P-140

ETUDE SUR 7 ANS DU PROGRAMME D'EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE (EEQ) POUR LE GENOTYPAGE *RHD* FOETAL NON INVASIF

N. Da Silva[3], S. Huguet-Jacquot[3], C. Toly-Ndour[3], H. Delaby[3], J. Beaud[3], J. Babinet[3], I. Anglard[1], A. Vassault[1], M. Vaubourdolle[2], A. Mailloux[3]

1. ASQUALAB - Bâtiment Leriche – 8 rue Maria Helena Vieira Da Silva - 75014-Paris, FRANCE
2. DMU BioGeM – AP-HP.SorbonneUniversité - Site Saint-Antoine – 184 rue du Faubourg St Antoine – 75012 – PARIS, France
3. Service d'Hémobiologie fœtale et périnatale - Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale (CNRHP), Hôpital Saint-Antoine, AP-HP, 72012 Paris, France

Contexte : **De nos jours, le génotypage *RHD* fœtal non invasif est un examen clef dans le suivi des grossesses des femmes RH:-1. Un génotypage *RHD* fœtal positif permet de diagnostiquer une incompatibilité fœto-maternelle chez une femme enceinte allo-immunisée anti-RH1 et donc de légitimer un suivi biologique et clinique lourd. Chez les femmes RH:-1 non allo-immunisées, un fœtus trouvé *RHD* négatif permet d'éviter la prophylaxie Rhésus par injection IgRH d'origine humaine. Depuis l'intégration de ce test dans le suivi obstétrical des femmes RH:-1 enceinte, le nombre de laboratoire de biologie médicale le réalisant n'a cessé d'augmenter. En 2010, il est paru essentiel pour le CNRHP, au vu de ses missions et de son expérience de plus de 10 ans dans le domaine, de proposer aux laboratoires un programme d'évaluation externe de qualité (EEQ). En 2015, l'organisation de ce programme de EEQ a été transfère chez ASQUALAB. Le but de cette présentation est d'exposer les résultats de ce programme depuis sa prise en charge par un organisme spécialisé et certifié ISO 9001.**

Matériels et méthodes : **3 types de spécimen ont été préparés pour des résultats attendus positif, négatif et indéterminé. Les EEQ positifs ont été fabriqués a partir de plasma de donneur RH:-1 par délétion totale du gène *RHD* enrichi avec du plasma de patient *RHD* positif afin de mimer la présence d'ADN fœtal à différent âge gestationnel. Les EEQ négatifs correspondent uniquement à du plasma de donneur RH:-1 par délétion totale du gène *RHD*. Les EEQ indéterminés proviennent soit de plasma de donneur *RHD* positif pour mimer la présence d'un variant silencieux maternel, soit de plasma de donneur RH-1 par délétion totale du gène *RHD* enrichi avec du plasma de donneur possédant un variant *RHD*. Après validation de la préparation par le CNRHP, les échantillons accompagnés d'un contexte clinique ont été envoyés aux laboratoires participants avec un formulaire de réponse à compléter concernant 1) le matériel et la méthode utilisés et 2) les résultats quantitatifs et qualitatifs ainsi que les conseils clinico-biologiques associés.**

Résultats : **16 campagnes semestrielles de 2 EEQ ont été organisées depuis 2015 avec un nombre croissant de laboratoires participants de 7 en 2015 à 15 en 2022 (figure 1). Chaque année, le taux de réponse annuel est de 100%. Les résultats sont pour la plupart justes: 91% des laboratoires ont une note de A (tableau 1 et 2) bien qu'ils utilisent des protocoles d'extraction et d'amplification différents (figures 2). Tous les laboratoires ont utilisé la PCR en temps réel avec la technologie TaqMan sauf un laboratoire qui utilise la technologie HRM. Tous les laboratoires ont concluent le génotypage fœtal à partir de l'amplification d'au moins 2 cibles du gène *RHD* à partir d'un kit CE IVD ou d'une technique maison.**

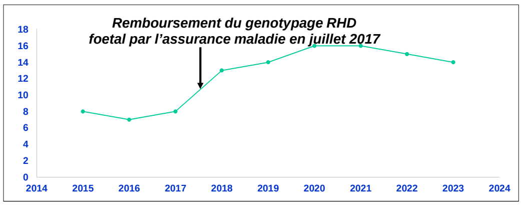
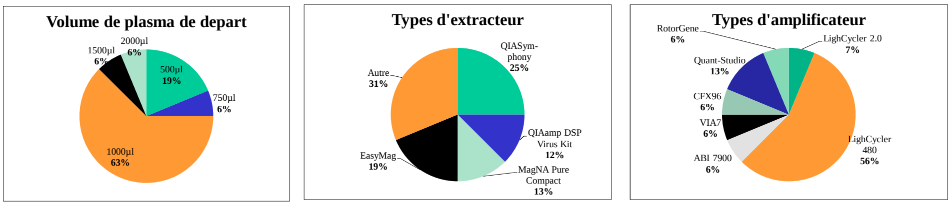


Figure 1 : Evolution du nombre de laboratoires participant à EEQ de génotypage *RHD* fœtal non invasif au cours des années



Figures 2 : Répartitions des différents matériels et méthodes utilisés par les laboratoires réalisant de génotypage *RHD* fœtal non invasif

Année	2015				2016				2017				2018			
N°CQE	15P1	15P2	15P3	15P4	16P1	16P2	16P3	16P4	17P1	17P2	17P3	17P4	18P1	18P2	18P3	18P4
variant RHD fœtal	D-CE(4-7)-D		positif	positif			positif	positif		positif		positif		positif	positif	
variant RHD maternel	délété	délété	délété	délété	délété	délété	délété	délété	positif	délété	délété	délété	délété	délété	délété	délété
Génotypage attendu	Inint ou RHD -	RHD -	RHD +	RHD +	RHD -	RHD -	RHD +	RHD +	Inint.	RHD +	RHD -	RHD +	RHD -	RHD +	RHD +	RHD -
Laboratoire 1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Laboratoire 2	A	B							A	A	A	A	A	A	A	A
Laboratoire 3																
Laboratoire 4															A	B
Laboratoire 5													A	A	A	A
Laboratoire 6																
Laboratoire 7																
Laboratoire 8	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Laboratoire 9	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A
Laboratoire 10	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Laboratoire 11	B	A														
Laboratoire 12													A	A	A	A
Laboratoire 13																
Laboratoire 14													B	A		
Laboratoire 15																
Laboratoire 16																
Laboratoire 17																
Laboratoire 18																
Laboratoire 19	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Laboratoire 20															A	A
Laboratoire 21	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Laboratoire 22							A	A	C	A	A	A	B	A	A	A
Notes A	62,5%	87,5%	66,7%	100%	100%	100%	100%	100%	87,5%	100%	100%	100%	72,7%	100%	100%	91,7%
Notes B	37,5%	12,5%	33,3%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	27,3%	0%	0%	8,3%
Notes C	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	12,5%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Notes D	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

Année	2019				2020				2021				2022			
N°CQE	19P1	19P2	19P3	19P4	20P1	20P2	20P3	20P4	21P1	21P2	21P3	21P4	22P1	22P2	22P3	22P4
variant RHD fœtal		positif	positif	positif	*Dpsi*			positif		positif		positif	positif	positif	*Dpsi*	
variant RHD maternel	positif	délété	délété	délété	délété	délété	positif	délété	délété	délété	délété	délété	*Dpsi*	délété	délété	délété
Génotypage attendu	Inint.	RHD +	RHD +	RHD +	Inint. ou RHD -	RHD -	Inint.	RHD +	RHD -	RHD +	RHD -	RHD +	Inint. ou RHD +	RHD +	Inint. ou RHD -	RHD -
Laboratoire 1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Laboratoire 2	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	C	A	B	A	A
Laboratoire 3					A	A	D	A								
Laboratoire 4	A	A	A	A	A	A	D	A								
Laboratoire 5	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Laboratoire 6			A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	D	A
Laboratoire 7					A	B	D	A	A	A	B	B	A	B	A	A
Laboratoire 8	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Laboratoire 9	D	B	A	A	D	A	A	B	A	A	A	A				
Laboratoire 10	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A
Laboratoire 11																
Laboratoire 12	A	A	A	A	A	A	A	A								
Laboratoire 13									A	A	A	A	A	A	A	A
Laboratoire 14																
Laboratoire 15	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	D	A	A	A	A
Laboratoire 16																
Laboratoire 17													A	A	A	A
Laboratoire 18													A	A	D	D
Laboratoire 19	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A
Laboratoire 20	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A
Laboratoire 21	A	A	A	A	A	A	A	A	D	A	B	A	A	A	D	A
Laboratoire 22	D	A	A	A	D	A	D	B	A	A	B	A	D	A	D	A
Notes A	84,6%	92,3%	100%	100%	87,5%	93,8%	75,0%	81,3%	92,9%	100%	78,6%	71,4%	86,7%	86,7%	73,3%	93,3%
Notes B	0%	7,7%	0%	0%	0%	6,3%	0%	18,8%	0%	0%	21,4%	14,3%	6,7%	13,3%	0%	0%
Notes C	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	7,1%	0%	0%	0%	0%
Notes D	15,4%	0%	0%	0%	12,5%	0%	25,0%	0%	7,1%	0%	0%	7,1%	6,7%	0%	26,7%	6,7%

Tableau 1 : Evaluation des résultats : A = réponse juste et conseil clinico-biologique appropriés, B = réponse juste et des conseils clinico-biologiques inappropriés, C = réponse juste avec un écart analytique de CV>10% sur les Ct et des conseils clinico-biologiques appropriés, D = réponse erronée

Notes A	89%
Notes B	6%
Notes C	1%
Notes D	4%

Tableau 2 : Résultats globaux

Quelques laboratoires (6% des résultats) émettent des conseil clinico-biologiques erronés malgré un résultat analytique juste (note B).

4% des résultats sont erronés et correspondent à une note D. Plus de 81% des notes D concernent des EEQ indéterminés à cause de la présence de variants maternels ou fœtaux non dépistés. 2 laboratoires ont donnés des faux positif car la méthode utilisée ne détecte pas les variants maternels interférant avec l'analyse. Ces résultats ne sont pas limités aux EEQ et ces laboratoires rendent aussi des génotypage *RHD* fœtaux non invasif faux positifs chez les patientes.

Conclusion : **L' EEQ proposé répond aux critères requis pour évaluer les pratiques des laboratoires réalisant le génotypage *RHD* fœtal non invasif. Dans l'idéal, cette EEQ devraient être un plasma maternel issu d'une grossesse mono-fœtal. Dans la pratique, la collecte ou la confection d'un tel CQE n'est pas envisageable. L'ajout d'un critère d'évaluation sur les conseils clinico-biologiques permet d'harmoniser l'étape post-analytique et de mettre en valeur les laboratoires donnant des conseils adaptés pour la prévention de l'anémie fœtale ou néonatale.**