

# Recommandations pour la réalisation des examens d'immuno-hématologie de première intention par les laboratoires de biologie médicale

**Auteurs du document :**  
Patrick JOUBAUD  
et Jean-Marc GIANNOLI

**Date de diffusion du rapport :** 17/01/2024

*Avec la collaboration de Bénédicte DEBIOL, Éric MOUREY, Corinne MIGOT, Sandrine LEYERLOUP, Corinne CHABRIERES, Guillaume LETIZIA, Elodie MAENULEIN, Clément DUMORTIER, Aurélie CONTE, Jacques CHIARONI et Thierry PEYRARD*

- **Bénédicte DEBIOL** - Biologiste médicale - Pilote Nationale Processus LBM - EFS Siège
- **Eric MOUREY** - Médecin Coordonnateur Régional d'Hémovigilance - ARS Bourgogne Franche-Comté.
- **Corinne MIGOT** - Référente nationale Identito-vigilance EFS - EFS Occitanie - Pyrénées - Méditerranée
- **Sandrine LEYERLOUP** - MOA Adjointe SI Médico-Techniques - Référente Nationale Réseaux et Projets - Direction des Biologies, des Thérapies et du Diagnostic - EFS Siège
- **Corinne CHABRIERES** - Biologiste médicale BRS Site IPC Marseille - EFS Provence Alpes Côte d'Azur et Corse
- **Guillaume LETIZIA** : Biologiste médical - CH Dunkerque
- **Elodie MAENULEIN** - Biologiste médicale - EFS Ile-de-France
- **Clément DUMORTIER** - Biologiste médical - EFS Bretagne
- **Aurélien CONTE** - Biologiste médicale - Responsable du laboratoire IH - EFS Occitanie - Pyrénées - Méditerranée
- **Jacques CHIARONI** - Biologiste médical - EFS Provence Alpes Côte d'Azur et Corse
- **Thierry PEYRARD** - Biologiste médical - EFS Ile-de-France (CNRGS)
- **Patrick JOUBAUD** - Biologiste médical - Référent national d'accréditation - EFS Bourgogne Franche-Comté
- **Jean-Marc GIANNOLI** - Biologiste médical - Biogroup (Direction technique) – LABAC

### **Préambule :**

Ce document, ainsi que les douze fiches de synthèse qui lui sont associées, font suite à la conférence du 16 mai 2023, organisée à Paris par LABAC, sur la thématique « Immuno-hématologie ».

Les différents contributeurs se sont efforcés d'établir des positions explicites qui reflètent la littérature, leurs expériences et leurs connaissances en biologie médicale et dans le domaine de la transfusion sanguine. Ces recommandations sont destinées aux **laboratoires de biologie médicale**, réalisant des examens immuno-hématologiques **de première intention**, afin d'établir leurs dispositions et ne prétendent pas répondre à tous les cas de figures envisageables au sein d'un LBM.

Quatre niveaux de recommandations ont été retenus :

- **les pratiques recommandées** : conformes aux exigences de la norme NF EN ISO 15189:2022 et assurant un service médical rendu optimal.
- **les pratiques acceptables** : situations s'écartant des bonnes pratiques en immuno-hématologie mais permettant d'assurer une prise en charge satisfaisante du patient ainsi que la sécurité transfusionnelle et obstétricale.
- **les pratiques non recommandées** : non conformes aux exigences de la norme NF EN ISO 15189:2022 et ne permettant pas une prise en charge satisfaisante du patient, mais assurant la sécurité transfusionnelle et obstétricale.
- **les pratiques non acceptables** : présentant un risque transfusionnel ou obstétrical.

## INTRODUCTION :

### 1/ La prescription en Immuno-hématologie érythrocytaire (IHE) - *Éric MOUREY*

1.1/ La prescription d'examens IHE _____	5
1.2/ La liste des examens à pratiquer selon le contexte clinique _____	5
1.3/ La prescription en IH : une ou deux déterminations de phénotype ABO-RH-K ? _____	6
1.4/ La bonne pratique de prescription en IH : quand prescrire un phénotype érythrocytaire et une RAI ? _____	7

### 2/ gestion des erreurs d'identité après intégration via ERA - *Sandrine LEYERLOUP*

2.1/ Les risques en identitovigilance _____	10
2.2/ Conduite à tenir pour la correction de l'erreur au niveau du LBM après intégration via ERA _____	11

### 3/ Phase Pré-Analytique : Quels renseignements cliniques ? - *Corinne CHABRIERES*

3.1/ Éléments de maîtrise de la prescription des examens IH _____	12
3.2/ Notion de délai et de l'urgence en immuno-hématologie _____	13
3.3/ Quels renseignements cliniques en IH ? _____	14

### 4/ Le pré-analytique en immuno-hématologie - *Guillaume LETIZIA*

4.1/ Matrices sanguines utilisables en IH : anticoagulants utilisables et volumes nécessaires _____	17
4.1.1 Types de tubes utilisables en IH _____	17
4.1.2 Volumes nécessaires _____	18
4.2/ Cas du prélèvement de nouveau-né sur sang de cordon _____	18
4.3/ Identification de l'échantillon _____	20
4.4/ Cas du prélèvement de deux déterminations de phénotype érythrocytaire _____	21
4.5/ Conditions de conservation pré-analytiques _____	21
4.5.1 Concernant les conditions de centrifugation des échantillons _____	22
4.5.2 Stabilité des échantillons _____	22

### 5/ Gestion des réactifs et réactovigilance - *Clément DUMORTIER*

5.1/ Gestion des réactifs _____	24
5.2/ Réactovigilance _____	25
5.2.1 Réactovigilance ascendante _____	25
5.2.2 Réactovigilance descendante _____	25
5.2.3 Analyse d'impact _____	25
5.3/ Stratégie de CIQ pour les examens IHE de 1ere intention _____	26
5.3.1 Phénotypage érythrocytaire ABO-RH-K _____	26
5.3.2 Dépistage et identification d'anticorps anti-érythrocytaires autres qu'ABO (RAI) _____	26
5.3.3 Examen direct à l'antiglobuline _____	26

### 6/ Vérification / validation de méthode - *Elodie MAENULEIN*

6.1/ Choix de la portée _____	28
6.2/ Quels protocoles utiliser pour les méthodes qualitatives ? _____	28
6.3/ Performances des méthodes et exigences réglementaires _____	29

6.4/ Comparaison de méthodes et comparabilité des résultats _____	29
6.5/ Interférences - Guillaume LETIZIA _____	30
<b>7/ Difficultés de phénotypage érythrocytaire et de RAI positive :</b>	
<b>Conduite à tenir au laboratoire - Elodie MAENULEIN</b>	
7.1/ Difficulté de phénotypage érythrocytaire _____	34
7.1.1 Discordance épreuve globulaire (Beth-Vincent) et épreuve plasmatique (Simonin) _____	34
7.1.2. Agglutination du témoin _____	36
7.1.3 Intensités réactionnelles ininterprétables : doubles populations et agglutination faible _____	36
7.1.4 Difficultés de phénotypage érythrocytaire étendu _____	39
7.2/ Identification d'anticorps anti-érythrocytaires : _____	39
7.2.1 L'Identification : une étape obligatoire _____	39
7.2.2 Anti-RH1 et grossesse _____	40
7.2.3 Conduite à tenir en cas de RAI positive chez une femme enceinte ____	41
7.2.4 Suspicion de faux négatif : dépistage positif mais non confirmé sur le panel d'identification d'au moins 10 hématies _____	43
<b>8/ Détection d'un phénotype rhésus rare et conduite à tenir au laboratoire de biologie médicale - Patrick JOUBAUD</b>	
8.1/ Description des phénotypes Rhésus (RH) rare ou exceptionnel _____	43
8.2/ Détection d'un phénotype Rh (RH) rare ou exceptionnel _____	44
<b>9/ Carte de groupe sanguin et formats d'échanges de résultats - Sandrine LEYERLOUP</b>	
9.1/ Revue de la réglementation par rapport à la carte de groupes sanguins et exigences normatives _____	48
9.2/ Diffusion des résultats _____	49
9.3/ Format d'échanges _____	49
<b>10/ Transmission et délai des résultats en immuno-hématologie - Guillaume LETIZIA</b>	
10.1/ Transmission électronique des résultats immuno-hématologiques ____	50
10.2/ Transmission des résultats critiques (contexte obstétrical) _____	51
<b>11/ Prestations de conseils - Avis et interprétations en IH - Aurélie CONTE</b>	
11.1/ Prestations de conseils pour les phénotypes érythrocytaire rares ____	53
11.2/ Prestations de conseils en cas de détection de discordance de phénotypes érythrocytaires _____	53
11.3/ Prestations de conseils et RAI pendant la grossesse _____	54
11.4/ Prestations de conseils et examen direct à l'antiglobuline (EDA, TDA ou Coombs direct) : nouveau-né et patient adulte _____	54
12.5/ Adaptation aux évolutions thérapeutiques pour continuer à assurer la sécurité transfusionnelle des patients _____	54
<b>12/ Conclusion</b>	

# INTRODUCTION

La réalisation des examens d'immuno-hématologie, intimement liée à l'acte transfusionnel, permet, lorsque les résultats sont intégrés dans le logiciel médico-technique de l'Établissement Français du Sang (EFS : établissement public de l'État placé sous la tutelle du ministre en charge de la santé, chargé, par la loi, de la gestion du service public de la transfusion sanguine), de **garantir la sécurité de la délivrance des produits sanguins labiles** (PSL) et d'**assurer le suivi obstétrical** et donc la prise en charge transfusionnelle des femmes enceintes, des fœtus et des nouveau-nés.

Elle doit être adaptée à l'urgence transfusionnelle (urgence vitale immédiate, urgence vitale et urgence relative) et s'accompagne d'**une expertise en conseil transfusionnel** : connaissance des PSL, connaissance des filières d'accès à ces produits : prélèvement de donneurs de sangs rares, concentrés de globules rouges (CGR) congelés.

Ces recommandations de bonnes pratiques ont pour principal objectif de compléter les dispositions réglementaires de l'arrêté du 15 mai 2018 fixant les conditions de réalisation des examens de biologie médicale d'immuno-hématologie érythrocytaire, afin d'en préciser leur application pour les LBM qui réalisent des examens d'immuno-hématologie, notamment ceux de première intention : phénotype érythrocytaire et RAI.

**Rappels des Bonnes Pratiques Transfusionnelles** : pour l'urgence transfusionnelle, trois niveaux sont définis :

**Urgence vitale immédiate** : situation où la délivrance des PSL est réalisée **sans délai**. Les PSL peuvent éventuellement être délivrés avant la connaissance des résultats des examens immuno-hématologiques pré-transfusionnels prévus par voie réglementaire chez le receveur

**Urgence vitale** : situation où le délai d'obtention des PSL est **inférieur ou égal à 30 minutes**. Le délai maximum de 30 minutes est comptabilisé à partir du moment où l'EFS ou le Centre de Transfusion du Service des Armées (CTSA : organisme du service de santé des armées ayant pour mission de collecter le sang et ses composants et de qualifier, préparer, conserver et distribuer les produits sanguins labiles pour les besoins relevant de sa mission mentionnée à l'article R. 1222-53 du code de la santé publique) ou le dépôt de sang accuse réception de la prescription. Les structures de délivrance (EFS, CTSA ou dépôt de sang) mettent en place des procédures garantissant la prise en compte dans les plus brefs délais de la prescription en urgence vitale. Les CGR sont délivrés sur la base des résultats d'immuno-hématologie disponibles conformément à la réglementation en vigueur.

**Urgence relative** : situation où le délai d'obtention de PSL est le plus souvent **de deux à trois heures**, ce qui permet la réalisation de l'ensemble des examens immuno-hématologiques pré-transfusionnels prévus par voie réglementaire chez le receveur ; les concentrés de globules rouges délivrés seront ABO compatibles, au besoin compatibilisés (selon le résultat de la recherche d'anticorps anti-érythrocytaires : RAI)

# 1/ La prescription en Immuno-hématologie érythrocytaire (IHE) - *Éric MOUREY*

## 1.1. La prescription d'examens IHE

Au préalable de l'acte transfusionnel, des examens d'immuno-hématologie dits « pré-transfusionnels » sont prescrits, réalisés et leurs résultats sont disponibles pour le prescripteur.

La prescription médicale comporte lisiblement :

<b>L'identification du patient</b>	*Matricule INS ( <b>INS : identifiant national de Santé</b> )  * 5 traits stricts d'identité : nom de naissance, prénom(s), date de naissance, sexe, code INSEE lieu de naissance Dans l'attente de la généralisation de l'INS, les éléments d'identification du patient peuvent être limités au : nom de naissance, prénom de naissance, date de naissance et sexe
<b>Le prescripteur</b>	*Identification du prescripteur : nom et prénom * Signature si prescription papier ou son identification si prescription informatisée * Date et l'heure de la prescription * Degré d'urgence de la réalisation le cas échéant
<b>Le préleveur / prélèvement</b>	* Nom, prénom * Qualité * Date et heure de prélèvement * Nombre d'échantillons transmis
<b>Renseignements cliniques</b>	* Renseignements cliniques utiles * Antécédents transfusionnels * Antécédents de traitement par Acs monoclonaux
<b>Si RAI positive au dépistage</b>	*Identification de l'anticorps OBLIGATOIRE * Épreuve directe de compatibilité au laboratoire obligatoirement réalisée si prescription de CGR

## 1.2. La liste des examens à pratiquer selon le contexte clinique [1]

La prescription dépend du contexte clinique et transfusionnel :

### ***En cas de transfusion de plasma :***

- phénotypage érythrocytaire ABO

### ***En cas de transfusion de plaquettes :***

- phénotypage érythrocytaire ABO RH1

### ***En cas de transfusion de CGR et de concentrés de granulocytes :***

- Phénotypage érythrocytaire ABO-RH-KEL1
- Recherche d'anticorps anti-érythrocytaires (RAI)
- Identification d'anticorps anti-érythrocytaires obligatoire si RAI positive
- Phénotypage érythrocytaire étendu, en cas d'allo-immunisation complexe ou de transfusions itératives ou de contexte clinique particulier (drépanocytose, myélome traité par anti-CD38...)

### ***En cas de patient allogreffé de cellules souches hématopoïétiques***

- Il n'y a pas lieu de prescrire de nouvelles déterminations de phénotypage érythrocytaire, la carte de consignes transfusionnelles fait foi mais en son absence, contacter impérativement l'EFS ou le service greffeur.

### **En période néonatale**

- Phénotype érythrocytaire nouveau-né : prélèvement veineux +++
- Avant une première prescription de CGR : RAI réalisée de préférence chez la mère avec prélèvement effectué entre 72 heures avant l'accouchement et 4 mois du post-partum
- A défaut : recherche chez le nouveau-né

### **1.3. La prescription en IH : une ou deux déterminations de phénotype ABO-RH-K ?**

La détermination du phénotypage érythrocytaire est effectuée sur la base d'une seule réalisation sur un seul échantillon sanguin.

**Par dérogation**, dans le cadre **d'un contexte transfusionnel avéré**, une seconde détermination est faite par le laboratoire de biologie médicale du site présumé de délivrance ou par un laboratoire de biologie médicale dont le système informatique permet une transmission électronique des données d'identification du patient et des résultats au site de délivrance. [2]

Le contexte transfusionnel avéré est une notion difficile à appréhender par les LBM, mais la recherche de cette information est de la responsabilité du biologiste médical.

La Caisse d'Assurance Maladie (CNAM) précise que le phénotypage érythrocytaire est pris en charge par l'Assurance Maladie uniquement :

- chez la femme enceinte dans certaines conditions précises
- chez un patient dans un contexte transfusionnel avéré
- en cas d'anémie mal tolérée
- en cas d'un acte chirurgical à prévision hémorragique
- si première transfusion dans un contexte d'urgence

Dans les autres cas, cet examen n'est pas pris en charge par l'Assurance Maladie » et le médecin prescripteur doit ajouter la mention « Non Remboursable » au regard de cet acte sur l'ordonnance. [3]

Les recommandations pour la prescription des examens IH en pré-interventionnel sont [4] :

- En cas d'intervention à risque de transfusion ou de saignement nul à faible, il est recommandé de ne pas prescrire de groupage sanguin et de RAI (GRADE 1-)
- En cas d'intervention à risque de transfusion intermédiaire ou élevé ou de saignement important, il est recommandé de prescrire un groupage sanguin et une RAI (GRADE 1+)
- Il est recommandé que l'on dispose des examens IH et de leurs résultats avant l'intervention en cas de risque de saignement important (mentionné par la check-list « sécurité au bloc opératoire » (GRADE 1+).
- Il est recommandé que l'on dispose des examens IH et de leurs résultats avant l'intervention en cas de procédure ayant un risque de transfusion intermédiaire ou élevé (GRADE 1+).
- Il est recommandé de prescrire la **prolongation de durée de validité de la RAI négative** de trois à 21 jours s'il a été vérifié l'absence de circonstances immunisantes (transfusion, grossesse ou greffe) dans les six mois précédents) (GRADE 1+).

**Il serait souhaitable que le LBM collabore avec ses prescripteurs pour faire préciser cette indication sur les demandes d'examens IH.**

## 1.4. La bonne pratique de prescription en IH : quand prescrire un phénotype érythrocytaire et une RAI ?

Le groupe sanguin d'un individu **est immuable tout au long de la vie** (sauf éventuellement en cas de greffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques). Il n'y a donc pas lieu de réaliser plusieurs fois la détermination du groupe sanguin chez un individu âgé de plus de 6 mois.

Avant de prescrire ou de réaliser un phénotype érythrocytaire, il convient de demander au patient s'il n'a pas déjà bénéficié de cet examen.

Néanmoins, du fait de **l'absence de preuve de transmission via le protocole ERA** et de l'absence d'interopérabilité ERA entre les régions, il n'est pas possible de connaître la disponibilité des résultats de phénotypage érythrocytaire à l'EFS local et **donc il n'est pas recommandé de supprimer une demande de phénotype érythrocytaire**, même si la législation donne la possibilité aux LBM d'annuler des déterminations redondantes [3].

Il est à noter que la NABM permet d'ajouter ces examens à l'initiative du directeur de laboratoire :

*1145 Détermination des phénotypes Rh (hors antigène D) antigène C, c, E, e et Kell (K) : sur une prescription médicale explicite dans le cadre de la prévention des accidents d'allo-immunisation définie par voie réglementaire ou à l'initiative du directeur de laboratoire, **lors de l'étape d'identification d'anticorps irréguliers ou de problèmes périnataux***

*1141 a) Recherche d'anticorps irréguliers (RAI) vis-à-vis des antigènes de groupes sanguins érythrocytaires autres que A et B par au moins deux techniques susceptibles de dépister les anticorps dits incomplets : Dépistage à l'aide d'une gamme d'hématies test de dépistage définie réglementairement. Cet examen peut être réalisé à l'initiative du directeur de laboratoire à l'occasion d'un groupage sanguin [5]*

NB : il ne convient pas d'ajouter une RAI de façon systématique, mais **ceci peut être envisagé en cas d'une découverte d'anémie majeure (par exemple, Hémoglobine < 8 g/dL, seuil à adapter au contexte clinique) ou éventuellement en cas de grossesse.**

**Tableau 1 : La prescription des examens en IH**

<b>Pratique recommandée</b>	Définir avec les prescripteurs les modalités de juste prescription des examens IH
<b>Pratique acceptable</b>	Respect strict de la prescription
<b>Pratique non recommandée</b>	Ajout systématique d'examens IH non justifiés (Phénotypage ou RAI)

### Références bibliographiques

[1] INSTRUCTION DGS/PP4/DGOS/PF2/2021/230 du 16 novembre 2021 relative à la réalisation de l'acte transfusionnel / Fiche 1 : La demande d'examens immuno-hématologiques en contexte transfusionnel avéré

[2] Arrêté du 15 mai 2018 fixant les conditions de réalisation des examens de biologie médicale d'immuno-hématologie érythrocytaire



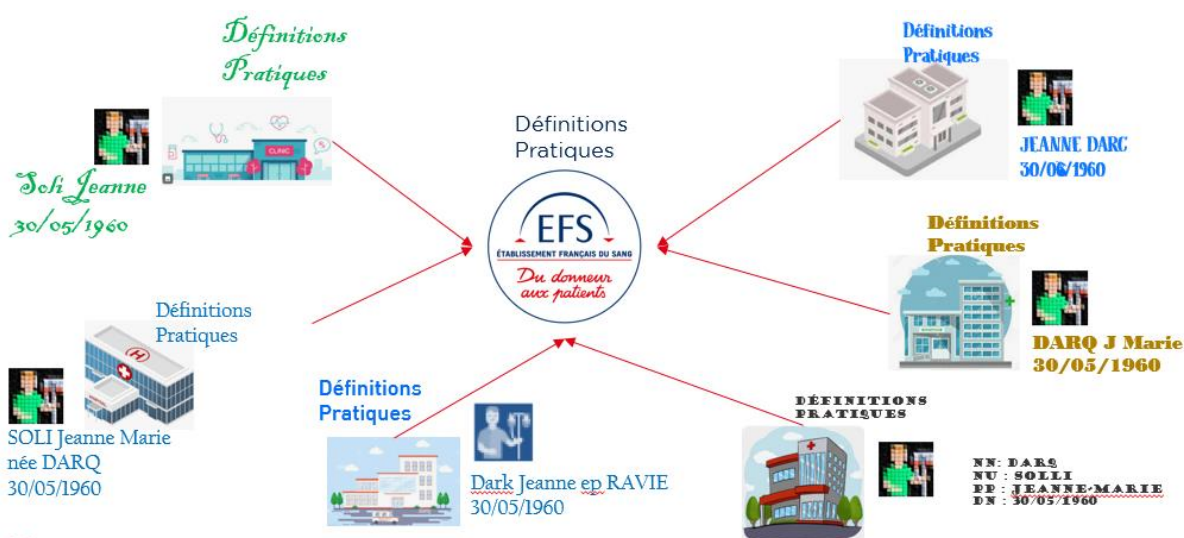
[3] Avis n° 2013.0041/AC/SEAP du 10 avril 2013 du collège de la Haute Autorité de santé relatif au projet de référentiel proposé par la Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés le 22 février 2013 et portant sur le groupe sanguin et la recherche d'anticorps anti-érythrocytaires

[4] S. Molliex et al. Examens préinterventionnels systématiques. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation, 2012 - Volume 31, Issue 9, Pages 752-763

[5] Table nationale de biologie, Caisse Nationale de l'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés

## 2. IDENTITOVIGILANCE et RISQUES pour le patient - Corinne MIGOT

L'EFS est, par la nature-même de son activité, quotidiennement confronté aux enjeux de l'identitovigilance. Il est historiquement sollicité pour son expertise dans la gestion de l'identité du patient de par la volumétrie des dossiers concernés et les divergences de pratiques constatées.



L'utilisation de l'Identifiant National de Santé (INS) est encadrée par les documents de l'association 3RIV complétant le guide d'implémentation de l'INS. Le **Référentiel National d'IdentitoVigilance (RNIV)** document opposable [1] permet désormais à tous les acteurs, LBM et EFS, de s'appuyer sur une Charte et sur des conduites à tenir nationales et uniformes : ceci ayant pour but de diminuer significativement les risques du processus pré-analytique et les temps d'enquêtes d'identitovigilance actuellement réalisées par l'EFS : gestion des doublons, erreurs de saisie sur le sexe, les traits stricts d'identité, doublons sur les NIP [1] ou numéros d'admissions au sein d'un même établissement, erreur de phénotype érythrocytaire...

Afin d'assurer la maîtrise du processus pré-analytique, les LBM doivent être conformes à la norme NF EN ISO 15189 :2022 [notamment les paragraphes 6.8.1, 7.2.3.1 b), 7.4.1.6 a)], au SH-REF-02 (révision 8) et **respecter le RNIV**.

<https://esante.gouv.fr>

Les LBM doivent demander une **pièce d'identité validante** (pièces à haut niveau de confiance) :

- Passeport, CNI uniquement pour les ressortissants de l'UE, titre de séjour
- Livret de famille/acte de naissance pour les mineurs sans pièce d'identité ou personne âgée dépendante (avec titre de haut niveau de confiance d'un parent/descendant)
- Parfois l'interprétation des pièces d'identité est difficile et nécessite de se référer aux fiches pratiques FIP01, FIP02 [2].
- Nom de naissance : parfois absent des pièces, zone difficile à identifier.
- Premier prénom : parfois difficile à déterminer ; repéré par le tiret et la virgule, les particules de liaison.

**ATTENTION : La carte vitale n'est pas une pièce à haut niveau de confiance.** Les données sont parfois erronées et incomplètes (pas de nom de naissance pour les femmes mariées). Elle ne permet que l'appel au téléservice et la facturation de l'utilisateur.

De plus, il existe des discordances avec le téléservice : « Les principaux traits stricts de l'identité numérique (nom de naissance, premier prénom, date de naissance, lieu de naissance et sexe) doivent être enregistrés sans erreur » (cf FIP15) [3].

Les LBM peuvent rencontrer des difficultés, mais les **logiciels doivent être conformes** :

- Le premier prénom doit rester modifiable même avec une identité qualifiée (Jean Claude = Jean ? Jean Claude ?)
- Les apostrophes et tirets, autorisés par le RNIV ne constituent pas un écart d'identité et le dossier individu peut être modifié sans réaliser d'enquête.

Pour les mineurs ou dans le cas particulier de certains usagers majeurs qui n'en disposent pas, le livret de famille ou un extrait d'acte de naissance est accepté. Dans ce cas de figure, il est nécessaire que **le représentant légal**, le parent ou le descendant selon les cas (majeurs vs mineurs), **puisse justifier de sa propre identité**.

A minima, la traçabilité de cette vérification doit être effective dans le dossier, une numérisation des pièces administratives reste possible en respectant le règlement général sur la protection des données.

Au moment de l'enregistrement :

- La vérification de l'identité doit être réalisée par des questions ouvertes (le premier prénom, le nom de naissance sont parfois difficile à déterminer)
- Les éléments doivent être transmis avec des libellés clairs
- Une identité envoyée avec un matricule INS doit être qualifiée (exigence SI08 du RNIV)

**Dans l'attente de la généralisation de l'utilisation de l'INS, les éléments d'identification du patient peuvent être limités au nom de naissance, nom utilisé si besoin, prénom de naissance, date de naissance et sexe.**

## RNIV Annexe VII : Statuts et attributs

### Définitions

4 statuts pour signaler le niveau de confiance de l'identité numérique, selon

- Qu'elle est issue (ou non) de l'identité INS récupérée via le téléservice INSi
- Que les traits ont été contrôlés (ou non) dans le cadre d'une procédure d'identitovigilance

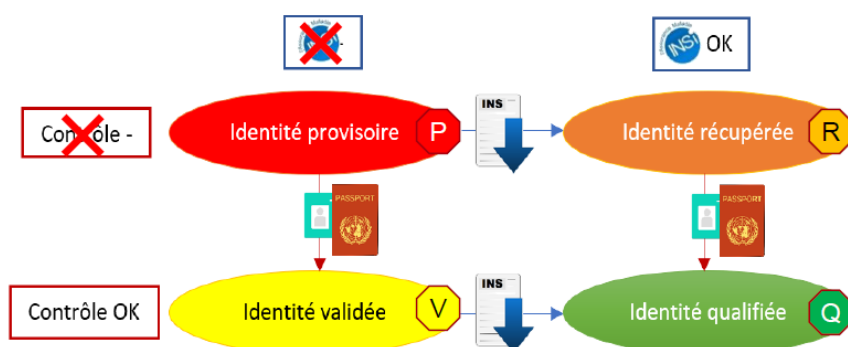


Tableau 2 : Identitovigilance	
<b>Pratique recommandée</b>	Connaitre et appliquer le RNIV Utiliser une identité qualifiée
<b>Pratique acceptable</b>	Utiliser une identité validée Ne pas propager une INS non qualifiée
<b>Pratique non acceptable</b>	Ne pas appliquer le RNIV Propager une INS erronée ou non qualifiée ou non validée

Références bibliographiques :

[1] Référentiel National d'IdentitoVigilance (RNIV)

[2] Fiches pratiques : FIP 01 Recueil de l'identité des étrangers - FIP 02 Difficultés de recueil des traits d'identité sur certains documents français

[3] FIP 15 Conduite à tenir en cas d'incohérences lors de la récupération de l'INS

## 3. Gestion des erreurs d'identité après intégration via ERA - *Sandrine LEYERLOUP*

### 3.1. Les risques en identitovigilance

L'analyse de risque est une étape essentielle, les différents risques d'erreur doivent être définis :

**Erreur d'identité du patient** : Nom de naissance ou d'usage, prénom(s) date de naissance, usurpation d'identité...

Risque d'erreur d'identitovigilance

**Erreurs d'identification** : erreurs à la saisie (pas de pièce d'identité validante, pas de questions ouvertes, interruption de tâche, manque de temps), conventions de saisie différentes, etc....

Risques : le patient n'est pas retrouvé dans la base de données et erreur d'identitovigilance

**Doublons** : le patient est saisi plusieurs fois dans le système d'information

Cause : l'identité existante n'est pas vue/bien recherchée ou doute sur le dossier déjà existant avec création d'un deuxième, voire troisième dossier

Risque : le dossier médical est incomplet ou douteux

**Collision** : Les données d'une personne sont affectées à un autre dossier : pas de questions ouvertes, erreurs d'étiquetage

Risques : retard à la prise en charge, risque transfusionnel

**Erreur de prélèvement : erreur de patient prélevé**

Cause : erreur de patient

Risque transfusionnel

## 3.2. Conduite à tenir pour la correction de l'erreur au niveau du LBM après intégration via ERA

Le protocole ERA (« Échange de Résultats d'Analyses ») a été mis en place en 2002 par l'Établissement Français du Sang [1] : il s'agit d'un flux HPRIM émis par les laboratoires vers le système informatique (base receveur régionale) de l'EFS. Ce flux est encore utilisé, mais son déploiement est hétérogène selon les régions.


En l'absence de transmission du résultat, une **correction dans le système d'informations du laboratoire (SIL)** suffit.

En cas de transmission du résultat par ERA, une fois l'erreur détectée le **LBM doit** :

- Corriger le dossier existant
- Rééditer les résultats

NB : Il n'est pas nécessaire de refaire le phénotypage.

- Transmettre à l'EFS la correction de l'identité :
  - par Messagerie Sécurisée de Santé (MSS)
  - ou via un formulaire dédié [2] :



**PREAMBULE**


Toute erreur pouvant générer un risque transfusionnel doit être signalée immédiatement à l'EFS. Veuillez nous transmettre le compte rendu original (erroné) ainsi que le compte rendu corrigé.

**INFORMATIONS GENERALES**

ITEM	DESCRIPTION
Nom du LBM et du Groupement	
N° de Téléphone et N° de Fax	
Nom / prénom du notificateur	
Date et heure de survenue de l'incident	
Date et heure de notification de l'incident	
Description de l'incident :	
Le dossier a-t'il été renvoyé dans ERA après correction ?	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
S'agit-il d'une usurpation d'identité ?	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
S'agit-il d'une erreur de prélèvement ?	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON

**INFORMATION SUR LE DOSSIER**

ITEM	Données en Erreurs	Données Exactes
N° de demande LBM		
Nom de naissance		
Prénom		
Nom d'usage		
Date de naissance		
Sexe		
Résultats (cochez simplement la case)	<input type="checkbox"/> Groupe <input type="checkbox"/> Rhéso. <input type="checkbox"/> RAI	



**TRANSMISSION A L'EFS**

Veillez trouver la liste des adresses mail EFS ci-dessous, si vous émettez vos résultats ERA vers plusieurs région EFS veuillez les mettre toutes en destinataire de votre mail. Merci de privilégier les adresses MSSanté, en cas d'impossibilité, mettre le formulaire en pièce jointe et le chiffrer (zip + mot de passe, mot de passe envoyé séparément).

Région EFS	Adresse mail
HFNO	
IDFR	
GEST	
BFCT	
AURA	
PACC	
OCPM	
NVAQ	
CATL	
PDLO	
BRET	
LROI	
ANTI	

**Tableau 3 : Gestion des erreurs d'identité suite à une transmission ERA**

<b>Pratique recommandée</b>	Transmission de l'information EFS via MSS ou à l'aide du formulaire
<b>Pratique acceptable</b>	/
<b>Pratique non acceptable</b>	Aucune information transmise à l'EFS

Références bibliographiques :

[1] Arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale (abrogé)

[2] PSL/DEL/DF/FO/016 version 01 - Formulaire de notification de transmission de données erronées via ERA

## **4. Phase Pré-Analytique : Quels renseignements cliniques ? - Corinne CHABRIERES**

### **4.1. Éléments de maîtrise de la prescription des examens IH**

**La prestation de conseil pré-analytique** comprend essentiellement l'ajout ou la suppression d'examen(s) biologique(s) voire l'annulation d'une prescription non pertinente ou non conforme ; lorsqu'il l'estime approprié, le biologiste médical réalise, des examens de biologie médicale autres que ceux figurant sur la prescription, ou ne réalise pas tous les examens qui y figurent [1] et tout entretien téléphonique devant obligatoirement être tracé, de préférence dans le dossier du patient.

Si le prescripteur appartient à un établissement de Santé, son accord lors de la modification de la prescription peut être obtenu de façon globale par l'organisation de réunion du Comité de Sécurité Transfusionnelle et d'Hémovigilance (CSTH) ou avec des Unités de soins.

Une aide à la prescription sous la forme d'un manuel de prélèvement avec informations sur les examens réalisés reste utile, même si la mise en place de la prescription connectée, en collaboration étroite avec les prescripteurs, est souhaitable dans les meilleurs délais.

Lors de la réception des échantillons au LBM, transmis par IDE ou collecté dans des établissements de soins, il est nécessaire :

- De vérifier la conformité échantillons/prescription
- Lors de l'enregistrement : vérifier la pertinence de la prescription et la possibilité de réalisation de l'examen dans les délais répondant au service médical rendu (SMR)
- De vérifier le caractère d'urgence de la demande

**Toute non-conformité (NC) doit être enregistrée** et l'étape de gestion des non-conformités est importante au regard de l'analyse de risque.

La mise en évidence d'une non-conformité peut entraîner le refus de la demande (NC majeure) ou sa mise en attente pour régularisation (NC mineure) en fonction de son niveau de gravité et d'urgence. Dans certains cas, le biologiste peut déroger à ces critères et cette dérogation est tracée.

Les NC minimales sont simplement tracées et permettent d'alimenter certains indicateurs. Elles ne font pas l'objet d'un refus de la demande et n'attendent pas de régularisation.

Dans tous les cas, un refus ne doit pas retarder la fourniture de PSL notamment en cas d'urgence vitale, ou la réalisation d'examen urgents en vue d'une transplantation.

Les différents types de NC liées à la demande d'examen peuvent être résumés dans le tableau 1 :

CODE	Libellé sur CR	DEMANDE D'EXAMEN ACCEPTÉE ?
<b>NON-CONFORMITES DE PRESCRIPTION = NCDE (DEMANDE D'EXAMENS)</b>		
NCDE1	Absence de demande d'examen	NON
NCDE2	Absence totale d'identification du patient sur la demande d'examen	NON R
NCDE3	Double étiquetage à deux identités différentes	NON
NCDE4	Absence de critères permettant de différencier les deux déterminations de groupes sanguins ou de typages HLA demandés simultanément : une seule détermination sera réalisée	NON Traitement d'une seule détermination, refus de la seconde
NCDE5	Nature des examens non précisée	NON R
NCDE6	Absence d'identification du service demandeur	NON R
NCDE7	Absence d'identification du prescripteur	OUI (si service demandeur identifié)
NCDE8	Absence de date de prélèvement	NON R
NCDE9	Absence d'identification du préleveur	NON R Sauf si sous-traitance = OUI
NCDE10	Absence de renseignements cliniques pertinents	OUI
NCDE11	Heure de prélèvement non précisée	NON R
NCDE12	Consentement du patient et/ou attestation de consultation absent ou incomplet	NON R
NCDE13	Discordance entre les numéros indiqués sur le prélèvement et sur la demande d'examen.	OUI

Légende : NON R = demande non conforme mais régularisable.

Tableau 1 : NC pré-analytiques en relation avec la demande d'examen - LAB/PRA/DF/MO/002 version 2 - Aide à la gestion des non-conformités des demandes d'examen et des prélèvements

## 4.2. Notion de délai et de l'urgence en immuno-hématologie

L'arrêté du 15 mai 2018 a introduit la notion de délai, notamment pour l'identification des anticorps anti-érythrocytaires :

« Dans le cadre d'un besoin transfusionnel, les résultats du dépistage et de l'identification des anticorps anti-érythrocytaires sont transmis dans les plus brefs délais au site de délivrance des produits sanguins labiles. En cas de dépistage positif, l'identification de l'anticorps est obligatoire et réalisée dans un délai compatible avec la prise en charge du patient. » [2].

- Pour un **patient ambulatoire** (pré-opératoire, grossesse, chimiothérapie...), le **délai acceptable** pour un phénotypage érythrocytaire ou une recherche d'anticorps anti-érythrocytaire est de **J+1** (sauf difficulté analytique).
- Pour un **patient en hôpital de jour, transfusé régulièrement**, le dépistage des anticorps anti-érythrocytaires doit être validé et diffusé **dans les délais prévus par le praticien pour permettre la transfusion du patient**, afin d'éviter tout retard transfusionnel.

**La notion de délai est obligatoire** en cas de besoin transfusionnel et le laboratoire doit identifier le lieu prévu de délivrance de PSL. A ce jour, la transmission des résultats par **le protocole ERA n'est pas réalisable pour les dépôts de PSL hors EFS** : Voir le chapitre 11.1 Transmission électronique des résultats immuno-hématologiques.

En cas de prescription de PSL en urgence vitale (délai d'obtention des PSL inférieur à 30 minutes), il n'est en général pas possible pour le laboratoire de fournir le résultat du dépistage des anticorps anti-érythrocytaires avant la délivrance mais sa **réalisation reste une urgence**, pour pouvoir interrompre la transfusion en cas de découverte d'un allo-anticorps anti-érythrocytaire et permettre à la structure de délivrance de sélectionner un autre PSL.

La notion d'urgence est donc capitale pour les examens d'immuno-hématologie et **une procédure spécifique de gestion des urgences au niveau du laboratoire** doit être établie : étiquetage particulier, circuit spécifique...

**En cas de RAI positive, le LBM doit rechercher un éventuel traitement du patient par anti-CD38**, surtout s'il s'agit d'un patient atteint d'une hémopathie (myélome...), et s'assurer que **l'échantillon parvienne sans délai (à J0)** au laboratoire sous-traitant pour identification.

Le fait de sous-traiter l'identification des anticorps anti-érythrocytaires ne dispense pas le laboratoire de définir des dispositions pour adresser le résultat à la structure de délivrance des PSL (EFS ou dépôt en établissement de santé).

**Tableau 4 : Délai de rendu des examens immuno-hématologiques**

<b>Pratique recommandée</b>	Le LBM a mis en place des actions permettant le rendu des examens IH dans des délais compatibles avec la prise en charge des patients (garde sur site pour les ES, transmission à un sous-traitant de proximité pour les contextes d'urgence, d'HDJ...).
<b>Pratique acceptable</b>	/
<b>Pratique non acceptable</b>	Le LBM n'a pas prévu de dispositions pour le rendu des examens IH dans des délais compatibles avec la prise en charge des patients. En cas de RAI positive, transmission au LBM sous-traitant dans un délai supérieur à 24h.

Références bibliographiques :

[1] Article L6211-8 du Code de la Santé Publique

[2] Arrêté du 15 mai 2018 fixant les conditions de réalisation des examens de biologie médicale d'immuno-hématologie érythrocytaire

### 4.3. Quels renseignements cliniques en IH ?

L'obtention des renseignements cliniques est une étape essentielle. Si le LBM ne peut les récupérer lors de l'étape de prélèvement (IDE...), il convient, **a minima dans le cas des dépistages de RAI positives de les rechercher de manière active** (auprès du patient, du prescripteur ou de l'Etablissement de Santé).

Pour les patients venant directement au LBM, il convient d'interroger le patient sur les éléments suivants :

- 1- **Antécédents transfusionnels** de moins de 4 mois
- 2- **Grossesse** : date de début de grossesse ou date des dernières règles, lieu d'accouchement  
Antécédents IH, injection de Rhophylac<sup>R</sup>?

NB : Pour un nouveau-né, l'identité et les données IH de la mère doivent être connues et transmises si besoin au LBM sous-traitant.

- 3- **Contexte pré-opératoire** : indications cliniques, date et nature de l'intervention, lieu de l'intervention...
- 4- **Connaissance du site de délivrance des PSL**

En plus des renseignements cliniques pertinents, la question de la transmission des résultats d'immuno-hématologie à la **structure de délivrance des PSL** (EFS ou dépôt hors EFS) est à prendre en compte en cas d'intervention programmée.

Dans ce contexte, le LBM doit se rapprocher de son ARS local pour obtenir cette information, qui se trouve en général dans le bilan annuel d'hémovigilance.

Le LBM doit **obtenir systématiquement le lieu prévu de l'intervention et de l'accouchement** et transmettre ces informations en cas de sous-traitance.

- 5- Notion de **phénotype rare** ou de **RAI +** connue : **tracer dans le dossier et prélever si besoin un tube supplémentaire**
- **6- Contexte hématologique** : Hémopathie, Allogreffe de CSH, Drépanocytose (car protocoles transfusionnels particuliers)
- **7- Contexte thérapeutique** :
- Plusieurs interférences médicamenteuses sont à connaître, leur prise en compte nécessite un recueil des renseignements cliniques exhaustif devant être communiquées au LBM sous-traitant éventuel :
  - Immunoglobulines anti-RH1 (Rhopylac<sup>R</sup>) : transmettre au LBM sous-traitant un résultat de phénotypage ABO-RH-K,
  - Immunoglobulines polyvalentes
  - Anticorps monoclonal anti-CD38 (daratumumab Darzalex<sup>R</sup> ou isatuximab Sarclisa<sup>R</sup>) [1]
  - Anticorps monoclonal anti-CD47 (magrolimab...) [2]

Exemple de fiche de renseignements cliniques :

RENSEIGNEMENTS CLINIQUES INDISPENSABLES :		
Pour toute demande d'analyses	Si grossesse en cours	Si nouveau-né < 6 mois
<input type="checkbox"/> Bilan pré-opératoire : Lieu prévu : .....	Lieu présumé d'accouchement : .....	
<input type="checkbox"/> Antécédent de transfusion Date : ..... / ..... / ..... <input type="checkbox"/> Antécédent de grossesse <input type="checkbox"/> Antécédent d'immunisation Spécificité : ..... <input type="checkbox"/> Allo greffe de CSH : date : ..... <input type="checkbox"/> Anti-CD38 (Daratumumab, Isatuximab) <input type="checkbox"/> Anti-CD47 <input type="checkbox"/> Drépanocytose <input type="checkbox"/> Myélome <input type="checkbox"/> Autre hémopathie : ..... <input type="checkbox"/> Maladie Auto immune : ..... <input type="checkbox"/> Greffe d'organe <input type="checkbox"/> Si anémie , hémoglobine : ..... <input type="checkbox"/> Autre : .....	DDG : ou DDR : Geste / Parité :        /  <input type="checkbox"/> Injection d'un Ig anti RH1 (Rhopylac) Si OUI : - Date dernière RAI négative avant injection : ..... / ..... / ..... - Informations sur la dernière injection :  Date d'injection Dosage en µg Voie d'administration  - Phénotype ABO-RH-K (copie à fournir obligatoirement)	<input type="checkbox"/> Antécédent de transfusion in utero Date : ..... / ..... / ..... <input type="checkbox"/> Ictère <input type="checkbox"/> Anémie  Identité de la mère : (ou étiquette) Nom de naissance :  Nom marital ou d'usage : Prénom :  Date de naissance : ..... / ..... / ..... <u>Merci de joindre les documents de groupage et RAI de la mère</u>

Tableau 5 : Recueil des renseignements cliniques (RC)

<b>Pratique recommandée</b>	RC pertinents enregistrés dans tous les cas
<b>Pratique acceptable</b>	A minima : RC seulement en cas de positivité du dépistage RAI ou de difficultés de phénotypage érythrocytaire lors de la transmission au LBM sous-traitant (EFS...)
<b>Pratique non acceptable</b>	Aucun RC

Références bibliographiques :



[1] New method for overcoming the interference produced by anti-CD38 monoclonal antibodies in compatibility testing. IZAGUIRRE E et al. Blood Transfusion 2020 Jul;18(4):290-294

[2] The effects of monoclonal anti-CD47 on RBCs, compatibility testing, and transfusion requirements in refractory acute myeloid leukemia. BRIERLEY C et al. Transfusion 2019 Jul;59(7):2248-2254.

## 5. Le pré-analytique en immuno-hématologie - *Guillaume LETIZIA*

### 5.1. Matrices sanguines utilisables en IH : anticoagulants utilisables et volumes nécessaires

#### *Types de tubes utilisables en IH :*

**Attention : Les examens d'immuno-hématologie ne peuvent pas être réalisés sur un tube décanté, plasma et culot globulaire étant indissociables pour l'interprétation des résultats.**

Les fiches techniques fournisseurs (Ortho Clinical Diagnostics, Diagast, Bio-Rad...) indiquent l'utilisation possible de différents types de tubes pour le prélèvement des examens immuno-hématologiques (IH) : EDTA, citrate, héparine...

D'un point de vue normatif, les laboratoires doivent réaliser l'étude d'impact de la matrice de l'échantillon utilisé et à l'indiquer dans la liste des examens accrédités (SH FORM 06 ou Flexi+) [1,2]. Dans les faits le prélèvement sur tube EDTA est presque exclusivement effectué.

Par ailleurs les manuels de prélèvement du laboratoire de l'EFS Île-de-France [3] et d'autres laboratoires de recours [4,5] mentionnent la nécessité d'échantillons prélevés sur EDTA pour les examens d'immuno-hématologie courants.

L'utilisation d'une matrice différente pourrait ainsi conduire à l'impossibilité d'une sous-traitance et à une convocation du patient pour un nouveau prélèvement en cas d'explorations nécessaires avec un risque de retard transfusionnel.

Le laboratoire pourrait s'autoriser à accepter à titre dérogatoire un échantillon prélevé sur un tube autre qu'EDTA **exclusivement si l'échantillon est unique, précieux ou irremplaçable** [6].

En termes de service médical rendu [7], il pourrait par exemple s'agir **de l'utilisation exceptionnelle** d'un échantillon sur tube hépariné (autorisé par le fabricant) pour le dépistage des anticorps anti-érythrocytaires, en l'absence de tube EDTA exploitable, dans un contexte de besoin transfusionnel dont le délai ne permettrait pas un nouveau prélèvement du patient, pour ne pas transfuser « à l'aveugle ».

*Cas particulier de l'utilisation d'un échantillon prélevé pour un autre examen de biologie médicale pour la réalisation d'examens d'immuno hématologie :*

**L'ajout d'examens immuno-hématologiques** non prescrits sur un échantillon EDTA prélevé pour un autre examen est possible si les particularités du prélèvement immuno-hématologique prévues dans l'arrêté du 15 mai 2018 (saisie de l'identité du patient à partir d'un document officiel) sont respectées [8].

Toutefois, uniquement pour réaliser un dépistage des anticorps anti-érythrocytaires, il est possible d'utiliser un échantillon sur EDTA destiné à un autre examen (exemple : hémogramme) **si ce dernier a été prélevé lors du même acte de prélèvement** pour permettre les explorations complémentaires dans l'intérêt du patient (délai) et dans le cadre du service médical rendu.

Pour l'ajout d'un phénotype érythrocytaire, il est indispensable que **l'enregistrement du dossier d'origine** (NFP par exemple) respecte les règles d'identitovigilance prévues en IH (**vérification de l'identité à partir d'un document officiel**) [8].

Si le laboratoire peut prouver que tous les préleveurs collaborant avec lui (exemple : charte ou procédure d'identification des patients à partir de la carte nationale d'identité en établissement de santé avec traçabilité disponible) effectuent les prélèvements de tous les examens de biologie selon les exigences réglementaires de l'arrêté du 15 mai 2018, alors cette pratique d'ajout dans le cadre du service médical rendu est possible.

**Attention : aucune seconde détermination de phénotypage érythrocytaire ne peut être réalisée sur un tel échantillon si la première détermination est déjà réalisée à partir de l'acte de prélèvement en question.**

Ces ajouts d'examens immuno-hématologiques sont argumentés (par exemple seuil transfusionnel constaté sur l'hémogramme [9]), et ont fait l'objet d'accords avec les prescripteurs.

Tableau 6 : Type de tubes utilisés en IH	
<b>Pratique recommandée</b>	Utilisation d'échantillons dédiés à l'immuno-hématologie prélevés sur tube EDTA.
<b>Pratique acceptable</b>	Utilisation exceptionnelle d'échantillons prélevés sur une matrice différente de l'EDTA pour les examens immuno-hématologiques, dans la mesure où elles ne nécessitent pas d'explorations complémentaires, dans l'intérêt du patient et en respectant les recommandations fournisseurs. Utilisation d'un échantillon prélevé pour un autre examen de biologie médicale pour la réalisation d'examens immuno-hématologiques, dans la mesure où le laboratoire peut s'assurer que l'enregistrement du dossier a respecté les règles d'identitovigilance prévues en IH (vérification de l'identité à partir d'un document officiel)
<b>Pratique non acceptable</b>	Utilisation courante de prélèvements prélevés sur anticoagulant autre qu'EDTA pour les examens immuno-hématologiques. Utilisation de prélèvements décantés.

### **Volumes nécessaires :**

Concernant les volumes nécessaires l'épreuve plasmatique du phénotypage érythrocytaire ABO RH-KEL1 consomme en conditions normales 2 x 25 µL à 2X 50 µL (100 µL maximum) selon le fournisseur, le dépistage des anticorps anti-érythrocytaires 3 x 25 à 50 µL (150 µL maximum). En cas d'identification : 11 x (minimum) 25 à 50 µL selon fournisseur (550 µL minimum). Ainsi, habituellement un tube EDTA suffit pour une détermination de phénotype érythrocytaire et le dépistage des anticorps (voire avec une identification simple). **En cas de RAI positive connue** il est recommandé de prélever d'emblée **deux tubes EDTA** (identification, titrage +/- dosage pondéral chez la femme enceinte).

## **5.2. Cas du prélèvement de nouveau-né sur sang de cordon**

L'interdiction explicite d'utilisation du sang de cordon présente dans l'arrêté du 26 avril 2002 a été remplacée par une version plus nuancée dans l'arrêté du 15 mai 2018 [8] :

« *Le phénotypage érythrocytaire chez un nouveau-né nécessite un prélèvement de sang veineux effectué chez l'enfant pour la réalisation d'examens à visée transfusionnelle. [...] L'origine de l'échantillon biologique ayant servi à l'analyse figure systématiquement sur le compte rendu de résultats. »*

Ainsi, il n'est pas interdit de réaliser un phénotype érythrocytaire sur sang de cordon tant que **ce phénotype ne peut être utilisé pour délivrer des produits sanguins labiles (PSL)**, et que **l'origine du prélèvement au cordon figure sur le compte-rendu du laboratoire**.

Le phénotype érythrocytaire n'étant pas effectué chez le receveur réel du PSL, il ne peut être utilisé pour la transfusion pour des questions évidentes d'identitovigilance. Or, le sang de cordon est utilisé dans le cadre de la prophylaxie anti-RH1 (D) maternelle.

L'avantage évident est d'éviter d'effectuer un prélèvement veineux chez le nouveau-né ce qui s'apparente à un service médical rendu au patient [7].

Ainsi l'utilisation de sang de cordon est conforme sous réserve d'une réalisation adéquate du prélèvement, avec un **échantillon clairement identifié comme du sang de cordon** et un compte-rendu précisant l'interdiction de l'utilisation de ces résultats pour la délivrance de PSL.

**En cas de technique manuelle**, la détermination du phénotype érythrocytaire sur sang de cordon repose obligatoirement sur **deux réalisations** sur l'échantillon biologique unique, **par deux personnes habilitées différentes** [8].

*Figure 1 : exemple de compte-rendu interprété pour une détermination de phénotype érythrocytaire sur sang de cordon.*

*NB : Dans la majorité des cas, seul le phénotype ABO-RH1 est à réaliser sur sang de cordon.*

<b>Immuno-hématologie</b>	
<b>Détermination de groupes sanguins ABO RH-KEL1</b>	
<i>Hémagglutination directe en microfiltration sur automate VISION (Ortho). Réactifs : gamme BioVue System (Ortho).</i>	
Le résultat de ce phénotype érythrocytaire n'est valide que jusqu'à l'âge de six mois : 04/06/2024	
<b>Phénotype ABO : §</b>	O
<b>Phénotype RH : §</b>	RH:1
<b>Nomenclature usuelle : §</b>	D+
<b>Examen direct à l'antiglobuline ("Coombs direct")</b>	
<i>Hémagglutination directe en microfiltration sur automate VISION (Ortho). Réactif : Cassette DAT Ortho BioVue System.</i>	
Réaction avec l'antiglobuline anti-IgG : §	Négatif
Réaction avec l'antiglobuline anti-C3d : §	Négatif
<b>Conclusion: §</b>	Test direct à l'antiglobuline négatif.
<b>Commentaire :</b>	Prélèvement de sang de cordon : le groupage sanguin est rendu à titre indicatif dans le but de la prophylaxie de l'immunisation anti-RH1 maternelle. Cette détermination de groupage sanguin ne peut pas être utilisée pour la délivrance de produits sanguins labiles.

**Attention, le résultat ne devra pas être transféré informatiquement à la structure de délivrance de l'établissement de santé ou à l'EFS (pas de transmission ERA).**

Pour information, le laboratoire du Centre National de Référence en Hémiobiologie Périnatale (CNRHP) utilise cette matrice [10] mais réalise systématiquement un test de Kleihauer sur le sang de cordon phénotypé RH:-1 pour s'assurer qu'il ne s'agit pas des hématies maternelles.

**Tableau 7 : Phénotypage érythrocytaire du nouveau-né**

<b>Pratique recommandée</b>	Réalisation du phénotypage érythrocytaire chez le nouveau-né sur sang veineux.
<b>Pratique acceptable</b>	En cas de réalisation du phénotypage érythrocytaire chez le nouveau-né sur sang au cordon : mention de l'origine de l'échantillon et interprétation sur le compte-rendu (pas d'utilisation transfusionnelle).
<b>Pratique non acceptable</b>	Réalisation du phénotypage érythrocytaire chez le nouveau-né sur sang au cordon, sans mention de l'origine de l'échantillon et/ou sans interprétation sur le compte-rendu. Transmission électronique du résultat (ERA...)

### 5.3. Identification de l'échantillon

**Dans l'attente de la généralisation de l'utilisation de l'INS**, les éléments d'identification du patient peuvent être limités au **nom de naissance, nom d'usage si besoin, prénom de naissance, date de naissance et sexe**.

Comme pour tout prélèvement en biologie médicale, ce dernier est effectué après vérification de l'identité du patient par une **question ouverte** ou lorsque cela n'est pas possible auprès de la famille ou à l'aide du bracelet d'identification, d'une pièce d'identité officielle, de la famille ou tutelle, en croisant plusieurs sources d'informations. Cette exigence est rappelée par l'arrêté du 15 mai 2018 relatif à la réalisation des examens immuno-hématologiques [8] (article 2) :

*« Au moment du prélèvement, le professionnel vérifie que l'identité déclarée par le patient correspond à celle figurant sur la prescription et, le cas échéant, à celle figurant sur le bracelet d'identification si le patient est hospitalisé. En l'absence de concordance stricte entre les données d'identité, l'examen est arrêté jusqu'à la résolution de l'erreur. »*

Le(s) échantillon(s) est (sont) **identifiés immédiatement après le prélèvement**, en présence du patient avec une **étiquette** qui comporte l'**identité complète du patient** et si possible la date et heure de prélèvement (si la taille de l'étiquette ne le permet pas, cette information doit impérativement être reprise sur la demande d'examen).

Il peut être accompagné d'une fiche de prélèvement, qui comporte également de manière lisible l'identification du professionnel de santé préleveur : son nom usuel, son prénom et sa qualité professionnelle et son numéro d'identification professionnelle (RPPS), l'identification de chaque échantillon : la nature de l'examen, la date et l'heure de réalisation du prélèvement [13].

Il est à noter qu'**en cas de ré-étiquetage de l'échantillon biologique** par le laboratoire (prélèvement à domicile, prélèvement en établissement de santé avec identification par étiquettes issues du logiciel d'identité de l'établissement...), **un contrôle de l'identification de l'échantillon par rapport à la saisie de l'ordonnance dans le système de gestion de laboratoire (SGL) est obligatoire** [8].

Les dispositions prévues pour l'étiquetage des échantillons biologiques, par le laboratoire doivent, dans tous les cas, permettre un contrôle efficace de l'identité.

Si possible, **l'identification manuscrite des échantillons est à éviter** car source de difficulté de lecture et propice à l'absence d'indication du nom de naissance.

<b>Tableau 8 : Identification de l'échantillon</b>	
<b>Pratique recommandée</b>	Étiquettes pré-imprimées apposées immédiatement au décours du prélèvement, après vérification de l'identité, comprenant obligatoirement : nom de naissance (et nom d'usage si besoin), prénom, date de naissance, sexe, (INS si disponible).
<b>Pratique acceptable</b>	En l'absence d'autre possibilité (prélèvement à domicile, panne de l'équipement...), identification manuscrite effectuée immédiatement au décours du prélèvement, après vérification de l'identité, comprenant obligatoirement : nom de naissance (et nom d'usage si besoin), prénom, date de naissance, sexe.
<b>Pratique non acceptable</b>	Identification incomplète du prélèvement (absence du nom de naissance, date de naissance...), prélèvements préétiquetés.

#### 5.4. Cas du prélèvement de deux déterminations de phénotype érythrocytaire

L'arrêté du 15 mai 2018 [8] et l'instruction du 16 novembre 2021 relative à la réalisation de l'acte transfusionnel [13] explicitent que la seconde détermination de phénotype érythrocytaire peut être prélevée par le même professionnel de santé :

*Si le 2ème prélèvement est réalisé par le même préleveur, il doit impérativement consister en **un deuxième acte de prélèvement indépendant du premier et comprenant une nouvelle vérification de l'identification du patient.** »*

Ce n'est donc pas la pratique mise en avant : en effet une étude française récente montrait que seule une minorité de soignants déclarait réaliser systématiquement deux prélèvements indépendants [14].

Des dispositions sont attendues de la part des laboratoires et des établissements de santé **pour définir les modalités d'indépendance entre deux actes de prélèvement**, par exemple par utilisation d'un délai minimum entre les deux déterminations, par une stricte individualisation des prélèvements (une boîte de prélèvement et une fiche de prélèvement par détermination).

Néanmoins, **le cas de 2 prélèvements par un seul préleveur devrait rester dérogatoire.**

Dans tous les cas un respect strict du recueil des données d'identité du patient est à prévoir dans les dispositions et à faire appliquer.

<b>Tableau 9 : Prélèvement de deux déterminations de phénotype érythrocytaire</b>	
<b>Pratique recommandée</b>	Les deux déterminations sont prélevées par deux professionnels de santé différents.
<b>Pratique acceptable</b>	La deuxième détermination est prélevée par le même professionnel, lors d'un acte de prélèvement indépendant du premier, avec une nouvelle vérification de l'identité du patient et du prélèvement, selon les dispositions définies par le LBM et/ou l'ES.
<b>Pratique non acceptable</b>	Les deux déterminations sont prélevées par le même professionnel lors du même acte de prélèvement, sans nouvelle vérification de l'identité du patient.

## 5.5. Conditions de conservation pré-analytiques

Le prélèvement ne requiert pas d'exigences pré-analytiques particulières (arrêt de prise médicamenteuse, heure par rapport au cycle nycthémeral ou à la prise de repas).

### **Concernant les conditions de centrifugation des échantillons :**

Un laboratoire qui voudrait modifier les modalités de centrifugation du prélèvement (de dix minutes à cinq minutes par exemple) dans le but de permettre un rendu plus rapide du résultat (dans le cadre du service médical rendu [7]) ou pour harmoniser les programmes de centrifugation en cas de multiples automates, devrait valider ces nouvelles modalités.

Dans ce cas des **critères d'acceptabilité sont définis préalablement à la vérification**. (Exemple : « Des réactions équivalentes sont attendues : réactions 3+ ou 4+ pour les antigènes positifs en phénotypage érythrocytaire, réactions positives en RAI identiques (écarts de 1+ d'intensité tolérés tant que la réaction reste positive), réactions positives en EDA identiques (écarts de 1+ d'intensité tolérés tant que la réaction reste positive). Les réactions négatives sont attendues toujours négatives. »).

Le nombre minimal d'échantillons à tester est généralement de l'ordre d'une trentaine et doit être représentatif des résultats attendus (SH GTA 04).

Les modifications apportées à la phase pré-analytique recommandées par les fabricants ne nécessitent pas d'évolution de la portée flexible standard (type A) vers une portée flexible étendue (type B), mais leur conformité reste à démontrer par le laboratoire [2].

### **Stabilité des échantillons :**

Les exigences normatives [15] précisent au niveau de la stabilité des échantillons (§ 7.2.7.3) :

*« En considérant la stabilité de l'analyte dans l'échantillon primaire, le délai entre le prélèvement de l'échantillon et la réalisation de l'analyse doit être spécifié et surveillé lorsque cela est pertinent. »*

En immuno-hématologie courante les critères de robustesse des échantillons ont été démontrés et certains laboratoires ont pu adapter les critères de stabilité des échantillons par rapport aux spécifications du fournisseur [16,17].

Comme pour les adaptations des modalités de centrifugation cela ne nécessite pas d'évolution de la portée mais la conformité doit être démontrée par le laboratoire [2].

Au-delà de trois jours, un allongement de la tolérance du délai pré-analytique présente peu d'intérêt pour la RAI (validité de 72 heures hors dérogation du prescripteur de PSL), et il est fréquemment constaté un affaiblissement important de l'antigène KEL1 pour le phénotypage érythrocytaire ainsi qu'un défaut de détection des doubles populations érythrocytaires [16,17]. **Ce délai de trois jours s'applique pour une conservation entre 4°C et 22°C.**

Cependant une baisse de sensibilité pour les RAI faiblement positives ayant été constatée au-delà de 48 heures à 22°C en fonction de la technique utilisée [16,17], un acheminement à un laboratoire sous-traitant dans ces conditions devrait s'accompagner des résultats bruts avec intensités réactionnelles justifiant cet envoi, pour que le laboratoire sous-traitant ne méconnaisse pas un allo-anticorps de faible intensité et demande si besoin un échantillon de contrôle.

**Tableau 10 : Conditions de conservation pré-analytiques**

<b>Pratique recommandée</b>	Suivre les instructions du fournisseur concernant les conditions pré-analytiques (délais de stabilité, vitesse de centrifugation...).
<b>Pratique acceptable</b>	Modifier les conditions pré-analytiques recommandées par le fournisseur après analyse des risques et de l'amélioration du SMR attendue, et vérification (essais) préalable tracée de ces adaptations.
<b>Pratique non recommandée</b>	Modification des conditions recommandées par le fournisseur sans vérification (essais) préalable.

### Références bibliographiques

[1] SH FORM 06 révision 2 - Liste détaillée des examens/analyses demandés à l'accréditation

[2] SH REF 08 révision 6 - Expression et évaluation des portées d'accréditation

[3] Manuel de prélèvement du laboratoire de l'EFS Île-de-France :  
<https://efs-idf.manuelprelevement.fr/>

[4] Manuel de prélèvement du laboratoire CERBA :  
<https://www.lab-cerba.com/home/transmettre-et-prescrire-un-exam/catalogue-en-ligne.html>

[5] Manuel de prélèvement du laboratoire BIOMNIS :  
<https://www.eurofins-biomnis.com/services/referentiel-des-examens/>

[6] SH GTA 01 révision 02 - Guide technique d'accréditation en biologie médicale

[7] SH GTA 09 révision 0 - Guide technique d'accréditation pour une évaluation des structures selon la norme ISO 15189 orientée vers le Service Médical Rendu

[8] Arrêté du 15 mai 2018 fixant les conditions de réalisation des examens de biologie médicale d'immuno-hématologie érythrocytaire.

[9] Recommandations HAS novembre 2014 : Transfusion de globules rouges homologues : produits, indications alternatives

[10] Manuel de prélèvement du laboratoire Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale (EP-SA-CN-PRE-PRE-MQ-001 Version : 08)

[11] Note d'information N° DGOS/PF2/PF5/2020/202 du 18 novembre 2020 relative à la publication du référentiel national d'identitovigilance des acteurs de santé – principes généraux et mise en œuvre dans les établissements de santé.

[12] Référentiel national d'identitovigilance version 1.3 – Juin 2022

[13] Instruction N° DGS/PP4/DGOS/PF2/2021/230 du 16 novembre 2021 relative à la réalisation de l'acte transfusionnel.

[14] Michinov E., Gouezec H., Le Groupe des hémobiologistes et correspondants d'hémovigilance (GHCOH) de la Société française de vigilance et de thérapeutique transfusionnelle (SFVTT). Déterminants sociocognitifs de l'intention d'appliquer les procédures de transfusion sanguine : enquête dans des hôpitaux publics français. (Travail présenté sous la forme d'un poster lors du congrès de la Société française de transfusion sanguine (SFTS) à Bordeaux en septembre 2017, et dans le cadre d'une conférence invitée au XIIIe congrès de la Société française de vigilance et de thérapeutique transfusionnelle (SFVTT) à Saint-Malo en novembre 2018)

[15] NF EN ISO 15189:2022 - Laboratoires médicaux - Exigences concernant la qualité et la compétence

[16] Évaluation de la robustesse des examens d'immuno-hématologie érythrocytaire en fonction du délai et de la température d'acheminement des échantillons biologiques. Élise Boiteux. Thèse d'exercice de pharmacie. 2014

[17] OR-5-4 (SFTS 2015) - Évaluation de la robustesse des examens d'immuno-hématologie érythrocytaire en fonction du délai et de la température d'acheminement des échantillons biologiques - E. Boiteux, S. Anselme-Martin, M. Bronnert, C. Giroux Lathuile

## 6. Gestion des réactifs et réactovigilance - Clément DUMORTIER

### 6.1. Gestion des réactifs

Il convient de s'assurer que les réactifs utilisés au laboratoire, et que la stratégie de passage des CIQ répondent bien **aux exigences réglementaires** [1] pour :

- Les performances des réactifs (sensibilité des réactifs, potentielles interférences)
- Les phénotypes et spécificités antigéniques des échantillons à utiliser pour les CIQ
- Les règles de validation des analyses
- Les règles de transmission des résultats phénotypes rares

Par ailleurs, la Norme NF EN ISO 15189: 2022 [2] précise des éléments relatifs à la gestion des réactifs :

- La nécessité de réaliser **des essais d'acceptation** et la vérification des performances avant utilisation de nouveau lot, nouvelle formulation ou modification de réactifs, par exemple avec une étude comparative de contrôle interne de qualité (cf. 6.6.3 de la 15189 :2022). Le laboratoire doit mettre en place des contrôles permettant de répondre à ces exigences, ce qui permet par **ailleurs d'anticiper toute défaillance de réactifs avant même son utilisation**. Dans ce même cadre, une attention particulière sur les changements de notice peut permettre de détecter des modifications de réactifs ou instructions d'utilisation pouvant avoir un impact sur leur performance.
- La nécessité de disposer d'un système de gestion de stock permettant de distinguer les réactifs acceptés ou non. A ce titre, une identification appropriée des zones, ainsi qu'une procédure de validation des réactifs à réception peut permettre de sécuriser l'utilisation de réactifs validés.
- La nécessité de disposer d'enregistrements concernant les réactifs (dénomination, instructions d'utilisation, référence ou numéro de lot, date et état de réception, date de péremption, date de première utilisation et date de mise hors service, confirmation de l'aptitude initiale et actuelle à l'utilisation du réactif). Ces éléments doivent permettre **de retrouver facilement tout examen** concerné par une défaillance de réactif, **en cas de réactovigilance**.

Du fait de l'absence de problème de commutabilité de matrice pour les CIQ, il n'est pas nécessaire d'utiliser des échantillons de patients pour les essais d'acceptation des réactifs.



## 6.2. Réactovigilance

La réactovigilance a pour but d'évaluer les incidents et les risques d'incidents liés à l'utilisation des dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (DMDIV).

Les tubes de prélèvement sanguin sont également réputés être des dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.

Ainsi, en pratique courante il est souvent bien assimilé que les réactifs doivent être surveillés, **mais toute défaillance provenant d'un automate ou d'un logiciel doit également être analysée et déclarée.**

L'article R5222-12 du CSP [3] indique par ailleurs que tout professionnel de santé utilisateur ayant connaissance d'incidents ou de risques d'incidents mettant en cause un dispositif médical de diagnostic in vitro le déclare sans délai à l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM). Ces professionnels de santé doivent en parallèle en informer les fabricants, mandataires, importateurs ou distributeurs intéressés par ces incidents ou risques d'incidents.

De même, **les évènements indésirables et accidents**, qui peuvent être attribués directement à des réactifs ou consommables spécifiques, **doivent être étudiés et signalés au fabricant et/ou au fournisseur**, et si nécessaire aux autorités appropriées, le laboratoire doit également disposer de procédures permettant de répondre à un rappel du fabricant ou à tout autre avis, et de mettre en place les actions recommandées par le fabricant [2].

### **Réactovigilance ascendante**

La réactovigilance ascendante correspond à la détection puis au signalement à l'ANSM d'une anomalie directement par l'utilisateur.

L'utilisateur est confronté à la nécessité de réaliser des investigations afin :

- **D'éliminer une anomalie locale** pouvant être liée à un défaut de transport, de conservation ou d'un mésusage par exemple
- **D'identifier clairement le réactif en cause**, qui peuvent être, dans le cadre de l'immuno- hématologie, des hématies tests, la carte gel ou le support réactionnel, ou le couple support/hématies tests. Par ailleurs, il convient de préciser que toute défaillance liée à un logiciel ou à un automate doit également être déclarée dans le cadre de la réactovigilance.

Dans ces investigations, il peut être utile de contacter le fabricant afin de l'interroger sur d'autres alertes d'utilisateurs.

Une fois l'anomalie confirmée, il convient d'en informer le fabricant et de réaliser une déclaration à l'ANSM.

### **Réactovigilance descendante**

La réactovigilance descendante correspond à la prise de connaissance de défaillances sur les DMDIV à partir d'alertes externes au laboratoire (ANSM, fournisseur).

Le laboratoire doit pouvoir être alerté des défaillances de réactifs qu'il utilise, et il peut être intéressant dans ce cadre d'avoir **un interlocuteur identifié** (réactovigilant) au sein du laboratoire qui exercera cette veille (en s'inscrivant à une newsletter de l'ANSM par exemple).

Grâce à ses dispositions internes, le laboratoire doit donc pouvoir **être alerté de toute anomalie concernant les DMDIV** et vérifier les alertes pour lesquelles il est susceptible d'être concerné. En cas d'alerte impactant ses réactifs, le laboratoire mettra en œuvre une analyse d'impact sur les résultats d'examen rendus avec les réactifs concernés.

### **Analyse d'impact**

Chaque analyse d'impact est unique en fonction de la nature de la défaillance détectée. En immuno-hématologie, il convient de prendre toutes les mesures nécessaires pour assurer la fiabilité des résultats d'examen utilisables dans un contexte transfusionnel, notamment les résultats de phénotypage érythrocytaire ou de recherche d'anticorps anti-érythrocytaires (RAI).

Il conviendra **de prendre en compte également le risque obstétrical engendré** par un défaut de fiabilité des résultats rendus dans ce contexte et de mettre en place les moyens permettant le contrôle, le plus rapidement possible, du résultat impacté.

Enfin, le principal risque à court terme d'un défaut de fiabilité de résultat d'immuno-hématologie concerne le risque transfusionnel et dans ce cadre, il convient de prendre contact avec l'Établissement Français du Sang, qui pourra prendre toutes les mesures conservatoires nécessaires vis-à-vis des résultats potentiellement impactés par ces défaillances, et ce, afin d'assurer la sécurité transfusionnelle des receveurs. Dans cette analyse d'impact, il apparaît par ailleurs important **de prendre en compte la notion de la durée de validité d'une RAI**, pouvant être portée à 21 jours lorsque le prescripteur atteste l'absence d'évènement immunisants dans les 6 mois précédents.

### 6.3. Stratégie de CIQ pour les examens IHE de 1<sup>ère</sup> intention

#### ***Phénotypage érythrocytaire ABO-RH-K***

Les contrôles internes de qualité, conformes à l'arrêté du 15 mai 2018, sont mis en œuvre au minimum une fois par jour si le phénotypage érythrocytaire (technique automatisée ou manuelle) est quotidiennement effectué. [1]

La validation repose sur **les résultats conformes avec le phénotype, l'absence d'ambiguïté réactionnelle** au regard des spécifications techniques décrites dans la notice d'utilisation des réactifs utilisés - y compris en termes d'intensité réactionnelle et le profil réactionnel concordant entre épreuve globulaire et plasmatique pour le phénotypage ABO.

#### ***Dépistage et identification d'anticorps anti-érythrocytaires autres qu'ABO (RAI)***

Le système analytique est contrôlé en utilisant au moins un échantillon de contrôle comportant un anticorps de spécificité connue, et dont le titre n'est pas supérieur à 4 dans la technique d'utilisation, et sur une hématie comportant l'antigène correspondant d'expression « hétérozygote ».

Pour le dépistage, il est recommandé d'utiliser deux échantillons de contrôle, l'un comportant un anticorps fréquent (par exemple anti-RH1/D), l'autre comportant un anticorps dirigé contre un antigène érythrocytaire plus labile (par exemple anti-FY1/ Fy<sup>a</sup>) afin de valider la qualité et la bonne conservation dans le temps des hématies tests.

La validation repose sur les résultats conformes avec la spécificité de l'anticorps, l'absence d'ambiguïté réactionnelle au regard des spécifications techniques décrites dans la notice d'utilisation des réactifs utilisés - y compris en termes d'intensité réactionnelle, par l'obtention d'une réaction positive avec toutes les hématies porteuses de l'antigène correspondant et d'une réaction négative avec toutes les hématies non porteuses de cet antigène. [1]

#### ***Examen direct à l'antiglobuline***

Le système analytique est contrôlé en utilisant des hématies préalablement sensibilisées in vitro par des IgG et des hématies sensibilisées in vitro par du complément. [1]

La validation repose sur les résultats conformes avec la spécificité de l'antiglobuline, l'absence d'ambiguïté réactionnelle au regard des spécifications techniques décrites dans la notice d'utilisation des réactifs utilisés - y compris en termes d'intensité réactionnelle.

**Tableau 11 : Gestion des réactifs et réactovigilance**

<p><b>Pratique recommandée</b></p>	<p><b>Concernant la gestion des réactifs</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Avoir des dispositions permettant de vérifier la conformité réglementaire des réactifs utilisés en immuno-hématologie</li> <li>- Disposer d'un mode de gestion des réactifs permettant de vérifier leur performance et leur défaillance avant toute utilisation</li> <li>- Disposer d'une traçabilité permettant de retrouver facilement et rapidement tout examen concerné par une défaillance de réactif (constatée par l'utilisateur, ou suite à une information d'un fabricant ou alerte ANSM)</li> </ul> <p><b>Concernant la réactovigilance</b> Disposer d'une organisation permettant :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- La prise en compte des alertes descendantes</li> <li>- La réalisation des analyses d'impact en cas d'alerte ascendante ou descendante</li> <li>- L'analyse, le traitement et la déclaration à l'ANSM et fournisseur de toute défaillance de réactif constatée par le laboratoire.</li> </ul>
<p><b>Pratique acceptable</b></p>	<p>/</p>
<p><b>Pratique acceptable non</b></p>	<p><b>Concernant la gestion des réactifs</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Réactifs et gestion des CIQ en non-conformité vis-à-vis de la réglementation</li> <li>- Absence de vérification des performances des réactifs avant utilisation de chaque lot, expédition, nouvelle formulation ou modification de réactifs</li> </ul> <p><b>Concernant la réactovigilance</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Absence de dispositions relative à la gestion des alertes de réactovigilance ascendante ou descendante</li> </ul>

Références bibliographiques

[1] Arrêté du 15 Mai 2018 fixant les conditions de réalisation des examens de biologie médicale d'immuno-hématologie érythrocytaire

[2] Norme NF EN ISO 15189 :2022

[3] Article R5222-12 du Code de la Santé Publique

## **7. Vérification / validation de méthode - Elodie MAENULEIN**

### **7.1. Choix de la portée**

Pour les examens d'immuno-hématologie, la première étape à réaliser est le choix du type de portée, A ou B. Les examens d'IH de première intention réalisée au LBM sont en portée A.

La **portée flexible standard (A)** autorise la réalisation d'examens selon un ensemble de **méthodes reconnues** et permet d'adopter une méthode considérée comme équivalente [1]

## 7.2. Quels protocoles utiliser pour les méthodes qualitatives ?

Les méthodes habituellement utilisées au LBM sont des méthodes en portée A : les recommandations pour les examens d'immuno- hématologie de **première intention** sont :

Vérification de méthode : Critères de performance	Méthodes qualitatives en portée A
Répétabilité et fidélité intermédiaire	Non applicable
Justesse (CQ externalisés)	Non applicable
Exactitude (EEQ)	Essai indispensable si EEQ disponible (sinon autres approches)
Incertitude de mesure	Analyse du processus : maîtrise des risques résiduels
Spécificité et sensibilité analytiques	Vérification bibliographique
Variabilité inter-opérateur	Si manuel : essai indispensable selon l'examen (par exemple, titrage...)
Comparaison de méthodes	Essai indispensable avec méthode précédente, si autre méthode, appareil en miroir ou back-up
Interférences	Bibliographie <i>a minima</i> (notice fournisseur, prise de Rhophylac, d'anti-CD38 ou d'anti-CD47) Essai si pertinent (voir exemple ci-dessous)
Contamination	Essai si technique automatisée
Robustesse	Bibliographie si disponible
Stabilité des réactifs	Bibliographie si disponible Essai si pertinent
Limite de linéarité et de quantification	Non applicable
Limite de détection	Vérification bibliographique
Intervalles de référence	NA

### 7.3. Performances des méthodes et exigences réglementaires

Pour l'IH, certaines spécifications de performances analytiques peuvent être décrites dans des textes réglementaires [2] :

- Pour les étapes de dépistage et d'identification, la technique repose sur la mise en œuvre d'un test indirect à l'antiglobuline polyspécifique ou anti-IgG **permettant de détecter, sur support de type colonne filtration ou d'autres techniques de sensibilité au moins égale, un anticorps anti-RH1/D humain de concentration égale à 10 ng/mL.**
- Pour les épreuves de comptabilité, la méthodologie technique repose sur la mise en œuvre d'un test indirect à l'antiglobuline polyspécifique ou anti-IgG **permettant de détecter, sur support de type colonne filtration ou d'autres techniques de sensibilité au moins égale, un anticorps anti-RH1/D humain de concentration égale à 10 ng/mL.**

- **Cas particulier d'un examen d'IH du nouveau-né**

Le phénotypage érythrocytaire chez un nouveau-né nécessite un prélèvement de sang veineux effectué chez l'enfant pour la réalisation d'examens à visée transfusionnelle.

La détermination du phénotype ABO fait appel uniquement à l'épreuve globulaire. **Le phénotypage RH1/D doit être réalisé en technique colonne filtration ou par une technique de sensibilité au moins égale (ceci doit être mentionné par le fournisseur).**

Si ces éléments ont été vérifiés par le fournisseur, une vérification par le LBM n'est pas souhaitable.

### 7.4. Comparaison de méthodes et comparabilité des résultats

Elles doivent être assurées ([3] §7.3.7.4) en cas de changement d'automate ou en miroir ou en cas d'autre méthode utilisée au LBM : méthode précédente, méthode complémentaire (technique manuelle par exemple), etc..

En cas d'impossibilité d'évaluer le nouvel automate en parallèle du précédent (par exemple impossibilité de positionner les 2 analyseurs dans le laboratoire), le laboratoire établit dans sa procédure de gestion de portée flexible les opérations réalisées *a minima* avant d'effectuer des examens pour les patients [4].

Au vu de la stabilité des antigènes et des anticorps, **une comparaison *a minima* est toujours possible en immuno-hématologie.**

**NB** : il n'est pas nécessaire de réaliser de comparaison avec un autre LBM

Les éléments à comparer sont :

- CIQ
- EEQ
- Échantillons patients

La variété et le nombre d'échantillons à déterminer selon la patientèle, voir exemple ci-dessous :

Exemple de minima à tester afin de respecter au mieux la répartition des phénotypes :

Phénotype ABO	Effectif f
A	13
B	4
O	12
AB	1

Phénotype RH	Effectif
RH : -1,-2,-3,4,5	5
RH : 1,2,-3,-4,5	4
RH : 1,-2,3,4,-5	1
Autres phénotypes RH	20

Phénotype KEL1	Effectif f
KEL : -1	27
KEL : 1	3

Phénotypage érythrocytaire : à réaliser dans la mesure du possible ou lors de la comparaison en continu (inclure des doubles populations et autres difficultés de phénotypage).

RAI : échantillons négatifs et positifs, possibilité d'anticiper et de congeler les échantillons.

La comparabilité en continu est utile pour compléter l'étude initiale (augmentation de l'échantillonnage, stabilité des performances dans le temps...) [5].

#### **Autres indicateurs de détection des tendances pertinents en immuno-hématologie :**

RAI : pourcentage de dépistages positifs suivi d'une identification négative

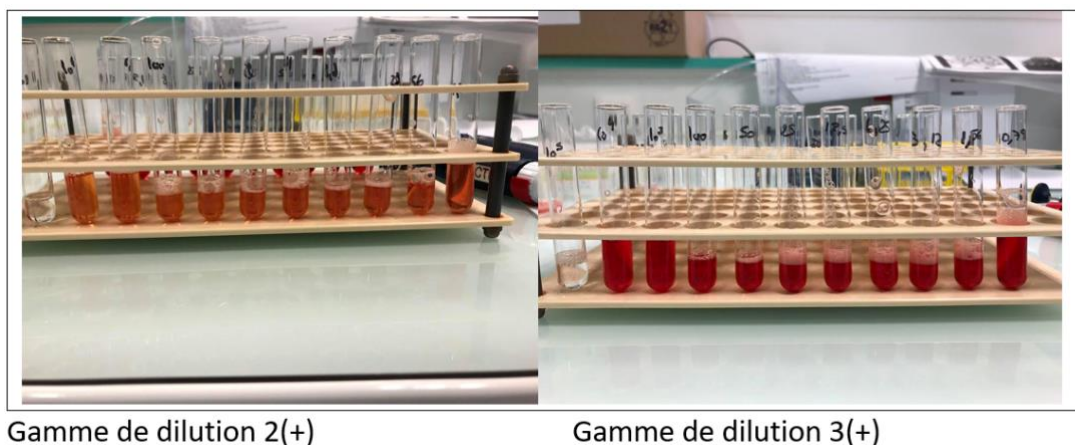
Phénotypage érythrocytaire : pourcentage d'anomalies non confirmées par une technique complémentaire

## **7.5. Interférences - Guillaume LETIZIA**

En immuno-hématologie, la plupart des altérations (hémolyse, ictère, lipémie) des échantillons entraîneront des alarmes de lecture des caméras automatées **sans réelle interférence analytique** bien que peu voire pas d'études sur le sujet soient retrouvées. Cependant les fiches techniques des fournisseurs mentionnent systématiquement d'éviter ce type de prélèvements.

Dans le cadre de l'amélioration du service médical rendu [6] (exemple : en cas d'hémolyse *in vivo* suite à une incompatibilité transfusionnelle, en cas d'urgence transfusionnelle sans possibilité de reprélever le patient pour le dépistage des anticorps anti-érythrocytaires dans les délais impartis...), il peut être opportun que le laboratoire teste ces interférences **afin d'éventuellement valider l'utilisation d'échantillons qui seraient habituellement rejetés** (figure 1).

Figure 1 :



C <sub>Rhophylac</sub>	3,125 ng/mL			1,56 ng/mL			0,78 ng/mL		
CGR Testés	RH :1,2,-3,-4,5	RH :1,-2,3,4,-5	RH : -1	RH :1,2,-3,-4,5	RH :1,-2,3,4,-5	RH : -1	RH :1,2,-3,-4,5	RH :1,-2,3,4,-5	RH : -1
Résultats Technique Manuelle									
	(+)	(+)	-	(-)	(+)	-	-	-	-
Résultats IH-1000									
	(+)	+	-	-	(-)	-	-	-	-

Figure 1 : Exemple de protocole de validation d'utilisation de prélèvements hémolysés en technologie Bio-Rad.

En cas d'utilisation de prélèvements hors spécifications, avec modification des interprétations de l'automate par le laboratoire, **la saisie manuelle** d'une intensité réactionnelle dans le système d'information **devra être réalisée** de façon à préserver l'exactitude de l'enregistrement manuel et de la transcription ([7] : 7.6.3).

Les grandes hyperleucocytoses ou les immunoglobulines monoclonales à taux élevé peuvent perturber les réactions d'hémagglutination et/ou leur lecture et entraîner des réactions faussement positives. Un envoi au LBM sous-traitant est dans ce cas recommandé.

La présence d'agglutinines froides entraîne également des anomalies analytiques de type agglutination spontanée des hématies du patient ou positivité des puits d'épreuves plasmatiques du phénotypage érythrocytaire. Dans un premier temps, la mise à 37°C de l'échantillon pendant 1 heure peut parfois lever cette interférence en défixant l'immunoglobuline agglutinant les globules rouges du patient (figure 2).

Nom usuel:                      Prénom:                      Nom de naissance:

Date de naissance:        /1956.        sexe : (F). IPP:

---

Test Réalisé : Bloodgr.+Rev.gr.:A,B,AB,D/A1,B+C,c,E,e,K,ctl (5041+5011) IH-1000 0300557

Tube inséré par : AC	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-D-VI-	A1	B	Anti-C	Anti-c	Anti-E	Anti-e	Anti-K	Ctl
	++++	++	++++	++++	-	++++	++++	++++	++	++++	++	++

TUBE inséré par :  
ACVérfié par : LS le  
2/02/2016 15:35:23

1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-D VI-	A1	B	Anti-C	Anti-c	Anti-E	Anti-e	Anti-K	Ctl
++++	-	++++	++++	-	++++	++++	++++	-	++++	-	-

Figure 2 : Résolution de l'interférence des agglutinines froides après incubation du tube couché à 37°C pendant une heure.

**Tableau 12 : interférences**

<b>Pratique recommandée</b>	Suivre les instructions du fournisseur concernant les critères de qualité des échantillons (hémolyse, lipémie...). Envoi si besoin au LBM sous-traitant spécialisé en IH.
<b>Pratique acceptable</b>	Utilisation, en fonction des techniques, dans le cadre du service médical rendu (urgence transfusionnelle pour le dépistage des anticorps anti-érythrocytaires, prélèvement difficile), d'échantillons ne présentant pas les qualités optimales pré-analytiques recommandées par le fournisseur, après une analyse de risques et validation préalable tracée de cette utilisation.
<b>Pratique non recommandée</b>	Utilisation non validée d'échantillons ne présentant pas les qualités pré-analytiques requises.

#### Références bibliographiques

- [1] SH REF 08 - Expression et évaluation des portées d'accréditation.
- [2] Arrêté du 15 Mai 2018 fixant les conditions de réalisation des examens de biologie médicale d'immunohématologie érythrocytaire
- [3] Norme NF EN ISO 15189 : 2022
- [4] SH GTA 04 - Guide technique d'accréditation de vérification (portée A) /validation (portée B) des méthodes de Biologie médicale
- [5] SH INF 36 - Adaptations du dossier de vérification/validation de méthodes dans le cas de changements
- [6] SH GTA 09 révision 0 - Guide technique d'accréditation pour une évaluation des structures selon la norme ISO 15189 orientée vers le Service Médical Rendu



## 8. Difficultés de phénotypage érythrocytaire et de RAI positive : Conduite à tenir au laboratoire - Elodie MAENULEIN

### 8.1. Difficulté de phénotypage érythrocytaire

#### *Discordance épreuve globulaire (Beth-Vincent) et épreuve plasmatique (Simonin)*

En cas de discordance entre l'épreuve globulaire (Beth-Vincent) et l'épreuve plasmatique (Simonin), il **est toujours nécessaire de réaliser des techniques complémentaires** ou de transmettre l'échantillon au LBM sous-traitant.

La conduite à tenir sera différente si l'épreuve plasmatique est en défaut (Simonin « plat ») ou si elle est en excès (réaction inattendue au Simonin) [1]

#### *A/ Épreuve plasmatique (Beth-Vincent) en défaut*

TECHNIQUES				EPREUVE GLOBULAIRE			EPREUVE PLASMATIQUE			
Support	Fournisseur	Température	Automate/Manuel le (A/M)	Anti-A	Anti-B	Anti-A+B	GR A1	GR B	GR A2	GR1 O
Gel filtration			A	4+	-	4+	-	-		

Attention : dans les réactifs utilisés à l'épreuve globulaire il ne s'agit pas d'un anti-A+B mais d'anticorps monoclonaux (anti-ABO3) reconnaissant les antigènes A et B du système ABO.

Les causes les plus fréquentes de cette anomalie sont : déficits immunitaires, âges extrêmes de la vie, patient allogreffé par CSH...

En cas de rejet de la technique automatisée, le LBM devra **effectuer 2 réalisations en technique manuelle** pour chaque détermination de phénotype érythrocytaire, en conformité avec l'arrêté du 15 mai 2018. [2]

Il convient dans ce cas de sensibiliser la technique de phénotypage : incubation à 4°C, utilisation de plasma en excès, traitement des hématies-test par la papaïne ...

**NB** : en cas de **sensibilisation de la technique**, une **épreuve plasmatique complète** doit être réalisée (au minimum avec hématies-test A<sub>1</sub>, B et O) ; de plus, une **vérification de méthode** est nécessaire, **ainsi que l'utilisation de témoins supplémentaires (voir infra) et de CIQ/EEQ.**

**Tableau 13 : Épreuve plasmatique (Beth-Vincent) en défaut**

<b>Pratique recommandée</b>	- Transmettre le phénotypage si techniques complémentaires non réalisées au LBM dans des délais adaptés à l'urgence de la demande. - 2 réalisations par détermination, passage des CIQ en technique manuelle, dossier de vérification de méthode manuelle et passage des CIQ et EEQ
<b>Pratique acceptable</b>	/
<b>Pratique non acceptable</b>	Une seule réalisation par détermination et/ou absence de CIQ/EEQ et/ou absence de dossier de vérification de méthode manuelle

### B/ Épreuve plasmatique (Simonin) en excès

- Phénotypage ABO :

TECHNIQUES				EPREUVE GLOBULAIRE			EPREUVE PLASMATIQUE			
Support	Fournisseur	Température	Automate/Manuel le (A/M)	Anti-A	Anti-B	Anti-A+B	GR A1	GR B	GR A2	GR1 O
Gel filtration			A	4+	-	4+	1+	2+		

Attention : dans les réactifs utilisés à l'épreuve globulaire il ne s'agit pas d'un anti-A+B mais d'anticorps monoclonaux (anti-ABO3) reconnaissant les antigènes A et B du système ABO.

Une anomalie de phénotypage impose parfois, en plus du témoin réactif, la réalisation de témoin auto ou de témoin allo :

- -Le témoin « réactif » consiste à tester dans les mêmes conditions techniques les globules rouges du sujet vis-à-vis d'un réactif témoin n'ayant pas d'activité anticorps.
- Il est réalisé systématiquement à chaque réalisation de phénotypage érythrocytaire. Son résultat doit être négatif afin de garantir la validité de l'épreuve globulaire.
- Le témoin « auto » consiste à tester dans les mêmes conditions techniques le plasma du sujet vis-à-vis de ses propres hématies. Un résultat négatif garantit l'absence d'auto-réactivité du patient.
- Le témoin « allo » consiste à tester dans les mêmes conditions techniques le plasma du sujet vis-à-vis d'une gamme d'hématies tests O (hématies de dépistage RAI. Un résultat négatif garantit la validité de l'épreuve plasmatique.

Les causes les plus fréquentes de cette anomalie sont [1] :

- Présence d'un anti-A1 chez un sujet de phénotype A<sub>2</sub> ou présentant un affaiblissement de l'antigène A
- Présence d'un allo-anticorps (hors système ABO) actif à température ambiante
- Présence d'un auto-anticorps aspécifique

Les techniques complémentaires à adapter en fonction de l'hypothèse retenue sont :

- Réalisation d'une épreuve plasmatique complète (hématies-test A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B et O)
- Compléter l'épreuve globulaire avec les réactifs anti-A1 et anti-H
- Réaliser un dépistage de RAI à température ambiante
- Effectuer le témoin négatif selon les mêmes conditions que les techniques manuelles

**NB : un dossier de vérification de méthode est nécessaire, ainsi que l'utilisation de témoins et de CIQ/EEQ.**

**Tableau 14 : Épreuve plasmatique (Simonin) en excès**

<b>Pratique recommandée</b>	Transmettre le phénotypage si techniques complémentaires non réalisées au LBM
<b>Pratique acceptable</b>	/
<b>Pratique non acceptable</b>	Une seule réalisation par détermination et/ou absence de CIQ et/ou absence de dossier de vérification de méthode manuelle

### **Agglutination du témoin**

La cause la plus fréquente est la **présence d'agglutinines froides** :

- Dans un contexte d'anémie hémolytique auto-immune le plus souvent
- Auto-anticorps anti-érythrocytaire de nature IgM (optimum thermique = 4°C)

Les autres causes possibles sont la maladie de Waldenström, le myélome, une cirrhose (phénomène de rouleaux), ce qui entraîne la présence de protéines de poids moléculaire élevé en grande quantité, dans le plasma et adsorbées non spécifiquement aux hématies.

**Le risque est de valider un résultat erroné avec risque transfusionnel majeur.**

### **Conduite à tenir :**

- **En cas de positivité du témoin négatif le résultat ne doit pas être validé**

Il convient de réaliser :

- Épreuve globulaire : lavage des hématies à 37°C jusqu'à négativation du témoin réactif
- Épreuve plasmatique : réalisation à 37°C, adsorption des auto-anticorps à 4°C jusqu'à négativation du témoin « allo »

NB : ces techniques de pré-traitement des échantillons ne nécessitent pas d'utilisation de CIQ ou d'EEQ.

### **Intensités réactionnelles ininterprétables : doubles populations et agglutination faible**

La validation du phénotypage érythrocytaire repose sur **l'absence d'ambiguïté réactionnelle** avec chaque réactif. En fonction des méthodes utilisées, on peut distinguer des images de **doubles populations** et des images d'**agglutination faible**.

## **A/ Double population**

Une image de double population traduit la présence concomitante d'hématies agglutinées par les sérum-tests et d'hématies libres.

Elle peut avoir plusieurs causes :

- Transfusion récente de CGR (< 4 mois) d'où l'importance des renseignements cliniques
- Immaturité antigénique ABO chez le nouveau-né (moins de 6 mois)
- Allogreffe de CSH (voir les renseignements cliniques)
- Variant antigénique (antigène faible ou partiel)
- Transformation leucémique
- Hémorragie fœto-maternelle
- Chimère (faux-jumeaux)

### **Risques en cas de double population non détectée :**

- Phénotypage érythrocytaire erroné
- Phénotypage rendu chez un patient allogreffé sans aucune consigne post-allogreffe (absence de protocoles transfusionnels)
- Pas d'alerte au prescripteur (transformation leucémique, hémorragie fœto-maternelle ...)

### **Conduite à tenir :**

Devant une image de double population, **il est indispensable de rechercher la notion de transfusion récente chez le patient.**

Si origine transfusionnelle confirmée, la validation technique et l'interprétation biologique nécessitent :

- De rechercher la détermination pré-transfusionnelle
- D'obtenir la traçabilité des CGR transfusés

En l'absence de transfusion récente, il est nécessaire de rechercher une autre cause (allogreffe, pathologie hématologique, etc.).

### **ATTENTION :**

- -Il convient de transmettre le phénotypage à l'EFS si l'enquête ne permet pas de recueillir tous les éléments
- En cas de double population d'origine transfusionnelle, il est possible ne pas rendre le résultat et de privilégier de conseiller au prescripteur de se rapprocher de l'établissement transfuseur pour récupérer les déterminations pré-transfusionnelles.

## **B/ Réaction d'agglutination faible**

**Système ABO :** affaiblissement antigénique souvent associé à une discordance Beth-Vincent / Simonin

- Groupes A faible ou A faible B
- Plus rares : Groupes B faible ou A B faible ou A faible B faible

Groupe	Anti-A	Anti-B	Anti-A+B	A1	A2	B	O	Anti-H	% agglu	Nbre Sites Ag
A1	+++	---	+++	---	---	+++	---	---	95	1M
A2	+++	---	+++	---	---	+++	---	+++	90	200000
A3	DP	---	DP	+/-	---	+++	---	+++	63	30000
Ax	(+)	---	+	+	---	+++	---	+++	33	4000
Aend	DP	---	DP	+/-	---	+++	---	+++	10	
Am	---	---	---	---	---	+++	---	+++	0	200 à 1900 Fixation /Elution
Ay	---	---	---	---	---	+++	---	+++	0	
Ael	---	---	---	++/-	---	+++	---	+++	0	

Attention : dans les réactifs utilisés à l'épreuve globulaire il ne s'agit pas d'un anti-A+B mais d'anticorps monoclonaux (anti-ABO3) reconnaissant les antigènes A et B du système ABO.

#### Système RH : variant d'un antigène

- Variants de l'antigène RH1 plus fréquents
- Variants des antigènes RH2 et RH5 non exceptionnels, en particulier dans la population afro-antillaise

Un variant antigénique peut être :

- Un antigène **faible** = sans risque d'allo-immunisation
- Un antigène **partiel** = risque d'allo-immunisation (transfusionnelle ou fœtale)

La distinction entre un antigène faible et partiel n'est pas réalisable en sérologie mais en génotypage (recours à la **biologie moléculaire** si le contexte clinique le justifie (attention, cet examen est hors nomenclature) dans les cas suivants :

- Patient avec syndrome drépanocytaire majeur (intérêt des renseignements cliniques)
- Femme en âge de procréer (moins de 50 ans)
- Suspicion de phénotype rare, notamment chez un patient d'origine afro-antillais

**Les risques en cas d'agglutination faible non explorée** sont :

- **Allo-immunisation transfusionnelle** si non-respect d'un antigène partiel chez un patient nécessitant une prévention de l'allo-immunisation (femme en âge de procréer)
- **Absence de prévention de l'allo-immunisation anti-RH1** (injection de Rhophylac®) chez une patiente enceinte présentant un antigène RH1 partiel.
- Absence de détection d'un phénotype érythrocytaire rare

#### Conduite à tenir :

- Enquête : origine ethnique et contexte clinique
- Recours à la biologie moléculaire si nécessaire (certains examens sont hors nomenclature)
- Transmettre le phénotypage si doute sur l'indication de biologie moléculaire ou transmettre le génotypage si nécessaire

## **Difficultés de phénotypage érythrocytaire étendu**

**Phénotypage érythrocytaire étendu** : recherche d'un ou de plusieurs antigènes érythrocytaires autres que ceux recherchés lors du phénotypage ABO-RH-KEL1 : Phénotype étendu = principaux antigènes d'intérêt transfusionnel : FY1 (Fy<sup>a</sup>), FY2 (Fy<sup>b</sup>), JK1 (Jk<sup>a</sup>), JK2 (Jk<sup>b</sup>), MNS3 (S), MNS4 (s). C'est une technique en TIA (test indirect à l'antiglobuline) pour certains antigènes. C'est un examen de 2<sup>e</sup> intention en immunohématologie et devant être **réservé à des LBM ayant une expertise reconnue en IH**.

**Attention** : ne jamais réaliser de phénotypage étendu si EDA IgG+ et ne jamais rendre de résultat si témoin réactionnel positif.

Les difficultés du phénotypage ininterprétable en contexte transfusionnel sont :

- Agglutinations plus faibles que pour le phénotypage ABO-RH-KEL1
- Doubles populations plus difficiles à détecter
- **Absence d'antigènes antithétiques = phénotype rare** (à l'exception du phénotype FY:-1,-2 (Fy(a-b)) dans la population d'origine afro-antillaise)

En cas de difficulté non résolues, possibilité de recourir au **génotypage étendu** si besoin (examen hors nomenclature).

**Les risques en cas de difficulté non détectée sont :**

- Phénotypage étendu erroné
- Si réalisation suite à l'identification d'un anticorps à la RAI, confusion entre allo-anticorps et auto-anticorps
- Allo-immunisation transfusionnelle d'un patient nécessitant une prévention de l'allo-immunisation dans le phénotype étendu
- Absence de détection d'un phénotype érythrocytaire rare

**Conduite à tenir :**

Demande en contexte transfusionnel :

- Si intensités réactionnelles ininterprétables
- Si EDA positif en IgG / Témoin réactionnel positif
- Si absence d'antigènes antithétiques

Le recours à la biologie moléculaire est nécessaire (ces examens sont hors nomenclature).

## **8.2. Identification d'anticorps anti-érythrocytaires :**

**L'identification : une étape obligatoire**

L'arrêté du 15 Mai 2018 fixe les règles de réalisation des examens : pour la recherche et l'identification d'anticorps anti-érythrocytaires autres qu'ABO (RAI)

En cas de dépistage positif, l'identification de l'anticorps est **obligatoire et doit être réalisée dans un délai compatible avec la prise en charge du patient : au maximum J+3**.

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

1/ 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 nombre minimal de 3 hématies en termes de réactivité positive ou négative ne s'applique pas en cas d'association d'anticorps de spécificité anti-RH/Rh. **Lorsque les critères de validation de chaque spécificité anticorps ne sont pas obtenus, une étape supplémentaire avec un plus grand nombre d'hématies informatives doit être mise en œuvre.** L'interprétation doit **prendre en compte le caractère « homozygote » ou « hétérozygote » des hématies** utilisées.

2/ **Éliminer d'éventuels anticorps supplémentaires** par la présence, sur les hématies donnant des réactions négatives, de l'ensemble des antigènes présents sur le panel de dépistage, et présentant au minimum une expression homozygote pour les antigènes FY1/Fy<sup>a</sup>, FY2/Fy<sup>b</sup>, JK1/Jk<sup>a</sup>, JK2/Jk<sup>b</sup>, MNS3/S et MNS4/s.

3/ **Contrôler l'absence de l'antigène correspondant à chaque allo-anticorps identifié** (lorsque les réactifs sont disponibles sur le marché), en l'absence d'antécédent transfusionnel dans les quatre mois ayant précédé l'identification d'anticorps anti-érythrocytaires [2].

La prise en charge d'une **RAI positive** nécessite d'avoir connaissance des renseignements cliniques pertinents (voir chapitre 4).

**Les risques** en cas de non-respect des règles de validation de l'identification sont une erreur dans l'identification de l'allo-anticorps (profil réactionnel incomplet et/ou absence de validation) avec pour conséquence un choix inadapté des PSL (positivité inattendue d'une épreuve de compatibilité au laboratoire : ECL au LBM délivrant les PSL) **et donc un risque de retard à la transfusion avec un préjudice pour le patient.**

Il convient d'éliminer d'éventuels anticorps supplémentaires ; si cette étape est non réalisée ou réalisée **de manière incorrecte** (non-respect de l'homozygotie pour les Ag FY1, FY2, JK1, JK2, MNS3, MNS4), les risques sont :

- Identification incomplète, oubli d'un ou de plusieurs allo-anticorps
- Choix des PSL inadaptés
- Positivité inattendue des ECL ou ECL négatives et réactivation des anticorps

**Et donc avec un risque d'accident transfusionnel.**

**Il convient aussi de contrôler l'absence de l'antigène correspondant** pour préciser la nature de l'anticorps (auto ou allo ?) avec un risque de réalisation d'ECL non justifiée **et donc un risque de retard à la transfusion.**

**Conduite à tenir** en cas de dépistage RAI positif : **transmission de l'échantillon dans la journée ou immédiate selon le contexte clinique.**

**Conduite à tenir** en cas d'identification d'un allo-anticorps pour le LBM réalisant l'identification :

- **Prévenir le prescripteur sans délai**
- Se renseigner sur :
  - Les besoins transfusionnels avérés ou éventuels
  - Le degré d'urgence de la demande de PSL
  - La date prévue d'intervention
- Transmettre les résultats sans délai au site de délivrance des PSL

## **Anti-RH1 et grossesse**

L'interprétation d'un anti-RH1 chez une femme enceinte est un enjeu majeur.

**Les risques en cas d'allo-anti-RH1 rendu « anti-RH1 passif » par erreur sont :**

- Surveillance obstétricale inadaptée : retard de prise en charge du fœtus
- **Risque d'anémie sévère et d'anasarque fœto-placentaire pouvant conduire à la mort fœtale**
- Surveillance néo-natale inadaptée : retard de prise en charge du nouveau-né
- **Risque d'ictère sévère avec séquelles neurologiques du nouveau-né**

**Les risques en cas d'Anti-RH1 passif rendu « allo-anti-RH1 »** car enquête insuffisante sont :

- Instauration d'un suivi de l'allo-immunisation non justifiée, stress inutile de la mère
- Réalisation d'ECL non justifiées en cas de besoin transfusionnel
- **Risque de retard à la transfusion en situation d'urgence** (exemple : hémorragie de la délivrance)

Devant une RAI positive chez une femme enceinte, il est indispensable de se renseigner sur :

- Une éventuelle injection d'immunoglobulines anti-RH1 (D) :
  - Date ?
  - Dose reçue ?
- **La dernière antériorité de RAI connue**

Il est possible de conclure qu'un profil d'anti-RH1 (D) correspond à un **anticorps passif uniquement** si :

- RAI négative connue dans les 7 jours avant la date d'injection
- Date d'injection cohérente avec le profil observé (positivité possible jusqu'à 4 mois après l'injection)

En cas de notion d'injection d'immunoglobulines anti-RH1, mais avec des informations incomplètes (ex : date exacte non connue, pas d'antériorité de RAI retrouvée ...), un **microtitrage** de l'anti-RH1 est nécessaire pour évaluer sa concentration et sa compatibilité avec un anticorps passif, par comparaison du résultat obtenu avec le résultat attendu, selon les données de pharmacocinétique de ce médicament.

En l'absence de notion d'injection d'immunoglobulines, après une enquête approfondie, y compris si le contexte de grossesse semble en faveur d'une injection, il importe de :

- Ne pas conclure à la présence d'un anticorps passif
- **Interpréter l'anti-RH1 comme un allo-anticorps**
- Recommander la surveillance adéquate chez une femme enceinte
- **Adapter les consignes transfusionnelles** : CGR phénotypés et compatibles
- **Alerter sans délai** le prescripteur et le site de délivrance
- Demander impérativement un **prélèvement de contrôle**

### **Conduite à tenir en cas de RAI positive chez une femme enceinte :**

Allo-immunisation d'une femme enceinte = **alerte prescripteur** en charge du suivi de la grossesse :

- Adaptation du suivi obstétrical si l'anticorps identifié présente un risque obstétrical
- Adaptation du suivi néo-natal si l'anticorps identifié présente un risque d'atteinte hémolytique en post-natal
- Allo-immunisation d'une femme enceinte = alerte du site de délivrance des PSL de la maternité prévue
- Au 8<sup>ème</sup> ou 9<sup>ème</sup> de grossesse, quel que soit l'allo-anticorps identifié : anticipation d'un éventuel besoin transfusionnel au moment de l'accouchement
- Mise en réserve de CGR de phénotype adapté



## Tableau représentant les principaux groupes d'allo-anticorps anti-érythrocytaires en fonction de leur incidence obstétricale [3]

**Tableau I - Principales spécificités des anticorps anti-érythrocytaires et risque obstétrical (d'après l'expérience du Centre National de Référence en Hémodiologie Périnatale et les données de la littérature internationale publiée depuis 2000).**

Groupe sanguin	Spécificité de l'anticorps	Risque d'anémie fœtale sévère (Hb < 6 g/dL avant terme)	Risque de maladie hémolytique néonatale (7)	Techniques de quantification disponibles en France
Système RH	Anti-D (RH1)	Oui (fréquent - dès 15SA) (7)	Oui	Titration / dosage pondéral / microtitration
	Anti-C (RH2)	Non	Oui	Titration / dosage pondéral
	Anti-E (RH3)	Oui (rare) (10)	Oui	Titration / dosage pondéral
	Anti-c (RH4)	Oui (dès 20SA) (7)	Oui	Titration / dosage pondéral
	Anti-e (RH5)	Oui (exceptionnel) (11)	Oui	Titration / dosage pondéral
	Anti-Cw (RH8)	Oui (exceptionnel) (12)	Oui	Titration
	Anti-G (RH12)	Oui (exceptionnel) (13)	Oui	Titration / dosage pondéral
	Autres anti RH dont « anti-public et anti-privé », anti-antigènes liés...	Oui (exceptionnel) (14, 15)	Oui	Titration ± dosage pondéral
Système KEL	Anti-Kell (KEL1)	Oui (fréquent - dès 15SA) (7)	Oui	Titration
	Anti-Kpa (KEL3)	Oui (exceptionnel) (7)	Oui	Titration
	Autres anti-KEL dont « anti-public »	Oui (exceptionnel) (16-19)	Oui	(Titration si hématies-test informatives)
Système MNS	Anti-M (MNS1)	Oui (rare) (20)	Oui	Titration
	Anti-N (MNS2)	Non	Non	/
	Anti-S (MNS3)	Oui (exceptionnel) (21)	Oui	Titration
	Anti-s (MNS4)	Non	Oui	Titration
	Anti-U (MNS5)	Oui (exceptionnel) (22)	Oui	Titration / dosage pondéral
	Autres anti-MNS dont « anti-privé »	Anti-Vw (exceptionnel) (23) Anti-Mur (exceptionnel) (24)	Oui	Titration (si hématies-test informatives)
Système FY	Anti-Fya (FY1)	Oui (exceptionnel) (32)	Oui	Titration
	Anti-Fyb (FY2)	Non	Oui	Titration
	Autres anti-FY dont « anti-public »	Non	Oui	Titration (si hématies-test informatives)
Système JK	Anti-Jka (JK1)	Oui (exceptionnel) (7)	Oui	Titration
	Anti-Jkb (JK2)	Non	Oui	Titration
	Autres anti-JK dont « anti-public »	Non	Oui	Titration (si hématies-test informatives)
Système P1PK1	Anti-P1 (P1PK1)	Non	Non	/
Système LU	Anti-Lua (LU1) et Lub (LU2)	Non	Non	/
Système LE	Anti-Lea (LE1), -Leb (LE2), autres	Non	Non	/
Autres systèmes de groupes sanguins		Anti-Vel (exceptionnel) (25) Anti-LAN (exceptionnel) (26) Anti-Jra (JR1) (rare) (27) Anti-Dia (exceptionnel) (29) Anti-Coa (exceptionnel) (30)	Oui Anti-Gc3 (28)	Titration (si hématies-test informatives)
Systèmes H et I	Anti-H, anti-HI	Non	Non	/
Système ABO	Anti-A (ABO1)	Non	Oui	(Titration)
	Anti-B (ABO2)	Oui (exceptionnel) (31)	Oui	(Titration)
Auto-anticorps & auto-papaïne	Auto-anticorps & auto-papaïne	Non	Non	/

## **Suspicion de faux négatif : dépistage positif mais non confirmé sur le panel d'identification d'au moins 10 hématies**

Dans quelles situations faut-il penser à rechercher un « anti-privé » ?

- Anémie / ictère chez un nouveau-né (ou fœtus)
- Mère : RAI positive en dépistage puis non confirmée en identification
- Nouveau-né : EDA positif associé à une RAI négative (plasma et éluat)
- Incident post-transfusionnel, en particulier, hémolyse post-transfusionnelle retardée (*DHTR : delayed hemolytic transfusion reaction*) chez les patients drépanocytaires
- Bilan d'incident post-transfusionnel négatif

Les Antigènes concernés sont des Ag de faible fréquence dans la population générale (< 1%) dit « privé » : faible probabilité d'être présent sur une des hématies-test des panels (dépistage et identification)

- Présence d'anticorps « anti-privé » = **RAI négative** le plus souvent

### **Conduite à tenir en cas de suspicion d'une RAI faussement négative :**

- En cas de suspicion d'un « anti-privé » :
- Echanger avec le **prescripteur** et recueillir les renseignements cliniques
- Transmettre si besoin, l'échantillon avec les résultats ainsi que le contexte au **CNRGS (EFS Île-de-France)**
- Protocole « **CGR compatibilisé** » essentiel +++

### Références bibliographiques

[1] Les analyses immunohématologiques et leurs applications cliniques. Chiaroni J et al. John Libbey Eurotext, 2011

[2] Arrêté du 15 Mai 2018 fixant les conditions de réalisation des examens de biologie médicale d'immunohématologie érythrocytaire

[3] Quantification des anticorps anti-érythrocytaires chez la femme enceinte. TOLY-NDOUR C et al. Revue de Biologie Médicale, 2019 N° 347 : 1-18

## **9. Détection d'un phénotype rhésus rare et conduite à tenir au laboratoire de biologie médicale - Patrick JOUBAUD**

### **9.1. Description des phénotypes Rhésus (RH) rare ou exceptionnel**

En 2023, le système Rh (RH - ISBT 004) possède 56 antigènes, dont 5 antigènes majeurs définissant le phénotype RH d'un individu [1], exprimés sur des protéines érythrocytaires transmembranaires, codées par 2 gènes disposés en tandem sur le chromosome 1.

D'un point de vue réglementaire, un phénotype érythrocytaire est rare si sa prévalence est inférieure à 4/1.000 dans la population considérée [2] [3].

Chez les caucasiens, existent 6 phénotypes RH rares, pouvant être factorisés comme suit : RH:-4,-5 ; RH:-1,-4 ; RH:-1,-5 ; ainsi que 2 situations exceptionnelles : l'absence d'antigènes antithétiques (RH2/RH4 et/ou RH3/RH5) et le rarissime phénotype RH null, défini par l'absence totale d'antigènes du système RH à la surface des érythrocytes [4] **[Figure 1]**

Figure 1 : 6 phénotypes RH rares :

Phénotype RH (International)	Phénotype RH (Standard)	Haplotypes	Prévalence (France) [2]
RH:1,2,3,-4,-5	D+ C+ E+ c- e-	<i>DCE/DCE</i>	1/10 <sup>6</sup>
RH:-1,2,3,-4,-5	D- C+ E+ c- e-	<i>dCE/dCE</i>	3/10 <sup>7</sup>
RH:-1,2,-3,-4,5	D- C+ E- c- e+	<i>dCe/dCe</i>	7/10 <sup>5</sup>
RH:-1,-2,3,4,-5	D- C-E+ c+ e-	<i>dcE/dcE</i>	3/10 <sup>5</sup>
RH:-1,2,3,4,-5	D- C+ E+ c+ e-	<i>dCE/dcE</i>	<1/10 <sup>5</sup>
RH:-1,2,3,-4,5	D- C+ E+ c- e+	<i>dCE/dCe</i>	<1/10 <sup>5</sup>

Figure 2 : phénotypes RH exceptionnels :

D - -	RH:1,-2,-3,-4,-5	<1/10 <sup>7</sup>
RH null	RH:-1,-2,-3,-4,-5	<1/10 <sup>7</sup>

Cette situation peut conduire à une **difficulté transfusionnelle pour respecter le protocole** antigéno-compatible dans le système RH.

De plus, l'immunisation anti-RH1 et/ou anti-RH4 d'une patiente en âge de procréer est une complication redoutable pendant la grossesse, pouvant conduire à la mort fœtale *in utero*, en cas d'immunisation fœto-maternelle et si le fœtus est porteur d'un de ces antigènes [5].

## 9.2. Détection d'un phénotype Rh (RH) rare ou exceptionnel

Il est donc nécessaire pour le laboratoire de biologie médicale de détecter un phénotype rare ou exceptionnel, réglementairement en cas de besoin transfusionnel [3] **Exigences réglementaires 1**

## Exigences réglementaires 1

### RÈGLES DE RÉALISATION DES EXAMENS DE BIOLOGIE MÉDICALE D'IMMUNO-HÉMATOLOGIE ÉRYTHROCYTAIRE

#### 1. PHÉNOTYPAGE ÉRYTHROCYTAIRE

1-3. Phénotypage RH1/D et RH-KEL1/Rh-Kell

#### En cas de besoin transfusionnel, les résultats de phénotypes rares :

RH:-1,2,-3,-4,5/D-C+E-c-e+ ;

RH:-1,-2,3,4,-5/D-C-E+c-e- ;

RH: 1,2,3,-4,-5/D+C+E+c-e- ;

RH:-1,2,3,-4,-5/D-C+E+c-e- ;

RH:-1,2,3,-4,5/D-C+E+c-e+ ;

RH:-1,2,3,4,-5/D-C+E+c-e- ;

**et ceux comportant l'absence d'antigènes antithétiques, sont transmis sans délai au site de délivrance des produits sanguins labiles.**

*Source : Arrêté du 15 mai 2018 fixant les conditions de réalisation des examens de biologie médicale d'immuno-hématologie érythrocytaire*

Et dans tous les cas pour assurer une prise en charge optimale des patients et par là-même le service médical rendu au sens des référentiels d'accréditation [6,7] **Exigences normatives 1.**

## Exigences normatives 1

### SH REF 02 révision 08 :

5.3.3 - En France, la prestation de conseil par le biologiste médical couvre, sans s'y limiter, le recueil des renseignements cliniques et l'adaptation de la prescription (cf. §6.7.1 et 7.2.3), l'interprétation contextuelle et la communication appropriée des résultats d'examens de biologie médicale (cf. §7.4.1). Les biologistes médicaux doivent définir la prestation de conseils (organisation, responsabilités, modalités, ...) pour permettre la réalisation effective d'un service médical pour une prise en charge adaptée des patients.

La prestation de conseils doit couvrir les cas cliniques individuels (conseils, aide à la prescription initiale ou complémentaire, avis professionnels sur l'interprétation des résultats, ...) et doit s'intégrer globalement dans le parcours de soins des patients (conseils sur le choix des examens et leur utilisation, conseils sur les conditions pré-analytiques, information suite à la revue des examens, rappel des recommandations de bonnes pratiques, ...).

Le laboratoire doit être en mesure de prouver l'application de ses dispositions et doit conserver les enregistrements des actions principales et/ou significatives réalisées, précisant notamment la nature de ces actions (cf. §8.4.1 de la norme).

La détection d'un phénotype RH rare ou exceptionnel **est assurée idéalement par le paramétrage du système d'information du laboratoire**, ou éventuellement par le paramétrage de l'équipement utilisé pour la réalisation du phénotypage érythrocytaire RH et/ou lors de la validation du résultat par le personnel technique du laboratoire.

<b>Tableau 15 : Conduite à tenir en cas de détection d'un phénotype Rh (RH) rare ou exceptionnel</b>	
<b>Pratique recommandée</b>	Prendre immédiatement contact avec l'EFS de proximité. Alerter le prescripteur, le patient seulement si besoin de le reprélever et informer le site de délivrance des produits sanguins labiles si besoin transfusionnel ou la maternité pour une parturiente. Transmettre l'échantillon biologique à l'EFS de proximité. Alerter le patient en cas de confirmation du phénotype RH rare ou exceptionnel.
<b>Pratique acceptable</b>	Alerter le prescripteur, le dépôt de sang/EFS de proximité et le patient.  Envoyer l'échantillon directement au CNRGS pour confirmation.
<b>Pratique non acceptable</b>	Ne pas alerter ou alerter de façon incomplète le prescripteur, le dépôt de sang/EFS de proximité et/ou le patient et/ou ne pas envoyer l'échantillon au CNRGS ou à l'EFS de proximité.

De plus, la détection d'un tel résultat critique au sens des référentiels d'accréditation et du SMR doit conduire à la mise en place **d'un processus de communication spécifique**, qui peut être oral, permettant d'assurer que le prescripteur (ou le professionnel de santé autorisé) en **est informé immédiatement** [6,7].

#### **Conduite à tenir en cas de détection d'un phénotype Rh (RH) rare ou exceptionnel**

Dès l'obtention du résultat, il est indispensable **de prendre contact avec l'EFS de proximité**, qui statuera avec le Centre National de Référence pour les Groupes Sanguins (CNRGS), sur la nécessité d'envoyer un échantillon (individu déjà connu au CNRGS ?) et de prendre connaissance des conditions pré-analytiques et du délai d'obtention de leur résultat [8].

#### **4. CAS PARTICULIER D'UN RÉSULTAT D'EXAMEN IMMUNO-HÉMATOLOGIQUE RARE**

**Tout phénotype/génotype érythrocytaire rare** (fréquence inférieure à 4/1000 dans la population générale) **fait l'objet d'une transmission au Centre national de référence pour les groupes sanguins (CNRGS)** en vue de son éventuelle inscription dans le Registre national de référence des sujets présentant un phénotype/génotype érythrocytaire rare. Le laboratoire de biologie médicale adresse au CNRGS **un échantillon biologique** ainsi que les **résultats des examens immuno-hématologiques** qu'il a effectués pour le patient.

*Source : Arrêté du 15 mai 2018 fixant les conditions de réalisation des examens de biologie médicale d'immuno-hématologie érythrocytaire*

Par la suite, **il est nécessaire de s'entretenir avec le prescripteur**, afin non seulement de récupérer d'éventuelles informations pertinentes (au minimum : date du terme et lieu prévu d'accouchement en cas de grossesse ; nature, date prévue, risque hémorragique et besoin transfusionnel en cas d'intervention chirurgicale programmée ; anémie, traitement anti-coagulant ou anti-agrégant ; antécédents connus : grossesses, transfusions), **mais de l'informer de la difficulté transfusionnelle** en cas de confirmation du résultat et enfin de discuter d'un éventuel report de la date d'intervention le cas échéant.

De façon concomitante, le biologiste doit transmettre le résultat (en cas de suspicion et bien entendu, en cas de confirmation du résultat d'un phénotype RH rare ou exceptionnel) **au site de délivrance des produits sanguins labiles** en cas de besoin transfusionnel et, en outre dans le cas particulier d'une parturiente, à la maternité dans laquelle celle-ci est susceptible d'accoucher [3].

Il est recommandé au laboratoire de biologie médicale, de **transmettre** l'échantillon biologique **accompagné de toutes les informations utiles, à l'établissement de transfusion sanguine le plus proche**, qui s'occupera de l'envoi au CNRGS et de l'organisation transfusionnelle avec notamment la gestion du transport éventuel d'unités de sang rare décongelées provenant de la banque nationale de sang de phénotype rare (BNSPR) [9]. Il est à noter que la non-confirmation d'un phénotype RH rare par le CNRGS est une situation relativement fréquente, notamment dans le cas d'un phénotype RH:-1,-4 [10].

En cas de confirmation d'un phénotype RH rare, le CNRGS émet un courrier personnalisé, ainsi qu'un document d'information résumant ses caractéristiques immuno-hématologiques [Figure 2], qui seront à remettre par le prescripteur au patient.

Figure 2 :

**Centre National de Référence pour les Groupes Sanguins**  
**Phénotypes et/ou Génotypes érythrocytaires rares**  
(document personnel)

**Nom:** |  
**Née:**  
**Prénom:**  
**Sexe:**

**Date de naissance** 2003/03/12  
**Lieu de naissance**  
**Adresse personnelle**

**GROUPE ABO:-1,2,3 (B)**  
**Phénotype : RH:-1,-2,3,4,-5**

**Anticorps:**

**Phénotype érythrocytaire**

RH		KEL		FY		JK		LE
1	2	3	4	5	6	7	8	12
-	-	+	+	-	-	-	-	+
+	+							+

MNS		P	LU		DO	YT	CO	XG
1	2	3	4	5	6	7	8	12

**Génotype**  
**RH-1**

**Correspondant**

EFS BOURGOGNE FRANCHE COMTE  
 IMMUNO HEMATOLOGIE  
 2 RUE ANGELIQUE DUCOUDRAY - BP  
 47834  
 21078 DIJON CEDEX

Document établi le 2022/06/27 à 10:41:19  
 Dr T. PEYRARD  
 Dr B. CHAMI  
 Dr V. THONIER  
 Dr C. HYON

CNRGS : 20, rue Bouvier - BP 79 - 75522 Paris Cedex 11 - Tél. : 01 55 25 12 12 (24 h/24) - Fax : 01 55 25 12 03 - E-mail : cnrgs@ints.fr

Le laboratoire de biologie médicale devra également **en informer immédiatement le prescripteur et le patient**, si besoin à l'oral, avec un compte-rendu comportant l'interprétation du résultat.

Références bibliographiques

[1] Site Internet de l'International Society of Blood Transfusion (ISBT) : <https://www.isbtweb.org/resource/tableofbloodgroupsystems.html>

[2] A large-scale epidemiological study reveals that the rare RH:-1,2,-3,-4,5, RH:-1,- 2,3,4,-5, RH:-1,2,3,-4,-5, RH:1,2,3,-4,-5 blood groups appear less prevalent than expected in the French population. Peyrard T et al. Vox Sang 2010 ; 99 (Suppl.1) : 361

[3] Arrêté du 15 mai 2018 fixant les conditions de réalisation des examens de biologie médicale d'immuno-hématologie érythrocytaire.

[4] Rhnull phenotype : A family study of a novel RHAG allele in Brazilians. De Paula Vendrame TA et al. Transfusion. 2022 Nov ; 62 (11) : E66-E67

[5] Évaluation du risque immuno-hémolytique d'un anticorps anti-érythrocytaire dans un contexte d'incompatibilité fœto-maternelle. Camille Joubert. Thèse de Sciences pharmaceutiques. 2021.

[6] Norme NF EN ISO 15189 : 2022

[7] SH REF 02 révision 08

[8] Manuel de prélèvement du laboratoire d'immuno-hématologie spécialisée du CNRGS : <https://efs-cnrgs.manuelprelevement.fr/>

[9] The French national rare blood program. Peyrard T. Immunohematology 2016 Jan ; 32(1) : 23-25.

[10]. Inscription des individus RH : -1, -4 ou RH : -1,-5 dans le registre national de référence des sujets présentant un phénotype/génotype érythrocytaire rare : intérêt de la réalisation d'une PCR multiplexe systématique pour le dépistage des variants RH1 affaiblis non détectés par sérologie de routine. Babinet J. et al. Transfusion Clinique et Biologique 2017 : 24 3S

## 10. Carte de groupe sanguin et formats d'échanges de résultats - Sandrine LEYERLOUP

### 10.1. Revue de la réglementation par rapport à la carte de groupes sanguins et exigences normatives

L'arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale est abrogé par l'arrêté du 15 mai 2018 fixant les conditions de réalisation des examens de biologie médicale d'immuno-hématologie érythrocytaire, qui **ne fait plus référence au document « carte de groupes sanguins »**.

L'arrêté du 31 août 2022, paru au JORF le 21/09/2022, abroge l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale.

**Ainsi aucun texte ne légifère la carte de groupes sanguins**, bien que le format de la carte de groupes sanguins devrait en toute logique respecter les exigences de l'arrêté du 15 mai 2018 pour un compte-rendu :

- Identité indiquant le nom de naissance, le premier prénom d'état civil, la date de naissance et le sexe,
- Résultats exprimés en nomenclature internationale et en nomenclature standard, sauf pour le phénotype ABO exprimé uniquement en nomenclature standard,

**A terme, ce document va être amené à disparaître.**

*Le Référentiel d'interopérabilité dénommé " (E-sante.gouv.fr Compte-rendu d'examens de biologie médicale (CR-BIO V2021.01) Spécifications techniques 28/06/2021 volet compte rendu d'examens de biologie médicale " fixe le cadre technique et sémantique et précise le destinataire.*

**L'ensemble des résultats [IHE]** est adressé par voie électronique, selon le cas, au site présumé de la délivrance des produits sanguins labiles désigné pour le patient et **le LBM devra tracer si possible, le site de délivrance des PSL** afin de s'assurer, dans le cadre du SMR que le site de délivrance a bien à disposition les résultats.

Les résultats strictement nécessaires à la coordination ou à la continuité des soins ou au suivi médico-social et social du patient **peuvent être également communiqués aux autres professionnels appartenant à l'équipe de soins**, sauf opposition de la part du patient (préalablement informé de son droit d'exercer une opposition à cette communication).

Si le prescripteur est interne à l'établissement de santé dont relève le LBM, un autre mode de communication peut être adopté.

L'origine de l'échantillon biologique ayant servi à l'analyse et la date de validité du résultat (pour un nouveau-né, elle correspond à la date de naissance plus 6 mois) doivent figurer systématiquement sur le compte rendu de résultats.

## 10.2. Diffusion des résultats

Le LBM devra donc s'assurer de l'envoi des résultats d'IH sous format structuré à l'EFS mais aussi dans la mesure du possible, aux dépôts de délivrance.

### Liens réalisation IH et délivrance des PSL

Le rôle des LBM est aussi de garantir une Sécurité Transfusionnelle optimale en développant le lien entre la réalisation des examens IH pour les receveurs de PSL, le suivi de grossesse (prise en charge mère/nouveau-né) et la délivrance (DEL) de PSL selon 2 types d'organisation selon la nature du lien :

- Lien IH/DEL Structurel
  - Réalisation des examens IHE et de la Délivrance au sein d'une même structure dotée d'un LBM : dépôt de délivrance ES ou Site EFS
  - Même base de données pour IHE et PSL avec protocoles transfusionnels et historique transfusionnel du patient

**Intérêt** : Diminution des interfaces à risques, maîtrise des délais transfusionnels

- Lien IH/DEL Fonctionnel
  - Activité d'IHE et de DEL réalisées par **des structures différentes : certains établissements de santé**
  - Transmission des résultats IHE par voie électronique et intégration par le service de Délivrance au moment de la réception de la prescription de PSL

**Risque** : Difficultés d'identification en cas de dépistage RAI + ou de phénotypes rares non anticipés

Les sites EFS reçoivent les résultats sous formats structurés (intégration automatique des résultats dans le dossier patient, pas de saisie manuelle), ce qui n'est pas le cas des dépôts de sang hors EFS.

Les prescripteurs et les patients reçoivent l'ensemble des résultats sans obligation de format.

## 10.3. Format d'échanges

**Plusieurs types de formats sont possibles :**

- HPRIM (ex ERA) Format obsolète, non maintenu, ne permet pas de respecter le RNIV
- CDA-R2 Niveau 3 : Format prévu pour l'alimentation de mon espace santé
- HL7 format IHE-ILW : Format d'interopérabilité international

### Codifications

- HPRIM (exemple ERA)

Codification CNEA (ne concerne que les analyses d'immunohématologie). Ne doit pas être utilisé pour les nouvelles connexions avec l'EFS (exception possible pour les dépôts de délivrance).

- CDA-R2 Niveau 3 et HL7

Codification LOINC pour les analyses

LOINC ou Snowmed CT pour les résultats



Tableau 16 : Format d'échange des résultats d'examens immuno-hématologiques	
<b>Pratique recommandée</b>	Envoyer les résultats d'IH sous format structuré à l'EFS et/ou aux dépôts de délivrance : - Format d'échange HL7 (IHE-ILW) avec codification LOINC - Format CDA-R2 niveau 3 possible
<b>Pratique acceptable</b>	Envoi électronique sous format d'échange HPRIM (ERA) ou sous format PDF via messagerie sécurisée (uniquement pour les résultats émis par l'EFS)
<b>Pratique non acceptable</b>	Ne pas mettre en place un échange de résultats. Ne pas envoyer les résultats d'IH sous format structuré à l'EFS et/ou aux dépôts de délivrance non EFS.

## 11. Transmission et délai des résultats en immuno-hématologie - Guillaume LETIZIA

### 11.1. Transmission électronique des résultats immuno-hématologiques

Le protocole ERA (« Échange de Résultats d'Analyses »), mis en place par l'Établissement Français du Sang est un flux HPRIM émis par les laboratoires vers le système informatique (base receveur régionale) de l'EFS, obsolète mais encore en vigueur et de déploiement hétérogène selon les régions.

Il est cependant important qu'un résultat transmis informatiquement par ERA soit utilisé pour la délivrance des produits sanguins et intégré dans le logiciel médico-technique de l'EFS (InLog) **seulement après un contrôle de concordance** avec le compte-rendu de biologie médicale correspondant : il n'y a pas d'intégration directe des résultats dans la fiche d'un patient, le flux ERA ne se suffit donc pas à lui-même.

Cette obligation de transmission informatique, rappelée par l'arrêté du 15 mai 2018 [1], avait pour vocation de répondre à deux besoins principaux :

- éviter les saisies manuelles à risque de données IH dans les systèmes d'information des dépôts de produits sanguins labiles (PSL) [2]
- permettre aux structures de délivrance de PSL de ne pas méconnaître des résultats pouvant avoir un impact sur le choix des produits à délivrer (antécédent d'allo-immunisation notamment).

**L'interdiction des saisies manuelles des données IH** est reprise dans la décision du 10 mars 2020 définissant les principes de bonnes pratiques transfusionnelles [3] qui s'applique entre autres aux dépôts de PSL :

« 3.1.2. La sélection des PSL en vue de la délivrance.

[...] Les résultats de ces analyses immuno-hématologiques sont accessibles selon la réglementation en vigueur. Ils sont transmis par voie électronique pour être intégrés sans saisie manuelle dans le système d'information de la structure de délivrance des produits sanguins labiles afin de sécuriser les opérations de délivrance de ces produits. »

Concernant le lien entre la délivrance des PSL et la réalisation des examens immuno-hématologiques, l'arrêté du 26 décembre 2017 fixant le schéma directeur national de la transfusion sanguine [4] prévoyait quant à lui que ces deux activités ne puissent être réalisées que par une même structure (EFS, établissement de santé...).

Cet arrêté fut rapidement modifié (par l'arrêté du 20 juin 2018 [5]) et sa mesure polémique supprimée, en ajoutant que le lien indissociable entre l'IH et la délivrance des PSL était aussi assuré lorsqu'il existait un lien fonctionnel entre la structure de délivrance et le laboratoire, ce lien fonctionnel pouvant correspondre à un transfert informatique des résultats, ce qui était déjà obligatoire depuis... 2002 [2].

Le schéma directeur national de la transfusion sanguine en vigueur [6] est ainsi resté sur cette exigence minimale de transfert informatisé entre le laboratoire et la structure de délivrance (lien fonctionnel) bien que la structure unique reste à privilégier car moins risquée en raison d'un nombre d'interfaces réduit [7].

Actuellement ce lien IH – délivrance est assuré avec deux grandes configurations :

- Résultats LBM (privés, ES...) vers le système d'information de l'EFS régional via le protocole ERA, dans les régions où ce flux a été déployé de façon effective (lien fonctionnel) ;
- Résultats LBM de l'ES vers la structure de délivrance de l'ES en cas de présence d'une structure de délivrance de PSL non EFS.

**Dans ce cas le LBM doit rechercher le dépôt de délivrance et tracer toute communication de résultats.**

La transmission par protocole ERA n'alimente pas les bases de données des structures de délivrance des ES. Par conséquent des **risques résiduels persistent en cas de délivrance de PSL par un dépôt ES non EFS** :

- Délivrance d'un concentré de globules rouges (CGR) porteur d'un antigène vis-à-vis duquel le patient est connu allo-immunisé (mais notion non connue du dépôt) : en cas de RAI redevenue négative (anti-JK1...) ou en cas d'urgence vitale (temps insuffisant pour réaliser la RAI).
- Erreur de saisie des données IH non connectées issues d'un laboratoire autre que celui de l'ES.

Cette faille persiste en raison de l'impossibilité (ou de la grande difficulté, ERA n'étant déjà pas déployé dans toutes les régions) de mettre en place des connexions informatiques entre X LBM et Y structures de délivrances non EFS pour intégrer les résultats immuno-hématologiques.

Une perspective pour l'information des éléments nécessaires à la sécurité transfusionnelle pour ces structures non EFS sera l'accès à la base nationale des patients d'intérêt (BNPI) de l'EFS : patients transfusés récemment, allo-immunisations, protocoles particuliers (allogreffe)...

En attendant la BNPI pour sécuriser la délivrance des PSL par les structures non EFS, une communication active entre les laboratoires et les ES alentours permettrait de limiter ces risques, notamment **par la transmission a minima des résultats critiques (RAI positives...) par messagerie sécurisée de santé** (exigence normative § 7.4.1.2 [8]) ou par un autre moyen sous couvert de conventions de preuves validant la transmission des données.

<b>Tableau 17 : Transmission électronique des résultats immuno-hématologiques</b>	
<b>Pratique recommandée</b>	Transmission électronique des données IH aux structures de délivrance de PSL, de l'EFS ou d'un établissement de santé.
<b>Pratique acceptable</b>	Transmission électronique des données IH à l'EFS via le protocole ERA. Le LBM a mis au point une conduite à tenir avec les ES alentours pour la transmission des résultats pertinents, comprenant des conventions de preuves en l'absence de MSSanté.
<b>Pratique non acceptable</b>	Absence de transmission électronique des données IH aux structures de délivrance, sans concertation avec ces structures ni procédure dégradée.

## 11.2. Transmission des résultats critiques (contexte obstétrical)

Le laboratoire doit définir les résultats critiques auxquels il peut être confronté : phénotypes érythrocytaires rares, dépistage d'anticorps anti-érythrocytaires positif en contexte péri-transfusionnel ou obstétrical, examen direct à l'antiglobuline positif chez un nouveau-né ou en contexte post-transfusionnel, ou par exemple simplement un échantillon en quantité insuffisante en cas de contexte transfusionnel probable.

Compte-tenu du point précédent avec le cas des dépôts de sang non EFS, donc non connecté à ERA et aux résultats des autres laboratoires que celui de l'ES, **la communication des résultats immuno-hématologiques critiques à la structure de délivrance de la maternité prévue d'accouchement est primordiale.**

Par exemple, un allo-anticorps anti-RH4 (anti-c) chez une femme enceinte pourrait être connu du laboratoire prélevant les examens IH tout au long de la grossesse, **de la patiente elle-même et de l'équipe de praticiens** effectuant son suivi obstétrical ainsi que de **l'EFS.**

Mais, pour cette patiente (avec un anti-c) dans un contexte d'urgence vitale, donc sans possibilité de réaliser la RAI, cela pourrait être la structure de délivrance d'un ES qui sélectionne le CGR. Si cette structure de délivrance n'a pas connaissance de ces données immuno-hématologiques maternelles, des CGR de phénotype RH:-1,-2,-,3,4,5 peuvent être transfusés avec des conséquences dramatiques pour la mère ou l'enfant [9,10].

Mais si la prescription de PSL exprime un contexte d'urgence vitale sans possibilité de réaliser la RAI, la structure de délivrance qui méconnaîtrait les données immuno-hématologiques maternelles délivrerait des CGR de phénotype RH:-1,-2,-,3,4,5 avec une incompatibilité immunologique pouvant avoir des conséquences dramatiques pour la mère ou l'enfant [9,10].

**C'est pourquoi l'arrêté insiste sur le fait que les laboratoires effectuant les examens IH en lien avec le suivi de grossesse transmettent les résultats à ces structures de délivrance, et donc collectent le renseignement du lieu d'accouchement prévu [1].**

Il est clair que la transmission ERA vers l'EFS ne suffit pas si la patiente va accoucher dans un ES dont le dépôt est non EFS. Le laboratoire doit donc rechercher cette information, par exemple en :

- Ajoutant un correspondant « Dépôt de sang de l'ES xxxx » où exerce le prescripteur du suivi IH ;
- Prévoyant un champ sur la feuille de prélèvement : « Connaissez-vous votre maternité d'accouchement ? » OUI / NON. Si oui : laquelle ?

**Tableau 18 : Transmission des résultats critiques (contexte obstétrical)**

<b>Pratique recommandée</b>	Le LBM recherche activement la maternité supposée d'accouchement et transmet les résultats IH à la structure de délivrance de cette maternité, en plus de la parturiente et du prescripteur.
<b>Pratique acceptable</b>	Le LBM recherche activement la maternité supposée d'accouchement et transmet les résultats IH les plus pertinents, notamment les résultats de RAI positives, à la structure de délivrance de cette maternité, en plus de la parturiente et du prescripteur.
<b>Pratique non acceptable</b>	Absence de recherche de la maternité prévue pour l'accouchement. Absence de transmission des données IH pertinentes à la structure de délivrance dans un contexte obstétrical.

### Références bibliographiques

[1] Arrêté du 15 mai 2018 fixant les conditions de réalisation des examens de biologie médicale d'immuno-hématologie érythrocytaire

[2] Arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale (abrogé)

[3] Décision du 10 mars 2020 définissant les principes de bonnes pratiques prévus à l'article L. 1222-12 du code de la santé publique

[4] Arrêté du 26 décembre 2017 fixant le schéma directeur national de la transfusion sanguine pris en application de l'article L. 1222-15 du code de la santé publique

[5] Arrêté du 20 juin 2018 modifiant l'arrêté du 26 décembre 2017 fixant le schéma directeur national de la transfusion sanguine pris en application de l'article L. 1222-15 du code de la santé publique

[6] Arrêté du 17 décembre 2022 fixant le schéma directeur national de la transfusion sanguine pris en application de l'article L. 1222-15 du code de la santé publique

[7] Ferrera-Tourenc V, Legrand D, Dettori I, Gouvitsos J, Chiaroni J. Lien immunohématologie-délivrance structurel ou fonctionnel – Quels éléments pour la maîtrise des risques ? Transfus Clin Biol. Nov 2019;26(4):224-8.

[8] SH REF 02 révision 08 - Exigences pour l'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189 : 2022

[9] Cortey A, Mailloux A, Huguet-Jacquot S, Castaigne-Meary V, Macé G, N'Guyen A, Berry M, Pernot F, Galiay JC, Lattes F, Blanchard B, Carbonne B. Incompatibilités fœtomaternelles érythrocytaires. EMC Pédiatr Mal Infect. Juil 2012;7(3):1-22.

[10] Franchinard L, Maisonneuve E, Friszer S, Toly Ndour C, Huguet-Jacquot S, Maurice P, Mailloux A, Cortey A, Jouannic J. Perinatal risk factors associated with severity of haemolytic disease of the foetus and newborn due to Rhc maternal-foetal incompatibility : A retrospective cohort study. Vox Sang. 7 nov 2021;117(4):570-9.

## **12. Prestations de conseils - Avis et interprétations en IH - Aurélie CONTE**

La plupart des examens d'IH ne génèrent pas un diagnostic clinique en tant que tel mais vont permettre la prise en charge transfusionnelle du patient, le suivi des greffes et des grossesses.

### **12.1. Prestations de conseils pour les phénotypes érythrocytaire rares**

Cette prestation a pour but **la détection des groupes rares** et ce pour organiser la prise en charge transfusionnelle du patient. Les phénotypes rares définis réglementairement sont les phénotypes rares caucasiens. [1]

Les phénotypes rares, notamment afro-antillais, dans d'autres systèmes de groupes sanguins (Kell, Duffy, Kidd, MNS...) ne sont pas précisés dans la réglementation.

Les principaux risques en cas de non-communication de ces phénotypes rares au service de délivrance de PSL sont :

- La transfusion de PSL incompatibles.
- Une perte de chance pour la prise en charge d'un patient drépanocytaire.
- Le risque d'allo-immunisation pouvant compromettre d'éventuelles grossesses, chez une femme en âge de procréer.

**Conduite à tenir en cas de détection d'un phénotype rare par un LBM** (voir aussi le chapitre 9) :

- Contacter l'EFS de proximité qui vérifiera auprès du CNRGS si le patient est connu ou non
- Se renseigner avec le médecin, anesthésiste et si besoin l'hémovigilant de l'établissement de soins (ES) afin de savoir si l'intervention est programmée ou pas et évaluer le risque hémorragique et le besoin transfusionnel en coopération avec le prescripteur.

## 12.2. Prestations de conseils en cas de détection de discordance de phénotypes érythrocytaires

- Les discordances peuvent être dues à :
  - une erreur lors de l'acte de prélèvement
  - une homonymie
  - une usurpation d'identité
  - une interprétation erronée de phénotypes érythrocytaires notamment si le patient a été transfusé

Il convient de :

- Rappeler l'utilité des antécédents et de l'historique transfusionnel
- Renforcer l'identitovigilance (enregistrement de la demande, prélèvement...)

Pour sécuriser la transfusion : les données IH doivent être connues dans le logiciel patient de l'ES et de l'EFS. Sinon, en cas de besoin transfusionnel, un phénotype de contrôle devra être réalisé en urgence avec risque de retard transfusionnel.

## 12.3. Prestations de conseils et RAI pendant la grossesse

Elles sont indispensables en cas de :

- Nouvelles grossesses
- Suivi de grossesses de patientes allo-immunisées
- Patientes connues avec des anticorps anti-publics

Les risques d'absence de suivi durant toute la grossesse sans information de l'EFS ou du dépôt de sang de l'établissement le cas échéant, sont :

- une difficulté pour les LBM d'identifier le site de délivrance EFS où la patiente va accoucher
- une difficulté d'approvisionnement selon les réserves de sang et des phénotypes disponibles
- l'absence de transmission des échantillons pour épreuve directe de compatibilité avant transfusion

En cas d'allo-immunisation érythrocytaire pendant la grossesse, **le laboratoire doit s'assurer de la transmission du résultat avec les avis/interprétations adaptés** (évaluation du risque fœtal ou néonatal) à la parturiente, au prescripteur, à la maternité du lieu prévu d'accouchement et à la structure de délivrance des PSL.

## 12.4. Prestations de conseils et examen direct à l'antiglobuline (EDA, TDA ou Coombs direct) : nouveau-né et patient adulte

Les EDA ont des interprétations complexes :

- Incompatibilité ABO fœto-maternelles, pouvant rarement conduire à une exsanguino-transfusion
- Un EDA n'est pas pathognomonique d'une AHAI (faisceau de données clinico-biologiques)

10 à 20 % des patients hospitalisés ont un EDA positif (anticorps anti-érythrocytaires, anticorps anti-médicaments, anticorps adsorbés sur la surface membranaire érythrocytaire) et il convient de distinguer IgG et C3d en cas de positivité de cet examen.

La communication d'un EDA positif permet d'assurer une prise en charge transfusionnelle adaptée.

Enfin, en cas d'hémolyse avérée et d'EDA négatif en IgG et en C3d ou de recherche négative d'anticorps anti-érythrocytaires dans l'éluat, il faut envisager la recherche d'IgA anti-érythrocytaires ou d'anticorps anti-médicaments. [2]

## 12.5. Adaptation aux évolutions thérapeutiques pour continuer à assurer la sécurité transfusionnelle des patients

La recherche d'anticorps monoclonaux anti-CD38 et anti-CD47 pour les interférences en IH permet :

- d'identifier les techniques pour résoudre les interférences analytiques
- d'émettre les recommandations pour la prise en charge transfusionnelle des patients

Tableau 19 : Prestations de conseils en IH	
<b>Pratique recommandée</b>	Interprétation basée sur les renseignements cliniques, les données analytiques, les recommandations de bonnes pratiques. Réaliser une prestation de conseil s'intégrant globalement dans le parcours de soins des patients et dont les actions sont tracées.
<b>Pratique acceptable</b>	/
<b>Pratique non acceptable</b>	Ne pas interpréter les résultats d'IH ayant un impact sur la sécurité transfusionnelle ou obstétricale. Prestation de conseil ne permettant pas une prise en charge adaptée des patients.

### Références bibliographiques

[1] Arrêté du 15 mai 2018 fixant les conditions de réalisation des examens de biologie médicale d'immuno-hématologie érythrocytaire

[2] Protocole national de diagnostic et de soins - Anémie Hémolytique Auto-Immune. Haute Autorité de Santé. 2017

## 13. Conclusion

Ce document précise les recommandations de bonnes pratiques en immuno-hématologie, en reprenant les exigences réglementaires et normatives.

Il est à considérer comme une aide :

- Pour **les laboratoires de biologie médicale**, réalisant des examens immuno-hématologiques **de première intention**, afin d'établir leurs dispositions.
- Pour les **évaluateurs du Cofrac**, afin de s'assurer d'un service médical rendu satisfaisant.

Il est amené à évoluer selon l'évolution des données médicales et scientifiques et de l'état de l'art au niveau international, ainsi qu'en fonction des retours des utilisateurs.