Décrets, arrêtés, circulaires

TEXTES GÉNÉRAUX

MINISTÈRE DES SOLIDARITÉS ET DE LA SANTÉ

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

NOR : *SSAP1803010A*

La ministre des solidarités et de la santé,

Vu le code de la santé publique, notamment son article L. 6211-22 et les articles D. 6211-1 et suivants ;

Vu l'arrêté du 25 novembre 2016 fixant le cahier des charges de définition de l'équipe de soins visée au 3° de l'article L. 1110-12 ;

Vu l'avis du directeur général de l'Agence nationale du médicament et des produits de santé en date du 29 juillet 2016 ;

Vu l'avis de la commission nationale de biologie médicale instituée par l'article L. 6213-12 du code de la santé publique en date du 19 décembre 2016,

Arrête :

Art. 1er. – Les examens de biologie d'immuno-hématologie sont le phénotypage érythrocytaire ainsi que le dépistage et l'identification des anticorps anti-érythrocytaires.

Le présent arrêté détermine les conditions de réalisation de ces examens. Ces conditions complètent et précisent les exigences d'accréditation qui résultent du chapitre premier du titre deuxième du livre deuxième du code de la santé publique.

Art. 2. – Avant tout prélèvement, pour l'application de l'article D. 6211-2 (1°), l'identité du patient est saisie, à partir d'un document officiel d'identité qui indique le nom de naissance, le premier prénom d'état civil, la date de naissance et le sexe et qui comporte une photographie.

Au moment du prélèvement, le professionnel vérifie que l'identité déclinée 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.

Art. 3. – Si l'organisation interne du laboratoire de biologie médicale conduit à ré-étiqueter le tube avant la phase analytique, le professionnel en charge de la phase analytique vérifie le lien entre le patient et son échantillon selon la procédure du laboratoire.

Art. 4. – 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 permet une transmission électronique des données d'identification du patient et des résultats au site de délivrance.

Lorsqu'une seconde détermination est effectuée, l'échantillon sanguin est prélevé par un professionnel différent de celui de la première détermination. L'échantillon sanguin peut aussi être prélevé par le même professionnel que celui qui a effectué la première détermination dès lors qu'il l'effectue lors d'un deuxième acte de prélèvement, impérativement indépendant du premier et comprenant une nouvelle vérification de l'identification du patient.

Les conditions de réalisation des examens de biologie d'immuno-hématologie érythrocytaires figurent dans l'annexe du présent arrêté.

Art. 5. – Le compte rendu de l'examen d'immuno-hématologie érythrocytaire, tel qu'il est prévu à l'article D. 6211-3 du code de la santé publique, reprend la totalité des données d'identité mentionnées à l'article 2. Les résultats sont exprimés en nomenclature internationale et en nomenclature standard. Toutefois, les données phénotypiques relatives au système ABO sont exprimées uniquement en nomenclature standard.

Le compte rendu mentionne les résultats antérieurs de la recherche, de l'identification et des titrages éventuels des anticorps anti-érythrocytaires, lorsqu'ils sont connus du laboratoire de biologie médicale. Lorsque le laboratoire ne dispose pas de l'historique de cette recherche, le compte rendu le mentionne.

L'ensemble des résultats est adressé par voie électronique, selon le cas, au site présumé de délivrance des produits sanguins labiles désigné pour le patient et, en outre dans le cas particulier d'une parturiente, à la maternité dans laquelle celle-ci est susceptible d'accoucher. Lorsque le résultat comporte des données qui nécessitent une attention particulière ou urgente du clinicien, le laboratoire de biologie médicale communique le résultat directement au clinicien. Il s'assure également que les résultats ont bien été communiqués de façon appropriée, en urgence si nécessaire, conformément à l'article L. 6211-2, à la parturiente ou au patient. Le biologiste informe le patient qu'il peut obtenir un exemplaire papier des résultats.

Art. 6. – 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.

Art. 7. – Le directeur général de la santé est chargé de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié au *Journal officiel* de la République française.

Fait le 15 mai 2018.

Pour la ministre et par délégation :
Le directeur général de la santé,
J. SALOMON

ANNEXE

Les examens de biologie médicale d'immuno-hématologie, visés par le présent arrêté, sont les suivants :

– le phénotypage ABO-RH1 (nomenclature internationale) / ABO-D (nomenclature standard) et RH-KEL1 (nomenclature internationale) / Rh-Kell (nomenclature standard) ;
– le phénotypage autre que ABO-RH1/ABO-D et RH-KEL1/Rh-Kell, ;
– le dépistage et l'identification d'anticorps anti-érythrocytaires (RAI) ;
– l'épreuve de compatibilité au laboratoire de biologie médicale ;
– le titrage d'anticorps anti-érythrocytaires ;
– l'examen direct à l'antiglobuline (anciennement appelé « test direct à l'antiglobuline »).

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

1. PHÉNOTYPAGE ÉRYTHROCYTAIRE

1-1. Modalités communes de mise en œuvre

En cas de technique automatisée, et s'il n'existe pas de liaison informatique entre l'automate et le système d'information du laboratoire de biologie médicale (SIL), la saisie des résultats dans le système d'information du laboratoire est effectuée par deux personnes habilitées différentes, chacune saisissant le résultat indépendamment. Le système d'information du laboratoire permet le contrôle de cohérence des deux résultats saisis.

En cas de technique manuelle, la détermination du phénotype érythrocytaire repose obligatoirement sur deux réalisations sur l'échantillon biologique unique par deux personnes habilitées différentes, chacune saisissant son résultat dans le système d'information du laboratoire, indépendamment.

Les contrôles internes de qualité sont mis en œuvre au minimum une fois par jour si le phénotypage érythrocytaire (technique automatisée ou manuelle) est quotidiennement effectué.

1-2. Phénotypage érythrocytaire ABO

a) Définition

Ce phénotypage érythrocytaire consiste à rechercher les antigènes A et B et les anticorps anti-A et anti-B.

b) Modalités de mise en œuvre

Principe :

La détermination du phénotype ABO repose sur deux épreuves complémentaires et indissociables :

– une épreuve globulaire qui consiste à rechercher les antigènes A et B à la surface des hématies avec les réactifs monoclonaux suivants : anti-A, anti-B et anti-AB ;
– une épreuve plasmatique qui consiste à rechercher les anticorps anti-A et les anticorps anti-B avec des hématies-tests A_1 et B.

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

Des témoins sont utilisés en cas de discordance entre l'épreuve plasmatique et l'épreuve globulaire.

Contrôles internes de qualité (CIQ) :

Pour le phénotypage ABO, le système analytique est contrôlé en utilisant une série d'échantillons de contrôle, de phénotype garanti, comprenant au minimum :

– un échantillon de phénotype A ;

– un échantillon de phénotype B ;
– un échantillon de phénotype O.

Validation et interprétation des résultats :

La validation repose sur :

– les résultats conformes des CIQ ;
– l'absence d'ambiguïté réactionnelle avec chaque réactif au regard des spécifications techniques décrites dans la notice d'utilisation des réactifs utilisés ;
– l'absence de double population érythrocytaire ;
– le profil réactionnel concordant entre épreuve globulaire et plasmatique ;
– l'absence de discordance avec l'éventuelle antériorité ;
– l'absence de discordance entre les deux résultats en cas de technique manuelle.

L'interprétation tient compte des informations cliniques pertinentes transmises par le prescripteur au biologiste médical, relatives notamment aux antécédents transfusionnels datant de moins de quatre mois.

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

a) Définition

Ce phénotypage érythrocytaire consiste à rechercher des antigènes RH1/D, RH2/C, RH3/E, RH4/c, RH5/e et KEL1/Kell.

b) Modalités de mise en œuvre

Principe :

Le phénotypage RH1/D comporte obligatoirement l'utilisation d'un réactif anti-RH1/D d'origine monoclonale, et du réactif témoin dépourvu de toute activité anticorps mais dont la capacité d'agglutination d'hématies sensibilisées est strictement identique à celle du réactif anti-RH1/D. Ce réactif ne doit pas reconnaître l'antigène partiel D VI. Il n'y a pas lieu de rechercher la présence d'un phénotype RH:1 faible (RH:W1 ou D faible) chez les sujets RH:-1/D-.

Le phénotypage RH-KEL1/Rh-Kell comporte obligatoirement l'utilisation des réactifs anti-RH2/C, anti-RH3/E, anti-RH4/c, anti-RH5/e, anti-KEL1/Kell et du (des) réactif(s) témoin(s) adéquat(s). Il est obligatoire d'utiliser des réactifs d'origine monoclonale.

Contrôles internes de qualité (CIQ) :

Pour le phénotypage RH1/D, le système analytique est contrôlé en utilisant une série d'échantillons de contrôle, de phénotype garanti, comprenant au minimum :

– un échantillon de phénotype RH:1/D+ ;
– un échantillon de phénotype RH:-1/D-.

Pour le phénotypage RH/Rh, le système analytique est contrôlé en utilisant une série d'échantillons de contrôle, de phénotype garanti, comprenant pour chaque spécificité les hématies suivantes :

– anti-RH2/C : un échantillon de phénotype RH:2,4/C+c+ et un échantillon de phénotype RH:-2,4/C-c+
– anti-RH3/E : un échantillon de phénotype RH:3,5/E+e+ et un échantillon de phénotype RH:-3,5/E-e+
– anti-RH4/c : un échantillon de phénotype RH:2,4/C+c+ et un échantillon de phénotype RH:2,-4/C+c-
– anti-RH5/e : un échantillon de phénotype RH:3,5/E+e+ et un échantillon de phénotype RH:3,-5/E+e-
– anti-KEL1/Kell : un échantillon de phénotype KEL:1,2/Kell+k+ et un échantillon de phénotype KEL:-1,2/Kell-k+.

Validation et interprétation des résultats :

La validation repose sur :

– les résultats conformes des CIQ ;
– l'absence d'ambiguïté réactionnelle avec chaque réactif au regard des spécifications techniques décrites dans la notice d'utilisation des réactifs utilisés ;
– l'absence de double population érythrocytaire ;
– la réaction négative obtenue avec le témoin réactif ;
– le profil réactionnel cohérent (présence d'au moins un des deux antigènes antithétiques, par exemple) ;
– l'absence de discordance avec l'éventuelle antériorité ;
– l'absence de discordance entre les deux résultats en cas de technique manuelle.

L'interprétation tient compte des informations cliniques pertinentes transmises par le prescripteur au biologiste médical, relatives notamment aux antécédents transfusionnels datant de moins de quatre mois.

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.

1-4. Phénotypage érythrocytaire autre qu'ABO-RH1/ABO-D et RH-KEL1/Rh-Kell

a) Définition

Ce phénotypage érythrocytaire consiste à rechercher un ou plusieurs antigènes érythrocytaires autres que ceux recherchés lors du phénotypage ABO-RH1/ABO-D et RH-KEL1/Rh-Kell.

b) Modalités de mise en œuvre

Principe :

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

Contrôles internes de qualité (CIQ) :

Le système analytique est contrôlé en utilisant, pour chaque spécificité, deux échantillons de contrôle de phénotype garanti. L'un de ces échantillons ne doit pas exprimer la spécificité antigénique concernée, et l'autre être d'expression « hétérozygote ».

Validation et interprétation des résultats :

La validation repose sur :

– les résultats conformes des CIQ ;
– l'absence d'ambiguïté réactionnelle avec chaque réactif au regard des spécifications techniques décrites dans la notice d'utilisation des réactifs utilisés ;
– l'absence de double population érythrocytaire ;
– la réaction négative obtenue avec le témoin réactif ;
– le profil réactionnel cohérent (présence d'au moins un des deux antigènes antithétiques… ;
– l'absence de discordance avec l'éventuelle antériorité ;
– l'absence de discordance entre les deux résultats en cas de technique manuelle.

L'interprétation tient compte des informations cliniques pertinentes transmises par le prescripteur au biologiste médical, relatives notamment aux antécédents transfusionnels datant de moins de quatre mois.

2. DÉPISTAGE ET IDENTIFICATION D'ANTICORPS ANTI-ÉRYTHROCYTAIRES

2-1. Dépistage et identification d'anticorps anti-érythrocytaires autres qu'ABO (RAI)

a) Définition

La recherche d'anticorps anti-érythrocytaires (appelée anciennement recherche d'agglutinines irrégulières ou RAI) comporte deux étapes : le dépistage et l'identification en cas de dépistage positif.

Le dépistage, puis l'identification si besoin des anticorps anti-érythrocytaires est réalisé à l'aide de gammes d'hématies-tests d'origine humaine, dans du sérum ou du plasma. Dans certains cas, ces examens peuvent être réalisés sur adsorbat ou sur éluat direct.

b) Modalités de mise en œuvre

Principe :

1) L'étape de dépistage consiste à mettre en évidence la présence ou non d'anticorps anti-érythrocytaires autres que ceux du système ABO. Au terme de cette étape, le laboratoire de biologie médicale devra répondre « dépistage positif » ou « dépistage négatif ». 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.

Le dépistage repose sur l'utilisation d'une gamme d'au moins trois hématies-tests de phénotype O qui doit permettre la détection des anticorps dirigés contre les antigènes RH1/D, RH2/C, RH3/E, RH4/c, RH5/e, KEL1/Kell, KEL2/k, KEL4/Kp^b, FY1/Fy^a, FY2/Fy^b, JK1/Jk^a, JK2/Jk^b, MNS1/M, MNS2/N, MNS3/S, MNS4/s, LE1/Le^a, LE2/Le^b, P1/P_1, LU2/Lu^b.

Les phénotypes RH suivants sont obligatoirement représentés sur la gamme de dépistage :

– 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+

De plus, une expression phénotypique « homozygote » est respectée pour les antigènes FY1/Fy^a, JK1/Jk^a, JK2/Jk^b, MNS3/S. Elle est recommandée pour les antigènes FY2/Fy^b et MNS4/s. En aucun cas, ces hématies ne feront l'objet de mélange.

2) L'étape d'identification consiste à déterminer la spécificité du ou des anticorps présents, en confrontant la distribution des réactions positives et négatives obtenues avec la distribution des antigènes sur les gammes d'hématies-tests utilisées. Cette étape repose sur l'utilisation, outre la gamme de dépistage, d'au moins 10 hématies-tests. L'ensemble de ces hématies de phénotype O comporte les antigènes suivants : RH1/D, RH2/C, RH3/E, RH4/c, RH5/e, RH8/C^w, KEL1/Kell, KEL2/k, KEL3/Kp^a, KEL4/Kp^b, FY1/Fy^a, FY2/Fy^b, JK1/Jk^a, JK2/Jk^b, MNS1/M, MNS2/N, MNS3/S, MNS4/s, LE1/Le^a, LE2/Le^b, P1, LU1/Lu^a, LU2/Lu^b.

Les phénotypes KEL:1/Kell+, FY:1,-2/Fy(a+b-), FY:-1,2/Fy(a-b+), JK:1,-2/Jk(a+b-), JK:-1,2/Jk(a-b+), MNS:3,-4/S+s-, MNS:-3,4/S-s+, P1:-1/P1- doivent être représentés au moins sur deux hématies.

La présence des phénotypes KEL:1/Kell+, FY:1,-2/Fy(a+b-), JK:1,-2/Jk(a+b-), JK:-1,2/Jk(a-b+), MNS:3,-4/S+s-, sur au moins une hématie de phénotype RH:-1/D-, est recommandée.

Cette étape permet l'identification d'un anticorps courant isolé ainsi qu'une orientation dans l'identification des mélanges d'anticorps. Elle est réalisée sur un échantillon biologique non décanté, et non ouvert si possible, si elle est mise en œuvre par un laboratoire de biologie médicale différent de celui qui a réalisé le dépistage.

Techniques :

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.

En cas de difficulté d'identification ou d'effet indésirable receveur, il est utile d'employer des techniques complémentaires recourant à des enzymes protéolytiques (association complexe d'anticorps).

Contrôles internes de qualité (CIQ) :

Le système analytique est contrôlé en utilisant au moins un échantillon de contrôle comportant un anticorps (natif ou réactif) 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^a) afin de valider la qualité et la bonne conservation dans le temps des hématies tests.

Validation et interprétation des résultats :

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) D'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^a, FY2/Fy^b, JK1/Jk^a, JK2/Jk^b, MNS3/S et MNS4/s.

3) De 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.

Le délai de validité d'un résultat de RAI est de 3 jours. Dans le cadre d'un contexte transfusionnel, il peut être porté à vingt et un jours en l'absence d'antécédents transfusionnels ou d'autres épisodes immunisants (grossesse, greffe…) dans les 6 derniers mois.

L'interprétation est réalisée grâce aux informations cliniques pertinentes transmises par le prescripteur au biologiste médical, relatives notamment aux antécédents transfusionnels datant de moins de quatre mois et aux injections d'immunoglobulines spécifiques ou polyvalentes.

Le biologiste médical indique notamment, dans son interprétation qui figure dans le compte rendu de l'examen :

- s'il y a eu : injection d'immunoglobulines anti-RH1/D ou d'immunoglobulines polyvalentes ;
- s'il existe une situation « critique » de type « allo-immunisation complexe » ou autre. Si cette interprétation est réalisée dans le cadre d'un suivi de grossesse, le biologiste médical peut aussi indiquer une situation critique de type : « anticorps présentant un risque obstétrical », « anticorps présentant un risque d'anémie fœtale sévère », « anticorps présentant un risque d'atteinte hémolytique en post natal », « allo-immunisation complexe ».

Certains résultats nécessitent une alerte rapide du clinicien-prescripteur en charge du suivi de grossesse et de la parturiente ainsi que du site de délivrance des produits sanguins labiles du lieu d'accouchement (cf article 5 du présent arrêté).

Par ailleurs, les résultats des dernières RAI, dont les RAI du 8e ou 9e mois de grossesse, doivent être adressés au clinicien-prescripteur en charge du suivi de grossesse ainsi qu'au site présumé de délivrance des produits sanguins labiles du lieu d'accouchement. Les modalités de transmission sont définies conformément à l'organisation transfusionnelle mise en place dans la maternité où la patiente est susceptible d'accoucher. Il est en effet important de pouvoir anticiper au moment de l'accouchement un besoin transfusionnel et d'assurer ainsi la sécurité transfusionnelle.

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.

2-2. Epreuve de compatibilité au laboratoire de biologie médicale

a) Définition

Cette épreuve vérifie la compatibilité des concentrés de globules rouges (CGR) à transfuser avec le plasma ou le sérum du patient en testant l'échantillon de plasma ou de sérum du receveur (et éventuellement l'adsorbat ou l'éluat direct) avec des hématies de la tubulure du produit sanguin à transfuser.

b) Modalités de mise en œuvre

Principe :

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

1) Sélection des unités à compatibiliser

2) Préparation des hématies de la tubulure : Cette étape doit faire l'objet d'une procédure. Elle a pour but de conditionner les hématies de la tubulure afin qu'elles puissent être testées dans les conditions techniques identiques à celles de la RAI.

Au cours de cette étape, il convient d'être particulièrement attentif aux modalités d'identification de la tubulure et des échantillons secondaires à partir du numéro code-barres du concentré de globules rouges.

3) Exécution de la technique : Comme pour la RAI, 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.

Contrôles internes de qualité (CIQ) :

Le système analytique est contrôlé en utilisant le même type d'échantillon de contrôle que celui utilisé pour les RAI.

Validation et interprétation des résultats :

Les modalités de libération des concentrés de globules rouges compatibilisés en fonction des résultats de cette épreuve tiennent compte des critères suivants :

- résultats conformes des CIQ ;
- en absence de réactivité dans la technique considérée, l'unité est déclarée compatible. Sa délivrance est autorisée avec identification spécifique de l'unité, conformément aux dispositions réglementaires en vigueur ;
- en cas de réactivité dans la technique considérée, l'unité est déclarée incompatible. En fonction du rapport bénéfice/risque, sa délivrance peut être autorisée par consensus entre le biologiste médical et le prescripteur. Par ailleurs, une exploration complémentaire peut être entreprise afin d'expliquer ces résultats et sélectionner de nouvelles unités en tenant compte des résultats de ces explorations.

2-3. Titrage d'anticorps anti-érythrocytaires autres qu'ABO

a) Définition

Le titrage d'anticorps anti-érythrocytaires autres qu'ABO est une quantification des anticorps anti-érythrocytaires. Si lors du dépistage et de l'identification d'anticorps anti-érythrocytaires autres qu'ABO, un anticorps anti-érythrocytaire à risque hémolytique fœtal ou néonatal est détecté, une quantification régulière tout au long de la grossesse est nécessaire. En fonction du type d'anticorps et de son titre, cette mesure doit être complétée par un dosage pondéral (plus sensible et spécifique).

Les résultats de ces examens doivent être transmis au plus tôt, impérativement au clinicien-prescripteur en charge du suivi de grossesse ainsi qu'au site présumé de délivrance des produits sanguins labiles du lieu d'accouchement. Les modalités de transmission sont définies conformément à l'organisation transfusionnelle mise en place dans la maternité où la patiente est susceptible d'accoucher. Il est en effet indispensable de pouvoir anticiper au moment de l'accouchement la prise en charge nécessaire à ce sujet, de la mère et/ou de l'enfant en toute sécurité.

b) Modalités de mise en œuvre

Principe :

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

La technique de test indirect à l'antiglobuline est pratiquée :

- avec reprise en parallèle de l'échantillon précédent conservé congelé dans le cadre d'un suivi périnatal,

Il est recommandé d'effectuer le titrage d'anticorps sur des hématies d'expression hétérozygote pour l'antigène correspondant. Le recours à un mélange de trois variétés d'hématies natives est recommandé. Le phénotype des hématies choisies pour le titrage doit figurer sur le compte rendu de résultats.

Contrôles internes et de qualité (CIQ) :

Ils comportent l'étude d'un « étalon anti-RH1/D » de concentration connue ou de titre connu à différentes dilutions, traité dans les mêmes conditions que les échantillons, et à chaque série.

Validation, interprétation des résultats et conseil :

La validation repose sur les résultats du CIQ, les résultats comparatifs entre les échantillons n et n-1 du patient et les résultats de l'antériorité.

2-4. Examen direct à l'antiglobuline

a) Définition

L'examen direct à l'antiglobuline (anciennement appelé « test direct à l'antiglobuline ») permet la mise en évidence de la sensibilisation *in vivo* des hématies humaines avec un anticorps anti-IgG et un anticorps anti-C3d. Ce test est réalisé sur un échantillon anticoagulé.

b) Modalités de mise en œuvre

Principe :

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

Contrôles internes de qualité (CIQ) :

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.

Validation et interprétation des résultats :

La validation analytique repose sur les résultats conformes du CIQ et la réaction négative obtenue avec le témoin réactif.

3. CAS PARTICULIER D'UN EXAMEN IMMUNO-HÉMATOLOGIQUE 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 L'origine de l'échantillon biologique ayant servi à l'analyse figure systématiquement sur le compte rendu de résultats.

Le résultat de ce phénotype érythrocytaire n'est valide que jusqu'à l'âge de six mois. Il doit mentionner une date de validité correspondant à la date de naissance plus 6 mois.

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. Si le groupe rare est confirmé, le CNRGS transmet au laboratoire de biologie médicale demandeur des documents à remettre au patient et, après accord de celui-ci, peut proposer une cryopréservation d'un échantillon à long terme dans le centre de ressource biologique du CNRGS.