1. **Principe**

Pour résoudre des problèmes liés à la détermination du facteur Rh.

1. **Portée et politiques connexes**
	1. Il faut investiguer les résultats de la détermination du facteur Rh :
* lorsque l’épreuve de contrôle du facteur Rh a un résultat positif.
* lorsque les résultats sont faibles ou positifs à +1 avec un réactif anti-D. Effectuer les lectures microscopiques seulement en cas de soupçon d'agglutination de type champ mixte.
* lorsqu'il y a des écarts de détermination du type Rh entre les résultats actuels et précédents.
	1. Il faut revoir les dossiers de transfusion antérieurs et comparer les résultats antérieurs aux résultats courants pour déterminer s’il y a des divergences.Toute divergence doit être résolue avant de produire un rapport9.1.
	2. Tous les réactifs doivent être utilisés et vérifiés conformément aux directives écrites du fournisseur9.1.
	3. 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 en âge d’avoir des enfants et les enfants jusqu'à la résolution du problème. Les autres patients, en l’absence d’anti-D connu, peuvent recevoir du sang Rh positif dans les situations d’urgence où il y a une pénurie de sang.
1. **Échantillons**

Sang total anticoagulé - tube EDTA

1. **Matériel**

**Équipement** : centrifugeuse sérologique

 support à tubes

 microscope

**Fournitures** : tubes 10 x 75 mm

 pipettes sérologiques

**Réactifs :** témoin pour l’anti-D, le cas échéant

 réactif anti-D

 solution saline normale

1. **Contrôle de la qualité**
	1. Voir CAQ.001 - Contrôle de la qualité des globules rouges et des antisérums commerciaux.
	2. Un témoin Rh peut être requis pour les épreuves de détermination du facteur Rh (consulter l’encart du fabricant d’anti-D0.

		1. Une réaction négative avec un anti-A ou anti-B élimine habituellement la conclusion d’une agglutination spontanée.

* + 1. Si un témoin commercial pour un réactif hypoprotéique (mélange monoclonal/polyclonal) n'est pas disponible, on peut utiliser du plasma autologue ou un témoin d'albumine bovine à 6 %.
		2. Un résultat faussement positif dans le témoin Rh peut survenir si le plasma contient des autoagglutinines ou une protéine provoquant la formation de rouleaux et que les globules rouges sont testés sans avoir été lavés.
		3. Il faut faire un TDA à l’aide d’un réactif IgG comme contrôle pour certains échantillons (p. ex. sang de cordon, de nouveau-né ou d’échantillon démontrant une autoagglutination) afin d’éliminer tout typage RH faussement négatif qui pourrait être dû aux antigènes bloqués.
1. **Procédure**
	1. Vérifications préliminaires
		1. Revérifier l’acceptabilité de tous les échantillons. Voir PA.002 - Acceptation ou rejet des échantillons. Si l’échantillon n’est pas acceptable, en prélever un autre.
		2. Obtenir et noter le diagnostic du patient et ses antécédents transfusionnels et obstétriques.
		3. Vérifier l’étiquette sur le ou les flacons de réactif pour s’assurer que le bon réactif a été utilisé.
		4. Préparer une nouvelle suspension à 3 % de globules rouges lavés du patient.
		5. Répéter la détermination du facteur Rh sur la nouvelle suspension à 3 % de cellules du patient.

|  |  |
| --- | --- |
| **Si…,**  | **Vous devez…** |
| le problème est résolu | voir la Remarque 8.1 et passer à l’étape 6.4. |
| le problème persiste et qu’il faut procéder à une transfusion urgente (STAT) | mettre en circulation des unités de donneur Rh négatif. Voir Remarque 8.8. |

* 1. Détermination du problème lié à la détermination du facteur Rh et étapes appropriées :
		1. La réaction à l’anti-D se manifeste par un champ mixte et le témoin est négatif :

|  |  |
| --- | --- |
| **Si…,**  | **Vous devez…** |
|  le patient a reçu au cours des trois (3) derniers mois du sang ayant un facteur Rh différent | * faire une lecture microscopique des tubes à la recherche d’agglutination de type champ mixte et noter les résultats.
* écrire une note explicative au sujet de la divergence (p. ex. Le patient a reçu \_\_\_\_\_\_\_ unités de sang Rh positif le \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_).
* Une hémorragie fœtomaternelle importante peut aussi susciter une agglutination de type champ mixte.
 |
|  le patient n’a reçu aucune transfusion au cours des trois (3) derniers mois,  | procéder à une détermination de l’antigène D faible. Voir AR.006 – Détermination de l’antigène D faible.  |

* Voir à la Remarque 8.2 les autres causes possibles d’agglutination de type champ mixte.
* Si le problème est résolu, passer à l’étape 6.4.

	+ 1. La réaction à l’anti-D se manifeste par un champ mixte et le témoin est positif :
			1. Laver les cellules quatre (4) fois avec une solution saline normale (en cas de soupçon d’agglutinines froides, prendre une solution saline normale chauffée à 37 oC pour laver les cellules). Voir AR.002 - Lavage automatisé ou manuel des cellules.
			2. Répéter la détermination du facteur Rh sur une suspension fraîche à 3 % de cellules lavées.
			3. Si le témoin est négatif lors de l’utilisation d’une suspension à 3 % de cellules lavées, inscrire le facteur Rh. Voir à la Remarque 8.3 les causes possibles. Passer à l’étape 6.4.

|  |  |
| --- | --- |
| **Si…,**  | **Vous devez…** |
| le témoin reste positif quand on utilise des cellules lavées,  | faire un test direct à l’antiglobuline (TDA). Voir AR.007 - Test direct à l'antiglobuline  |
| le TDA est positif, | répéter la détermination du facteur RH en se servant d’un anti-D monoclonal et d’un témoin d’ABS à 6 %. |
| le témoin est négatif, | inscrire le facteur Rh |
| le témoin est positif, | traiter les cellules par chloroquine pour retirer les anticorps qui recouvrent les cellules. Suivre les directives du fabricant pour traiter les cellules par chloroquine. Vous pourriez aussi vous servir d’une trousse EGA ou envoyer l’échantillon à un laboratoire de référence pour étude;répéter la détermination à l’aide de cellules traitées par chloroquine/EGA. (Voir PS.011 – Dissociation d’IgG par choloroquine ou trousse EGA.) |
| la divergence est résolue | inscrire le facteur Rh et ajouter une note précisant que la détermination a été faite à l’aide de cellules traitées par chloroquine/EGA. |
| la divergence n’est pas réglée | envoyer l’échantillon à un laboratoire de référence pour des tests supplémentaires. |

* + 1. Si les résultats sont divergents (le facteur Rh précédent ne correspond pas au résultat du test courant) :

|  |  |
| --- | --- |
| **Si…,**  | **Vous devez…** |
| le patient a reçu au cours des trois derniers mois une transfusion de sang ayant un facteur Rh différent,  | suivre les étapes 6.2.1 |
| le patient n’a reçu aucune transfusion au cours des 3 derniers mois et que la divergence n’est pas résolue avec l’épreuve de dépistage de l’antigène D faible,  | prélever un nouvel échantillon et répéter le test.  |
| le résultat sur le nouvel échantillon est le même que celui obtenu sur l’échantillon divergent,  | envisager les possibilités suivantes : * Une erreur peut être survenue au moment du prélèvement de l’échantillon antérieur.
* Une erreur de technique ou d’inscription affectant l’échantillon antérieur. Si possible, revoir les résultats au dossier pour s’assurer qu’il n’y a eu aucune erreur d’interprétation. Passer à 7.0 – Documentation.
* Le patient a usurpé l’identité d’une autre personne.
* Une maladie a provoqué la perte d’antigènes. Voir la Remarque 8.6.
 |
| le résultat obtenu sur le nouvel échantillon diffère de celui obtenu avec l’échantillon divergent et correspond au dossier antérieur | envisager la possibilité d’une erreur au moment du prélèvement de l’échantillon divergent.* Vérifier si d’autres patients pourraient être en cause (p. ex. échantillon d’un autre patient prélevé à peu près au même moment par le même phlébotomiste).
* Remplir un rapport d’incident et remettre à un superviseur.
 |

* 1. Documentation du processus
		1. Inscrire le processus et la conclusion de l’investigation sur le formulaire de demande ou à l’ordinateur.
	2. Vérification.
		1. S’assurer que les renseignements sur l’étiquette de chaque échantillon testé sont identiques à ce qui figure sur la demande et sur les tubes à essai correspondants.
	3. Signature
		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 remplir le dossier à l’ordinateur.
1. **Documentation**
	1. Inscrire :
* toutes les procédures qui ont servi à résoudre le problème lié à la détermination du facteur Rh (p.ex. lavage de la suspension cellulaire, recours à un anti-D différent, etc.);
* toutes les réactions observées pendant les tests9.1.
	1. Lorsque le facteur Rh auparavant négatif d’un patient se révèle Rh positif après investigation, on doit inscrire (par exemple) : Le statut Rh positif de cet échantillon a été confirmé.
	2. Lorsque le facteur Rh auparavant positif d’un patient se révèle Rh négatif après investigation, on doit inscrire (par exemple) : Le statut Rh négatif de cet échantillon a été confirmé.
1. **Remarques**
	1. Si la divergence est résolue, elle peut avoir été causée par l’un des éléments suivants :
* erreurs de procédure
* antisérum qui n’a pas été ajouté ou mauvais antisérum utilisé
* suspension cellulaire trop forte
* centrifugation insuffisante ou excessive
* agitation trop vigoureuse du tube qui a suscité la dispersion de petits agglutinats
* échec de la remise en suspension de tout le culot globulaire
* lecture microscopique quand les directives accompagnant l’antisérum mentionnaient une lecture macroscopique
	1. Causes possibles d’une agglutination de type champ mixte :
* récente transfusion avec une unité de donneur ayant un facteur Rh différent
* récente transfusion de moelle osseuse ou de cellules souches hématopoïétiques allogènes
* contamination de l’échantillon
* phénotype Rh inhabituel qui pourrait ou non être associé à la production d’alloanticorps Rh
* hémorragie fœtomaternelle importante
* anomalies génétiques, notamment dispermie et chimérisme
	1. La présence d’un témoin positif pourrait être attribuable à diverses raisons :
* rouleaux
* autoagglutinines fortes
* test direct à l’antiglobuline (TDA) positif
	1. Si l’anti-D et le témoin Rh sont des réactifs hyperprotéiques, répéter la détermination du facteur Rh en se servant d’un réactif hypoprotéiné, comme un anti-D et un témoin monoclonaux. Si le témoin hypoprotéiné reste positif, retirer les anticorps recouvrant les cellules avant de répéter l’épreuve.
	2. Des réactions faussement positives de l’anti-D (témoin négatif) peuvent être causées par la présence d’anticorps aux antigènes de faible fréquence dans de l’antisérum d’origine humaine. La répétition de l’épreuve à l’aide de réactifs monoclonaux devrait résoudre le problème. Les réactifs monoclonaux sont dénués d’anticorps contaminants.
	3. Des réactions faussement négatives avec l’anti-D peuvent survenir dans certaines situations :
* Lorsque les cellules sont recouvertes d’un anticorps spécifique de l’antigène étudié. Exemple : lorsque les sites d’antigène D des cellules fœtales sont recouverts d’anti-D maternel, les globules rouges du nouveau-né peuvent ne pas réagir à l’anti-D, de sorte que l’on déterminera qu’il est Rh négatif.
* En présence d’états maladifs qui entraînent une perte d’antigène. Des patients que l’on savait D positif ont été soumis à des épreuves pendant leur maladie et ont été qualifiés de D négatif par méthode de recherche de l’antigène D faible. Le phénotypage RhD est utile pour distinguer un D partiel, un D spécifique faible ou pour résoudre le typage D sérologique9.2.
	1. Des réactions faibles avec l’anti-D peuvent résulter de variantes du gène RhD qui entraînent une expression moindre de l’antigène D. Certains réactifs anti-D monoclonaux sont conçus pour réagir aux variantes DIV et DV. Les variantes DVI seront dépistées par TIA. Consulter la documentation du fabricant pour connaître le réactif utilisé. Un D partiel suscite un classement Rh positif du donneur de sang; cette personne sera cependant Rh négatif en tant que receveur9.2.
	2. S’il y a un problème lié à la détermination du facteur Rh et qu’il faut procéder à une transfusion sans délai, il faut mettre en circulation des produits sanguins Rh négatif pour les femmes en âge d’avoir des enfants et les enfants jusqu’à la résolution du problème. Les autres patients, en l’absence d’anti-D connu, peuvent recevoir du sang Rh positif dans les situations d’urgence où il y a une pénurie de sang Rh négatif.
1. **Références**
	1. *Standards for transfusion medicine*, version 3 – février 2011, Société canadienne de médecine transfusionnelle ; 5.3.1.1, 5.3.1.3, 5.3.1.4, 5.3.3
	2. ROBACK JD, éd. *American Association of Blood Banks Technical Manual*, 17e éd. Bethesda, MD, American Association of Blood Banks (2011):406-408
	3. QMP-LS EQA Transfusion Medicine Review- Rh Typing 2013-10-10
2. **Suivi des révisions**

|  |  |
| --- | --- |
| **Date de la révision** | **Résumé des changements** |
| 1er mars 2014  | * Changement du nom du manuel
* Modification du libellé de la section 2.2 pour ajouter une référence à la ressource 9.1
* Modification du libellé de la section 2.3 pour préciser « selon les directives écrites du fabricant ».
* Précision quant aux femmes « en âge d’avoir des enfants » aux sections 2.4 et 8.8
* Modification du libellé de la 5.2.4 pour préciser un TDA « à l’aide d’un réactif IgG »
* Ajout de la section 6.1.2
* Changement de numéro des procédures : section 6.2.1, AR.003 à AR.006; section 6.2.2, AR.004 à AR.007; section 6.2.2.1, PA.005 à AR.002. À la section 6.2.3, changement de numéro de remarque, 8.2 à 8.6
* Modification du libellé de la section 7.1 pour préciser «toutes les réactions observées pendant les tests9.1 »
* Ajout de références à la ressource 9.2 dans la section 8.6
* Mise à jour des références
 |