

Arrêté du 26 avril 2002 : bonnes pratiques d'immuno-hémato

Arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale

Le ministre délégué à la santé,

Vu le code de la santé publique, et notamment les articles L. 6211-8 (4o), L. 6213-1, L. 6213-2, L. 6213-3, L. 1131-1, L. 1131-2, L. 1131-3 ;

Vu le décret no 76-1004 du 4 novembre 1976, modifié notamment par le décret no 93-354 du 15 mars 1993, fixant les conditions d'autorisation des laboratoires d'analyses de biologie médicale ;

Vu le décret no 83-104 du 15 février 1983, modifié notamment par le décret no 93-354 du 15 mars 1993, relatif au contrôle de bonne exécution des analyses de biologie médicale prévu par l'article L. 6213-2 du code de la santé publique ;

Vu l'arrêté du 12 janvier 1999 relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques en assistance médicale à la procréation ;

Vu l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale ;

Vu la proposition du directeur général de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé du 26 octobre 2001, modifiée le 12 décembre 2001 et le 5 avril 2002 ;

Vu l'avis de la Commission nationale permanente de biologie médicale du 16 janvier 2002,

Arrête :

Art. 1er.

Le guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale annexé à l'arrêté du 26 novembre 1999 est modifié ainsi qu'il suit :

Au III du guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale, le premier paragraphe du 2.2.2 est supprimé ;

Le IV du guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale est complété par un C ainsi intitulé : « C. - Cas particulier des bonnes pratiques de laboratoire en immuno-hématologie érythrocytaire », dont les dispositions et les annexes figurent en annexe du présent arrêté.

Art. 2.

- Le directeur général de la santé, le directeur de l'hospitalisation et de l'organisation des soins et le directeur général de l'Agence française de sécurité sanitaire et des produits de santé sont chargés, chacun en ce qui le concerne, de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié ainsi que ses annexes au Journal officiel de la République française.

Fait à Paris, le 26 avril 2002.

ANNEXE GENERALE

C. - CAS PARTICULIER DES BONNES PRATIQUES DE LABORATOIRE EN IMMUNO-HEMATOLOGIE ERYTHROCYTAIRE

En vue de mettre en oeuvre une sécurisation des analyses et des résultats en immuno-hématologie érythrocytaire quelle que soit la finalité des analyses prescrites, ainsi qu'une sécurisation de la transmission des résultats, il est fixé pour ces analyses :

- les champs d'application ;
- les règles de réalisation ;
- le contrôle de qualité interne ;
- les conditions d'automatisation et d'informatisation ;
- la carte de groupes sanguins.

I. - Champ d'application

Les champs d'application concernant les analyses d'immuno-hématologie érythrocytaire suivantes :

- le groupage ABO-RH1 (RhD) ;
 - le phénotypage RH-KEL 1 (Rh-K) ;
 - le phénotypage étendu ;
 - la recherche d'anticorps anti-érythrocytaires (RAI) ;
 - le titrage des anticorps anti-érythrocytaires autres que anti-A, anti-B et le dosage pondéral des anti-RH ;
 - l'épreuve directe de compatibilité au laboratoire ;
 - le test direct à l'antiglobuline,
- sont définis dans l'annexe D I.

II. - Règles de réalisation des analyses

Tous les réactifs nécessaires aux examens d'immuno-hématologie érythrocytaire doivent être conformes à la législation et à la réglementation relative aux conditions particulières de mise sur le marché en vigueur à la date de lancement.

1. Le groupage ABO-RH1 (RhD)

1.1. Définition de l'analyse

Cette analyse consiste à déterminer de manière indissociable les phénotypes ABO et RH1 (RhD) du système RH.

1.2. Modalités de mise en oeuvre

1.2.1. Le principe

Une réalisation du groupage sanguin ABO-RH1 :

Une réalisation du groupage sanguin ABO repose sur deux épreuves complémentaires :

- - une épreuve globulaire qui consiste à rechercher les antigènes A (ABO1) et B (ABO2) avec les réactifs monoclonaux suivants : anti-A (anti-ABO1), anti-B (anti-ABO2) et anti-AB (anti-ABO3) ;
- - une épreuve plasmatique qui consiste à rechercher les anticorps anti-A et anti-B avec les hématies-tests A1 et B. Au moins une de ces hématies doit être de phénotype RH-1.

Une réalisation du groupage sanguin RH1 comporte obligatoirement l'utilisation d'un réactif anti-RH1 d'origine monoclonale et du réactif témoin dépourvu de toute activité anticorps mais dont la capacité d'agglutination d'hématies sensibilisées est strictement identique au réactif anti-RH1.

Une détermination du groupage sanguin ABO-RH1 :

Sa définition est fonction des conditions techniques :

- - si les opérations du groupage sanguin, incluant les modalités de vérification et d'enregistrement des échantillons et des prescriptions, sont strictement réalisées dans les conditions d'automatisation et d'informatisation décrites à l'article IV Automatisation et informatisation, une détermination repose sur une seule réalisation exécutée à l'aide d'un lot de réactifs, d'un lot d'hématies-tests et par un technicien ;
- - dans tous les autres cas, une détermination repose sur deux réalisations exécutées par deux techniciens différents. La saisie manuelle des résultats doit aussi passer par une double saisie effectuée par deux personnes différentes.

Un groupage sanguin ABO-RH1 valide :

Un groupage sanguin ABO-RH1 valide est réalisé sur deux prélèvements différents à raison d'une détermination par prélèvement.

1.2.2. Les contrôles qualité internes

En ce qui concerne la détermination ABO, le système analytique doit être contrôlé en utilisant une série d'échantillons de contrôle de phénotypes garantis (typage obtenu par un processus technique différent de celui qui doit être contrôlé par ces échantillons) comprenant au minimum :

- un échantillon de groupe A ;
- un échantillon de groupe B ;
- un échantillon de groupe O.

En ce qui concerne la détermination du groupe RH1, le système analytique doit être contrôlé en utilisant une série d'échantillons de contrôle de phénotypes garantis (typage obtenu par un processus technique différent de celui qui doit être contrôlé par ces échantillons) comprenant au minimum :

- un échantillon de groupe RH : 1 ;
- un échantillon de groupe RH : -1.

1.2.3. Interprétation et validation des résultats, gestion des anomalies (Annexe D II)

2. Le phénotypage RH-KEL 1 (Rh-K)

2.1. Définition de l'analyse

Cette analyse comprend l'étude des antigènes RH2 (C), RH3 (E), RH4 (c), RH5 (e) et KEL 1

(K).

2.2. Modalités de mise en oeuvre

2.2.1. Le principe

Une réalisation du phénotypage RH-KEL 1 :

Une réalisation du phénotypage RH-KEL 1 comporte obligatoirement l'utilisation des réactifs anti-RH2, anti-RH3, anti-RH4, anti-RH5, anti-KEL 1 et du (des) réactif(s) témoin(s) adéquat (s). Il est recommandé d'utiliser des réactifs d'origine monoclonale.

Une détermination du phénotypage RH-KEL 1 :

Sa définition est fonction des conditions techniques :

- si les opérations du phénotypage RH-KEL 1, incluant les modalités de vérification et d'enregistrement des échantillons et des prescriptions, sont strictement réalisées dans les conditions d'automatisation et d'informatisation décrites à l'article IV Automatisation et informatisation, une détermination repose sur une seule réalisation exécutée à l'aide d'un lot de réactifs et par un technicien ;

- dans tous les autres cas, une détermination repose sur **deux** réalisations exécutées par **deux** techniciens différents. La saisie manuelle des résultats doit aussi passer par une double saisie effectuée par deux personnes différentes.

Un phénotypage RH-KEL 1 valide :

Un phénotypage RH-KEL 1 valide est réalisé sur deux prélèvements différents à raison d'une détermination par prélèvement.

2.2.2. Les contrôles qualité internes

Le système analytique doit être contrôlé en utilisant une série d'échantillons de contrôle de phénotypes garantis (typage obtenu par un processus analytique différent de celui qui doit être contrôlé par ces échantillons) comprenant pour chaque spécificité les hématies suivantes :

- anti-RH2 : un échantillon RH :2,4 et un échantillon RH :-2,4 ;
- anti-RH3 : un échantillon RH :3,5 et un échantillon RH :-3,5 ;
- anti-RH4 : un échantillon RH :2,4 et un échantillon RH :2,-4 ;
- anti-RH5 : un échantillon RH :3,5 et un échantillon RH :3,-5 ;
- anti-KEL 1 : un échantillon KEL :1 et un échantillon KEL :-1.

2.2.3. Interprétation et validation des résultats, gestion des anomalies (Annexe D III)

3. Le phénotypage étendu

3.1. Définition de l'analyse

Cette analyse consiste à rechercher un ou plusieurs antigènes érythrocytaires autres que ceux qui sont définis par le groupage ABO.RH1 et par le phénotypage RH-KEL 1.

3.2. Modalités de mise en oeuvre

3.2.1. Le principe

Une réalisation du phénotypage étendu :

pour un système donné la recherche de chaque antigène est basée sur l'utilisation du réactif spécifique et du témoin adéquat.

Une détermination du phénotypage étendu :

Sa définition est fonction des conditions techniques :

- si les opérations du phénotypage étendu, incluant les modalités de vérification et d'enregistrement des échantillons et des prescriptions, sont strictement réalisées dans les conditions d'automatisation et d'informatisation décrites à l'article IV Automatisation et informatisation, une détermination repose sur une seule réalisation exécutée à l'aide d'un lot de réactifs et par un technicien ;

- dans tous les autres cas, une détermination repose sur deux réalisations exécutées par deux techniciens différents. La saisie manuelle des résultats doit aussi passer par une double saisie effectuée par deux personnes différentes.

Un phénotypage étendu valide :

Un phénotypage étendu valide est réalisé sur deux prélèvements différents à raison d'une détermination par prélèvement.

3.2.2. Les contrôles qualité internes

Le système analytique doit être contrôlé en utilisant, pour chaque spécificité, deux échantillons de contrôle de phénotypes garantis (typage obtenu par un processus analytique différent de celui qui doit être contrôlé par ces échantillons). L'un de ces échantillons doit être négatif et l'autre d'expression « hétérozygote ».

3.2.3. Interprétation et validation des résultats, gestion des anomalies (Annexe D IV)

4. La recherche d'anticorps anti-érythrocytaires (RAI)

4.1. Définition de l'analyse

A l'aide de gammes d'hématies-tests d'origine humaine, telles qu'elles sont définies en 4.2.1, on dépiste puis identifie, sur du sérum ou du plasma, les anticorps dirigés contre les antigènes érythrocytaires autres que A et B.

4.2. Modalités de mise en oeuvre

4.2.1. Le principe

La recherche d'anticorps anti-érythrocytaires comporte deux étapes dont l'enchaînement est sous la responsabilité du biologiste :

- une étape de dépistage au terme de laquelle le laboratoire pourra répondre « dépistage positif » ou « dépistage négatif » d'anticorps anti-érythrocytaires. En cas de dépistage positif, l'identification de l'anticorps est obligatoire.

Cette étape repose sur l'utilisation d'une gamme d'au moins trois hématies-tests de groupe O qui doit permettre la détection des anticorps correspondants aux antigènes RH1 (D), RH2 (C), RH3 (E), RH4 (c), RH5 (e), KEL 1 (K), KEL 2 (Cellano), KEL 4 (Kpb), FY1 (Fya), FY2 (Fyb), JK1 (Jka), JK2 (Jkb), MNS1 (M), MNS2 (N), MNS3 (S), MNS4 (s), LE1(Lea), LE2 (Leb), P1, LU2 (Lub).

Les phénotypes RH suivants doivent être obligatoirement représentés sur la gamme de

dépistage :

RH : 1,2,-3,-4,5 ;

RH : 1,-2,3,4,-5 ;

RH :-1,-2,-3,4,5.

De plus, une expression phénotypique « homozygote » doit être respectée pour les antigènes FY1, JK1, JK2, MNS3 et recommandée pour les antigènes FY2 et MNS4.

En aucun cas ces hématies ne feront l'objet de mélange.

Une étape d'identification qui consiste à déterminer la spécificité du ou des anticorps présents, en confrontant la distribution des réactions positives et négatives obtenues avec la distribution des antigènes sur les gammes d'hématies-tests utilisées.

Cette étape est réalisée sur un échantillon non décanté et non ouvert si possible, si elle est mise en oeuvre par un laboratoire différent de celui qui a réalisé le dépistage.

Cette étape repose sur l'utilisation, outre la gamme de dépistage, d'au moins 10 hématies-tests.

L'ensemble de ces hématies de groupe O doit comporter les antigènes suivants :

RH1, RH2, RH3, RH4, RH5, RH6, RH8 (Cw), KEL 1, KEL 2, KEL 3 (Kpa), KEL 4, FY1, FY2, JK1, JK2, MNS1, MNS2, MNS3, MNS4, LE1, LE2, P1, LU1 (Lua), LU2.

Les phénotypes suivants doivent être représentés au moins sur deux hématies : KEL 1,

FY :1,-2, FY :-1,2, JK :1,-2, JK :-1,2, MNS :3,-4, MNS :-3,4, P :-1.

Cette phase doit permettre l'identification d'un anticorps courant isolé ainsi qu'une orientation dans l'identification des mélanges d'anticorps.

Les techniques :

Pour les deux étapes, la méthodologie technique repose sur la mise en oeuvre d'un test indirect à l'antiglobuline polyspécifique ou anti-IgG permettant de détecter, sur colonne de filtration ou en immuno-adhérence, un anti-RH1 humain de concentration égale à 20 ng/ml ou d'autres techniques de sensibilité au moins égale.

Lors de la phase d'identification, il peut être utile voire indispensable d'utiliser en complément les techniques dites enzymatiques notamment dans le cadre de difficulté d'identification (association d'alloanticorps) et lors des étapes de diagnostic biologique des accidents immunohémolytiques transfusionnels.

4.2.2. Les contrôles qualité internes

Le système analytique sera contrôlé en utilisant des échantillons de contrôle comportant des anticorps (natifs ou réactifs) de spécificité et de titre connus avec au minimum un anticorps de titre à 4 dans la technique d'utilisation et sur une hématie comportant l'antigène correspondant d'expression « hétérozygote ».

4.2.3. Interprétation et validation des résultats

(Annexe D V)

5. Le titrage des anticorps anti-érythrocytaires immuns autres que les anti-A et anti-B et le dosage pondéral des anti-RH

5.1. Définition de l'analyse

Le titrage consiste à tester le plasma ou le sérum des patientes et ses dilutions vis-à-vis d'hématies - tests possédant les antigènes spécifiques. La surveillance de l'évolution du taux des anticorps est basée obligatoirement sur le titrage par le test indirect à l'antiglobuline.

Le dosage pondéral consiste à mesurer par méthode semi-quantitative et automatisée, la

concentration en anticorps. Applicable aux seuls anti-RH, elle consiste en un dosage comparatif par rapport à l'étalon international anti-RH1 dont la concentration est connue. Le plasma ou le sérum des femmes enceintes immunisées et ses dilutions sont testés vis-à-vis d'hématies - tests possédant l'antigène spécifique correspondant.

5.2. Modalités de mise en oeuvre

5.2.1. Le principe

Le titrage des anticorps consiste à tester le plasma ou le sérum ainsi que ses dilutions de raison géométrique 2 vis à vis d'hématies possédant l'antigène correspondant à l'anticorps identifié de façon extemporanée.

La technique de référence est le test indirect à l'antiglobuline technique tube, en utilisant des hématies natives en solution saline 0,15M.

La technique doit être standardisée, c'est à dire pratiquée :

- avec des réactifs identiques : antiglobuline et mélange d'hématies - tests de même phénotype érythrocytaire ;
 - par rapport à un standard anti-RH1 de titre connu ;
 - avec reprise en parallèle de l'échantillon précédent conservé congelé à une température inférieure ou égale à - 30o C ;
 - en automatisant si possible la réalisation des dilutions à l'aide d'un diluteur. Par ailleurs, la dilution sera extemporanée et si possible portera sur un volume minimum de 100 micro l.
- Un mélange de trois variétés d'hématies natives doit être utilisé. Elles seront prélevées depuis moins de quatorze jours en solution de conservation et de phénotype suivant RH :1, 2, 3, 4, 5 pour les anti-RH1 purs ou associés à un anti-RH2 ou un anti-RH3, d'expression hétérozygote pour les antigènes correspondant aux autres anticorps à tester.

5.2.2. Les contrôles qualité internes

Ils comportent l'étude du standard anti-RH1 de concentration connue à différentes dilutions.

5.2.3. Validation analytique (Annexe D VI)

6. L'épreuve directe de compatibilité au laboratoire

6.1. Définition de l'analyse

C'est une analyse qui consiste à tester l'échantillon de sérum ou de plasma du receveur vis-à-vis des hématies de la tubulure du produit sanguin à transfuser.

6.2. Modalités de mise en oeuvre

6.2.1. Le principe

L'épreuve directe de compatibilité au laboratoire se déroule en trois étapes :

1. - Sélection des unités à compatibiliser conformément aux bonnes pratiques de distribution. Cette sélection prend en compte :
Le statut immuno-hématologique du receveur dont la définition minimale préalable repose obligatoirement, en absence d'antériorité valide, sur :

- le groupage ABO.RH1 ;
- le phénotypage RH-KEL 1 ;
- le phénotypage autre que RH-KEL 1 d'un ou plusieurs antigènes immunogènes si une antigène ou séro compatibilité les concernant doit être respectée ;
- le dépistage d'anticorps anti-érythrocytaires dont le délai par rapport à la date effective de la transfusion est conforme aux dispositions réglementaires ;
- l'identification d'anticorps anti-érythrocytaires en cas de dépistage positif.

La mention d'un protocole transfusionnel éventuel spécifique à la situation clinique considérée.

2. - Préparation des hématies de la tubulure.

Cette étape a pour but de conditionner les hématies de la tubulure afin qu'elles puissent être testées dans les mêmes conditions techniques que la RAI.

Au cours de cette étape, il convient d'être particulièrement attentif aux modalités d'identification de la tubulure et des échantillons secondaires à partir du numéro codé en barres de l'unité de produit sanguin.

3. - Exécution technique.

Les conditions techniques sont identiques à celles utilisées par la RAI.

6.2.2. Les contrôles qualité internes

Le système analytique doit être contrôlé en utilisant des échantillons de contrôle identiques à ceux utilisés pour la RAI.

6.2.3. Interprétation et validation des résultats (Annexe D VII)

7. Le test direct à l'antiglobuline

7.1. Définition de l'analyse

Le test direct à l'antiglobuline permet la mise en évidence de la sensibilisation in vivo des hématies humaines par des anticorps de nature IgG et/ou des fractions du complément. Ce test doit être réalisé sur un échantillon de préférence anticoagulé.

7.2. Modalités de mise en oeuvre

7.2.1. Le principe

La mise en évidence de la sensibilisation in vivo des hématies repose sur l'utilisation d'antiglobuline(s) humaine(s) dont la portion Fab reconnaît les marqueurs isotypiques d'immunoglobulines ou des fractions du complément spécifiquement fixées sur l'hématie. La réalisation de cette analyse impose d'utiliser de façon simultanée et indépendante une antiglobuline anti-IgG et un anti-C3d ainsi que des réactifs témoins appropriés.

7.2.2. Les contrôles qualité internes

Le système analytique sera contrôlé en utilisant des hématies préalablement sensibilisées in vitro par des IgG et éventuellement du complément.

7.2.3. Interprétation et validation des résultats (Annexe D VIII)

III. - Contrôle de qualité interne (CQI)

Le biologiste devra organiser un contrôle de qualité interne conformément au guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA) et qui repose notamment sur l'analyse d'échantillons de contrôle effectuée dans les mêmes conditions que celles appliquées aux échantillons biologiques. Les résultats relatifs à ces échantillons de contrôle doivent être connus et garantis. La mise en oeuvre de ces contrôles est, au minimum, quotidienne.

IV. - Automation. - Informatisation

1. Automation et exécution analytique

Les caractéristiques, les modalités de mise en place et le fonctionnement des matériels automatiques et informatiques seront conformes aux règles générales d'exécution des analyses de biologie médicale prévues par le GBEA en vigueur.

1.1. Objectifs de l'automation et de l'informatisation au laboratoire d'immuno-hématologie (Annexe D IX)

1.2. Définition des caractéristiques minimales d'un système permettant de dire que le processus d'analyse immuno-hématologique est automatique

Quel que soit le degré d'automatisation du processus analytique, sa qualité est directement liée à la phase préanalytique qui comporte des opérations manuelles critiques dont l'erreur peut remettre en cause la fiabilité du résultat :

- acceptation des échantillons et des documents accompagnateurs (prescription - fiche de suivi médical),
- saisie de l'état civil,
- établissement du lien entre patient - support d'identification positive - échantillon.

Ces opérations doivent faire l'objet de procédures écrites et détaillées permettant d'éviter toute erreur de saisie ou d'identification. Il est nécessaire de mettre en oeuvre des opérations spécifiques permettant une vérification de la saisie et du lien entre le patient et son échantillon.

A ce titre, la saisie informatique de l'état civil à partir de la prescription doit être suivie d'un contrôle basé sur une deuxième saisie réalisée à partir des informations inscrites sur l'échantillon et après une identification positive de celui-ci.

La qualification « d'automatique » pour un système donné impose que celui-ci puisse prendre en charge certaines phases de l'exécution analytique apparaissant comme critiques pour la fiabilité des résultats et puisse associer de façon automatique et univoque le patient aux résultats correspondants via le support d'identification positive de l'échantillon. Cette conception peut donc s'appliquer aussi bien aux automates qu'aux semi-automates tels qu'ils sont définis en biologie médicale et qui fonctionnent dans un système informatique donné.

L'attribution de cette qualification repose donc sur la prise en charge, par le système (ensemble de l'automate et de l'environnement informatisé du laboratoire) concerné, des opérations mentionnées en annexe D X.

2. Sécurisation du transfert des résultats du laboratoire sur le centre de distribution (Annexe D XI)

V. - Carte de groupes sanguins

La carte de groupes sanguins est un document de synthèse de données biologiques permettant d'assurer la sécurité transfusionnelle immunologique du patient. La carte de groupes sanguins est éditée par un système informatique validé. Toute retranscription manuelle ou utilisation d'étiquettes de groupe autocollantes est interdite. Les deux déterminations portées sur la carte seront effectuées par le même laboratoire. L'ensemble des mentions nécessaires à la sécurité transfusionnelle immunologique doit apparaître sur une seule face de la carte.

1. Mentions apparaissant sur la carte de groupes sanguins

1.1. Identification du laboratoire qui a édité la carte de groupes sanguins

Nom du laboratoire.

Adresse.

Téléphone.

Signature du biologiste.

1.2. Identification du patient

Nom de naissance complété s'il y a lieu du nom marital.

Prénom(s) et en cas de prénom composé, transcription du prénom complet en toutes lettres.

Sexe.

Date de naissance.

En cas de changement de nom marital, la carte reste valide si les autres identifiants sont corrects.

1.3. Groupes sanguins et phénotypes érythrocytaires

Le résultat de chaque détermination est suivi de la date de sa réalisation.

Une mention rappelle que les groupes sanguins et les phénotypes ne sont valides qu'après deux déterminations. Cette mention peut être portée au dos de la carte.

Il est recommandé d'utiliser la nomenclature alphanumérique internationale.

1.4. Recherche d'anticorps anti-érythrocytaires

La présence d'un ou plusieurs anticorps anti-érythrocytaires est mentionnée sur la carte suivie de la date de découverte de l'anticorps. Il n'est pas fait mention des caractéristiques (liste des antigènes) des gammes d'hématies-tests qui ont été utilisées, ainsi que leur provenance.

Une recherche d'anticorps anti-érythrocytaire négative ne fait l'objet d'aucune mention sur la carte de groupes sanguins.

Il est recommandé d'utiliser la nomenclature alphanumérique internationale.

2. Cas particulier du nouveau-né

La détermination des groupes sanguins chez un nouveau-né ou un nourrisson nécessite un prélèvement de sang veineux. Elle ne peut pas être réalisée à partir d'un prélèvement de sang effectué au cordon.

Le document de groupes sanguins n'est valide que jusqu'à l'âge de six mois. Il doit mentionner : « groupe sanguin de nouveau-né - valide jusqu'au - date de naissance + 6 mois- ».

A N N E X E D

BONNES PRATIQUES DE LABORATOIRE EN IMMUNO-HEMATOLOGIE ERYTHROCYTAIRE

A N N E X E D I

CHAMPS D'APPLICATION

1. Groupage ABO-RH1

En absence de résultats valides, cette analyse est réalisée :

- dans un contexte prétransfusionnel avéré ou potentiel ;
- dans un contexte prénuptial, pré ou périnatal conformément aux dispositions réglementaires relatives au suivi de la grossesse. Dans ce contexte les réactifs anti-RH1 utilisés doivent détecter la plupart des variants RH1 ;
- pour la validation de l'identification d'anticorps anti-érythrocytaires ;
- en l'absence de résultats valides du phénotype RH-KEL 1 cette analyse est obligatoirement complétée par un phénotypage RH-KEL 1.

2. Phénotypage RH-KEL 1

En absence de résultats valides, cette analyse est réalisée :

- dans un contexte prétransfusionnel avéré ou potentiel. La prise en compte du résultat s'inscrit dans le cadre des bonnes pratiques de distribution ;
- dans le contexte prénuptial, pré ou périnatal conformément aux dispositions réglementaires relatives au suivi de la grossesse ;
- pour la validation de l'identification d'anticorps anti-érythrocytaires ;

En absence de résultats valides de groupage ABO-RH1 :

- cette analyse est obligatoirement complétée par un groupage ABO-RH1.

3. Phénotypage étendu

En absence de résultats valides, cette analyse est réalisée :

- systématiquement dans les cas d'allo-immunisation anti-érythrocytaire complexe et proposée, à titre préventif, chez certains patients transfusés de manière itérative. Dans ce dernier cas l'analyse concerne les antigènes courants suivants :

FY1, FY2, JK1, JK2, MNS3 et si possible MNS4.

- pour la validation de l'identification d'anticorps anti-érythrocytaires dirigés contre un ou plusieurs antigènes érythrocytaires autres que ceux qui sont définis par le groupage ABO-RH1 et par le phénotypage RH-KEL 1 et pour lesquels les réactifs sont disponibles sur le marché.

En absence de résultats valides de groupage ABO-RH1 et/ou de phénotypage RH-KEL 1, cette analyse est obligatoirement complétée par un groupage ABO-RH1 et un phénotypage RH-KEL 1.

4. Recherche d'anticorps anti-érythrocytaires

Cette analyse doit être réalisée dans le cadre de la prévention des accidents immuno-hémolytiques transfusionnels :

- chez tout patient susceptible à court terme d'être transfusé ;
- chez le transfusé itératif, en bonne place au cours des séries de transfusions ;
- chez le patient transfusé dans le cadre du suivi post-transfusionnel préconisé par la réglementation.

Elle doit être réalisée en contexte de greffe ou transplantation.

Elle doit être réalisée en contexte pré ou périnatal conformément aux dispositions réglementaires relatives au suivi de la grossesse.

En l'absence de prescription, ces analyses doivent être réalisées à l'initiative du biologiste.

5. Titrage des anticorps anti-érythrocytaires autres que anti-A, anti-B et dosage pondéral des anti-RH

Le titrage, indissociable de la recherche des anticorps anti-érythrocytaires, est obligatoire chez toute femme enceinte possédant un anticorps immun. Il permet d'estimer l'évolution de l'allo-immunisation en rapport avec un passage d'hématies foetales qui peut éventuellement se produire dès le premier trimestre de la grossesse. L'activité fonctionnelle (pouvoir hémolytique) de l'anticorps dépendant de sa concentration et de son affinité, pour les anticorps du système RH, l'association au dosage pondéral est nécessaire afin de mieux appréhender le risque hémolytique anté-natal.

En cas d'allo-immunisation une nouvelle programmation des RAI (avec titrage et éventuellement dosage pondéral) est nécessaire. Il est classiquement reconnu qu'un contrôle mensuel est suffisant, dans la majorité des cas, jusqu'à la 20e semaine d'aménorrhée. Au-delà, un contrôle tous les quinze jours est à envisager. Dans certains cas d'immunisation sévère, un contrôle fréquent est nécessaire, même avant la 20e semaine d'aménorrhée, et d'autant plus en fin de grossesse où le rythme peut être hebdomadaire. En l'absence de prescription, ces analyses doivent être réalisées à l'initiative du biologiste.

6. Epreuve directe de compatibilité au laboratoire

Cette analyse est réalisée dans les circonstances suivantes :

- s'il s'agit d'un receveur présentant ou ayant présenté un (ou plusieurs) allo-anticorps anti-érythrocytaires ;
- s'il s'agit d'un nouveau-né présentant un test direct à l'antiglobuline positif ou né de mère allo-immunisée.

7. Test direct à l'antiglobuline

Cette analyse doit s'inscrire dans l'un des contextes suivants :

- dans le cadre d'un syndrome hémolytique clinique ou biologique pour démontrer l'origine immunologique de cette hémolyse ;
- dans le cadre de la mise en évidence d'auto-anticorps lors de la RAI afin de détecter leur capacité à se fixer in vivo ;
- dans le cadre d'une maladie hémolytique du nouveau-né pour démontrer la sensibilisation des hématies du nouveau-né par les allo-anticorps de nature IgG d'origine maternelle ;
- dans le cadre d'une réaction transfusionnelle pour démontrer l'origine immuno-hémolytique de l'incident ;
- dans le cadre d'une anémie hémolytique auto-immune pour démontrer la sensibilisation des hématies du patient par les auto-anticorps et/ou par du complément ;
- dans le cadre d'une anémie hémolytique d'origine médicamenteuse pour démontrer la sensibilisation des hématies par des anticorps reconnaissant certains médicaments ;
- dans le cadre de l'exploration biologique d'autres maladies auto-immunes.

A N N E X E D I I GROUPE ABO-RH1

Dans l'épreuve globulaire de réalisation du groupage sanguin ABO, le réactif anti-B utilisé ne doit pas donner de réaction croisée vis-à-vis de l'antigène B acquis. L'un des deux réactifs, anti-A ou anti-AB, doit pouvoir reconnaître les hématies Ax.

1. Interprétation et validation des résultats

La validation analytique repose sur :

- résultats conformes des CQI ;

- absence d'ambiguïté réactionnelle avec chaque réactif ;
- absence de double population. A ce titre, il est indispensable que tout antécédent transfusionnel récent (moins de quatre mois) soit signalé au laboratoire lors de la prescription de l'analyse ;
- profil réactionnel cohérent par rapport à la table d'interprétation des groupes ABO-RH1 ;
- absence de discordance entre deux réalisations ;
- absence de discordance avec antériorité.

2. Gestion des anomalies

La constatation d'une anomalie lors de la phase de validation analytique du groupe sanguin ABO-RH1 impose l'intervention du biologiste. La gestion de l'anomalie repose alors sur :

Une attitude sécurisée en termes d'exploitation :

- ne pas rendre le résultat ;
- rendre un conseil transfusionnel provisoire en cas d'urgence ;

Une nouvelle détermination du groupe sanguin :

- si l'anomalie n'est pas retrouvée, le résultat est validé ;
- si l'anomalie est retrouvée, une poursuite de l'exploration.

Une attitude cohérente en termes d'exploration de l'anomalie qui tiendra compte :

- du contexte clinique ;
- du profil réactionnel obtenu ;
- du résultat des témoins du groupage ABO :
 - le témoin « auto » qui consiste à tester, dans les mêmes conditions techniques, le plasma du sujet vis-à-vis de ses propres hématies ;
 - les témoins « allo » et éventuellement « A2 » qui consistent à tester, dans les mêmes conditions techniques, le plasma du sujet vis-à-vis d'une gamme d'hématies-tests O et A2 dont la constitution antigénique permettra de détecter les anticorps anti-érythrocytaires, autres que anti-A et anti-B, susceptibles d'interférer avec l'épreuve plasmatique ;
 - le témoin « réactif » qui consiste à tester, dans les mêmes conditions techniques, les hématies du sujet vis-à-vis d'un réactif témoin n'ayant pas d'activité anticorps.

A N N E X E D III

PHENOTYPAGE RH-KEL 1

1. Interprétation et validation des résultats

La validation analytique repose sur :

- résultats conformes des CQI ;
- absence d'ambiguïté réactionnelle avec chaque réactif ;
- absence de double population. A ce titre, il est indispensable que tout antécédent transfusionnel récent (moins de quatre mois) soit signalé au laboratoire lors de la prescription de l'analyse ;
- profil réactionnel cohérent par rapport à la table d'interprétation des phénotypes RH-KEL 1 ;
- absence de discordance entre deux réalisations ;
- absence de discordance avec antériorité.

2. Gestion des anomalies

La constatation d'une anomalie lors de la phase de validation analytique du phénotypage RH-KEL 1 impose l'intervention du biologiste. La gestion de l'anomalie repose alors sur :

Une attitude sécurisée en termes d'exploitation :

- ne pas rendre le résultat ;
- rendre un conseil transfusionnel provisoire en cas d'urgence ;

Une nouvelle détermination du phénotype :

- si l'anomalie n'est pas retrouvée, le résultat est validé ;
- si l'anomalie est retrouvée une poursuite de l'exploration ;

Une attitude cohérente en termes d'exploration de l'anomalie qui tiendra compte :

- du contexte clinique ;
- du profil réactionnel obtenu (témoins adéquats inclus).

A N N E X E D I V PHENOTYPAGE ETENDU

1. Interprétation et validation des résultats

La validation analytique repose sur :

- résultats conformes des CQI ;
- absence d'ambiguïté réactionnelle avec chaque réactif ;
- absence de double population. A ce titre, il est indispensable que tout antécédent transfusionnel récent (moins de quatre mois) soit signalé au laboratoire lors de la prescription de l'analyse ;
- profil réactionnel cohérent par rapport à la table d'interprétation des phénotypes étendus ;
- absence de divergence entre deux réalisations ;
- absence de discordance avec antériorité.

2. Gestion des anomalies

La constatation d'une anomalie lors de la phase de validation analytique du typage érythrocytaire étendu impose l'intervention du biologiste. La gestion de l'anomalie repose alors sur :

Une attitude sécurisée en termes d'exploitation :

- ne pas rendre le résultat ;
- rendre un conseil transfusionnel provisoire en cas d'urgence ;

Une nouvelle détermination du phénotype :

- si l'anomalie n'est pas retrouvée, le résultat est validé ;
- si l'anomalie est retrouvée, une poursuite de l'exploration ;

Une attitude cohérente en termes d'exploration de l'anomalie qui tiendra compte :

- du contexte clinique ;
- du profil réactionnel obtenu.

A N N E X E D V RECHERCHE D'ANTICORPS ANTI-ERYTHROCYTAIRES Interprétation et validation des résultats

L'identification d'un ou plusieurs anticorps anti-érythrocytaires impose :

De valider la spécificité de chaque anticorps par l'obtention d'une réaction positive avec toutes les hématies porteuses de l'antigène correspondant (au moins 3 hématies) et d'une réaction négative avec toutes les hématies non porteuses de cet antigène (au moins 3 hématies). Le seuil minimal de 3 hématies en terme de réactivités positives ou négatives ne s'applique pas en cas d'association d'anticorps de spécificité anti-RH.

Lorsque cette correspondance exacte n'est pas obtenue, l'interprétation doit prendre en compte le caractère « homozygote » ou « hétérozygote » des hématies utilisées. Dans ces conditions, une étape supplémentaire avec un plus grand nombre d'hématies informatives doit être mise en oeuvre ;

D'éliminer des anticorps supplémentaires éventuels :

- par la mise en oeuvre de techniques complémentaires ;
- par la présence, sur les hématies négatives, des antigènes présents sur la gamme de

dépistage ne correspondant pas à la (aux) spécificité(s) préalablement identifiée(s) ;
De contrôler l'absence de l'antigène correspondant à chaque allo-anticorps identifié lorsque les réactifs sont disponibles sur le marché.

En absence de résultats valides, l'identification d'un anticorps anti-érythrocytaire doit être complétée par un groupage ABO-RH1 et un phénotypage RH-KEL 1.

ANNEXE D VI

TITRAGE DES ANTICORPS ANTI-ERYTHROCYTAIRES IMMUNS AUTRES QUE LES ANTI-A ET ANTI-B ET LE DOSAGE PONDERAL DES ANTI-RH La validation analytique repose sur les résultats obtenus avec un standard anti-RH1, les résultats comparatifs entre les 2 échantillons n et n - 1 de la patiente et les résultats de l'antériorité.

ANNEXE D VII

EPREUVE DIRECTE DE COMPATIBILITE AU LABORATOIRE

Interprétation et validation des résultats

Une procédure doit définir les modalités de libération des produits sanguins labiles compatibles en fonction des résultats de cette épreuve :

- résultats conformes des CQI ;
- en absence de réactivité dans la technique considérée :
- l'unité est déclarée compatible. Sa libération est autorisée avec identification spécifique de l'unité conformément aux dispositions réglementaires en vigueur ;
- en cas de réactivité dans la technique considérée :
- l'unité est déclarée incompatible. En fonction du contexte, sa libération peut être autorisée conformément aux dispositions réglementaires prévues par les bonnes pratiques de distribution et le conseil transfusionnel. Par ailleurs, une exploration complémentaire peut être entreprise afin d'expliquer ces résultats et sélectionner de nouvelles unités en tenant compte de ces explorations.

ANNEXE D VIII

TEST DIRECT A L'ANTIGLOBULINE

Interprétation et validation des résultats

- résultats conformes des CQI ;
- absence d'ambiguïté réactionnelle avec chaque réactif ;
- profil réactionnel cohérent par rapport à la logique d'interprétation préétablie.

ANNEXE D IX

OBJECTIFS DE L'AUTOMATION ET INFORMATISATION AU LABORATOIRE D'IMMUNO-HEMATOLOGIE

1. Diminuer le risque d'erreur humaine

En immuno-hématologie érythrocytaire, l'automatisation et l'informatisation des analyses et du transfert des résultats apporte une sécurité supplémentaire par rapport à la réalisation manuelle en réduisant plusieurs risques possibles d'erreurs, et en particulier les erreurs relatives à :

- l'enregistrement de la demande ;
- la sélection de l'échantillon ;
- la sélection du réactif ;
- l'exécution de l'analyse elle-même ;
- la transcription ;
- l'interprétation ;

- la saisie des résultats.

2. Garantir la traçabilité

La compréhension et la correction d'éventuels dysfonctionnements reposent sur une analyse précise des défaillances qui peuvent survenir au niveau d'un processus. L'efficacité de cette exploration a posteriori est intimement liée à une traçabilité fiable de tous les éléments ayant contribué aux opérations analytiques. Aussi les opérations suivantes, relatives à chaque analyse, doivent être archivées, accessibles et exploitables :

- date de l'analyse ;
- couple distributeur-lecteur ;
- réactifs : types - spécificités - numéro de lot ;
- liaison avec les COI (types - spécificités- numéro de lot - résultats) ayant permis la validation ;
- opérateur ;
- résultats réactionnels obtenus avec chaque réactif ;
- notion de correction manuelle éventuelle survenue avec l'un d'entre eux ;
- résultats analytiques interprétés.

3. Gérer les alarmes de fonctionnement du système

Remarques :

- en l'absence de connexion informatique, le risque d'erreur de transcription existe toujours, même en cas de double saisie ;
- l'optimisation des systèmes automatiques impose de mettre l'accent sur une formation adaptée des opérateurs.

A N N E X E D X

a) Traitement et identification des échantillons

*Vous pouvez consulter le tableau dans le JO
n° 104 du 04/05/2002 page 8375 à 8382*

b) Gestion des réactifs

*Vous pouvez consulter le tableau dans le JO
n° 104 du 04/05/2002 page 8375 à 8382*

c) Gestion du support réactionnel (microplaque ou support filtration)

*Vous pouvez consulter le tableau dans le JO
n° 104 du 04/05/2002 page 8375 à 8382*

d) Gestion de la phase de préparation distribution

*Vous pouvez consulter le tableau dans le JO
n° 104 du 04/05/2002 page 8375 à 8382*

e) Traitement de la lecture des réactions

*Vous pouvez consulter le tableau dans le JO
n° 104 du 04/05/2002 page 8375 à 8382*

f) Traitement des informations

*Vous pouvez consulter le tableau dans le JO
n° 104 du 04/05/2002 page 8375 à 8382*

g) Exploitation des informations

La décision finale de la validation analytique revient à l'opérateur :

- par contrôle visuel de chaque support avec analyse de cohérence avec les résultats rendus par le système ;
- par appréciation de la qualité des contrôles qualité internes autorisant la validation analytique.

*Vous pouvez consulter le tableau dans le JO
n° 104 du 04/05/2002 page 8375 à 8382*

h) Validation biologique

Conforme à la réglementation en vigueur (GBEA).

A N N E X E D X I

**SECURISATION DU TRANSFERT DES DONNEES IMMUNO
HEMATOLOGIE VERS LE SERVICE DE DISTRIBUTION**

Elle repose en partie sur la fiabilité des données immuno-hématologiques du receveur introduites dans le système.

Afin d'éviter leur prise en compte manuelle à partir de résultats écrits, ces données doivent être transférées en totalité et informatiquement, après validation, vers le site de distribution de l'Etablissement français du sang ou le dépôt de distribution de l'établissement de santé autorisé à attribuer les produits sanguins labiles.

Le transfert des données doit respecter le guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA) et les recommandations suivantes :

La transmission de données nominatives

Les procédures utilisées doivent garantir la confidentialité :

Les données doivent être cryptées lorsque celles-ci doivent transiter sur un réseau ouvert.

Elles doivent également être cryptées lorsqu'elles doivent transiter sur un réseau interne sur lequel peut se connecter du personnel non médical et non paramédical ;

L'identification de l'émetteur, du destinataire et la vérification des droits de celui-ci à recevoir ces données sont obligatoires. Le destinataire pouvant être une personne physique

ou un ordinateur.

L'intégrité des données transmises

Le protocole de transfert des données doit comporter des procédures efficaces de contrôle des échanges vérifiant que le ou les messages reçus sont identiques au(x) message(s) envoyé(s) et que ces procédures soient effectivement actives.

Au cas où de telles procédures ne seraient pas utilisées (en raison de problèmes momentanés, par exemple), le message émis doit en comporter la mention en clair afin d'avertir le receveur de la possibilité d'erreurs dans la transmission des données.

En cas d'échec de transmission ou de rupture de communication en cours, il faut retransmettre automatiquement et intégralement le ou les messages.

L'archivage des transmissions

Il est nécessaire d'archiver ces transmissions pendant toute la durée légale d'archivage des dossiers des patients. Ces archives doivent pouvoir être éditables et consultables à tout moment en comportant la date et l'heure d'émission du message acquitté par le receveur.

En cas de transmissions multiples d'un même dossier pour complément ou mise à jour, chacune des transmissions doit être archivée sous la même forme.

Les messages de transfert utilisés doivent répondre aux dispositions normatives en vigueur qui concernent la transfusion sanguine.