1. **Principe**

Pour déterminer le facteur Rh (D) dans le sang humain.

C’est la présence ou l’absence de l’antigène D à la surface des globules rouges qui détermine le facteur Rh (D). On décèle l’antigène D à la surface des cellules par une épreuve d’agglutination directe avec anti-D.

1. **Portée et politiques connexes**

N.B. : Le groupage sanguin ABO, la détermination du facteur Rh et le dépistage d'anticorps forment ensemble une procédure dite de groupage et dépistage.

* 1. Le facteur Rh est déterminé en soumettant les globules rouges du patient à un réactif anti-D9.1.
  2. Si la détermination du facteur Rh occasionne un problème et qu’il faut procéder à une transfusion sans délai, il faut mettre en circulation des produits sanguins Rh négatif pour les femmes préménopausées et les enfants jusqu’à la résolution du problème. Les autres patients, en l’absence d’un anti-D connu, peuvent recevoir du sang Rh positif dans les situations d’urgence lorsqu’il y a pénurie de sang Rh négatif.
  3. Lorsque des receveurs éventuels de produits sanguins font l’objet d’analyses, il est inutile de procéder à la recherche de l’antigène D faible, à l’exception de ce qui est indiqué à 2.7.19.1.
  4. Les patientes en obstétrique qui se démarquent comme étant Rh positif ou D positif faible doivent être désignées comme étant Rh positif. Les patientes dont les globules rouges sont de type Rh négatif doivent être désignées comme étant Rh négatif9.1.
  5. Il faut revoir les dossiers de transfusion antérieurs et comparer les résultats passés aux résultats actuels9.1.
  6. L’épreuve doit comporter un témoin spécifique au réactif anti-D employé. Si le témoin est positif, on doit répéter la détermination du facteur Rh avec un réactif anti-D et un témoin appropriés9.1.
     1. Quoique certains fabricants ne recommandent pas de témoin Rh, ils mentionnent tous comme limite de l’épreuve la possibilité de faux résultats positifs si les globules rouges du tube sont fortement agglutinés avant l’ajout du réactif. La contamination bactérienne de l’échantillon constitue une autre limite. Conséquemment, un témoin Rh doit faire l’objet d’une épreuve en parallèle avec l’antisérum anti-D. Voir Contrôle de la qualité 5.3.
  7. Nouveau-nés :
     1. La recherche du D faible doit être faite chez les nourrissons ayant un Rh négatif si leur mère est Rh négatif et ne présente aucun signe d’alloimmunisation Rh9.1.
     2. Toutes les épreuves prétransfusionnelles doivent se faire sur du sang prélevé par voie veineuse ou capillaire. On ne doit jamais utiliser du sang de cordon pour ces épreuves prétransfusionnelles9.1.
        1. Dans d’autres situations (ex., dépistage de la maladie hémolytique du nouveau-né ou détermination du besoin d’immunoglobuline Rh chez la mère), on peut utiliser du sang de cordon ou un échantillon périphérique pour déterminer le facteur Rh.
     3. Les épreuves sur l’échantillon prétransfusionnel initial doivent inclure la détermination du groupe ABO et du facteur Rh et le dépistage des anticorps cliniquement significatifs9.1. Chez les nouveau-nés, on peut utiliser un échantillon maternel pour effectuer les épreuves de compatibilité et/ou le dépistage d’anticorps.
     4. Durant une période d’hospitalisation donnée, il n'est pas nécessaire de répéter le groupage ABO et la détermination du facteur Rh chez le nourrisson (âgé de jusqu’à 4 mois)9.1.
  8. Il faut faire le dépistage du D faible chez les patientes en obstétrique ayant un Rh négatif apparent.

1. **Échantillons**

Sang total anticoagulé - tube EDTA

1. **Matériel**

**Équipement :** centrifugeuse sérologique

support à tubes

**Fournitures :** tubes – 10 x 75 mm

pipettes sérologiques

# **Réactifs :** réactifs anti-D : deux types différents de réactifs anti-D, l’un étant de l’anti-D monoclonal IgM mélangé à de l’anti-D polyclonal

témoin approprié pour la détermination du facteur Rh (conformément aux instructions du fabricant)9.2

# solution saline normale

1. **Contrôle de la qualité**
   1. Voir CAQ.001 – Contrôle de la qualité des globules rouges et des antisérums commerciaux.
   2. S’il faut immédiatement (STAT) des composants du sang, choisir des globules rouges Rh négatif pour les femmes préménopausées et les enfants. Les autres patients, en l’absence d’un anti-D connu, peuvent recevoir du sang Rh positif dans les situations d’urgence lorsqu’il y a une pénurie de sang Rh négatif.
   3. De faux résultats positifs du test témoin en raison d’autoagglutinines froides ou d’un déséquilibre protéinique peuvent survenir si les épreuves sont faites avec des globules rouges non lavés.
      1. L’absence de cette agglutination spontanée peut habituellement être démontrée en observant les réactions négatives dans le groupage sanguin ABO par épreuve globulaire (réactions avec anti-A et/ou anti-B).
      2. Dans le cas des échantillons qui présentent une agglutination dans tous les tubes (c.-à.-d. donnent des réactions de groupe AB, D positif), il faut effectuer un contrôle parallèle sur les cellules des patients. Ceci n’est pas requis pour la confirmation des unités de sang de donneur.
      3. Si un contrôle commercial pour un réactif hypoprotéique (mélange monoclonal/polyclonal) n’est pas disponible, on peut utiliser du plasma autologue ou de l’albumine bovine à 6 % comme témoin.
2. **Procédure**
   1. Vérification des antécédents du patient.
      1. Voir PA.003 – Vérification des antécédents du patient.
   2. Vérification de l’acceptabilité des échantillons
      1. Voir PA.002 – Acceptation ou rejet des échantillons, étapes 6.1 – 6.4 pour s’assurer que les renseignements qui s’y rapportent correspondent au formulaire de demande d'analyse.
      2. Centrifuger l'échantillon pendant 5 minutes à 3500 rpm ou l'équivalent.
      3. Vérifier toute anomalie dans l’aspect des échantillons. Voir PA.002 – Acceptation ou rejet des échantillons, étapes 6.5 – 6.6.
   3. Étiquetage des tubes
      1. Étiqueter les tubes conformément à la procédure établie. Voir PA.004 – Étiquetage des tubes et disposition dans un support en vue des épreuves de compatibilité. Voir Contrôle de la qualité 5.2 et Remarque 8.1.
   4. Ajout des réactifs
      1. Ajouter 1 goutte d’anti-D au tube étiqueté D.
      2. Ajouter 1 goutte de réactif témoin Rh au tube étiqueté DT.
   5. Préparation d’une suspension de cellules du patient à 3 %.
      1. Comparer le nom du patient et le numéro d’identification sur tous les tubes avec les renseignements correspondants sur le formulaire de demande ou à l’écran d’ordinateur pour vérifier leur concordance
      2. Voir AR.003 – Préparation d’une suspension de globules rouges à 3 %.

*Remarque : Il n’est pas nécessaire de pré-laver les globules rouges, toutefois, en cas de divergence, il faut laver les globules et répéter les épreuves.*

* + 1. Ajouter 1 (une) goutte de la suspension cellulaire à 3 % aux tubes étiquetés D et DT, le cas échéant.
    2. Mélanger tous les tubes.
    3. Centrifuger les tubes à 3400 rpm pendant 10 à 15 secondes dans une centrifugeuse sérologique. Voir Remarque 8.2.
    4. Retirer les tubes de la centrifugeuse sérologique dans l’ordre où ils y ont été mis. Si plusieurs patients font l’objet d’une analyse, retirer les tubes d’un patient seulement. Lire et inscrire les résultats, un patient à la fois.
  1. Lecture et interprétation des résultats
     1. Faire la lecture des résultats conformément à la procédure établie. Voir AR.001 – Lecture et inscription des réactions d’hémagglutination.
     2. Interpréter et inscrire les résultats.

* 1. Incubation des résultats négatifs
     1. Si le dépliant du fabricant le mentionne, incuber les résultats négatifs et répéter les étapes 6.5.5. à 6.6.6.
  2. Interprétation des résultats
     1. Interpréter le facteur Rh. Voir 7.0 – Documentation.
     2. Comparer le groupe Rh obtenu avec celui de l’interprétation Rh précédente (historique), si possible. En cas de divergence, voir EC.004 – Résolution de problèmes relatifs à la détermination du facteur Rh

|  |  |
| --- | --- |
| Si…, | vous devez |
| les cellules du patient réagissent tel que décrit à 7.0 –Documentation | inscrire l’interprétation du facteur Rh sur le formulaire de demande ou à l’ordinateur selon la procédure établie. |
| les cellules du patient ne réagissent pas tel que décrit en 7.0 – Documentation | résoudre la divergence avant d’inscrire le type de facteur Rh. Voir EC.004 – Résolution de problèmes liés à la détermination du facteur Rh. S’il faut immédiatement des produits sanguins compatibles, avant que la divergence ait pu être résolue, choisir seulement des globules rouges Rh négatif jusqu’à la résolution du problème.  Voir Portée et politiques connexes 2.2 et Contrôle de la qualité 5.2 |

* 1. Vérification
     1. Une fois la procédure terminée, il faut procéder à une vérification des éléments suivants :
* Le nom du patient et le numéro d’identification sont identiques sur tous les échantillons et sur le formulaire de demande.
* Le nom du patient est identique sur tous les tubes et sur le formulaire de demande.
* Les résultats ont été interprétés correctement.
  1. Conclusion de la procédure
     1. Mettre ses initiales ou signer et inscrire l’heure et la date de la conclusion de l’épreuve sur le formulaire de demande ou à l’ordinateur.
     2. Noter que les résultats ont été vérifiés. Voir 7.0 Documentation.

1. **Documentation**
   1. Pour que le groupe Rh soit valide, le résultat du tube témoin doit être négatif. Le groupe Rh doit être documenté comme suit :
      1. Une agglutination (+2 ou plus grand) avec un anti-D indique la présence de l’antigène D. Inscrire comme étant Rh positif9.4.
      2. Aucune agglutination avec l’anti-D indique l’absence de l’antigène D. Inscrire comme étant Rh négatif.
   2. Si le témoin est positif ou si la réaction avec l’anti-D est faible ou +1, ne pas inscrire le groupe Rh.
      1. Il faut faire des épreuves supplémentaires pour investiguer le témoin positif ou la faible réaction avec l’anti-D. Voir EC.004 – Résolution de problèmes relatifs à la détermination du facteur Rh.
2. **Remarques**
   1. Pour assurer l’uniformité de la procédure et faciliter la détection des faux résultats positifs avec le réactif anti-D, on doit utiliser un témoin pour la détermination du facteur Rh (si on a recours à l’épreuve modifiée anti-D).
   2. Centrifugation des tubes.
      1. Si l’échantillon d’un seul patient est analysé, équilibrer les tubes dans la centrifugeuse pour bien distribuer le poids ou utiliser un tube vide.
      2. Si les échantillons de plusieurs patients sont analysés, placer en opposition les tubes de chaque patient pour assurer l’équilibre.
3. **Références**
   1. *Standards for Hospital Transfusion Services*, version 3 – février 2011. Société canadienne de médecine transfusionnelle; 5.3.1.4, 5.3.3.1, 5.3.3.2, 5.3.3.3, 5.9.2.1-5.9.2.4.
   2. *Transfusion Medicine Review* – Rh Typing, QMPLS ver 1(2013-10-10); 1-7.
   3. ROBACK JD, éd. *American Association of Blood Banks Technical Manual*, 17e éd. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks (2011); p. 445-448, 885-886.
   4. JUDD, WJ. *Methods in Immunohematology*, 3e éd. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks (2008), p. 2-6.
   5. *Standards for Blood Banks and Transfusion Service*, 28e éd. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks (2008); 5.13.2.
4. **Suivi des révisions**

|  |  |
| --- | --- |
| **Date de la révision** | **Résumé des changements** |
| 31 janvier 2014 | * Changement du nom du manuel * Changement du numéro du document anciennement AR.002, maintenant AR.005. * Ajout à la section 4.0 pour inclure « témoin approprié pour la détermination du facteur Rh (conformément aux instructions du fabricant)9.2 » * Section 6.0 - 6.8 Changement de la numérotation du document AR.014 à AR.003; 6.14 : PA.006 devient AR.001. * Mise à jour des références pour inclure les versions les plus récentes et ajout d’une nouvelle référence en 9.2 |