



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

AVIS SUR LES ACTES

Détermination prénatale du génotype *RHD* foetal à partir du sang maternel

Janvier 2011

Service évaluation des actes professionnels

Ce document d'avis est téléchargeable sur
www.has-sante.fr

Haute Autorité de Santé
Service documentation – information des publics
2, avenue du Stade de France - F 93218 Saint-Denis La Plaine CEDEX
Tél. : +33 (0)1 55 93 70 00 - Fax : +33 (0)1 55 93 74 00

Ce document a été validé par le Collège de la Haute Autorité de Santé en **janvier 2011**.

© Haute Autorité de Santé – **2011**.

ÉQUIPE

Ce document a été réalisé par M^{me} le D^r Marie Victoire SENAT et M. le P^r Hervé FERNANDEZ, gynécologues obstétriciens, en coordination avec M^{me} le D^r Michèle MORIN-SURROCA, docteur en médecine, chef de projet au Service évaluation des actes professionnels, sous la responsabilité de M^{me} le D^r Sun Hae LEE ROBIN, chef de service.

La recherche documentaire a été effectuée par M^{me} Mireille CECCHIN, documentaliste, avec l'aide de M^{me} Sylvie LASCOLS sous la responsabilité de M^{me} Christine DEVAUD, adjointe au chef de service et de M^{me} le D^r Frédérique PAGÈS, docteur ès sciences, chef de service.

L'organisation logistique et le travail de secrétariat ont été réalisés par M^{me} Louise Antoinette TUIL.

Pour tout contact au sujet de ce rapport :

Tél. : 01 55 93 71 12

Fax : 01 55 93 74 35

Courriel : contact.seap@has-sante.fr

TABLE DES MATIÈRES

ÉQUIPE	3
PRÉAMBULE	5
TEXTE COURT DU RAPPORT D'ÉVALUATION : « DÉTERMINATION PRÉNATALE DU GÉNOTYPE <i>RHD</i> FŒTAL À PARTIR DU SANG MATERNEL »	6
CONCLUSION SUR LE SA ET L'ASA.....	12
AVIS DE LA HAUTE AUTORITE DE SANTÉ.....	13

PRÉAMBULE

Dans le cadre de ses missions, la Haute Autorité de Santé (HAS) évalue le service attendu (SA) des actes professionnels puis, rend un avis quant à leur inscription, à la modification de leur condition d'inscription ou à leur radiation de la liste prévue à l'article L. 162-1-7 du Code de la sécurité sociale (CSS), c'est-à-dire la liste des actes pris en charge par l'Assurance maladie. L'avis de la HAS est notamment transmis à l'Union nationale des caisses d'assurance maladie (UNCAM) qui prend la décision d'inscrire, de modifier les conditions d'inscription ou de radier les actes.

L'évaluation du service attendu prend en compte l'intérêt diagnostique ou thérapeutique et l'intérêt de santé publique. Dans l'appréciation de l'intérêt diagnostique ou thérapeutique sont considérées l'efficacité, la sécurité et la place de l'acte dans la stratégie diagnostique ou thérapeutique. L'intérêt de santé publique est évalué en termes d'impact sur la santé de la population (mortalité, morbidité, qualité de vie, besoin thérapeutique non couvert eu égard à la gravité de la pathologie), d'impact sur le système de soins, et d'impact sur les programmes et politiques de santé publique. Ces différents critères d'évaluation du service attendu sont définis dans l'article R. 162-52-1 du CSS.

Cet article précise également que doit être appréciée l'amélioration du service attendu (ASA), c'est-à-dire le bénéfice supplémentaire apporté par l'acte évalué par rapport aux techniques alternatives déjà existantes.

Ce document contient l'avis de la HAS relatif au service attendu (SA) et à l'amélioration du service attendu (ASA) de l'acte ci-dessous, et à son inscription à la liste des actes prévue à l'article L. 162-1-7 du CSS :

- détermination prénatale du génotype *RHD* fœtal à partir du sang maternel.

Cet avis s'appuie sur l'argumentaire et les conclusions du rapport d'évaluation technologique « Détermination prénatale du génotype *RHD* fœtal à partir du sang maternel » (janvier 2011) de la HAS, dont le texte court figure ci-après. Ce rapport est disponible sur le site de la HAS.

TEXTE COURT DU RAPPORT D'ÉVALUATION : « DÉTERMINATION PRÉNATALE DU GÉNOTYPE *RHD* FŒTAL À PARTIR DU SANG MATERNEL »

Le Centre national de référence en hématologie périnatale (CNRHP) – Hôpital Saint-Antoine a saisi la HAS pour cette évaluation. Le Collège National des Gynécologues Obstétriciens Français et le laboratoire Cerba ont également effectué une demande d'évaluation.

Contexte

L'identification d'ADN fœtal circulant dans le sang maternel lors de la grossesse ainsi que le clonage et séquençage des gènes RH (rhésus) ont permis d'envisager la détermination du génotype *RHD* fœtal à partir du sérum ou du plasma maternel de femmes enceintes. La première étape de la technique consiste en l'extraction de l'ADN fœtal libre circulant, la seconde étape repose sur l'amplification par réaction en chaîne de la polymérase (PCR¹) des séquences du gène *RHD*.

L'allo-immunisation fœto-maternelle se caractérise par la production d'anticorps maternels dirigés contre les éléments figurés du sang fœtal : hématies ou plaquettes. Le facteur étiologique essentiel en dehors de la transfusion, est le passage de sang fœtal dans la circulation maternelle. L'allo immunisation contre les hématies peut être à l'origine d'anémies fœtales et néonatales sévères ainsi que d'ictères néonataux graves.

Le système RH (pour rhésus) est à l'origine de la majorité des allo immunisations fœto-maternelles, les anticorps anti-RH1 (anti D) sont les plus impliqués. Le risque d'allo immunisation existe si le fœtus est RH:1 (D positif.) et la mère RH:-1 (D négatif).

Ainsi, pour les grossesses de mère de phénotype RH:-1 (D négative) et de père de phénotype RH:1 (rhésus D positif) la connaissance du génotype *RHD* (rhésus D) du fœtus permettrait :

- chez les mères déjà immunisées, d'identifier les grossesses devant faire l'objet d'un suivi spécifique spécialisé lourd si le fœtus est RH:1 (D positif) en raison du risque d'anémie fœtale. Dans le cas contraire, c'est-à-dire si le fœtus est RH:-1 (D négatif), la grossesse se poursuit selon les protocoles de surveillance habituels ;
- chez les mères non immunisées, d'identifier les grossesses devant faire l'objet d'une prophylaxie, si le fœtus est RH:1 (D positif) par immunoglobulines anti-RH1 (anti-D), produits dérivés du sang dont la disponibilité est limitée.

Le nombre annuel de conceptions en France est estimé à 1,1 million ; ce chiffre comprend les naissances vivantes, les fausses couches spontanées, les grossesses extra utérines, les interruptions médicales de grossesse et les interruptions volontaires de grossesse. Parmi les femmes enceintes RH:-1 (D négatif), seulement 60 % sont enceintes d'un fœtus de groupe RH:1 (D positif) potentiellement responsable d'allo-immunisation anti-RH1 (D), en l'absence de mise en œuvre de prophylaxie. Ces chiffres porteraient donc à 90 000 le nombre annuel de femmes enceintes RH:-1 (D négatif) enceintes d'un fœtus RH:1 (D positif).

Le phénotype RH courant comprend l'antigène RH1 (D) codé par le gène *RHD* et les antigènes RH 2 (C), RH 3 (E), RH 4 (c) et RH 5 (e), tous codés par le gène *RHCE*.

¹ PCR : *polymerase chain reaction*.

Ces 2 gènes *RHD* et *RHCE* localisés sur le chromosome 1, sont des gènes homologues c'est-à-dire présentant 96 % d'identité.

L'organisation très particulière de ces 2 gènes avec une orientation opposée « tête bêche » facilite les réarrangements géniques entre *RHD* et *RHCE* et l'apparition de gènes hybrides. Ces gènes hybrides codent pour des protéines appelées « variants RH » qui sont à l'origine d'une modification de l'expression antigénique.

Le phénotype RH:-1 (D négatif) est caractérisé par l'absence d'antigène RH1 (D) à la surface de l'érythrocyte.

La fréquence des phénotypes RH:-1 varie en fonction de l'origine ethnique. Environ 15 % de la population d'origine caucasienne est RH:-1, alors que ce chiffre est de 3 à 5 % dans la population d'origine africaine et de moins de 0,1 % dans la population d'origine asiatique.

Plusieurs mécanismes moléculaires aboutissent à un phénotype RH:-1 et à l'absence de production de la protéine RH1 :

- délétion complète de la totalité du gène *RHD*. Ce mécanisme est le plus fréquent dans les populations européennes et asiatiques ;
- le gène est présent, mais ne code pas l'antigène RH1 :
 - o soit en raison de mutations ou d'insertions géniques : le pseudogène *RHD Ψ* est l'un des mécanismes le plus souvent responsable du phénotype RH:-1 (D négatif) dans la population africaine ou afro-antillaise (66 % des cas) ;
 - o soit par constitution d'un gène hybride obtenu par échange d'exons entre les gènes *RHD* et *RHCE*, ainsi le gène hybride *RHCce^s* est fréquent dans la population africaine (15 % des cas).

L'établissement du génotype permet donc de déterminer la présence ou non du gène *RHD*. Son absence conduit à établir un phénotype RH:-1. En revanche sa présence, notamment dans les populations africaines ou afro-antillaises, ne suffit pas à la déduction immédiate du phénotype RH:1. Il convient de s'assurer que le gène *RHD* est fonctionnel, donc de rechercher les variants les plus fréquents avant d'en déduire le phénotype.

Les conséquences cliniques et sérologiques de ces variants de l'antigène RH1 sont multiples et complexes à analyser en routine, en raison de l'absence de parfaite corrélation entre le phénotype RH et le génotype *RH*, et peut donc donner lieu à des résultats faussement positifs.

Une autre difficulté réside dans le fait que l'ADN fœtal est « dilué » au sein d'un ADN largement majoritaire et hautement homologue qu'est l'ADN libre circulant d'origine maternelle, sans qu'on puisse l'isoler spécifiquement actuellement. Ne pourront être recherchées et/ou étudiées que les seules séquences géniques fœtales absentes ou différentes du génome maternel. En cas d'absence d'amplification des segments recherchés, il peut s'agir d'une réelle absence, mais aussi d'un résultat faussement négatif correspondant à un manque d'ADN fœtal dans le plasma maternel ou d'un défaut de sensibilité de la méthode PCR.

Il est donc indispensable d'inclure des contrôles internes témoignant de la bonne amplification de l'ADN fœtal.

Cette détermination est réalisée en France depuis plusieurs années : une trousse diagnostique (ou kit) « Free DNA fetal kit rhésus D » pour PCR en temps réel bénéficie d'un marquage CE depuis juillet 2007. Les cibles amplifiées sont les exons 10 et 7 du gène *RHD*.² Des tests dits « maison », développés et réalisés par des laboratoires, s'appuient sur

² Une trousse de seconde génération permettant l'amplification de 3 cibles : les exons 7, 10 et 5, devrait être disponible au mois de mars 2010.

la réalisation d'une PCR en temps réel, les cibles amplifiées étant soit l'exon 10 seul, soit les exons 7 et 10 du gène *RHD*.

Une étude multicentrique intitulée GENIFERH (« *Genotypage Non Invasif Foetal Rhésus D* ») est en cours dans le cadre d'un STIC (Soutien aux Techniques Innovantes et Coûteuses). Cette étude a plusieurs objectifs : intérêt médical du test marqué CE, aspect économique et analyse des conditions cliniques et biologiques de faisabilité optimale du test en pratique systématique.

L'Agence de la Biomédecine a relevé une progression du recours à ces techniques : 384 déterminations en 2005, 799 en 2006 et 2 962 en 2007.

Aucun test de détermination prénatale du statut RH1 du fœtus n'est inscrit à la nomenclature des actes de biologie médicale.

Parmi les trois nomenclatures consultées, américaine, belge et canadienne, seule la nomenclature belge a intégré cet examen.

Le champ de l'évaluation a porté sur la performance diagnostique de la détermination du génotype fœtal *RHD* à partir du sang maternel et la définition des indications de ce test.

Analyse de la bibliographie

La méthode habituelle de la HAS a été suivie :

- analyse critique des données de la littérature scientifique ;
- position argumentée d'experts réunis en un groupe de travail.

Trente-trois études, comportant au moins 10 patientes, évaluant la performance diagnostique de la détermination du génotype *RHD* fœtal sur sang maternel ont été retenues.

Concernant la technique employée, la PCR en temps réel semble être la plus répandue. L'analyse de ces études indique l'absence de standardisation des procédures en termes de nombre et de type d'exon testé, de témoins d'amplification et de contrôles internes utilisés, du nombre de tests réalisés et des modalités d'interprétation des résultats. Chacune des équipes a développé, mis au point et validé sa propre procédure.

La majorité des études (30 études) a été réalisée sur des femmes RH:-1 (D négatif) non immunisées. L'âge gestationnel de la détermination du RH1 fœtal était très variable selon les études.

La majorité des études a couvert les 3 trimestres de grossesse, les résultats ont montré des sensibilités et spécificités supérieures à 95 % pour 22 études, avec pour 15 études 100% de sensibilité et de spécificité.

Huit études, dont 6 effectuées sur des échantillons de moins de 25 femmes, ont rapporté des résultats de sensibilité et spécificité au 1^{er} trimestre. Une seule étude a été réalisée spécifiquement au 1^{er} trimestre de la grossesse et comportait 106 patientes RH:-1 prélevées entre 8 et 14 SA. La sensibilité et la spécificité étaient chacune de 100 %. Une autre étude, réalisée sur un échantillon de 104 femmes, a rapporté une sensibilité de 97,8 % et une spécificité de 92,3 %, avec un résultat faussement positif et 2 résultats faussement négatifs qui concernaient des prélèvements effectués entre 9-11 SA.

La bibliographie décrivant l'impact clinique de la détermination du génotype *RHD* fœtal est très pauvre. Quatre publications ont décrit l'utilisation à large échelle du génotypage fœtal *RHD*. Toutes sauf une ont utilisées plusieurs exons, et certaines ont mis en place plusieurs niveaux de tests pour améliorer la fiabilité et l'obtention des résultats. Ces auteurs ont

considéré que ces tests amélioreraient la prise en charge des grossesses des femmes RH:-1 (D négatif).

Au total, les données de la littérature ont montré des performances satisfaisantes, toutefois les études présentaient des faiblesses méthodologiques qui limitent leur portée : population non définie ou parfois très sélectionnée, absence d'indication sur le nombre de tests non concluants, modalités d'interprétation des tests mal décrites, en particulier lorsque plusieurs exons étaient testés.

Néanmoins, les différentes publications portant sur des contrôles de qualité externe réalisés tous les deux ans par un groupe de travail de *l'International Society of Blood Transfusion* ont apporté des informations qui permettent d'étayer les résultats favorables sur la performance, présentés dans les différentes séries publiées.

Sur la base des seules études publiées, il n'apparaît pas possible de définir une stratégie diagnostique en termes d'âge gestationnel de réalisation, de conduite à tenir en cas de résultat négatif à l'issue d'une première détermination, de nécessité d'une réalisation d'un second test et de délai de recontrôle. Les résultats faussement négatifs ont des conséquences cliniques plus graves que les résultats faussement positifs, dont l'impact est soit l'injection inutile d'immunoglobulines, soit une surveillance plus lourde de la grossesse.

Position des membres du groupe de travail

Certains experts du groupe de travail ont souligné que la détermination du génotype fœtal *RHD* était réalisée en pratique clinique depuis plusieurs années.

Les experts du groupe de travail ont reconnu la faiblesse méthodologique des données publiées, et ont partagé les conclusions de l'analyse bibliographique.

Ils ont toutefois considéré que les procédures apparaissaient suffisamment valides et fiables pour les proposer en clinique, notamment pour les populations caucasiennes pour lesquelles les phénotypes RH:-1 sont liés à une délétion du gène *RHD*.

Pour les populations d'origine africaine ou afro-antillaise, l'identification des variants les plus fréquents apparaît possible par l'utilisation d'une association d'exons incluant notamment l'exon 5, et rendant la procédure acceptable dans cette population.

Les indications proposées de cette technique seraient :

- la prise en charge des grossesses des femmes RH:-1 (D négatif) non immunisées pour lesquelles le géniteur a été identifié RH:1 (rhésus D positif) ;
- la prise en charge des grossesses des femmes RH:-1 (D négatif) immunisées pour lesquelles le géniteur a été identifié RH:1 (D positif).

La détermination pourrait être réalisée à partir de 11 à 12 SA pour permettre sa réalisation à l'occasion du prélèvement des marqueurs sériques de trisomie 21, dans le cadre du dépistage combiné du premier trimestre et / ou précéder une biopsie de trophoblaste, acte invasif à risque d'allo-immunisation.

Par mesure de prudence, le groupe de travail a préconisé, dans l'attente des résultats de l'étude GENIFERH, la réalisation d'une seconde détermination 15 jours plus tard si le premier test a donné un résultat négatif. Enfin, lorsque le résultat des tests reste ininterprétable, le fœtus doit être considéré comme RH:1.

L'interprétation des résultats discordants doit, selon le groupe de travail, s'appuyer, autant que de besoin, sur l'expertise du Centre national de référence en hématologie périnatale, qui jugera de l'opportunité de poursuivre les investigations.

Le groupe de travail a largement insisté sur l'impact organisationnel de la généralisation de la détermination du génotype fœtal *RHD* sur sang maternel. L'Agence de la Biomédecine

agréés les professionnels de santé, et les laboratoires sont agréés par les ARS. Il a été rappelé que la mise à disposition de trousse diagnostiques CE ne dispensait pas l'équipe d'une validation de tout le processus de PCR. La réalisation de ces tests nécessite un matériel adapté et une équipe connaissant parfaitement l'immuno-hématologie et la génétique du système rhésus.

En plus de l'accréditation des laboratoires prévue par les ordonnances n° 2010-49 du 13 janvier relatives à la biologie médicale, la mise en place d'un contrôle de qualité externe a été jugé indispensable par les membres du groupe de travail.

Conclusion

La détermination prénatale du génotype fœtal *RHD* à partir du sang maternel présente un intérêt en pratique clinique dans les deux indications suivantes :

- la prise en charge des grossesses de femmes RH:-1 (D négatif) dans le cadre de l'immunoprophylaxie, pour cibler les populations devant bénéficier d'immunoglobulines anti-RH1 ;
- en cas d'immunisation, la sélection des femmes RH:-1 (D négatif) devant bénéficier d'un suivi spécialisé et lourd.

Les données disponibles indiquent que le test peut être raisonnablement proposé à partir de 11 SA.

Si les performances cliniques, données de sensibilité et de spécificités, ont été jugées satisfaisantes (supérieures à 95 %) dans une majorité d'études, des erreurs de détermination, résultats faussement négatifs ou faussement positifs sont possibles.

Les conséquences cliniques d'un résultat faussement négatif sont majeures, tout particulièrement chez la femme enceinte RH:-1 (D négatif) déjà immunisée. Dans cette situation, la grossesse ne bénéficierait pas d'une surveillance spécialisée, destinée à identifier et à prendre en charge une anémie fœtale potentiellement sévère.

Ainsi, par mesure de prudence, lorsque le résultat d'une première détermination est négatif, il apparaît nécessaire d'effectuer un second prélèvement 15 jours plus tard pour confirmer le résultat.

Les résultats faussement positifs ont moins d'impact clinique, ils entraînent soit un traitement par immunoglobulines anti-RH1 inutile, soit une surveillance spécialisée injustifiée de la grossesse.

Le respect d'exigences techniques apparaît déterminant pour garantir la performance du test.

La mise en place systématique d'un contrôle de qualité interne d'extraction et d'amplification de l'ADN est indispensable pour limiter les résultats faussement négatifs.

Par ailleurs, dans les populations africaines, le phénotype RH:-1 est lié à l'existence de gènes variants non fonctionnels, comme le pseudogène *RHDΨ*. Dans ce cas, l'identification du gène *RHD* par l'amplification d'un seul exon ne suffit pas pour déduire correctement le phénotype à partir du génotype, contrairement aux populations caucasiennes ou asiatiques, chez lesquelles le phénotype RH:-1 est majoritairement lié à une délétion du gène *RHD*.

La détection, par PCR du pseudogène *RHDΨ* notamment, permettrait de réduire le nombre de faux positifs et d'améliorer la spécificité de la détermination. Lorsque les résultats sont discordants ou difficiles à interpréter, il apparaît nécessaire de s'appuyer sur l'expertise d'un laboratoire hautement spécialisé, comme le Centre national de référence en hématologie périnatale (CNRHP). Enfin, la mise en œuvre d'un contrôle de qualité externe est recommandée.

Le groupe de travail a particulièrement insisté sur la nécessité de disposer de compétence et expérience dans le domaine de l'immuno-hématologie et de génétique du système rhésus ainsi que d'une parfaite connaissance des techniques de biologie moléculaire appliquées aux groupes sanguins, pour réaliser ce test. Il a par ailleurs rappelé l'importance de la concertation entre les laboratoires et les cliniciens pour le suivi de ces grossesses.

Cette activité entre dans le champ du diagnostic prénatal, et les laboratoires font l'objet d'une déclaration annuelle d'activité à l'Agence de la Biomédecine. Il serait souhaitable que ce bilan intègre le nombre de tests réalisés en fonction de l'indication (prophylaxie ou suivi de grossesse), la technique utilisée, le nombre de seconde détermination, les incidents ou difficultés techniques rencontrés.

Cette évaluation ne permet pas de préciser plus avant l'ensemble de la stratégie diagnostique. Les résultats de l'étude GENIFERH, réalisée dans le cadre d'un projet STIC³, apporteront des informations complémentaires sur les conditions de réalisation de ce test et sur sa performance en pratique clinique courante. Il apparaît toutefois important de poursuivre la recherche visant à optimiser la performance du test, notamment à éviter les résultats faussement négatifs (validation de témoins d'ADN fœtal par exemple).

À l'issue de l'étude GENIFERH, une actualisation de la présente évaluation intégrant l'ensemble des données disponibles pourra être envisagée.

Les résultats de la présente évaluation apportent des éléments qui permettront d'actualiser la stratégie de prise en charge clinique des grossesses de femmes RH:-1 (D négatif).

³ STIC : Soutien aux Techniques Innovantes et Coûteuses.

CONCLUSION SUR LE SA ET L'ASA

Compte tenu de l'argumentaire et de la conclusion du rapport d'évaluation « Détermination du génotype *RHD* fœtal à partir du sang maternel » (janvier 2011) dont le texte court figure ci-dessus, la HAS a estimé le SA du test de détermination du génotype *RHD* fœtal suffisant dans les 2 indications suivantes :

- la prise en charge des grossesses des femmes RH:-1 (D négatif) non immunisées, pour lesquelles le géniteur présumé est identifié RH:1 (D positif) ;
- la prise en charge des grossesses des femmes RH:-1 (D négatif) immunisées, pour lesquelles le géniteur présumé est identifié RH:1 (D positif).

L'ASA de cet acte est estimée à 3 (modérée). La détermination du génotype *RDH* fœtal permet :

- de limiter le recours aux immunoglobulines anti-RH1 aux seules grossesses qui relèvent de cette immunoprofylaxie ;
- d'adapter les modalités de surveillance des grossesses des femmes RH:-1 (D négatif) déjà immunisées, en ne réservant un suivi lourd et spécialisé qu'aux seules grossesses qui le nécessitent.

Ce test est moins invasif que la détermination du groupe sanguin fœtal par ponction de sang fœtal (test d'agglutination) ou que la réalisation du génotypage sur liquide amniotique : ces gestes invasifs, étant notamment susceptibles de provoquer ou d'aggraver l'augmentation du titre des anticorps et une immunisation maternelle en favorisant les hémorragies fœto-maternelles.

AVIS DE LA HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

<i>Libellé transmis pour évaluation :</i>	Détermination prénatale du rhésus D fœtal à partir du sang maternel.
<i>Libellé proposé par la HAS :</i>	Détermination prénatale du génotype <i>RHD</i> fœtal à partir du sang maternel.
<i>Classement NABM :</i> non classé	<i>Code :</i> non codé.
<i>Date de l'avis :</i> 26 janvier 2011.	

Le **service attendu** est considéré **suffisant**. Par conséquent, l'**avis de la HAS** sur l'inscription de l'acte à la liste des actes prévue à l'article L. 162-1-7 du Code de la sécurité sociale est **favorable**.

1. Indications principales

- la prise en charge des grossesses de femmes RH:-1 (D négatif) non immunisées pour lesquelles le géniteur présumé est RH:1 (D positif) ;
- la prise en charge des grossesses de femmes RH:-1 (D négatif) immunisées pour lesquelles le géniteur présumé est RH:1 (D positif).

2. Gravité de la pathologie

L'allo-immunisation fœto-maternelle est à l'origine d'anémies fœtales et néonatales ou d'ictères néonataux graves.

3. Caractère préventif, curatif ou symptomatique de la technique

La technique assure deux approches selon que la femme enceinte RH:-1 est ou non immunisée. La détermination peut être réalisée en vue d'une action :

- prophylactique donc en préventif chez les femmes non immunisées ;
- thérapeutique pour ajuster les modalités de prise en charge et de surveillance chez les femmes immunisées.

4. Place dans la stratégie thérapeutique

Une fois établi, le statut d'immunisation des femmes enceintes RH:-1 (D négatif) pour lesquelles le géniteur présumé est RH:1, ce test permet d'envisager les modalités de prise en charge et de suivi en ciblant :

- la population de femmes enceintes RH:-1 non immunisées relevant d'une injection d'immunoglobulines anti-RH1 ;
- les femmes enceintes RH:-1 immunisées devant faire l'objet d'une prise en charge et d'un suivi spécialisés lourds.

5. Amélioration du service attendu

Modéré (III).

6. Population cible

Le nombre de réalisations de ce test serait compris entre 150 000 et 180 000 par an pour une première détermination, auquel il convient d'ajouter une seconde détermination en cas de première détermination négative, estimée entre 58 000 et 70 000 par an (correspondant au nombre de femmes RH:-1 enceintes de fœtus RH:-1).

7. Modalités de mise en œuvre

Détermination par technique de PCR, actuellement la PCR en temps réel est réalisée à partir du sérum ou du plasma maternel recueilli sur prélèvement veineux.

Les séquences géniques amplifiées en France sont une combinaison d'exons 7 et 10 ou exon 10 isolé⁴.

La réalisation d'un second test sanguin de détermination est jugée nécessaire à 15 jours lorsque le résultat du premier test était négatif.

La première détermination peut être réalisée à partir de 11 SA et jusqu'à 28 SA.

8. Exigence de qualité et de sécurité

Ce test doit être réalisé conformément à la réglementation en vigueur en matière de diagnostic prénatal, par un laboratoire et un personnel agréés.

Les équipes réalisant ce test doivent être formées, avoir une expertise dans le domaine de l'immunohématologie et de la génétique des groupes sanguins ainsi qu'une parfaite connaissance des techniques de biologie moléculaire appliquées aux groupes sanguins.

La validité analytique du test, pratiqué par le laboratoire agréé, doit être établie selon le GBEA⁵.

Un contrôle de qualité externe devrait être mis en place.

9. Objectifs des études complémentaires et recueils correspondants d'informations

Il serait souhaitable de mettre en place un suivi très précis de recours à ces tests :

- indications (prophylaxie, suivi) ;
- nombres de seconde détermination ;
- nombre de résultats discordants / concordants entre les deux déterminations ;
- échecs techniques.

La déclaration des activités annuelles des laboratoires à l'Agence de Biomédecine pourrait comprendre : le nombre de tests en fonction de l'indication prophylactique ou curative, le nombre de déterminations par grossesse, la technique utilisée, les incidents ou difficultés rencontrés.

10. Réalisation de l'acte soumise à l'accord préalable du service médical en application des dispositions prévues par l'art. L. 315-2.

La HAS ne se prononce pas sur ce point pour cet acte.

11. Motif de proposition de modification de libellé

Application de la nomenclature des systèmes des groupes sanguins en vigueur.

⁴ Une nouvelle trousse intégrant 3 exons 7, 5 et 10, devrait être commercialisée en mars 2010.

⁵ GBEA : Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale.



Toutes les publications de la HAS sont téléchargeables sur
www.has-sante.fr