		This study
Total		2098	1014 (48.3)	574 (27.4)	230 (11.0)	280			

* Data are reported as number (%).

† Highest and lowest percentages of the observed weak D type alleles of the listed studies, respectively.

+/- 1% van de totale bevolking heeft een RHD variant

➔ 86% = Zwakke D type 1, 2, en 3

14% = andere varianten

Analyse uit de praktijk:

Studie: evaluatie serologie vs genotypering Vlaanderen 2017 -2024

1) RHD varianten INCLUSIEF RHD type 1, 2, 3 (85% v/h totaal)

N= 1411

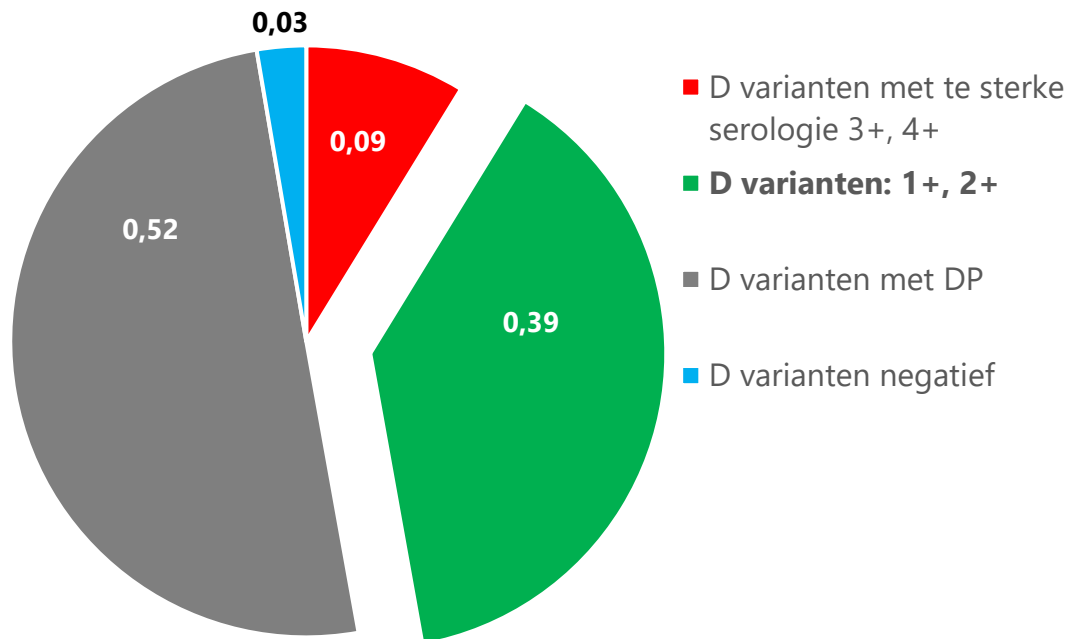
Resultaten 1^{ste} lijn ORTHO D7B8 monoclonaal

Analyse uit de praktijk: Studie: evaluatie serologie vs genotypering Vlaanderen 2017 -2024

1) RHD varianten INCLUSIEF RHD type 1, 2, 3 (85% v/h totaal)

N= 1411

Resultaten 1^{ste} lijn ORTHO D7B8 monoclonaal

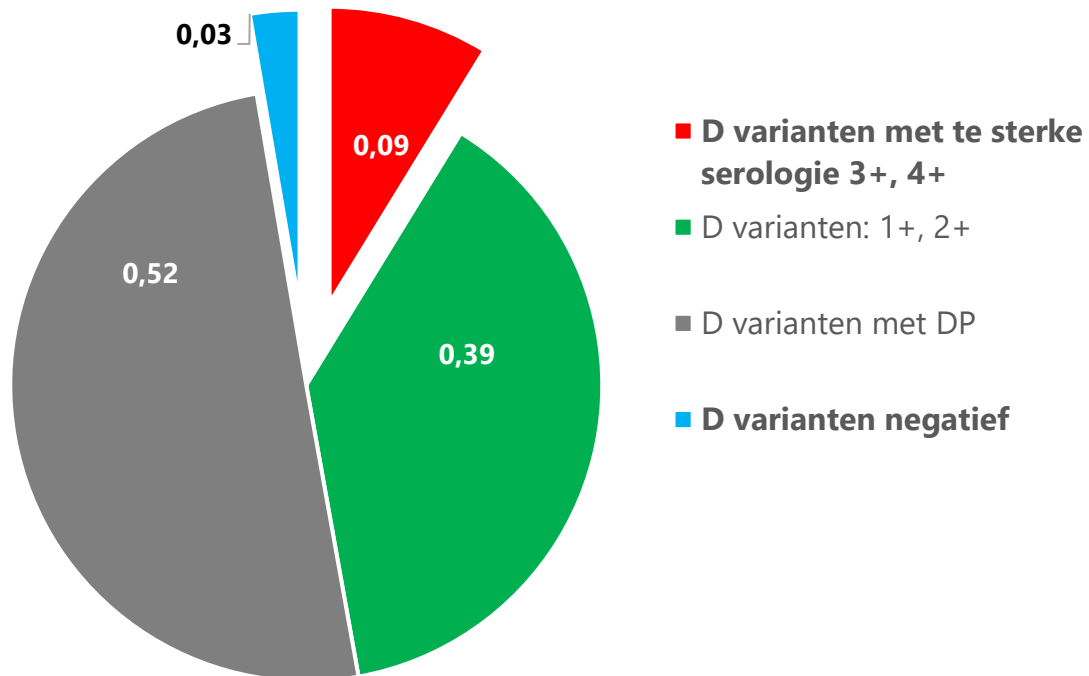


Analyse uit de praktijk: Studie: evaluatie serologie vs genotypering Vlaanderen 2017 -2024

1) RHD varianten INCLUSIEF RHD type 1, 2, 3 (85% v/h totaal)

N= 1411

Resultaten 1^{ste} lijn ORTHO D7B8 monoclonaal

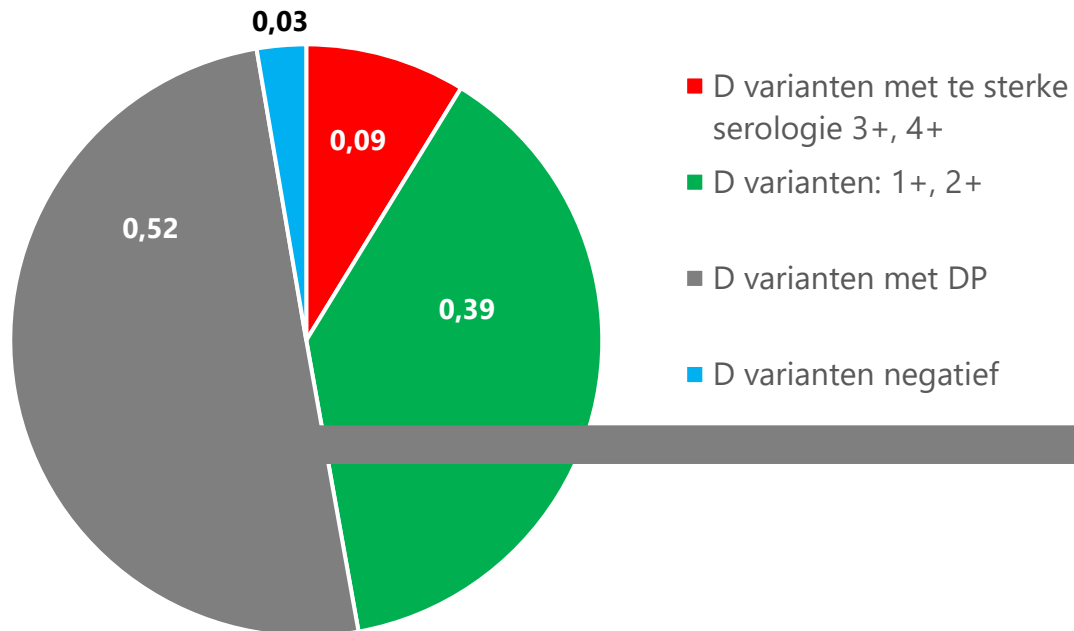


Analyse uit de praktijk: Studie: evaluatie serologie vs genotypering Vlaanderen 2017 -2024

1) RHD varianten INCLUSIEF RHD type 1, 2, 3 (85% v/h totaal)

N= 1411

Resultaten 1^{ste} lijn QUIDELORTHO D7B8 monoclonaal



Verbeterpunt!?
Monoclonaal, Vision testprofiel?



95% = zwakke D type 1 en 2
Waarvan de meeste stalen adhv BIORAD: 1+/2+

Analyse uit de praktijk:

Studie: evaluatie serologie vs genotypering Vlaanderen 2017 -2024

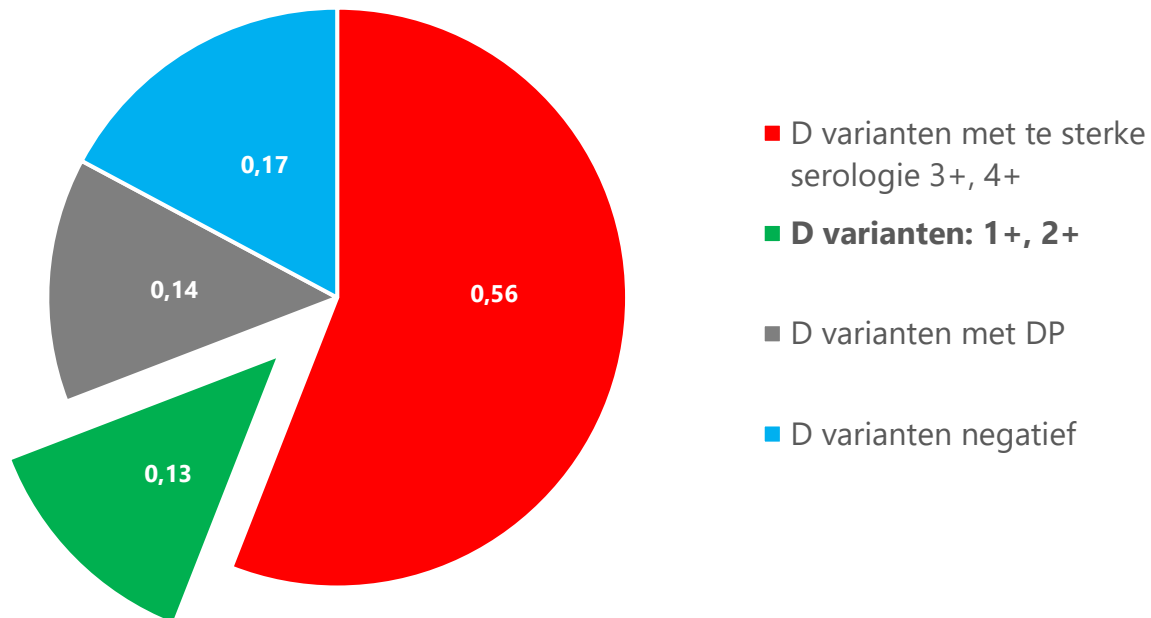
1) RHD varianten EXCLUSIEF RHD type 1, 2, 3
= D VARIANTEN met transfusie advies RHD NEGATIEF
N= 227

Resultaten 1^{ste} lijn ORTHO D7B8 monoclonaal

Analyse uit de praktijk: Studie: evaluatie serologie vs genotypering Vlaanderen 2017 -2024

1) RHD varianten EXCLUSIEF RHD type 1, 2, 3
= D VARIANTEN met transfusie advies RHD NEGATIEF
N= 227

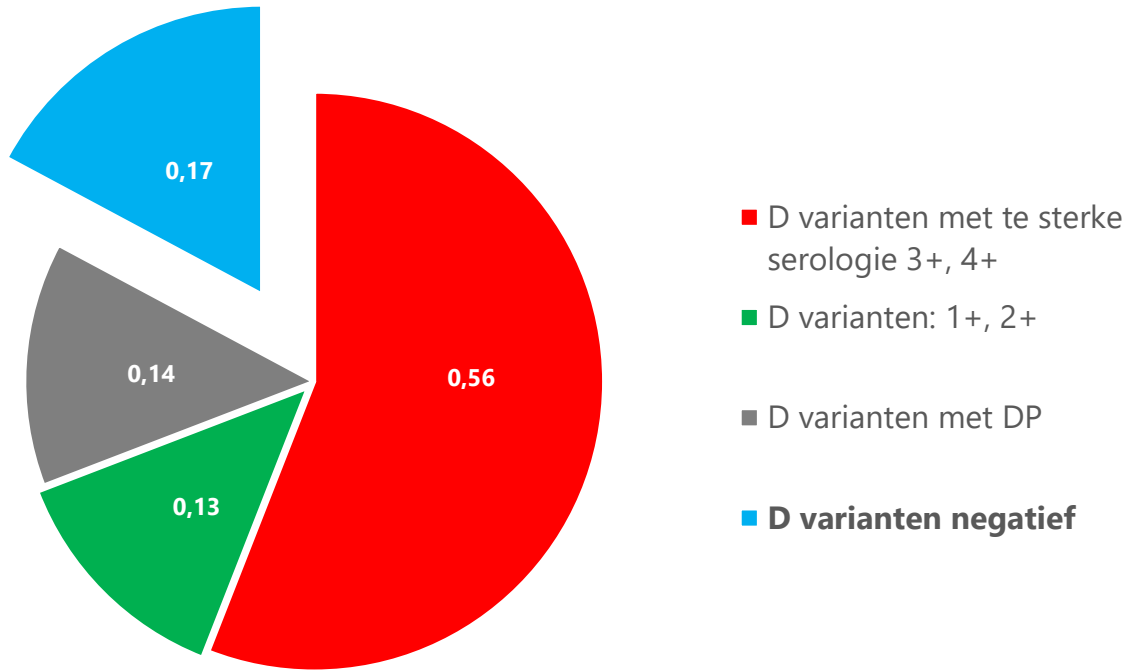
Resultaten 1^{ste} lijn ORTHO D7B8 monoclonaal



Analyse uit de praktijk: Studie: evaluatie serologie vs genotypering Vlaanderen 2017 -2024

1) RHD varianten EXCLUSIEF RHD type 1, 2, 3
= D VARIANTEN met transfusie advies RHD NEGATIEF
N= 227

Resultaten 1^{ste} lijn ORTHO D7B8 monoclonaal

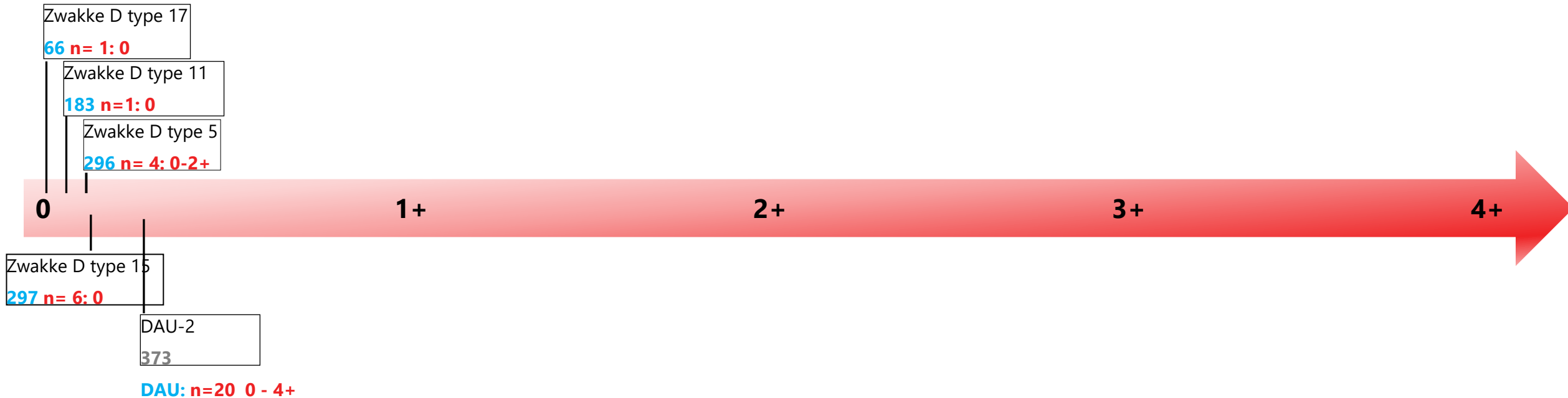


Analyse uit de praktijk:

Studie: evaluatie serologie vs genotypering Vlaanderen 2017 -2024

Is er een risico op het vals negatief typeren van de baby door **lage antigen densiteit** ?

D7B8:



D's met (heel) lage antigen densiteit worden met de 1^{ste} lijn serologie adhv D7B8 gemist.

Analyse uit de praktijk:

Studie: evaluatie serologie vs genotypering Vlaanderen 2017 -2024

→ Workflow serologie optimaliseren igv RhD fenotypering van de baby?

Extra testen voor de captatie van de zwakke Ds ?

1) ABO/D neonaat D7B8 negatief

2) anti-DVI: negatief

Zwakke D type 5 cDE

Zwakke D type 11 cDe

Zwakke D type 15 cDE

Zwakke D type 17 CDE

DAU-2 cDe

DELs C of E

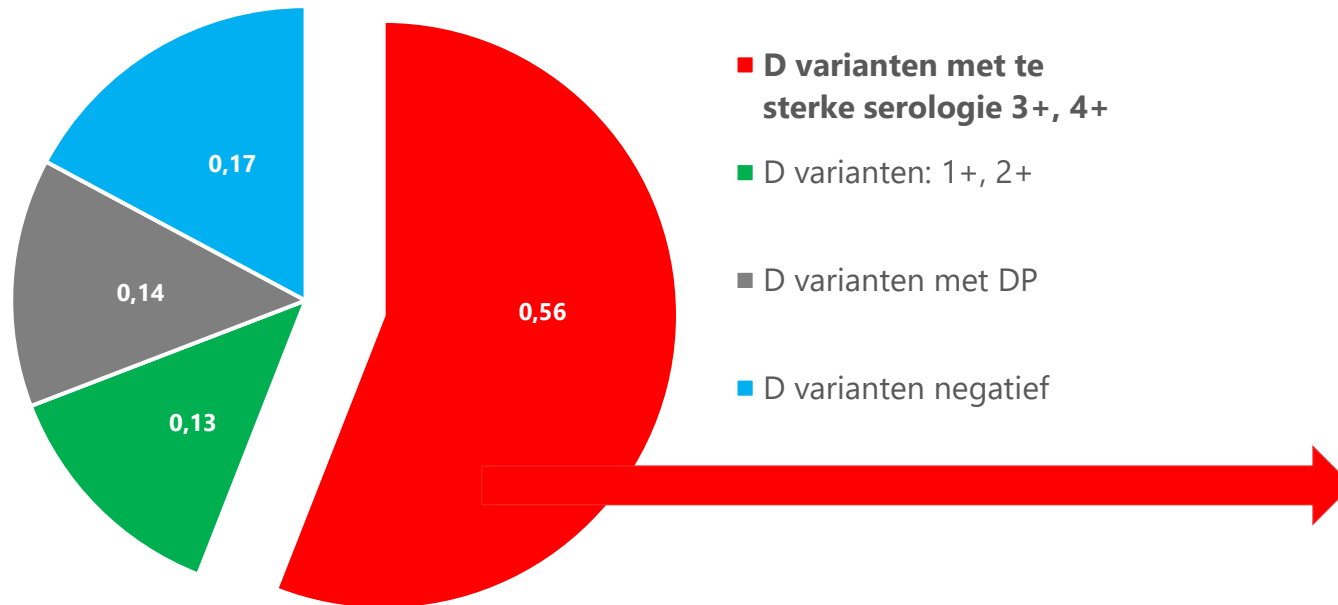
3) grote letter in RHCE?

→ extra testen / steeds te beschouwen als D positief? // donoren RKVL.

Analyse uit de praktijk: Studie: evaluatie serologie vs genotypering Vlaanderen 2017 -2024

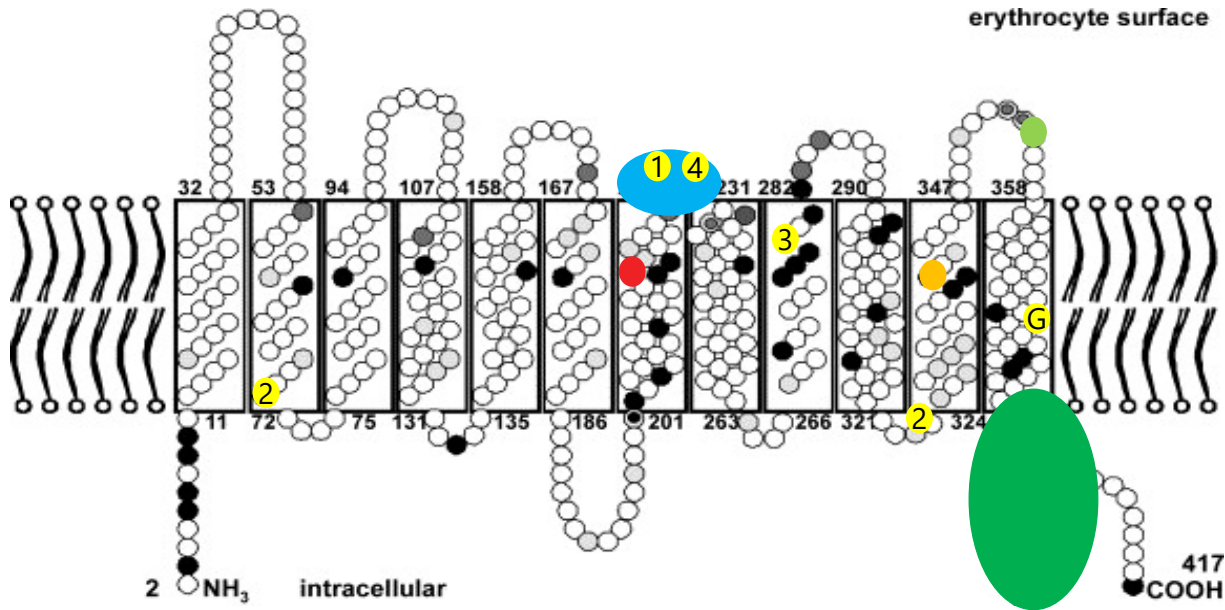
1) RHD varianten EXCLUSIEF RHD type 1, 2, 3
= D VARIANTEN met transfusie advies RHD NEGATIEF
 N= 227

Resultaten 1^{ste} lijn ORTHO D7B8 monoclonaal



49% Zwakke D type 4.0, 4.1
 28% Zwakke D type 4.2
 5% DAU
 5% RHCE-D5-CE
 4% D Cat Va
 2% DNB
 3% Variant onbepaald: nieuwe of zeldzame variant
 1% DIV type 1
 1% RHD Del Ex 9

RHD variant	Antigendensiteit : antigenen/cel	Rh index	Allo immunisatie
Zwakke D type 4.0, 4.1	2288	0,36	Allo/auto?
Zwakke D type 4.2	1542	0,33	Allo anti-D observed: Wagner FF et. al. Blood. 2000 Apr 15;95(8):2699-708.
DAU	DAU-0: 15285 DAU-1: 2113 DAU-2: 373 DAU-3: 10879 DAU-4: 1909	DAU-0: 0,74 DAU-1: 0,06 DAU-2: 0,17 DAU-3: 0,11 DAU-4: 0,01	Allo DAU-3, DAU-4
RHCE-D-CE	?	?	Allo
D Cat Va (type 1)	?	?	Allo
DNB	?	0,02	Allo: Five anti-D immunization events Wagner FF et. al. Blood. 2002 Sep 15;100(6):2253-6.: anti-D 1:128
Variant onbepaald: nieuwe of zeldzame variant	?	?	?
RHD Del Ex 9	?	?	?



49% Zwakke D type 4.0, 4.1

28% Zwakke D type 4.2

5% DAU

5% RHCE-D-CE

4% D Cat Va

2% DNB

3% Variant onbepaald: nieuwe of zeldzame variant

1% DIV type 1

1% RHD Del Ex 9

Experience with *RHD*weak D type 4.0* in the USA

Connie M. Westhoff¹, Sandra Nance², Christine Lomas-Francis¹, Margaret Keller², Stella T. Chou³

¹New York Blood Center, New York, NY; ²American Red Cross, Philadelphia, PA; ³Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, PA, United States of America

Zwakke D type 4.0/4.1 te beschouwen als RhD Positief?

- (i) the absence of reports of anti-D associated with transfusion and pregnancy;
- (ii) the fact that no clinically significant outcomes had been reported.

Frequentie anti-D bij zwakke D type 4.0/4.1 vrij hoog: uitklaren auto/allo niet steeds mogelijk.

→ Veilige keuze RHD negatief.

AABB 2011: DAU-0: the allele was discussed as partial RHD.
Peer-reviewed published reports of allo-anti-D immunization are lacking, however, despite its extreme high frequency in some populations..

> 50% zou als RHD positief kunnen beschouwd kunnen worden

- 49% Zwakke D type 4.0, 4.1
- 28% Zwakke D type 4.2
- 5% niet DAU-0? vb DAU-3
- 5% RHCE-D-CE
- 4% D Cat Va
- 2% DNB
- 3% Variant onbepaald: nieuwe of zeldzame variant
- 1% DIV type 1
- 1% RHD Del Ex 9

→ **Workflow serologie optimaliseren igv RhD fenotypering?**

49% Zwakke D type 4.0, 4.1

28% Zwakke D type 4.2

5% niet DAU-0? vb DAU-3

5% RHCE-D-CE

4% D Cat Va

2% DNB

3% Variant onbepaald: nieuwe of zeldzame variant ?

1% DIV type 1

1% RHD Del Ex 9

ce

ce

ce

/

Ce

Ce

?

ce

Ce

Weak D type 4 cluster

Weak D type 4 cluster

DAU cluster

/

Eurasian cluster

Eurasian cluster

DVla cluster

Eurasian



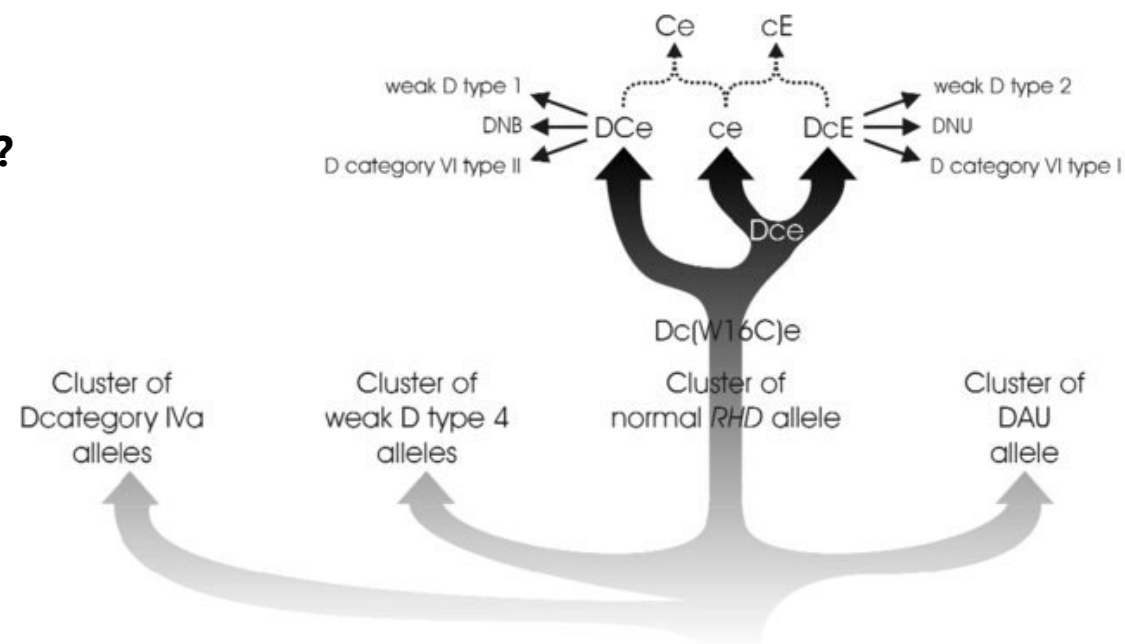
→ Workflow serologie optimaliseren igv RhD fenotypering?

Hoe?

RhD feno 3+-4+ bij ce,
origine mogelijk Afrikaans: extra testen
= 83%

→ extra testen

Overige ? (0,012 % Vlaamse populatie)



Conclusie elke test, ieder monoclonaal heeft zijn beperkingen, testlimitaties.

1 monoclonaal kan niet alle RHD varianten capteren.

Definitieve bepaling RhD

2 stalen, minimum 2 verschillende monoclonalen:

Patiënt vs baby

Origine

RHCE

0

1+

2+

3+

4+

Opvangen van RHD varianten adhv serologie

Studie: welke mono- polyclonalen te gebruiken voor het opvangen van te zwak/te sterk reagerende RhD varianten

Populatie:

- RHD varianten genotype bepaald adhv CDE eXtend (inno-train) / WEAK en PARTIAL D TYPE (BAG)
- Sikkcel patiënten
- Testen met brede waaier monoclonalen

Cat N°	PRODUCT	CLONE	EPITOPE	CLONE	EPITOPE	CLONE	EPITOPE	CLONE	EPITOPE
6904623	anti-DVI	ESD-1M (IgM)	4.1						
6904493	Anti-D (IAT) WEAK D	ESD-1M (IgM)	4.1	LDM3	6.5				
707119	ABO-DD Grouping Cassette	RUM-1 (IgM)	6.1						
6197778	Blood Grouping Reagents ABD(DVI)	RUM-1 (IgM)	6.1	P3X21223B10 (IgM)	9.1				
707155	ABO/D reverse								
6901906	ABO/D Newborn	D7B8 (IgM)	6.4						
6902041	Anti-D (RH1) IgM + IgG blend BioClone®	D7B8 (IgM)	6.5	LORIFA (IgG)	6.4	H1121G6 (IgG)	3.2		
712370	Anti-D (Anti-RH1) BIOCLONE	MAD-2 (IgM)	EpD6/7	X IgG	?				
6902047	Anti-D (RH1) Monoclonal IgM/IgG Blend (human) MolterClone	TH28 (IgM)	EpD6/7	MS-26 IgG	9.1				
1234	DIACLON ABO/D Reverse Grouping	LHM 59/20 (LDM3)	6.5	175-2	6.1				
1324	DIACLON ABO/D DVI -	LHM 59/20 (LDM3)	6.5	175-2	6.1				
1324	DIACLON ABO/D DVI +	ESD-1M (IgM)	4.1	175-2	6.1				
1344	DIACLON ABO/D + DAT DVI -	LDM1	6.5	TH28 (IgM)	EpD6/7	RUM-1 (IgM)	6.1		
1344	DIACLON ABO/D + DAT DVI +	LHM 59/20 (LDM3)	6.5	175-2	6.1				
802039	Anti-D DVI-	BS226	6.4						
802054	Anti-D DVI-	BS232	6.4						
802032	Anti-D BLEND	BS231	5.4	BS221	6.3	H41 11B7	3.1		
B10334	Anti-D (PK)	HM10 (IgM)	6.6						
B10335	Anti-D (PK1)	P3X61 (IgM)	6.1	P3X21223B10 (IgM)	9.1	P3X290	3.1	P3X35	5.4
B10336	Anti-D (PK2)	P3X61	6.1						
20401	Anti-Weak D	P3X35	5.4	ESD (IgG)	4.1 ?				
71194	D screen								



RHCE

Phenotype †	Allele name	Nucleotide change	Exon Intron	Predicted amino acid change	(Reference No.) PMID	Accession number	rs number
RH:4 or c RH:5 or e RH:6 or f (ce)	<i>RHCE*01</i> or <i>RHCE*ce</i>	c.307C c.676G	2 5	p.Pro103 p.Ala226	PMID: 8220426	NG_009208.3	rs676785 rs609320
RH:5 (e+ weak) 	<i>RHCE*01.01</i> <i>RHCE*ce.01</i>	c.48G>C	1	p.Trp16Cys	PMID: 11380456	DQ266400	rs586178
RH:4 (c+ weak, partial) RH:5 (e+ weak, partial)	<i>RHCE*01.02.01</i> <i>RHCE*ce.02.01</i> <i>RHCE*ceTI</i>	c.48G>C c.1025C>T	1 7	p.Trp16Cys p.Thr342Ile	PMID: 22804620	KY369953	rs586178 rs1053374
	<i>RHCE*</i> <i>RHCE*</i>				37	LN680105	rs586178 rs200955066 rs181860403 rs1053343 rs1053344 rs676785 rs1053374
		c.203A>G c.307C>T c.1025C>T	7	p.Asn68Ser p.Pro103Ser p.Thr342Ile			
RH:5 (e+ partial)	<i>RHCE*01.03</i> <i>RHCE*ce.03</i>	c.1025C>T	7	p.Thr342Ile	PMID: 20088832	MH717897	rs1053374
RH:4 (c+ partial)  RH:5 (e+ weak, partial)  RH:10,-20 (V+ weak, VS-) RH:-18,-19 (Hr-, hr ^S -)	<i>RHCE*01.04.01</i> <i>RHCE*ce.04.01</i> <i>RHCE*ceAR</i>	c.48G>C c.712A>G c.733C>G c.787A>G c.800T>A c.916A>G	1 5 6	p.Trp16Cys p.Met238Val p.Leu245Val p.Arg263Gly p.Met267Lys p.Ile306Val	PMID: 10590079	not found	rs586178 rs144163296 rs1053361 rs1132763 rs1132764 rs1132765
Inferred as <i>RHCE*01.04.01</i> <i>RHCE*ceAR</i>	<i>RHCE*01.04.02</i> <i>RHCE*ce.04.02</i>	c.48G>C c.697C>G c.712A>G c.733C>G c.787A>G	1 5	p.Trp16Cys p.Gln233Glu p.Met238Val p.Leu245Val p.Arg263Gly	(1), Abstract	KY369958	rs586178 rs142246017 rs144163296 rs1053361 rs1132763

N = 189 allelen

anti-e (cell lines MS-16, MS-21, MS-63)

Opvangen van RHCE varianten adhv serologie

ORTHO

ORTHO
Blood Grouping Reagents
Anti-C (Anti-RH2) (Monoclonal)
Anti-E (Anti-RH3) (Monoclonal)
Anti- $\bar{c}$ (Anti-RH4) (Monoclonal)
Anti-e (Anti-RH5) (Monoclonal)
Anti-K (Anti-K1) (Monoclonal)
Control
Ortho BioVue® System
(Rh/K Cassette)
INSTRUCTIONS FOR USE

Rh/K Cassette

REF

400 cassettes 707280
100 cassettes 707250

Product Codes 707280 and 707250	Component Description
Column 1: Blood Grouping Reagent Anti-C (Anti-RH2)	Anti-C (IgM) monoclonal antibody (clone MS24)
Column 2: Blood Grouping Reagent Anti-E (Anti-RH3)	Anti-E (IgM) monoclonal antibody (clone C2)
Column 3: Blood Grouping Reagent Anti- $\bar{c}$ (Anti-RH4)	Anti- $\bar{c}$ (IgM) monoclonal antibody (clone MS42)
Column 4: Blood Grouping Reagent Anti-e (Anti-RH5)	Anti-e (IgM) monoclonal antibody (clones MS16, MS21 and MS63)

Anti-e = vaak combinatie monoclonalen.

Hierdoor positief, ondanks mogelijks variant.

Nut gebruik aparte monoclonalen anti-e?

Bij RH typering SS-Afrikanen

of bij het oplossen AB identificatie puzzels

BIORAD

DiaClon Rh-Subgroups + K
English
C, c, E, e, K, ctl
monoclonal
Determination of Rh phenotypes and K

1/5
B002124 v.01 2020-12-18

Product-Identification: 50110
ID-Card "DiaClon Rh-Subgroups + K"

4 x 12.....REF 002124
24 x 12.....REF 002127
60 x 12.....REF 002126
112 x 12.....REF 002125

ID-Card "DiaClon Rh-Subgroups monoclonal antibodies
anti-C (cell line MS-24)
anti-c (cell line MS-33)
anti-E (cell line MS-260)
anti-e (cell lines MS-16, MS-21, MS-63)

Sikkel cell patiënt (vrouw - 8jr) JE240415-096

Identificatie antistoffen:

ORTHO en BIORAD: agglutinatie in alle cellen in LC en enzyme

AC+1, DAT+, eluaat pos (maar transfusie gehad)

Auto As met brede specificiteit?
Of anti-HFA?

RHCE genotypering

	e	c	HFA		LFA	
			hrB(RH31)	HrB(RH34)	V (RH10)	VS (RH20)
RHD*09.03 + RHCE*01.20.02.0	partial	partial	neg	?	pos	pos
RHD*03.01 + RHCE*01.20.03	partial	partial	neg	neg	neg	pos
SOM	partial	partial	neg	neg ?	pos	pos

FACTSBOOK:

Anti-RH31 vermoedelijk weinig klinisch relevant, geen HDN.
Maar kan leiden tot anti-RH-34.

BASTIAAN haplotype

Molecular background of RH in Bastiaan, the RH:–31,–34 index case, and two novel RHD alleles

M.E. Reid et al. IMMUNOHEMATOLOGY 2012

Sikkel cell patiënt (vrouw - 8jr) JE240415-096

Anti-RH34 uitgesloten ?

Te bevestigen aan de hand van serologie?

BASTIAAN FENO: reactive met anti-e:

MS16 = 0

MS17 = 0

MS21 = 4+

MS63 = 0

BL reactie met anti-e = 4+ ; ORTHO en BIORAD DIACLON = mix MS16 + **MS21 + MS63**

→ **Aparte monoclonalen kunnen in dergelijke gevallen heel nuttig zijn.**



Take home message

- RhD en RHCE zijn zeer complexe gensystemen, met een brede waaier aan fenotypes met aparte noden wat betreft transfusie en RhD profylaxe.
- 1 ste lijn serologie is vandaag vooral gefocust op het negatief scoren (DVI) van Kaukasische D varianten. Andere RhD varianten kunnen door de mazen van het net glippen.
 - revisie RhD serologie is aan de orde
 - ! Baby: D varianten met negatieve serologie
 - ! Patiënt: D varianten met te sterke serologie

Te bekijken per workflow/labo: wat kan er gemist worden uitgaande van het eerste lijns reagens gebruikt?

- RhCE serologie is vaak te sterk of combinatie van monoclonalen zorgt voor missen van partiële RHCE varianten
 - revisie RhCE serologie is aan de orde

what's the
opposite of
investigate?



ignore, reply, forget, neglect,
answer, overlook, leave alone





Dr. Stijn Van Landeghem
Dr. Linda Joosten
Dr. Dominique De Bleser
Dr. Yves Deprest
Tenille Christie
Bloodbank Laboratory



Dr. An Muylaert
Central Donor Laboratory



Dr. Ina Benoy
Dr. Johan Beert
Lien Veys
Steffi De Pelsmaeker
Johan Kerhofs
Jelke Deroover
Histocompatibility Laboratory

Contact: vicky.vansandt@rodekruis.be



**Rode Kruis
Vlaanderen**



Take home message

- RHD en RHCE zijn zeer complexe gensystemen, met een brede waaier aan fenotypes met aparte noden wat betreft transfusie en RhD profylaxe.
- 1 ste lijn serologie is vandaag vooral gefocust op het negatief scoren (DVI) van Kaukasische D varianten. Andere RHD varianten kunnen door de mazen van het net glippen.
 - revisie RhD serologie is aan de orde
 - ! Baby: D varianten met negatieve serologie
 - ! Patiënt: D varianten met te sterke serologie

Te bekijken per workflow/labo: wat kan er gemist worden uitgaande van het eerste lijns reagens gebruikt?

- RhCE serologie is vaak te sterk of combinatie van monoclonalen zorgt voor missen van partiële RHCE varianten
 - revisie RhCE serologie is aan de orde
- De grote diversiteit binnen het rhesussysteem vraagt om genotype informatie van RHD en RHCE in de antistof identificatie panels.

Wanneer RH genotypering?

- **In aanwezigheid van een serologische verzwakking van de antigenen RHD of RHCE:** bij zwangere vrouwen, bij vrouwen van minder dan 50 jaar oud die een transfusie nodig hebben, bij kinderen of jongeren van minder dan 18 jaar die een transfusie nodig hebben, bij patiënten met een congenitale hemolytische aandoening of bij patiënten met chronische transfusienood.
- In aanwezigheid van **discordanties in serologische bepalingen van de antigenen RHD of RHCE** uitgevoerd met verschillende monoclonale reagentia gericht tegen verschillende epitopen: bij zwangere vrouwen, vrouwen van minder dan 50 oud die een transfusie nodig hebben, bij kinderen of jongeren van minder dan 18 jaar die een transfusie nodig hebben jaar, bij patiënten met congenitale hemolytische aandoening of bij patiënten met chronische transfusienood.
- **In aanwezigheid van anti-D en/of anti-CE allo/auto-antistoffen**
- **In aanwezigheid van een variant van het RHD of het RHCE gen: proxy FYGATA, origine Sub Saharan Africa.**

Partiële D molec	Zwakke RhD molec.	aD vorig resultaat	aD resultaat
Partiële D cat Va/Va like/Va associated, DBS;Partiële D cat Va/Va like/Va associated, DBS	Geen Zwakke D genotype;Geen Zwakke D genotype	DP	1+
Partiële D DAU	Geen Zwakke D genotype;Geen Zwakke D genotype	DP	2+
Partiële D DAU;Partiële D DAU	Geen Zwakke D genotype;Geen Zwakke D genotype	DP	2+
Partiële D DAU;Partiële D DAU	Geen Zwakke D genotype;Geen Zwakke D genotype	DP	2+
Partiële D DAU;Partiële D DAU	Geen Zwakke D genotype;Geen Zwakke D genotype	DP	1+
Partiële RHCE-D(5)-CE (DHAR Rh 33)	Geen Zwakke D genotype;Geen Zwakke D genotype	DP	2+
Partiële RHCE-D(5)-CE (DHAR Rh 33)	Geen Zwakke D genotype;Geen Zwakke D genotype	DP	2+
N/A	Zwakke D type 4.0 4.1;Zwakke D type 4.0 4.1	DP	2+
N/A	Zwakke D type 4.0 4.1;Zwakke D type 4.0 4.1	DP	2+
N/A	Zwakke D type 4.0 4.1;Zwakke D type 4.0 4.1	DP	2+
N/A	Zwakke D type 4.0 4.1;Zwakke D type 4.0 4.1	DP	2+
N/A	Zwakke D type 4.0 4.1;Zwakke D type 4.0 4.1	DP	2+
N/A	Zwakke D type 4.0 4.1;Zwakke D type 4.0 4.1	DP	2+
N/A	Zwakke D type 4.2, DAR;Zwakke D type 4.2, DAR	DP	2+
N/A	Zwakke D type 4.2, DAR;Zwakke D type 4.2, DAR	DP	2+
N/A	Zwakke D type 4.2, DAR;Zwakke D type 4.2, DAR	DP	2+
N/A	Zwakke D type 4.2, DAR;Zwakke D type 4.2, DAR	DP	3+
N/A	Zwakke D type 4.2, DAR;Zwakke D type 4.2, DAR	DP	2+
N/A	Zwakke D type 4.2, DAR;Zwakke D type 4.2, DAR	DP	2+

Last but not least

Vraag aan  QuidelOrtho™

Het RHD en RHCE genotype van de panelcellen voor antistof identificatie is noodzakelijk !!

Voor alle cellen

Maar in het bijzonder voor cellen Fy(a-b-):

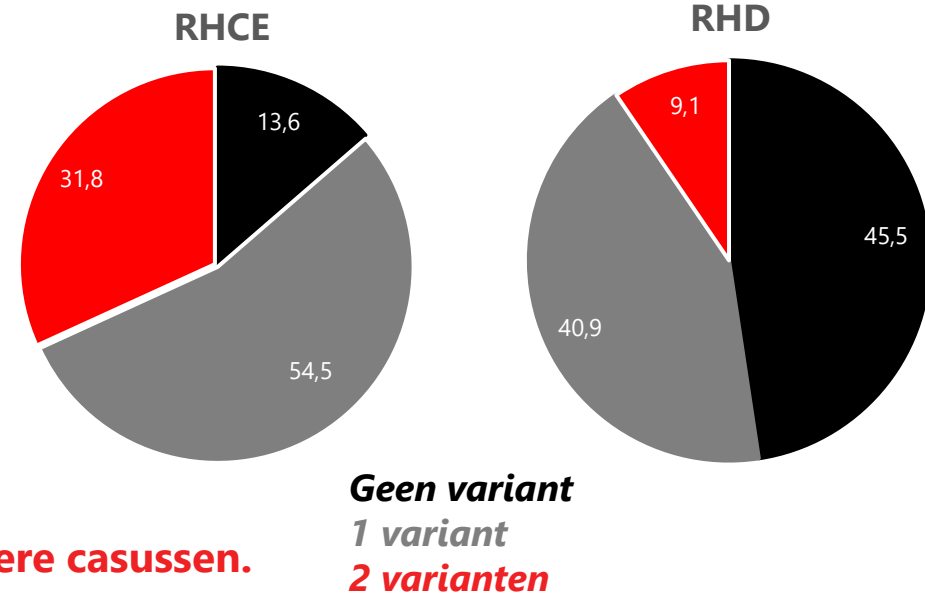
Frequentie RH varianten in deze populatie is zeer hoog

Fy(a-b-) cellen:

- **D varianten**
- **ontbrekende hoog frequente antigenen**
- **extra laagfrequente antigenen**

→ **info nuttig/noodzakelijk bij het oplossen van de moeilijker casussen.**

In ieder panel een Fya-Fyb- cel includeren



49% Zwakke D type 4.0, 4.1

28% Zwakke D type 4.2

5% niet DAU-0? vb DAU-3

5% RHCE-D-CE

4% D Cat Va

2% DNB

3% Variant onbepaald: nieuwe of zeldzame variant

1% DIV type 1

1% RHD Del Ex 9

Allo anti-D bij cohorte te sterk reagerende Ds in eigen populatie (2017-2024)

InternalId;aanvrager;patiënt;DOB	Id. AS 1	Partiele RhD molec.
JE240402-051;DE CLERCQ DORIEN;Estelle Adeline Nsele;19/05/1993	anti-D (RH1)	- Partiële D cat Va/Va like/Va associated, DBS;Partiële D cat Va/Va like/Va associated, DBS
JE230921-059;Vanderheyden Tina;Joceline Aminat Balenga;02/04/1987	anti-D (RH1)	- Partiële D variant onbepaald;Partiële D variant onbepaald
LE230517-050;Hendrickx Ann;ASGDOM OKUBA SOLOMON;08/08/1995	anti-D (RH1)	- Partiële D cat Va/Va like/Va associated, DBS
20221124-053;Zwaenepoel Bert;Ruben Bonte;09/11/1982	anti-D (RH1);anti-G (RH12)	- Partiële RHCE-D(5)-CE (DHAR Rh 33);Partiële RHCE-D(5)-CE (DHAR Rh 33)
LE221011-086;Wijnants A;YOUSSEF AWAD JUSTIN RAMZI;03/10/2017	anti-D (RH1)	- Partiële D DAU;Partiële D DAU
20181017-031;Maryns Anne-Sophie;Stefanie Sofie Callens;11/07/1986	anti-D (RH1)	- Partiële RHCE-D(5)-CE (DHAR Rh 33);Partiële RHCE-D(5)-CE (DHAR Rh 33)