

Recommandations du groupe de travail GFHT pour l'harmonisation des pratiques des laboratoires d'immunologie plaquettaire pour le diagnostic biologique et la prise en charge de la thrombopénie fœtale/néonatale par allo-immunisation fœto-maternelle plaquettaire (TAIFM)

Version 1.0 – 11/02/2022

Ce document a pour objectif de proposer des recommandations de bonnes pratiques biologiques et des outils pour une prise en charge harmonisée des patientes, et une meilleure transmission de l'information pour le suivi des grossesses futures.

Il est destiné aux cliniciens, biologistes médicaux, techniciens impliqués dans le diagnostic et la prise en charge des TAIFM.

Groupe de travail :

Groupe Français d'Etudes sur l'Hémostase et la Thrombose (GFHT) / Groupe de travail en immunologie plaquettaire / Sous-groupe « Allo-immunisation fœto-maternelle plaquettaire » (AIFM).

Rédactrices :

Dr Marie Audrain Laboratoire immunologie - CHU NANTES marie.audrain@chu-nantes.fr

Dr Virginie Renac Laboratoire immunogénétique-histocompatibilité / immunologie plaquettaire - EFS RENNES virginie.renac@efs.sante.fr

Relecteurs :

Dr Anthony Atallah Hôpital Femme Mère Enfant, MFM - CHU de Lyon anthony.atallah@chu-lyon.fr

Dr Laure Croisille Laboratoire HLA-ILP - EFS CRETEIL-Ile de France laure.croisille@efs.sante.fr

Pr Yesim Dargaud Unité d'hémostase clinique – CHU de Lyon gamze-yesim.buzluca-dargaud@univ-lyon1.fr

Dr Arnaud Dupuis Laboratoire HLA/HPA – EFS Grand Est arnaud.dupuis@efs.sante.fr

Dr Catherine Gianolli Laboratoire HLA/HPA - EFS AURA Lyon Catherine.Gianolli@efs.sante.fr

Dr Camille Humeau Laboratoire d'histocompatibilité et d'immunogénétique - EFS Centre Pays de Loire- Site de Tours camille.humeau@efs.sante.fr

Pr Laurent Macchi Laboratoire d'Hématologie Biologique - CHU POITIERS laurent.macchi@chu-poitiers.fr

Dr Yves Mérieux Laboratoire HLA/HPA - EFS AURA Lyon yves.merieux@efs.sante.fr

Dr Rachel Petermann UF Biologie CNRHP Hôpital St Antoine PARIS : rachel.petermann@aphp.fr

Dr Christophe Picard Laboratoire d'immunogénétique et d'histocompatibilité – Marseille - EFS Provence Alpes Côte d'Azur et Corse christophe.picard@efs.sante.fr

Dr Rachel Weichlein laboratoire d'hémostase EFS Bourgogne Franche Comté Besançon rachel.weichlein@efs.sante.fr

Méthodologie :

La proposition de rédiger ce document a été portée par les rédactrices lors d'une réunion du groupe de travail pré-cité. Des membres du groupe se sont proposés comme relecteurs. A la suite d'une première version, 3 réunions avec les relecteurs ont eu lieu. Le document a ensuite été proposé à l'ensemble des membres du groupe. En dernier lieu, une enquête a été réalisée pour répondre à certaines questions, comme les délais de résultats attendus, la fréquence de contrôle des anticorps, la validation des annexes et la diffusion du document. Les annexes 4, 5 et 6 ont été validées respectivement par 86, 71 et 86% des 14 membres du groupe qui ont répondu à l'enquête. La diffusion du document a été approuvée par 79% des 14 membres. Certains points (comme le pré-analytique) n'ayant pas fait l'objet de consensus ne sont pas abordés, ils devront donner lieu à un complément. Ce document sera révisé régulièrement, en fonction de l'évolution des pratiques.

Diffusion :

- *Groupe Français d'études sur l'Hémostase et la Thrombose (GFHT)*
- *Société Française de Transfusion Sanguine (SFTS)*
- *Société Francophone d'Immunogénétique et d'Histocompatibilité (SFHI)*
- *Membres du groupe de travail TAIFM du GFHT*

SOMMAIRE

I. RAPPELS SUR LA THROMBOPENIE FCETALE/NEONATALE PAR ALLO-IMMUNISATION FOETOMATERNELLE PLAQUETTAIRE (TAIFM)	5
II. DOCUMENTS DE RÉFÉRENCE	7
III. EXIGENCES RÉGLEMENTAIRES FRANCAISES POUR LA RÉALISATION DES EXAMENS BIOLOGIQUES D'UN BILAN DE TAIFM	8
A. HABILITATION DU PERSONNEL	8
B. AUTORISATION DU LABORATOIRE	8
IV. RECOMMANDATIONS POUR LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE TAIFM	9
A. RECOMMANDATIONS GÉNÉRALES.....	9
1. ÉTAPES PRÉ-ANALYTIQUES	9
1.1 Réception de l'échantillon	10
1.2 Consentement et attestation d'information (modèle en annexe 1)	10
1.3 En cas d'absence de consentement et/ou d'attestation d'information	11
1.4 Deux déterminations ?	11
1.5 Conservation des échantillons entre le prélèvement et la réalisation de l'examen	11
2. ÉTAPES ANALYTIQUES.....	11
2.1 Dépistage et identification d'anticorps anti-plaquettes : quelle méthode utiliser ?	11
2.1.1 Méthodes de dépistage avec plaquettes.....	12
2.1.2 Méthodes spécifiques et/ou d'identification	13
2.1.2.1 MAIPA (monoclonal antibody specific immobilization of platelet antigens)	13
2.1.2.2 ELISA	14
2.1.2.3 Luminex	15
2.1.2.4 Autres techniques.....	15
2.2 Typage plaquettaire : quelle méthode utiliser ?	15
2.2.1 Génotypage HPA.....	15
2.2.2 Phénotypage HPA	16
2.3 Contrôles de qualité	17
3. ÉTAPES POST-ANALYTIQUES.....	17
3.1 Interprétation du résultat et compte-rendu (CR)	17
3.2 Conseil biologique (cf annexe 4)	18
3.3 Délai de réalisation et transmissions des résultats	18
a. Délai de transmission de résultat	18
b. Transmission des résultats	19
c. Utilisation d'un résultat pour une autre pathologie	19
3.4 Archivage	20
3.5 Conservation des échantillons après réalisation des analyses	20
3.6 Facturation	20
B. RECOMMANDATIONS CLINICO-BIOLOGIQUES.....	21
1. CAS INDEX	21
1.1 Thrombopénie néonatale : bilan diagnostique biologique	21
1.2 Suspicion de thrombopénie chez le fœtus du fait d'une anomalie échographique ou MFIU avec suspicion d'allo-immunisation : Bilan diagnostique biologique	22
1.3 Enfant thrombopénique par AIFM : suivi biologique et prise en charge thérapeutique. 23	

**Recommandations pour l'harmonisation des pratiques des laboratoires d'immunologie plaquettaire – Version 1.0
- 2022 - Diagnostic biologique et prise en charge de la thrombopénie fœtale/néonatale par AIFM**

1.4 Suivi clinico-biologique de la mère en post-partum.....	23
2. GROSSESSES ULTERIEURES	23
2.1 Consultation préconceptionnelle avec ATCD maternels de TAIFM.....	24
2.2 Suivi biologique de la grossesse avec ATCD maternels de TAIFM.....	24
2.3 Conduite clinico-biologique chez la mère avec ATCD de TAIFM (cf. publication).....	25
2.4 Conduite à tenir chez le nouveau-né si ATCD de TAIFM (cf. publication).....	25
Liste des Annexes	26

I. RAPPELS SUR LA THROMBOPENIE FŒTALE/NEONATALE PAR ALLO-IMMUNISATION FOETOMATERNELLE PLAQUETTAIRE (TAIFM)

Les thrombopénies fœtales ou néonatales allo-immunes résultent de la destruction des plaquettes du fœtus ou du nouveau-né, suite au passage transplacentaire d'anticorps maternels (IgG), dirigés contre un ou des allo-antigène(s) plaquettaire(s) du fœtus, hérité(s) du père, et dont la mère est dépourvue. La thrombopénie, plus ou moins sévère, est présente dès la naissance, chez des nouveau-nés par ailleurs en bonne santé, et régresse spontanément ou après traitement. Ces thrombopénies peuvent aussi être responsables d'hémorragies avant la naissance et/ou découvertes devant des anomalies lors de l'échographie de grossesse.

Epidémiologie

L'incidence est estimée à 1 cas pour 800 à 1000 naissances (probablement sous-estimée en l'absence d'une numération plaquettaire systématique à la naissance).

Description clinique

Cette affection est considérée comme l'équivalent plaquettaire de la Maladie Hémolytique du Nouveau-Né (MHNN). Cependant contrairement à la majorité des MHNN, le premier enfant peut être atteint. Les symptômes de la maladie vont d'une thrombopénie sub-clinique modérée à une hémorragie potentiellement fatale en période fœtale/néonatale, survenant classiquement chez un enfant par ailleurs sain. Les enfants légèrement affectés peuvent être asymptomatiques. Chez les enfants souffrant d'une thrombopénie sévère, les manifestations les plus fréquentes sont les pétéchies, un purpura ou un hématome céphalique à la naissance, associés à un risque élevé d'hémorragies intracrâniennes (HIC) (jusqu'à 20% des cas publiés) à l'origine de décès ou séquelles neurologiques graves.

Le diagnostic peut également être posé en anténatal lors d'une échographie de contrôle lorsqu'il est suspecté des hémorragies, en particulier intracrâniennes.

Diagnostic biologique

La thrombopénie allo-immune survient le plus souvent de manière inattendue et est généralement diagnostiquée à la naissance. Le diagnostic est confirmé par la mise en évidence d'un ou plusieurs allo-anticorps maternels anti-plaquettes dirigés contre un ou des antigènes paternels dont l'enfant a hérité.¹

Il existe plusieurs systèmes plaquettaires impliqués dans la thrombopénie allo ou iso-immune. Le système HPA-1 (HPA : Human Platelet Antigen) est impliqué dans 80% des AIFM, et peut conduire chez les mères de génotype HPA-1bb à développer un anticorps

¹ Neonatal alloimmune thrombocytopenia: pathogenesis, diagnosis and management Peterson et al BJH 2013

anti-HPA-1a réputé le plus responsable de thrombopénies sévères et de HIC. Suivent les systèmes HPA-5 (15%) et HPA-3 (2%), puis des systèmes plus rares. Au total ce sont 35 systèmes plaquettaires qui ont été identifiés auxquels il faut rajouter le système CD36, responsable non pas d'une allo-immunisation mais d'une iso-immunisation chez des femmes dépourvues de CD36 (rare dans la population caucasienne, mais beaucoup plus fréquent dans les populations africaines et asiatiques).²

A noter, que les auto-anticorps maternels antiplaquettaires peuvent être responsables de thrombopénie néonatale chez le nouveau-né dont le nadir se situe vers J3-J4, mais classiquement sans complications hémorragiques majeures, avec une thrombopénie souvent moins profonde et régressive spontanément en 4 à 6 semaines.

A noter aussi que les plaquettes portent des antigènes HLA de classe I et des antigènes de groupe sanguin dont on ne sait pas dire avec certitude s'ils peuvent ou non être responsables d'une thrombopénie chez l'enfant et qui peuvent interférer dans les tests de recherche d'anticorps anti-HPA, notamment sur les tests cellulaires (exemple cross-match).

Diagnostic biologique, prise en charge et traitement

La prise en charge post-natale de la thrombopénie néonatale allo-immune peut s'appuyer sur la transfusion de plaquettes, HPA compatibles si possible si on a connaissance d'un antécédent d'AIFM chez la mère, du phénotype ou du génotype HPA-1, 3, 5 de la mère, ou en respectant la probabilité des immunisations générant les TAIFM. Elle ne doit pas être retardée par l'attente de confirmation du diagnostic biologique surtout en cas de thrombopénie sévère. Un diagnostic et un traitement rapides sont essentiels pour réduire les risques de décès et de séquelles liés à l'hémorragie. Des recommandations ont été publiées par le groupe de travail GFHT³ et par la HAS⁴.

Le bilan biologique d'immunologie plaquettaire permet d'objectiver une potentielle incompatibilité plaquettaire entre la mère et l'enfant, et d'identifier les spécificités des anticorps anti-plaquettes permettant d'affirmer l'étiologie de la thrombopénie (TAIFM) et de guider la prise en charge thérapeutique du nouveau-né. Ces examens permettront de cibler les phénotypes HPA des concentrés plaquettaires d'aphérèse (CPA) compatibles à transfuser si besoin. A ce bilan peut être rajouté le groupe HLADRB3*01 :01 pour identifier les mères HPA1bb sans anticorps identifié à haut risque d'allo-immunisation.

Ces examens sont par ailleurs essentiels à l'émission des conseils médicaux biologiques pour la prise en charge maternelle (clinique et thérapeutique) des grossesses ultérieures. En effet, étant donné le risque de récurrence et d'aggravation de la thrombopénie lors de grossesses successives avec fœtus incompatible bien documenté pour l'allo-immunisation anti-HPA-1a, une thérapie anténatale peut être proposée lors d'une nouvelle grossesse. Cependant, la prise en charge de ces grossesses à haut risque reste sujette à discussion.

²<https://www.versiti.org/medical-professionals/precision-medicine-expertise/platelet-antigen-database#hpa-database>

³ Management of neonatal thrombocytopenia in a context of maternal antiplatelet alloimmunization: Expert opinion of the French-speaking working group. G. Bertrand et al On behalf of the working group on fetomaternal platelet alloimmunization of the French Group of Thrombosis, Hemostasis (GFHT) Arch Ped 2019.

⁴ Transfusion de plaquettes : produits, indications Transfusion de plaquettes en néonatalogie HAS Octobre 2015 https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2015-11/fiche_de_synthese_-_transfusion_de_plaquettes_en_neonatalogie.pdf

Des recommandations ont été publiées par l'ICTMG⁵ et adaptées au contexte national par le groupe de travail GFHT⁶ (publication en cours).

Selon les incompatibilités et les spécificités des anticorps identifiés et leur implication dans la gravité de la thrombopénie, les examens biologiques guideront la prise en charge de la future grossesse : une surveillance de l'apparition de ces anticorps, voire une quantification des anticorps les plus dangereux, pour une aide à la mise en place des thérapeutiques adaptées.

II. DOCUMENTS DE RÉFÉRENCE

- Norme NF EN ISO 15189
- Standards EFI (European Federation for Immunogenetics) version en vigueur <https://efi-web.org/committees/standards-committee>
- Brochure d'information de la patiente⁷

Documents de référence pour la France :

- Décret n°2008-321 du 4 avril 2008 relatif à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne ou à son identification par empreintes génétiques à des fins médicales
- Décret n°2013-527 du 20 juin 2013 relatif aux conditions de mise en œuvre de l'information de la parentèle dans le cadre d'un examen des caractéristiques génétiques à finalité médicale
- Arrêté du 27 mai 2013 définissant les règles de bonnes pratiques applicables à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales
- Règles des bonnes pratiques en génétique constitutionnelle à des fins médicales (Hors diagnostic prénatal) HAS-ABM
- Délibération du CO 2020-02 : Modifications des critères d'agrément en génétique à titre dérogatoire pour la réalisation des typages HPA et pour le DPI
- https://www.agencebiomedecine.fr/IMG/doc/20200925modele_dossier_agrement_genetique.doc
- Document SH REF 02 COFRAC « Exigences pour l'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189 version en vigueur
- Recommandations Professionnelles de l'Association Nationale des Praticiens de Génétique Moléculaire (ANPGM)

⁵ *Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: recommendations for evidence-based practice, an international approach.* Lieberman L et al. *British J of Haematology*, 2019, 185, 549-562

⁶ *Publication en cours*

⁷ *Disponible sur : <https://site.geht.org/docutheque/THROMBOPÉNIE NÉONATALE PAR ALLO-IMMUNISATION PLAQUETTAIRE FŒTO-MATERNELLE> - Brochure d'information à destination des parents (version Mai 2021)*

III. EXIGENCES RÉGLEMENTAIRES FRANÇAISES POUR LA RÉALISATION DES EXAMENS BIOLOGIQUES D'UN BILAN DE TAIFM

En France, les examens biologiques d'immunologie plaquettaire réalisés dans le cadre d'un bilan de TAIFM doivent respecter la réglementation en vigueur et la norme ISO 15189.

La réalisation du génotypage HPA dans le cadre de la TAIFM, est considérée comme un examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales et répond donc aux exigences du *décret n°2008-321 du 4 avril 2008* qui définit les conditions d'autorisations des praticiens et laboratoires pour réaliser ces examens.

Le génotypage HPA fœtal doit être réalisé par un laboratoire agréé pour la réalisation des examens prénataux, nécessitant une autorisation spécifique délivrée par l'ARS (Agence Régionale de Santé).

A. HABILITATION DU PERSONNEL

Selon les textes réglementaires, le praticien signataire d'un résultat de génotypage plaquettaire chez le nouveau-né ou l'adulte doit avoir reçu l'agrément de l'Agence de la Biomédecine (ABM). Les agréments ABM liés au polymorphisme HPA autorisent la réalisation des analyses de génétique moléculaire en vue d'une utilisation limitée. L'agrément accordé est valable 5 ans. Un agrément spécifique est demandé pour le diagnostic prénatal.

Le dossier de candidature est disponible sur le site de l'ABM :

<https://www.agence-biomedecine.fr/Agrement-des-praticiens-du-diagnostic-genetique>

B. AUTORISATION DU LABORATOIRE

Le laboratoire doit être autorisé par l'Agence Régionale de Santé (ARS) compétente, en plus de l'accréditation nécessaire à tous les laboratoires de biologie médicale :

- L'agrément génétique du laboratoire doit être demandé à l'ARS dont il dépend, pour cela il faut remplir un dossier administratif. Le diagnostic prénatal fait l'objet d'un dossier spécifique.
- Lorsque le dossier est accepté, l'ARS informe le laboratoire par retour de courrier, qu'il a 6 mois pour demander une visite sur site afin d'obtenir l'autorisation.
- **Cette autorisation est à renouveler tous les 5 ans.**
- En cas de modifications majeures (exemple : locaux) une nouvelle visite doit être demandée.

L'activité de génotypage HPA du laboratoire, est demandée annuellement par l'Agence de la biomédecine par le biais du site Orphanet. L'agence de la biomédecine émet en retour un rapport d'activité en génétique postnatale, que les responsables des laboratoires doivent envoyer à leur ARS de tutelle.

IV. RECOMMANDATIONS POUR LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE TAIFM

En France, le laboratoire est soumis aux exigences de la loi de la biologie médicale et de la norme ISO 15189.

A noter que des recommandations européennes existent pour la réalisation des examens d'immunologie plaquettaire (standards EFI (European Federation for Immunogenetics)).

<https://efi-web.org/committees/standards-committee>

A. RECOMMANDATIONS GÉNÉRALES

1. ÉTAPES PRÉ-ANALYTIQUES

Des procédures et des documents sont mis à disposition du clinicien par le laboratoire pour indiquer :

- Le nombre et le type de tubes à prélever,
- Les examens à prescrire,
- Les documents pour la réalisation d'un examen de caractéristiques génétiques (consentement, attestation de consultation, modèle en annexe 1),
- Une fiche de renseignements cliniques (modèle en annexe 2),
- Une fiche de liaison (modèle en annexe 3).

1.1 Réception de l'échantillon

L'échantillon est accompagné du **bon de demande d'examen** précisant le **contexte clinique** et le **niveau d'urgence du résultat**. Une fiche de renseignement clinique détaillée est proposée en Annexe 2.

Le bilan d'allo-immunisation fœto-maternelle plaquettaire pour une prise en charge optimale, inclut le **génotypage des parents et de l'enfant né**. **Le consentement de chaque parent pour lui-même, ainsi que le consentement des parents pour l'enfant doivent être demandés**, ainsi que **l'attestation d'information du médecin prescripteur**. La réception des prélèvements peut être accompagnée d'une **fiche de liaison** permettant d'identifier tous les interlocuteurs destinataires d'un courrier de synthèse des résultats (Annexe 3).

Les prélèvements concernent les parents et l'enfant :

	Examens à réaliser - cotation	Volume conseillé	Conditions d'acheminement
Mère	Anticorps anti-plaquettes (code NABM 0162 et 0163) Test direct (auto-anticorps fixés sur les plaquettes) plus ou moins auto-cross match Génotypage HPA (code NABM 0160) +/-Phénotypage HPA (code NABM 0160)	Tube sec 10 mL + Tubes EDTA 20 mL	Température d'acheminement : Ambiante, +4°C si canicule Délai d'acheminement : optimal 48h Acceptable 72h Accompagner les tubes des éléments suivants : - prescription médicale - consentement (génotypage), - fiche de RC - fiche de liaison Evènements médicaux pouvant interférer avec la technique : transfusions, IV Ig, présence d'anti-HLA...
Père	Cross match avec sérum maternel plus ou moins test direct chez le père Génotypage HPA (code NABM 0160) +/-Phénotypage HPA (code NABM 0160)	Tubes EDTA 20 mL	
Enfant	Génotypage HPA (code NABM 0160)	Microtubes EDTA (1 à 3 mL)	

1.2 Consentement et attestation d'information (modèle en annexe 1)

En France, le génotypage HPA réalisé dans le cadre d'un diagnostic de TAIFM est soumis à la loi sur les examens des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales décret n° 208-321 du 4 avril 2008). Le consentement du patient et l'attestation d'information du médecin prescripteur sont obligatoires. L'attestation d'information doit être vérifiée par le laboratoire et lui permet de réaliser l'examen.

En cas de patient mineur ou majeur sous tutelle, le consentement est donné par les titulaires de l'autorité parentale ou par le tuteur.

Le laboratoire n'a pas d'obligation d'archiver le consentement et l'attestation d'information. C'est de la responsabilité du prescripteur.

1.3 En cas d'absence de consentement et/ou d'attestation d'information

Selon la loi, en l'absence du consentement et/ou d'attestation d'information du patient, ou bien en cas de document(s) non conforme(s), le laboratoire ne peut pas réaliser le génotypage ni pré-traiter l'échantillon (exemple : extraction d'ADN).

Le laboratoire informe rapidement le prescripteur pour récupérer les documents nécessaires. Il lui précise les délais de mise en quarantaine et la destruction du tube à l'expiration de ce délai si les documents n'ont pas été envoyés.

Le prélèvement est conservé selon la pratique et le délai validés par le laboratoire, (ex : un tube EDTA pour génotypage peut être conservé jusqu'à 1 mois à température ambiante avant extraction ou congélation).

Une information sur la mise en quarantaine est systématiquement faite par le laboratoire au prescripteur.

1.4 Deux déterminations ?

La réalisation de deux déterminations du génotypage HPA n'est pas requise pour ces examens, à l'exception du diagnostic prénatal. La traçabilité de l'échantillon doit garantir l'exactitude du résultat.

1.5 Conservation des échantillons entre le prélèvement et la réalisation de l'examen

Les conditions de conservation et de préparation des échantillons doivent être étudiées et écrites dans Chaque laboratoire au cours des validations de méthodes.

2. ÉTAPES ANALYTIQUES

2.1 Dépistage et identification d'anticorps anti-plaquettes : quelle méthode utiliser ?

Les techniques utilisables sont variées et laissées à l'appréciation de chaque laboratoire.

Il est indispensable lors de la recherche d'allo-anticorps maternels d'inclure un cross-match avec les plaquettes du père.

Il est recommandé de rechercher des auto-anticorps chez la mère par un test de détection des anticorps fixés ou par auto-cross-match.

Délai de réalisation attendu par le clinicien (à réception de l'échantillon) :

	Délai souhaité	Délai acceptable
Génotypage HPA père-mère-enfant	2 à 7	3 à 15
Phénotypage HPA-1a père-mère si réalisé	2 à 7	3 à 15
Test direct mère (auto-anticorps fixés sur les plaquettes maternelles)	7 jours	15 jours
Recherche des anticorps sériques chez la mère par cross-match avec les plaquettes du père	7 jours	15 jours
Recherche des anticorps sériques chez la mère sur des plaquettes de panel	7 jours	15 jours

Délais établis après enquête réalisée auprès des membres du groupe de travail (14 réponses). Les écarts observés pour les génotypages et phénotypages s'expliquent par la diversité de fonction des membres du groupe. Lorsqu'une prise en charge transfusionnelle est nécessaire le délai souhaité est de 2 jours, acceptable 3 jours.

2.1.1 Méthodes de dépistage avec plaquettes

Les méthodes globales permettent de préciser la présence ou absence d'anticorps fixés à la surface des plaquettes du patient, mais sans distinguer les "auto-anticorps anti-glycoprotéines" des complexes immuns circulants (récepteur Fc pour les IgG). Elles permettent aussi la détection d'anticorps sériques sans précision exacte de la cible de l'anticorps.

Cytométrie en flux : recherche d'anticorps sériques ou fixés. Les anticorps fixés sur les plaquettes du patient sont mis en évidence avec une anti- IgG humaine fluorescente, révélée par lecture avec un cytomètre en flux.

Les anticorps sériques sont recherchés en mettant en présence un panel de plaquettes de donneurs génotypés ou non (ou les plaquettes du père pour le cross-match) avec le sérum du patient, puis ajout d'une anti-IgG humaine fluorescente et lecture avec un cytomètre en flux.

Limites de la méthode : La technique permet de mettre en évidence la présence d'anticorps fixés sur les plaquettes du patient ou d'anticorps sériques dirigés contre les plaquettes mais sans identifier la cible de l'anticorps. Il peut s'agir d'anticorps anti-plaquettes, anti-HLA ou ABO ou de complexes immuns, ou de fixation non spécifique sur des plaquettes altérées ou sur des globules blancs co-isolés avec les plaquettes. En pratique, le test de dépistage en CMF est suivi d'un test d'identification, que ce soit pour les anticorps fixés ou pour les anticorps sériques.

2.1.2 Méthodes spécifiques et/ou d'identification

2.1.2.1 MAIPA (Monoclonal Antibody-specific Immobilization of Platelet Antigens)

Le MAIPA est le « Gold standard » pour le dépistage et l'identification des allo-anticorps, des auto-anticorps, et des iso-anticorps anti-plaquettes.

Il permet également de réaliser le cross-match entre les plaquettes paternelles et le sérum maternel et ainsi mettre en évidence des anticorps de spécificités rares, voire spécifiques de nouveaux antigènes HPA.

Les cellules utilisées dans le MAIPA peuvent être des plaquettes de donneurs, les plaquettes du père, des plaquettes stabilisées ou lyophilisées, ou encore des lignées cellulaires exprimant des antigènes plaquettaires d'intérêt.

La technique repose sur la capture d'un antigène plaquettaire à l'aide d'anticorps monoclonaux de souris dirigés contre des glycoprotéines membranaires des plaquettes humaines et l'analyse de la fixation d'anticorps humains par une technique immuno-enzymatique (ELISA). Le choix de l'antigène plaquettaire capturé et de l'anticorps monoclonal de capture, ainsi que le choix du génotype du donneur de groupe O en font une technique d'identification précise des allo, auto ou iso-anticorps. Quand les incompatibilités mère-enfant ou mère-père sont connues, au moins une plaquette homozygote dans les systèmes plaquettaires incompatibles doit être testée.

Un seul kit commercial marqué CE est disponible à ce jour (apDia). Certains modules du kit peuvent être remplacés en fonction des besoins (plaquettes fraîches du conjoint à la place des plaquettes de panel du kit pour les crossmatch, autres anticorps monoclonaux pour la détection d'anti-CD36, anti-HPA-15 ou d'anti-antigènes privés)

La technique MAIPA « maison » utilisant des plaquettes fraîches, est particulièrement indiquée lorsque les antigènes suspectés d'être la cible des allo-anticorps sont des glycoprotéines fragiles ou des épitopes conformationnels nécessitant des plaquettes fraîches et le moins modifiées possibles (par exemple HPA-3 ou HPA-15) ou quand ces allo-antigènes ne sont pas présents ou performants dans les coffrets commerciaux (par exemple HPA-15).

La technique de MAIPA peut également être utilisée pour le phénotypage : utilisation de sérum avec anticorps connu pour identifier un antigène. Le CD36 à la surface des plaquettes peut être également détecté en MAIPA avec un anticorps monoclonal anti-CD36.

Limites de la méthode :

La difficulté technique réside dans la qualité des plaquettes, l'affinité des anticorps, la qualité de l'IgG monoclonale, la disponibilité de témoins positifs spécifiques.

La technique MAIPA «maison» peut poser des problèmes d'harmonisation des pratiques et compliquer l'accréditation de la technique.

Les réactions non spécifiques sont celles des allo-anticorps anti-HLA de classe I, et des anticorps anti-érythrocytaires. Pour ces derniers l'interférence est éliminée en utilisant des plaquettes de panel de groupe O. Un pré-traitement des plaquettes par la chloroquine peut permettre de s'affranchir des interférences liées aux anticorps anti-HLA (interférences pouvant être importantes en crossmatch, mais aussi vis-à-vis des plaquettes de panel).

L'adsorption du sérum maternel sur des globules rouges permet de supprimer les interférences liées aux anticorps anti-érythrocytaires (anti-A et/ou anti-B) naturellement présents selon les groupes sanguins des individus (interférence observée en crossmatch uniquement car les plaquettes des panels d'identification sont de groupe O).

2.1.2.2 ELISA

Les réactifs disponibles sont des kits commerciaux :

Dépistage auto-anticorps et allo-anticorps anti-glycoprotéines plaquettaires

Le coffret PakAuto (Immucor) est un **test qualitatif** qui permet de détecter par une technique ELISA les **auto-anticorps fixés** sur les plaquettes après élution, ainsi que les **anticorps présents** dans le sérum ou le plasma. Les différents puits contiennent les glycoprotéines IIbIIIa, IbIX et lalla. Il n'y a pas de puits de dépistage d'anticorps anti-HLA.

Après addition de l'échantillon (éluât, sérum ou plasma), la présence d'anticorps est révélée par l'addition d'une anti-Ig humaine marquée et mise en évidence par son substrat avec lecture de densité optique. Cette technique permet de déterminer la présence **d'un anticorps dirigé contre une glycoprotéine**.

Limites de la méthode :

Elle ne permet pas de faire la différence allo/auto anticorps et ne permet pas d'identifier la cible de l'anticorps. Ce coffret a un intérêt dans la détection des auto-anticorps mais n'est pas indiqué pour l'identification des allo-anticorps.

Identification allo-anticorps anti- HPA-1, -3, -5 et CD36

Le coffret PakPlus (Immucor) est un **test qualitatif** qui permet de détecter par une technique ELISA les **anticorps présents dans le sérum ou le plasma** dirigés contre des épitopes des glycoprotéines IIbIIIa, IbIX, lalla, GPIV, avec un puits de dépistage d'anticorps anti-HLA. Ces glycoprotéines sont purifiées et fixées par des anticorps monoclonaux. Elles proviennent de donneurs de groupe O et de génotype plaquettaire connu. Après addition de l'échantillon (sérum ou plasma), la présence d'anticorps est révélée par l'addition d'une anti-Ig humaine marquée et mise en évidence par son substrat avec lecture de densité optique. Cette technique permet de déterminer la présence d'anticorps dirigés contre un **allo-antigène plaquettaire dans les systèmes les plus courants (HPA-1, -3, -5 et CD36)**.

Limites de la méthode :

Il s'agit d'un test à la fois de « dépistage » et d'identification. Il permet pour certaines spécificités/glycoprotéines comme la GPIIbIIIa, la lalla ou encore CD36 une semi-identification ou une identification (HPA-1a/HPA-3a ou HPA-1b/HPA-3b, HPA-5a ou HPA-5b, anti-CD36). Cependant, concernant les systèmes HPA-2 (GPIbIX) et HPA-15, ce test est peu performant puisqu'il ne permet pas d'identifier les allo-anticorps anti-HPA-2 ni anti-HPA-15. Enfin, les allo-anticorps rares ne peuvent pas être mis en évidence avec cette technique.

2.1.2.3 Luminex

La technologie Luminex est basée sur le principe de la cytométrie en flux sur un support solide (microbilles). Chaque bille recouverte d'un antigène HPA est mise en contact avec le sérum. Un anticorps anti-IgG humaine, conjugué à la phycoérythrine (PE), se fixe sur les anticorps anti-plaquettes potentiellement accrochés aux billes. L'instrument Luminex analyse le mélange réactionnel à l'aide de deux lasers (un laser pour la fluorescence de la bille, un laser pour la fluorescence de l'anticorps PE). L'intensité du signal est comparée à l'intensité du signal contrôle négatif : 3 microbilles présentes dans le mélange réactionnel pour déterminer la positivité ou négativité vis-à-vis de l'antigène fixé sur la microbille.

Cette technique permet le dépistage et l'identification des allo-anticorps **anti-HPA-1, HPA-2, HPA-3, HPA-4, HPA-5 et GPIV (CD36)**.

Un seul fournisseur de kit est disponible à ce jour (PakLx, Immucor).

La sensibilité et spécificité sont proches de celle du MAIPA. **Cependant, un test négatif doit être vérifié par une seconde technique (MAIPA), en cas de forte suspicion clinique et d'incompatibilités plaquettaires identifiées**

Limites de la méthode :

Les anticorps anti-HPA-15 et les anticorps rares ne peuvent pas être mis en évidence avec cette technique. Le kit n'est pas conçu pour détecter les auto-anticorps anti-plaquettes.

En conclusion : Il est recommandé d'avoir plusieurs techniques disponibles au laboratoire ou d'avoir un partenariat avec un autre laboratoire pour les cas complexes.

2.1.2.4 Autres techniques

D'autres techniques comme le MACE (Modified Antigen Capture ELISA) ou le SASPA (Simultaneous Analysis of Specific Platelet Antibodies) ont été publiées mais sont peu ou pas utilisées en France.

2.2 Typage plaquettaire : quelle technique utiliser ?

A ce jour, les techniques de biologie moléculaire sont les mieux adaptées à l'obtention d'un résultat optimal pour un typage HPA complet

2.2.1 Génotypage HPA

Génotypage HPA sur sang total

Les techniques d'extraction de l'ADN sont généralement toutes adaptées à la réalisation du génotypage HPA. Le volume de sang minimum est faible (500 µL) ce qui permet de facilement génotyper le bébé.

Plusieurs techniques sont possibles selon l'urgence ou les systèmes plaquettaires d'intérêt. Les plus courantes sont :

- La PCR-SSP (Polymerase Chain Reaction - Sequence Specific Primer) explore classiquement les systèmes HPA-1, -2, -3, -4, -5, -6, -9, -15. Des techniques « maison » et des kits fournisseurs existent.

C'est une technique adaptée à l'urgence : Un résultat en 3h est possible.

- La PCR temps réel explore classiquement les systèmes HPA-1, -2, -3, -4, -5, -6, -9, -15

Des techniques « maison » et des kits fournisseurs existent.

Cette technique nécessite un automate adapté.

C'est une technique adaptée à l'urgence puisqu'un résultat en 3h est possible.

- Le typage HPA par séquençage Sanger SBT (Sequence Based Typing) explore l'ensemble des systèmes HPA et polymorphismes, et permet d'identifier des antigènes rares ou des nouveaux allèles grâce à un kit « maison ». La technique n'est pas adaptée à l'urgence : le résultat peut être obtenu en 24-48h.

Il est fortement recommandé d'étudier l'échantillon du patient en parallèle avec un CIQ ou un ADN connu.

Génotypage plaquettaire fœtal

Ce génotypage ne peut être effectué que par un laboratoire autorisé au diagnostic prénatal. Il est essentiel de vérifier auprès du laboratoire effectuant l'analyse les conditions de prélèvement pour garantir la bonne conservation du prélèvement. Il peut s'agir d'un prélèvement de matériel par méthode invasive (liquide amniotique, tissu fœtal) ou par méthode non invasive sur sang maternel.

2.2.2 Phénotypage HPA

Le phénotypage peut être utilisé en urgence pour déterminer rapidement si une mère est HPA-1a négatif (rare) et donc à risque de développer un allo-anticorps anti-HPA-1a. Le phénotypage est également adapté pour déterminer si une mère est CD36 négative et à risque de développer un iso-anticorps anti-CD36.

CD36

La présence du CD36 à la surface des plaquettes peut être détectée en immunofluorescence (lecture microscopique), en cytométrie de flux ou en MAIPA avec un anticorps monoclonal anti-CD36. Il est fortement conseillé de confirmer un phénotype négatif par une deuxième technique.

HPA-1a par Sérologie

La présence de l'antigène HPA-1a à la surface des plaquettes maternelles et paternelles peut être détectée en immunofluorescence avec un anticorps monoclonal anti-HPA1a (clone SZ21 par exemple) ou par un anticorps polyclonal anti- HPA-1a (sérum de patient contrôle) avec lecture en microscopie ou en cytométrie en flux. C'est une technique rapide adaptée à l'urgence. En effet, elle permet rapidement de savoir si la mère est HPA-1a négative, incompatible avec le conjoint et avec donc un risque élevé d'être incompatible avec l'enfant et si des allo-anticorps anti-HPA-1a peuvent être présents chez elle. Dans ce cas il peut être proposé de transfuser rapidement avec des plaquettes compatibles HPA-1a négatives. Selon les anticorps-réactif disponibles sur le marché, le phénotypage peut être adapté à d'autres antigènes (exemple HPA-5b).

Cette technique permet aussi de connaître le statut HPA-1a de la mère en l'absence de consentement : le phénotypage HPA effectué en sérologie ne rentre pas dans le champ de la loi de bioéthique d'examen des caractéristiques génétiques d'une personne.

2.3 Contrôles de qualité

Les laboratoires de biologie médicale doivent répondre à la norme ISO 15189. Afin de s'assurer de la bonne qualité des analyses effectuées, le laboratoire doit mettre en œuvre différents contrôles de qualité :

- Des contrôles internes de qualité (CIQ) doivent être inclus dans chaque essai (recherche d'anticorps et génotypage afin de valider le test et de repérer des dérives). Les coffrets commerciaux incluent généralement ce type de contrôle. Dans les tests « maison » il est nécessaire d'inclure des CIQ qu'ils soient commerciaux ou fabriqués par le laboratoire.
- Chaque laboratoire doit se soumettre à un exercice externe de la qualité (EEQ), avec la réalisation de tests d'échantillons inconnus (sérum et ADN) pour chaque technique utilisée. Des EEQ existent également près de fournisseurs, pour exemples : INSTAND (Allemagne), ou UKNEQAS (Royaume Uni). En France, un exercice inter-laboratoire (EIL) est disponible auprès de l'EFS de Rennes et est réalisé une fois par an, sur 5 prélèvements de sang total (EDTA) (génotypage), 5 sérums (anticorps sériques) et 5 suspensions plaquettaires (anticorps fixés).
- A noter que les standards de l'accréditation EFL recommande la réalisation de 5 anticorps (dépistage et identification) et 10 génotypages HPA par technique.

3. ÉTAPES POST-ANALYTIQUES

3.1 Interprétation du résultat et Compte-rendu (CR)

Lors d'un bilan d'allo-immunisation fœto-maternelle, les résultats sont constitués d'une part par les génotypages des systèmes plaquettaires (HPA) des parents et de l'enfant si possible et la mise en évidence ou non d'une incompatibilité fœto-maternelle plaquettaire et d'autre part par la sérologie de la mère et la mise en évidence ou non d'un auto ou d'un allo-anticorps. L'interprétation des résultats est réalisée en tenant compte de l'ensemble des résultats des 3 membres de la famille le cas échéant.

Dans certains cas, le prélèvement du père et/ou de l'enfant ne sont pas disponibles. L'interprétation biologique sera alors réalisée, en précisant la réserve de l'interprétation au regard des résultats manquants.

L'interprétation des résultats de génotypage HPA est obligatoirement réalisée par un praticien agréé par l'Agence de la Biomédecine.

A ces résultats peuvent s'ajouter les résultats de la recherche du groupe HLA à risque (HLA-DRB3*01:01) chez une femme HPA-1bb sans anticorps identifiés.

Les résultats sont constitués par des comptes rendus individuels et accompagnés d'une interprétation. Pour une traçabilité et une prise en charge optimale de la patiente, il est très fortement recommandé de résumer la conclusion du bilan de TNN dans un **courrier de synthèse** qui sera accompagné des conseils pour la prise en charge d'une future grossesse, ainsi que les recommandations en cas de besoins transfusionnels plaquettaires.

Le compte-rendu de résultat doit préciser :

- L'indication du test (bilan d'allo-immunisation fœto-maternelle plaquettaire)
- Les résultats de l'examen décrivant clairement les génotypes selon la nomenclature HPA.
- L'interprétation des résultats du génotypage de la mère au regard de celui du père et de l'enfant, qui permet de répondre à la question de l'incompatibilité fœto-maternelle.
- L'interprétation du résultat de recherche d'anticorps chez la mère (auto, allo-anticorps)
- La conclusion claire avec explication précise des conséquences de la présence d'un anticorps chez la mère au regard des incompatibilités retrouvées ou non (imputabilité de l'anticorps sur la thrombopénie de l'enfant).
- Les limites de l'interprétation, si pertinent.
- La nécessité de réaliser des examens complémentaires si nécessaire (ex : HLA-DRB3*01:01)
- Le contrôle biologique complémentaire éventuel (contrôle anticorps, HLA-DRB3*01:01 (NABM 1181))
- **Il doit contenir uniquement l'identité du patient faisant l'objet de l'analyse. Cependant pour le résultat du cross-match il doit préciser l'identité des plaquettes utilisées pour le cross-match. Les liens entre les membres de la famille seront par ailleurs rappelés dans le conseil biologique (conclusion biologique du résultat et/ou courrier accompagnant le résultat).**
- Concernant le résultat de génotypage HPA, il doit préciser que « *selon l'arrêté du 27/05/2013, le résultat doit être rendu dans le cadre d'une consultation médicale et une copie doit alors être remise au patient* »

Dans le cas d'un génotypage particulièrement à risque (HPA-1bb, HLA-DRB3*01:01) il peut être conseillé à la patiente d'informer ses sœurs en âge de procréer afin qu'elles puissent se faire dépister.

3.2 Conseil biologique (cf Annexe 4)

Un courrier de synthèse au prescripteur et aux autres praticiens prenant en charge la patiente, identifiés sur la fiche de liaison (annexe 3), est recommandé, afin d'expliquer les résultats et de guider la prise en charge. Cette synthèse peut aussi être intégrée sur le compte-rendu dans la conclusion du dossier.

Si la grossesse est en cours, cette synthèse indique la nécessité de se rapprocher de l'établissement de transfusion afin de prévoir des plaquettes HPA compatibles, en cas de besoin transfusionnel.

En post-partum, cette synthèse indique les conseils pour la prise en charge d'une future grossesse :

- consultation pré-conceptionnelle avec un médecin expert TAIFM ou un CPDPN,
- appréciation du risque et discussion de traitement,
- information des sœurs (mères, filles) en âge de procréer, de l'impact éventuel pour leurs grossesses futures
- conseil transfusionnel (en cas de transfusion de plaquettes, privilégier les plaquettes phénotypées HPA compatibles pour une meilleure tolérance et efficacité transfusionnelle)
- la synthèse pourra aussi être transmise au médecin de délivrance de l'EFS du lieu où la patiente est prise en charge

3.3 Délai et transmission des résultats

a. Délai de rendu de résultat :

Selon l'ISO 15189, le laboratoire précise dans son manuel de prélèvement le délai de rendu de résultat qui doit être compatible avec la prise en charge optimale du patient. Chaque laboratoire doit définir les délais raisonnables au regard de la prise en charge du patient et des attentes du clinicien. Le laboratoire doit pouvoir répondre à ces attentes et avoir pris les dispositions organisationnelles adéquates.

b. Transmission des résultats :

La bonne circulation de l'information entre le prescripteur, le médecin de la mère, le biologiste, voire l'établissement de transfusion si l'enfant ou la mère doit être transfusé(e), est une étape particulièrement importante.

Pour exemple, le bilan peut être demandé par le pédiatre qui a vu l'enfant, mais la prise en charge des grossesses suivantes sera effectuée par l'obstétricien ou le médecin de la mère.

- L'utilisation d'**une fiche de liaison** est recommandée afin de permettre l'envoi du courrier de synthèse aux différents praticiens prenant en charge la patiente, afin que les informations leur soient transmises par le laboratoire avec l'accord de la famille (annexe 3).
- Le **conseil biologique (courrier de synthèse ou CR)** peut être envoyé à tous les interlocuteurs identifiés par le prescripteur avec la famille pour éviter les pertes d'information.

De même la transmission d'une allo-immunisation anti-HPA d'une femme, aux établissements **de transfusion** est indispensable si la patiente ou le nouveau-né doit recevoir une transfusion de plaquettes.

A noter que réglementairement, en France selon le décret n°2013-527 du 27/05/2013, le résultat de génotypage HPA **ne doit jamais être transmis directement au patient** depuis le laboratoire.

Un document d'information sur l'allo-immunisation fœto-maternelle plaquettaire peut être remis à la patiente lors de cette consultation.⁸

c. Utilisation d'un résultat pour une autre pathologie

L'utilisation d'un résultat de génotypage HPA et/ou d'anticorps anti-plaquettaire, effectué lors d'un bilan d'AIFM est possible en cas d'état réfractaire aux transfusions de plaquettes, sous-réserve :

- d'être certain qu'il n'y a pas de risque d'homonymie (A noter que nom prénom date de naissance sont insuffisants pour garantir l'absence d'homonymie)
- que la traçabilité de l'échantillon soit maîtrisée
- que le résultat n'ait pas été obtenu avec une technique obsolète
- qu'un consentement soit obtenu s'il s'agit du génotypage

En pratique, un nouvel échantillon biologique est le plus souvent demandé.

⁸ Disponible sur : <https://site.geht.org/docutheque/THROMBOPÉNIÉ NÉONATALE PAR ALLO-IMMUNISATION PLAQUETTAIRE FŒTO-MATERNELLE> - Brochure d'information à destination des parents (version Mai 2021)

3.4 Archivage

En application des textes en vigueur, notamment le décret 2008-321, il faut différencier :

Le dossier médical du patient archivé par le prescripteur qui doit contenir :

- La feuille de demande avec les renseignements cliniques
- Le consentement éclairé signé
- La conservation de l'attestation n'est pas mentionnée dans le décret
- Une copie du compte-rendu de résultat

Le dossier du patient archivé par le laboratoire qui doit contenir :

- Une copie du compte-rendu de résultat envoyé au médecin prescripteur
- Les résultats des données brutes ou de leurs références (fichiers générés par le logiciel d'analyse, photos)

3.5 Conservation des échantillons après réalisation des analyses

Une fois l'examen réalisé, la conservation de l'ADN est recommandée pour une durée de **1 an minimum** afin de permettre un éventuel contrôle d'une discordance clinique-biologie, ou bien des évolutions technologiques qui pourraient impacter le résultat pour les grossesses futures.

Passé le délai défini par le laboratoire, cet ADN doit être détruit, sauf en cas de collection biologique déclarée et autorisée dans le cadre d'une recherche, et après avoir recueilli le consentement éclairé du patient, précisant la finalité de la conservation.

Le laboratoire doit également définir les délais de conservation des autres échantillons (sérum, plasma, suspensions plaquettaires).

3.6 Facturation

Actuellement, en France, la facturation des actes d'immunologie plaquettaire est à la nomenclature NABM. Seuls les **examens à visée diagnostique** peuvent être pris en charge par la Caisse Nationale d'Assurance Maladie (CNAM) et donc facturés avec les codes NABM.

B. RECOMMANDATIONS CLINICO-BIOLOGIQUES (Synthèse : Annexes 3, 4 et 5)

1. CAS INDEX

1.1 Thrombopénie néonatale : Bilan diagnostique biologique

Selon les recommandations de l'ISTH⁹ les critères cliniques pour la réalisation d'un bilan d'allo-immunisation fœto-maternelle sont :

- Une thrombopénie < 100 G/L à la naissance ou dans les 7 jours après la naissance,
- Et/ou une hémorragie intracrânienne fœtale,

Les examens à réaliser sont *a minima* :

- Génotypes qui reflètent la diversité génétique locale et à minima HPA-1, 3, 5, 15, du père, de la mère et de l'enfant.
- Génotypes HPA-2, 4, 6 et 9 sont recommandés en plus par l'ISTH.
- Cross-match sérum mère-plaquettes père vis-à-vis de GPIIb/IIIa, GPIIa, GPIb/IX, : technique MAIPA *a minima*, (+ autres techniques possibles).
- Recherche d'auto-anticorps fixés chez la mère
- Recherche d'anticorps sériques chez la mère (MAIPA *a minima*) avec **toujours au moins une cellule homozygote dans le système HPA où il y a une incompatibilité plaquettaire entre les parents**
- Eventuellement phénotype HPA-1a et CD36 chez la mère et le père.

Conduite à tenir biologique au regard des résultats :

Le laboratoire doit disposer de procédures concernant la conduite à tenir sur le plan biologique en fonction du résultat des premiers tests (peut s'appuyer sur les annexes 5 et 6) :

- **Absence d'anticorps chez la mère** : nécessité d'un **contrôle à 1 mois dans les systèmes HPA où il y a une incompatibilité (y compris en HPA-15)**.
- **Absence d'anticorps et groupe à risque HPA-1bb chez la mère** : le conseil biologique autorise de réaliser la recherche de la présence de **HLA-DRB3*01:01**.
- **Présence d'anticorps** : conseil médical biologique
- **Absence d'anticorps avec cross-match positif sur une glycoprotéine** : recherche d'une incompatibilité dans les groupes HPA rares et si incompatibilité, recherche d'une allo-immunisation dans ce système.
- **En cas de présence d'anticorps anti-HLA, cette information ne doit pas être transmise comme un résultat biologique** mais uniquement en commentaire pour expliquer une fausse positivité.

⁹ *Investigations for fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: communication from the SSC of the ISTH. J Thromb Haemost 2018; 16: 2526–9*

1.2 Suspicion de thrombopénie chez le fœtus du fait d'une anomalie échographique ou MFIU avec suspicion d'allo-immunisation : Bilan diagnostique biologique

Les examens à réaliser sont *a minima* :

- Génotypages qui reflètent la diversité génétique locale et à minima HPA-1, 3, 5, 15, du père, de la mère et éventuellement du fœtus.
- Génotypages HPA-2, 4, 6 et 9 sont recommandés en plus par l'ISTH.
- Cross-match sérum mère-plaquettes père vis-à-vis de GPIIb/IIIa, GPIIb/IIIa, GPIIb/IX, : technique MAIPA *a minima*, (+ autres techniques possibles).
- Recherche d'auto-anticorps fixés chez la mère
- Recherche d'anticorps sériques chez la mère (MAIPA *a minima*) avec **toujours au moins une cellule homozygote dans le système HPA où il y a une incompatibilité.**
- Eventuellement phénotypage HPA-1 et CD36 chez la mère et le père.
- Numération plaquettaire fœtale : si une ponction de Sang Fœtal est réalisée lors de l'interruption médicale de grossesse, un tube EDTA devrait être prélevé pour déterminer la numération plaquettaire et réaliser le génotypage HPA fœtal afin d'orienter la conclusion biologique.

Conduite à tenir au regard des résultats :

Le laboratoire doit disposer de procédures concernant la conduite à tenir sur le plan biologique en fonction du résultat des premiers tests (peut s'appuyer sur les annexes 4 et 5) :

- **Absence d'anticorps chez la mère** : nécessité d'un **contrôle à 1 mois après le premier prélèvement, si incompatibilité et génotypage à risque, si absence d'autres étiologies ; rechercher un anticorps anti-HPA-15**
- **Absence d'anticorps et groupe à risque HPA-1bb chez la mère** : recherche de la présence de **HLA-DRB3*01:01**.
- **Présence d'anticorps** : conseil médical biologique.
- **Absence d'anticorps avec cross-match positif** sur une seule GP : recherche des groupes **HPA rares**.
- **En cas de présence d'anticorps anti-HLA, cette information ne doit pas être transmise comme un résultat biologique** mais uniquement en commentaire pour expliquer une fausse positivité.

Une consultation multidisciplinaire ou un avis du CPDPN, une présentation en RCC du GFHT, peuvent être nécessaires (présentation après avoir obtenu le consentement du patient).

1.3 Enfant thrombopénique par AIFM : suivi biologique et prise en charge thérapeutique

Le groupe expert a publié une **conduite à tenir chez l'enfant sur le plan thérapeutique, en particulier transfusionnel** : *Management of neonatal thrombocytopenia in a context of maternal antiplatelet alloimmunization: Expert opinion of the French-speaking working group. G. Bertrand et al On behalf of the working group on fetomaternal platelet alloimmunization of the French Group of Thrombosis, Hemostasis (GFHT) Arch Ped 2019.*

Par ailleurs, il recommande l'organisation **d'un suivi de l'enfant** :

- Par le pédiatre
- Dans un délai inférieur à 1 mois
- Jusqu'à normalisation de la numération plaquettaire.

1.4 Suivi clinico-biologique de la mère en post-partum

Assurer un suivi immunologique :

La recherche d'anticorps dans les 2 mois après l'accouchement est nécessaire si les résultats sont négatifs à la naissance (Cf recommandations ISTH).

Garantir la transmission de l'information à la patiente et à l'équipe soignante pour les grossesses futures et dans l'éventualité de besoins transfusionnels plaquettaires futurs quel que soit le contexte médical.

Lors de la découverte d'une thrombopénie néonatale, il est important d'apprécier le risque de récurrence, et d'organiser un suivi de la mère en vue et lors des grossesses futures.

La circulation de l'information entre le prescripteur, le médecin de la mère, le biologiste, voire l'établissement de transfusion si l'enfant ou la mère doit être transfusé, est une étape qui est particulièrement importante.

Le laboratoire doit pouvoir identifier les différents interlocuteurs à qui transmettre les résultats afin qu'il n'y ait aucune perte d'information. Cf. paragraphe transmission des résultats et conseil biologique (annexe 4).

Il est recommandé que chaque centre ait une procédure pour identifier ces référents et formaliser le circuit de la prise en charge de la mère lors de la découverte du cas index. Proposition de logigramme en annexe 5

Le suivi de la mère doit être organisé en orientant la patiente soit vers un CPDPN, soit vers un obstétricien référent qui **organisera la consultation pré-conceptionnelle** ou de suivi obstétrical, donnera l'information nécessaire à la famille (brochure d'information sur la pathologie, conseil génétique (sœurs)).

2. GROSSESSES ULTERIEURES

La prise en charge des grossesses à risque dans **un contexte d'incompatibilité fœto-maternelle plaquettaire et/ou d'allo-immunisation** a fait l'objet d'une discussion au sein du groupe AIFM sur la base des recommandations publiées par le groupe ICTMG (International Collaboration for Transfusion Medicine Guidelines) et publiées en 2019 (*Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: recommendations for evidence-based practice, an international approach. Lieberman L et al. British J of Haematology, 2019, 185, 549-562*).

Ces recommandations ont été discutées au sein du groupe de travail GFHT, traduites et pour certaines reformulées par le groupe, afin d'établir **un consensus sur la prise en charge de la grossesse et sur les modalités d'accouchement**.

Elles ont fait l'objet d'un document de synthèse basé sur un consensus d'au moins 90%.

Nous aborderons ici quelques points pour rappel.

2.1 Consultation pré-conceptionnelle avec ATCD maternels de TAIFM

Sur le plan biologique :

- **Anticorps anti-HPA.**
- Un contrôle de la présence de l'anticorps suspecté doit être effectué.
- En cas d'ATCD d'incompatibilité sans anticorps retrouvé, un contrôle doit également être réalisé.

Génotypage HLA-DRB3*01:01 chez la mère, une seule détermination :

- La présence du groupe HLA-DRB3*01:01 doit être recherchée chez une femme HPA-1bb chez qui aucun anticorps n'a été retrouvé.
- En cas de consultation pré-conceptionnelle chez une patiente ayant une sœur HPA-1bb avec antécédents de TAIFM, la présence du génotype HPA1bb et HLA-DRB3*01:01 doit être recherchée.

2.2 Suivi biologique de la grossesse avec ATCD maternels de TAIFM ou de thrombopénie néonatale

Génotypage fœtal

Si le père est hétérozygote dans un système HPA ou en cas de génotypage paternel non connu, et s'il est envisagé un traitement de la mère, il convient de réaliser le génotypage fœtal pour objectiver l'incompatibilité fœto-maternelle éventuelle :

- Soit par méthode non invasive en explorant le génotypage fœtal sur sang maternel, approche à privilégier si possible¹⁰.
 - Soit par méthode invasive à partir d'un prélèvement de liquide amniotique.
- **En cas d'antécédent de suspicion thrombopénie néonatale avec incompatibilité de groupe HPA sans anticorps identifié, une recherche d'anticorps anti-HPA sera réalisée si possible toutes les 4 semaines, à partir de la 16^{ème} semaine aménorrhée, et ce, quelque soit le système HPA en cause** afin de surveiller l'apparition ou non d'un anticorps et prendre les mesures adéquates pour la suite de la grossesse (périodicité établie après enquête réalisée près des membres du groupe de travail (14 réponses 85% de consensus).
 - Si un anticorps a été identifié lors de la TNN précédente, un contrôle est effectué lors du début de la grossesse, il est inutile de répéter tous les mois, sauf pour titrage d'un anti HPA-1a.

¹⁰ Disponible actuellement au laboratoire du CNRHP

Quantification de l'anticorps anti-HPA-1a, 1 fois/mois :

Si la mère est allo-immunisée vis-à-vis de l'antigène HPA-1a, il peut être utile de quantifier cet anticorps de façon régulière avant et après mise sous traitement, pour suivre l'évolution de l'immunisation et guider la prise en charge.

Génotypage HLA-DRB3*01:01 chez la mère, 1 seule détermination :

- Si cela n'a pas été fait en consultation pré-conceptionnelle, la présence du groupe HLA-DRB3*01:01 doit être recherchée chez une femme HPA-1bb chez qui aucun anticorps n'a été retrouvé.
- S'il s'agit d'une première grossesse chez une patiente ayant une sœur HPA1bb avec antécédents de TAFM, la présence du génotype HPA-1bb, HLA-DRB3*01:01 doit être recherchée.

2.3 Conduite clinico-biologique pendant la grossesse chez la mère avec ATCD de TAFM (cf publication¹¹)

Sur le plan clinique :

- **Une discussion clinico-biologique** doit avoir lieu en amont, sur l'appréciation du risque de thrombopénie fœtale/néonatale et du risque d'hémorragie sévère, afin de proposer la prise en charge adaptée (en particulier en cas d'HIC ou non du cas index) :
 - La place de la ponction de sang fœtal pour évaluer la thrombopénie du fœtus et décider de l'attitude thérapeutique,
 - Le traitement par Immunoglobulines par voie intraveineuse et la date de début d'introduction des corticoïdes,
 - La voie d'accouchement,
 - Les recommandations pour l'accouchement (Notamment : Lieu d'accouchement après avis pédiatre néonatalogiste, modalité de naissance en cas d'extraction instrumentale fœtale),
 - La nécessité de prévoir des concentrés plaquettaires compatibles disponibles lors de l'accouchement.
- **Une consultation multidisciplinaire** ou un avis du CPDPN, une présentation en RCC du GFHT, peuvent être nécessaires.
- **Le risque doit être réévalué à la lumière des données biologiques nouvelles observées lors du suivi de la grossesse.**

¹¹ *Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: recommendations for evidence-based practice, an international approach.* Lieberman L et al. *British J of Haematology*, 2019, 185, 549-562

2.4 Conduite à tenir chez le bébé si ATCD de TAIFM (cf. publication¹²)

Sur le plan biologique :

- A la naissance, **une numération plaquettaire** doit être réalisée à la naissance (**sang de cordon**) et répétée dans les jours qui suivent car le nadir de la numération plaquettaire peut être décalé à J2 - J5 après l'accouchement. En cas de thrombopénie, une conduite à tenir a été proposée par le groupe GFHT dans la publication précitée.

¹² *Management of neonatal thrombocytopenia in a context of maternal antiplatelet alloimmunization: Expert opinion of the French-speaking working group. G. Bertrand et al On behalf of the working group on fetomaternal platelet alloimmunization of the French Group of Thrombosis, Hemostasis (GFHT) Arch Ped 2019.*

Liste des annexes :

Annexe 1 : Modèle de consentement et d'attestation de consultation

Annexe 2 : Modèle de fiche de renseignements cliniques

Annexe 3 : Fiche de liaison

Annexe 4 : Eléments à préciser pour le conseil biologique

Annexe 5 : Logigramme transmission des informations aux différents acteurs

Annexe 6 : Logigramme stratégie du diagnostic biologique

Annexe 1 : Modèle de consentement et d'attestation de consultation pour la réalisation du génotypage HPA
(Consentement Génétique standard GT Fondation MR 6 novembre 2014 (1), issu du site de l'Association Nationale des Praticiens de Génétique Moléculaire (ANPGM))

Consentement pour l'examen des CARACTERISTIQUES GENETIQUES d'une personne et la conservation des échantillons dans une banque d'ADN ou un centre de ressources biologiques

IDENTIFICATION du PATIENT (étiquette ou nom, prénom et date de naissance)	IDENTITE du REPRESENTANT LEGAL (Si patient mineur ou majeur sous tutelle) Nom : _____ Prénom : _____ Lien avec le patient : _____
--	--

Je soussigné(e) reconnais avoir été informé(e) par le : Dr.....
 Conseiller en génétiquesous la responsabilité du Dr.....

quant à l'examen des caractéristiques génétiques qui sera réalisé à partir :
 Du (des) prélèvement(s) pratiqué(s) sur moi-même
 Du (des) prélèvement(s) pratiqué(s) sur mon enfant mineur ou sur la personne majeure placée sous tutelle

Pour (préciser obligatoirement le nom de la pathologie ou l'indication de l'examen réalisé, et sa nature) :

Je reconnais avoir reçu l'ensemble des informations permettant la compréhension de cet examen et sa finalité. Le résultat de l'examen me sera rendu et expliqué en l'état actuel des connaissances par le médecin qui me l'a prescrit. Ce dernier m'expliquera les moyens de prise en charge nécessaire le cas échéant.

*Je souhaite être informé du résultat de l'examen réalisé oui non

*J'autorise, dans le respect du secret médical :

- La transmission des informations de mon/son dossier médical nécessaires aux médecins concernés par cet examen des caractéristiques génétiques. oui non
- La conservation d'un échantillon de matériel biologique issu de mes/ses prélèvements et son utilisation ultérieure pour poursuivre les investigations dans le cadre de cette même démarche diagnostique, en fonction de l'évolution des connaissances. oui non
- La conservation des données utiles à la gestion de la démarche diagnostique et de mon/son dossier dans des bases de données informatiques déclarées à la CNIL. oui non

J'ai compris que si une anomalie génétique pouvant être responsable d'une prédisposition ou d'une affection grave était mise en évidence, je devrai permettre la transmission de cette information au reste de ma/sa famille. J'ai été averti que mon silence pouvait leur faire courir des risques ainsi qu'à leur descendance, dès lors que des mesures de prévention, y compris de conseil génétique ou de soins, peuvent être proposées. Ainsi, lors du rendu des résultats, je devrai choisir entre :

- Assurer moi-même cette diffusion d'information génétique aux membres de ma/sa famille.
- Autoriser le médecin prescripteur à cette diffusion d'information génétique aux membres de ma/sa famille.

D'ores-et-déjà, j'autorise, dans le respect du secret médical, l'utilisation des résultats par le médecin prescripteur au profit des membres de ma/sa famille si ces résultats apparaissent médicalement utiles pour eux. oui non

Des informations génétiques sans lien direct avec ma/sa pathologie mais pouvant avoir un impact sur ma/sa santé ou celle de mes apparentés peuvent être révélées.

Je souhaite que mon/son médecin me tienne informé(e) oui non

Dans le cadre de la démarche diagnostique, une partie de mon/son prélèvement peut ne pas être utilisée. Elle peut être importante pour la recherche scientifique. Ainsi, sans que l'on puisse me recontacter :

J'autorise le stockage de mon/son prélèvement et son utilisation pour la recherche oui non

Conformément aux dispositions de la loi relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés, je dispose d'un droit d'opposition, d'accès et de rectification par l'intermédiaire du Dr.....

Les items comportant un astérisque () doivent être obligatoirement renseignés
 Tout consentement non signé empêche la réalisation de l'examen.*

Fait à	Le
Nom, prénom et signature du patient ou de son représentant légal :	Signature et cachet du médecin ou du conseiller en génétique :
Signature du patient mineur ou majeur sous tutelle (si possible) :	

ATTESTATION DE CONSULTATION du médecin prescripteur ou du conseiller en génétique*

IDENTIFICATION du PATIENT (étiquette ou nom, prénom et date de naissance)	IDENTITE du REPRESENTANT LEGAL (Si patient mineur ou majeur sous tutelle)
	NOM : Prénom :
	Lien avec le patient :

Je certifie avoir informé le (ou la) patient(e) sus nommé(e) ou son représentant légal sur les caractéristiques de la maladie recherchée, les moyens de la diagnostiquer, les possibilités de prévention et de traitement, le stockage de son prélèvement, et avoir recueilli le consentement du (ou de la) patient(e) ou de sa tutelle dans les conditions prévues par le code de la santé publique (articles R1131-4 et 5)

Date :

Signature et cachet du médecin ou du conseiller en génétique :

*RAPPEL CONCERNANT LA LEGISLATION

- **Loi n° 2004-800 du 6 août 2004** relative à la bioéthique, modifiée par la loi du 7 juillet 2011

(Conformément à la loi n° 2004-800 du 6 août 2004 fixant les conditions de prescription et de réalisation des examens des caractéristiques génétique d'une personne) :

Le médecin prescripteur doit conserver :

- Le consentement écrit
- Les doubles de la prescription et de l'attestation
- Les comptes-rendus d'analyses de biologie médicale commentés et signés (art. R1131-5).

Le laboratoire autorisé réalisant les examens doit :

- Disposer de la prescription et de l'attestation du prescripteur (décret n°2008-321 du 4 avril 2008)
- Adresser, au médecin prescripteur, seul habilité à communiquer les résultats à la personne concernée (article I1131-1-3), le compte-rendu d'analyse de biologie médicale commenté et signé par un praticien responsable agréé
- Adresser, le cas échéant, au laboratoire qui a transmis l'échantillon et participé à l'analyse (article I. 6311-19), le compte-rendu d'analyse de biologie médicale commenté et signé par un praticien responsable agréé

- **Loi n° 2011-814 du 7 juillet 2011** relative à la bioéthique
- **Arrêté du 27 mai 2013** définissant les règles de bonnes pratiques applicables à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales
- **Décret n° 2013-527 du 20 juin 2013** relatif aux conditions de mise en œuvre de l'information de la parentèle dans le cadre d'un examen des caractéristiques génétiques à finalité médicale

Annexe 2 : Modèle de Fiche de renseignements cliniques

Bilan d'allo-immunisation fœto-maternelle plaquettaire : à remplir par le prescripteur et à joindre au bon de demande du laboratoire d'immunologie plaquettaire et à la fiche de liaison

Renseignements cliniques :

ATCD obstétricaux	Oui/Non	Date	Taux de plaquettes (nadir)	Hémorragies	HIC	Traitement
ATCD d'allo-immunisation plaq.						
ATCD de MFIU						
ATCD de PTI						
ATCD de MAI			Laquelle :			
ATCD de transfusions			Produits :			
Grossesse en cours	Parité : G....P....					
Date de début			PMA : Oui/Non			
Anomalies écho	Oui/Non	Lesquelles :				
Taux de plaq.						
Traitement IV Ig	Oui/Non	Date début :		Date fin :		Dose :
Traitement stéroïdes	Oui/Non	Date début :		Date fin :		Dose :
Voie d'accouchement		Terme :		Poids :		
Enfant	J0	J...	J...	J...	J...	J...
Date						
Taux plaq.						
Infection (laquelle)						
Hémorragies (lesquelles)						
HIC						
Traitement IV Ig et dose						
Transfusion (type et dose)						

Annexe 3 : FICHE DE LIAISON : à joindre au bon de demande du laboratoire d'immunologie plaquettaire

Identités

	<i>Nom</i>	<i>Prénom</i>	<i>DDN</i>
Mère			
Enfant			
Papa			

Prescripteur

	<i>Nom</i>	<i>Prénom</i>	<i>Téléphone</i>	<i>Service</i>
Adresse mail sécurisée				
Adresse postale				

Destinataires des résultats

	<i>Nom</i>	<i>Prénom</i>	<i>Téléphone</i>	<i>Mail</i>	<i>Adresse</i>
REFERENTS ENFANT					
Néonatalogiste					
Pédiatre/Généraliste					
REFERENTS MERE					
Gynéco-obstétricien					
Sage-femme					
Médecin généraliste					
CPDPN lieu d'accouch [†] :					
Obstétr lieu d'accouch [†] :					
EFS lieu d'accouch [†] :					
Biologiste lieu d'accouch [†] :					

A compléter par le labo
Résultats envoyés (Oui / NA)
Oui ou NA
Oui ou NA
Oui ou NA
Oui ou NA
Oui ou NA
Oui ou NA

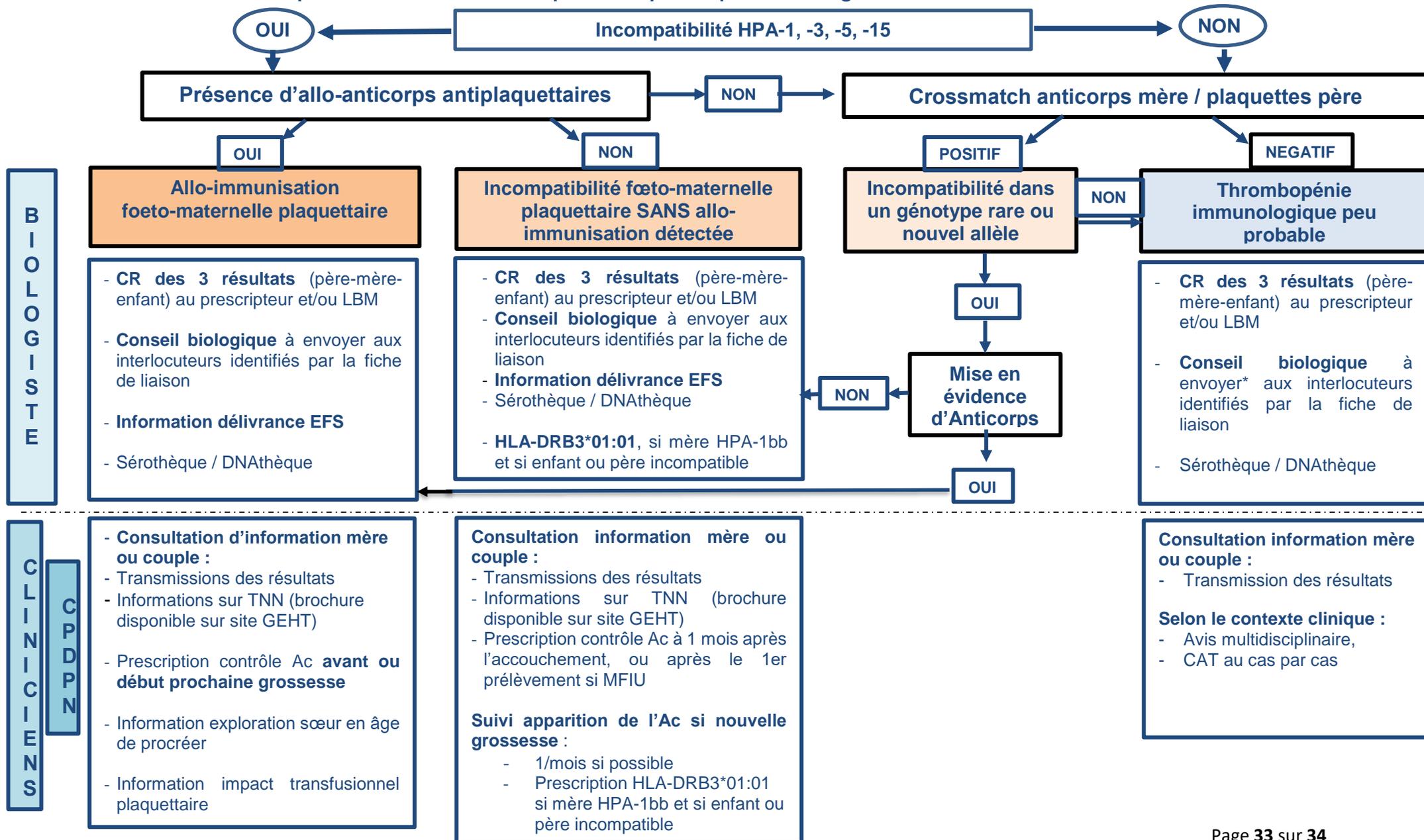
Annexe 4 : Éléments à préciser pour le conseil biologique

- **Une copie de ce conseil biologique est à transmettre impérativement à l'EFS dont dépend la maternité où sera prise en charge de la patiente,**
- **Préciser :**
 - Le contexte clinique de la réalisation des examens de TAIFM
 - La synthèse de l'incompatibilité, avec statut d'hétérozygotie ou homozygotie probable du père
 - Les résultats de l'alloimmunisation
 - Les contrôles biologiques éventuels à réaliser en post-accouchement (anticorps, HLA-DRB3)
 - Si grossesse en cours, la prise en charge dans un centre spécialisé et la nécessité de prendre contact **rapidement** dès connaissance des résultats, avec l'EFS afin d'anticiper la disponibilité de plaquettes compatibles
 - Les précautions pour la grossesse future :
 - Consulter, en préconceptionnel ou en début de grossesse, un CPDPN ou obstétricien référent en thrombopénie néonatale
 - Sérologie en début de grossesse avec périodicité du suivi
 - L'intérêt d'informer les sœurs en âge de procréer pour un dépistage HPA1bb (+/- HLA-DRB3*01:01) en cas de projet de grossesse.
 - Le conseil transfusionnel (en cas de besoins transfusionnels ultérieurs de la patiente) éventuellement associé à un document d'information pour la patiente expliquant l'impact de l'anticorps anti-HPA identifié.

Ces éléments rédigés pour le conseil biologique sont à adresser au(x) clinicien(s) soit dans un courrier synthèse, soit en conclusion du compte-rendu d'examen biologique.

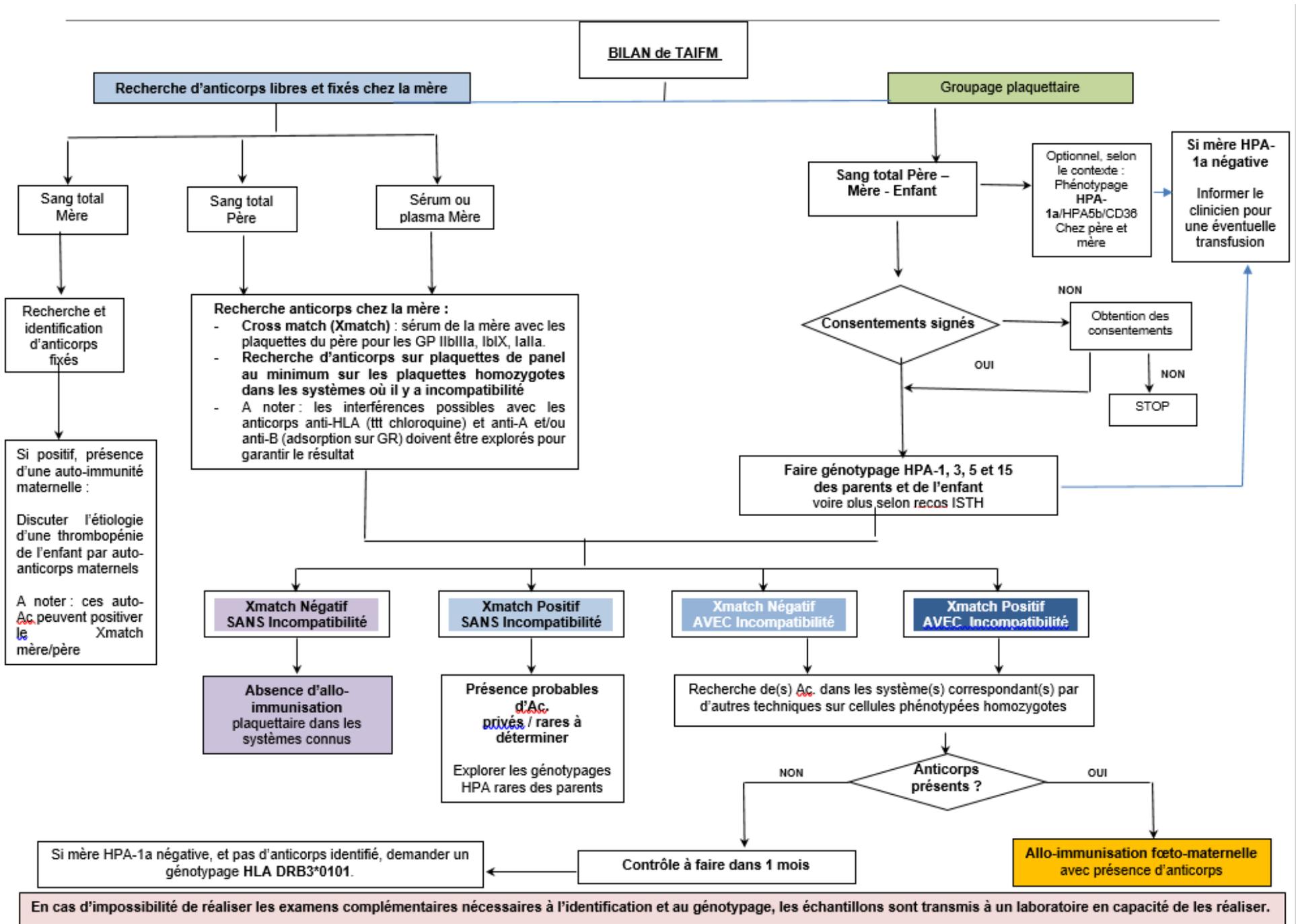
A noter, l'importance de la discussion clinique-biologique pour sécuriser la prise en charge de la patiente.

Annexe 5 : Mémo récapitulatif des actions de chaque acteur pour la prise en charge d'une TAIFM



* Conseil biologique : incompatibilité, présence ou non Ac, imputabilité Ac sur la TAIFM, nécessité de prlvt de ctrl, risque récidive, génotypage fœtal, IVIg, nécessité consultation spécialisée, test sœurs, conseil transfusionnel mère (cf Annexe 4).

Annexe 6 : Logigramme stratégie du diagnostic biologique



En cas d'impossibilité de réaliser les examens complémentaires nécessaires à l'identification et au génotypage, les échantillons sont transmis à un laboratoire en capacité de les réaliser.