

# L'Accréditation en Immuno-Hématologie

## Nouvelles exigences réglementaires et expérience du CNRHP

*Dr Agnès Mailloux,*

*Responsable médical - UF de biologie du CNRHP*

**Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale**

**Pôle de Biologie-Imagerie**

**Hôpital Saint-Antoine – AP-HP - Paris**



# **3 TEXTES CLES**

## **Aujourd'hui**

**L'ordonnance du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale (application partielle)**

**Arrêté de 2002 fixant les conditions de réalisation des examens de biologie médicale d'Immuno-hématologie érythrocytaire**

**GBEA v3**

# **4 TEXTES CLES**

## **Dès 2011**

**L'ordonnance du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale**

**Projet d'arrêté fixant les conditions de réalisation des examens de biologie médicale d'Immuno-hématologie érythrocytaire**

**NABM : Projet de révision du sous-chapitre 5-03 Immuno-hématologie**

**La norme NF EN ISO 15189**

**ARRETE** du .....

**fixant les conditions de réalisation  
des examens de biologie médicale d'immuno-hématologie érythrocytaire**

**Le phénotypage érythrocytaire comporte une détermination réalisée sur un échantillon biologique unique.**

**Le phénotypage érythrocytaire standard comprend le phénotypage ABO-RH1 et RH-KEL1.**

**Le phénotypage érythrocytaire réduit comprend le phénotypage ABO-RH1.**

**Questionnements concernant la sécurité de l'identité du patient**

« **les résultats sont indiqués en nomenclature internationale** par les dispositifs médicaux de diagnostic in vitro et sur les compte-rendus d'examens de biologie médicale. Sur ces derniers, ils sont accompagnés d'une éventuelle correspondance en nomenclature usuelle entre parenthèses.

**Exemple RH:1,2,3,4,5 = DCEce**

**Concernant les anticorps anti-érythrocytaires, une reprise des antécédents connus du laboratoire est effectuée sur tous les comptes-rendus de résultats. »**

« Pour la réalisation des examens de biologie médicale d'immuno-hématologie érythrocytaire, les laboratoires de biologie médicale se conforment **aux exigences techniques** de l'annexe I »

## ANNEXE I

Cet arrêté concerne les examens de biologie médicale d'immuno-hématologie érythrocytaire. Les examens sont :

- le phénotypage ABO-RH1 (D) et RH-KEL1 (Rh-K) ;
- le phénotypage érythrocytaire autre que ABO-RH1 et RH- KEL1 ;
- le dépistage et l'identification d'anticorps anti-érythrocytaires (RAI) ;
- l'épreuve de compatibilité au laboratoire ;
- le titrage d'anticorps anti-érythrocytaires ;
- le test direct à l'antiglobuline.

### **Même plan suivi pour chaque examen**

a) Définition

b) Modalités de mise en œuvre

*Principe*

*Techniques*

*Contrôles internes de qualité (CIQ)*

*Validation et interprétation des résultats*

# (1) MISE EN EVIDENCE DE L'ANTIGENE RH1

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

Techniques (par ordre croissant de sensibilité)	Reconnaissance des RH1 positifs
Plaque	- 95 %
Tube	+ 98 %
microplaque	++ 99 %
Gel avec réactif inclus	+++ 99,8 %
Test à anti-globuline (tube ou gel)	++++ 99.9 %
Test de fixation-élution	+++++ 100 %

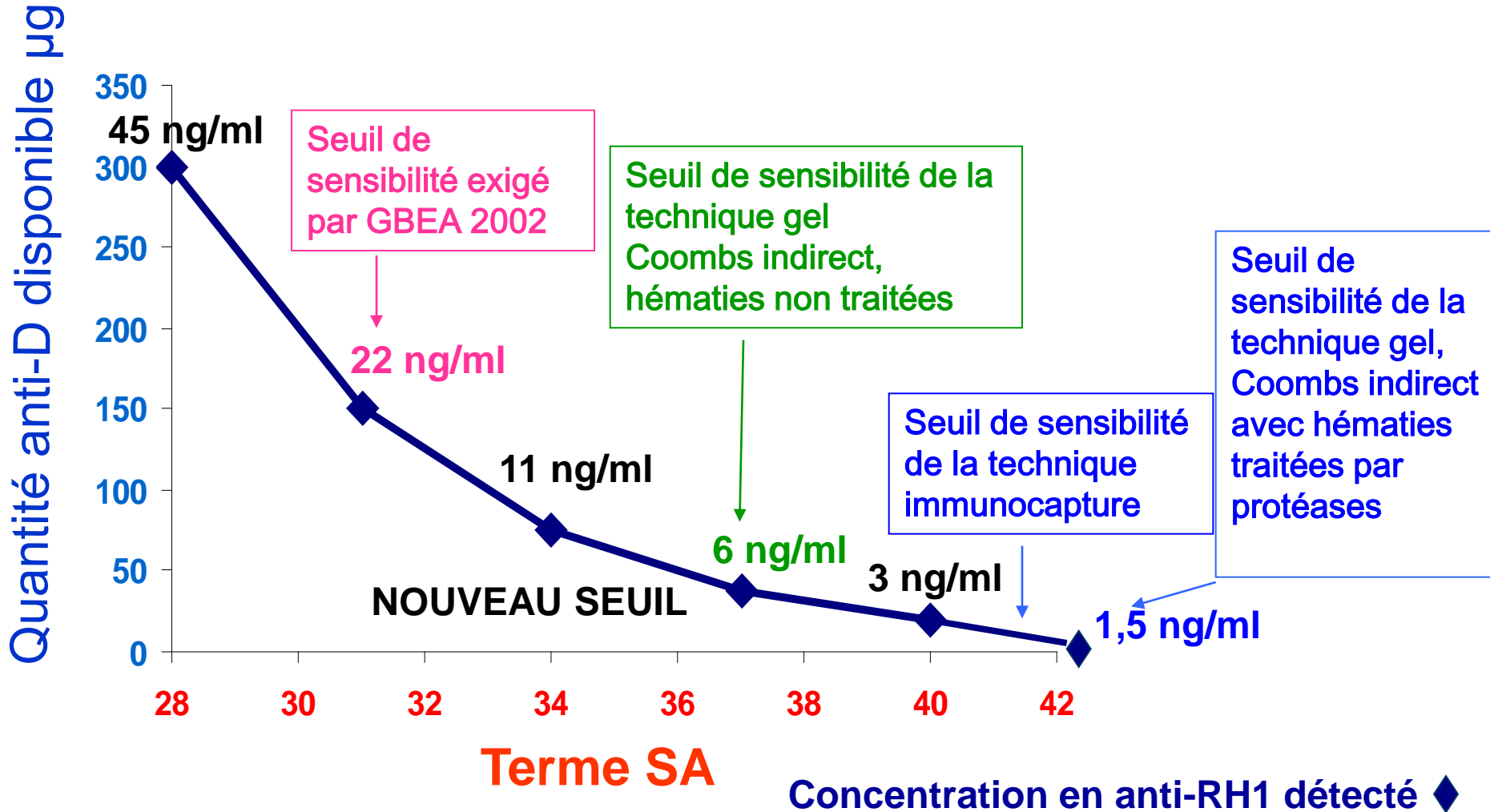
**Le recours au test à l'anti-globuline pour la recherche de RH1 faible est devenu moins pertinente**

## (2) MODIFICATION DU SEUIL DE SENSIBILITE DES TECHNIQUES DE DEPISTAGE ET D'IDENTIFICATION DES AGGLUTININES IRREGULIERES

« 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 type colonne-filtration ou d'autres techniques **de sensibilité au moins égale, un anti-RH1 humain de concentration égale à 10 ng/ml.** »

# SEUIL DE SENSIBILITE DES DIFFERENTES TECHNIQUES

$\frac{1}{2}$  VIE 3 SEMAINES  $\longleftrightarrow$  DIMINUTION DE MOITIE TOUTES LES 3 SEMAINES





## (3) LE TITRAGE DES ANTICORPS

### *2.3- Titration d'anticorps anti-érythrocytaires autres que ABO*

La technique de référence est le test indirect à l'antiglobuline en tube, en utilisant des hématies natives en solution saline 0.15M. Toute autre technique équivalente **peut être utilisée moyennant une validation documentée par le laboratoire de biologie médicale.**

#### *Validation et interprétation des résultats*

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'antécédent. **Le titre et la spécificité des anticorps anti-érythrocytaires identifiés peuvent justifier la réalisation d'un dosage pondéral ou d'un microtitrage contre un standard approprié pour distinguer un anti-RH1 d'allo-immunisation d'un anti-RH1 passif lors d'un suivi périnatal.**

**D'un point de vue technique disparition de la constitution d'un pool de 3 hématies**

# EXEMPLE

**Mme X RH1 négatif, 3<sup>ème</sup> grossesse  
Une grossesse 14 ans auparavant, et une  
fausse couche**

- **7 SA: RAI négatives mais métrorragies ⇒ injection Rhophylac® 200**
- **11 SA: métrorragies**
  - ⇒ RAI +injection N°2 de Rhophylac® 200
  - ⇒ RAI positives ⇒ **CNRHP: identification anti-RH1 et microtitrage :6-12ng/ml; µtitrage compatible avec l'injection à 7 SA**
- **13 SA et 18 SA: RAI positives ⇒ EFS X: anti-RH1 « résiduel »**
- **25 SA: RAI positives ⇒ Laboratoire centralisateur: anti-RH1 identifié de titre <1 : « anti-RH1 passif résiduel »**

- **32 SA:** Consultation à la maternité pour « Cholestase gravidique »
  - **Anomalies du RCF sur J1**
  - Anasarque sur J1 avec accélération des vitesses cérébrales

⇒ **Extraction en urgence**



- **Deux jumelles anémiques et ictériques** avec mauvaise adaptation et détresse respiratoire
  - J1 → **Hb:2,9g/dl** et bili:100 $\mu$ moles/l ⇒ **TNN+EST**
  - J2 → Hb:7,9g/dl et bili:120  $\mu$ moles/l ⇒ **EST**



# **ECHEC DE LA PRISE EN CHARGE D'UNE FEMME ENCEINTE IMMUNISEE**

Obstétricien n'avait aucun moyen de mettre en doute le résultat donné par le laboratoire, pas de connaissance sur :

- techniques à réaliser
- sensibilité des techniques
- transmission des examens à laboratoire de référence

## **ROLE DU BIOLOGISTE EST ESSENTIEL**

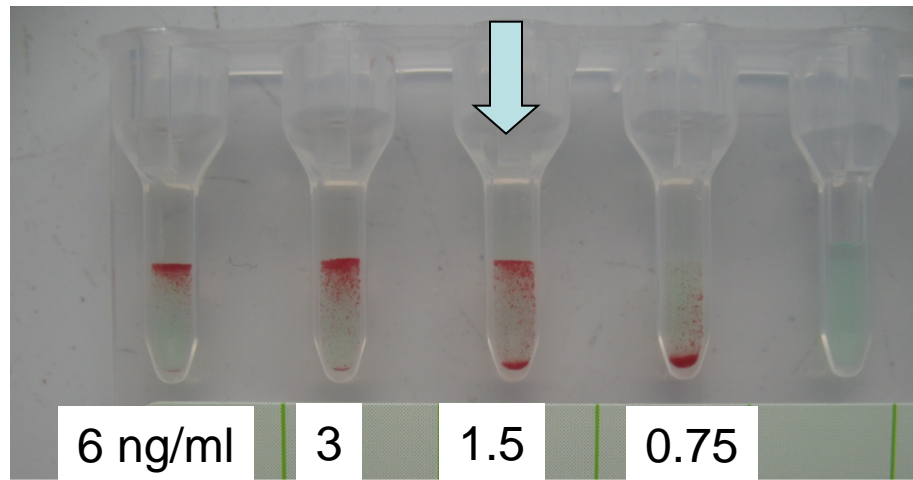
RAI positive dans un contexte d'injection d'IgRHD  
Erreur d'interprétation : anti-RH1 faussement étiqueté comme passif résiduel

**Seul le dosage des anti-RH1 permet de se prononcer**

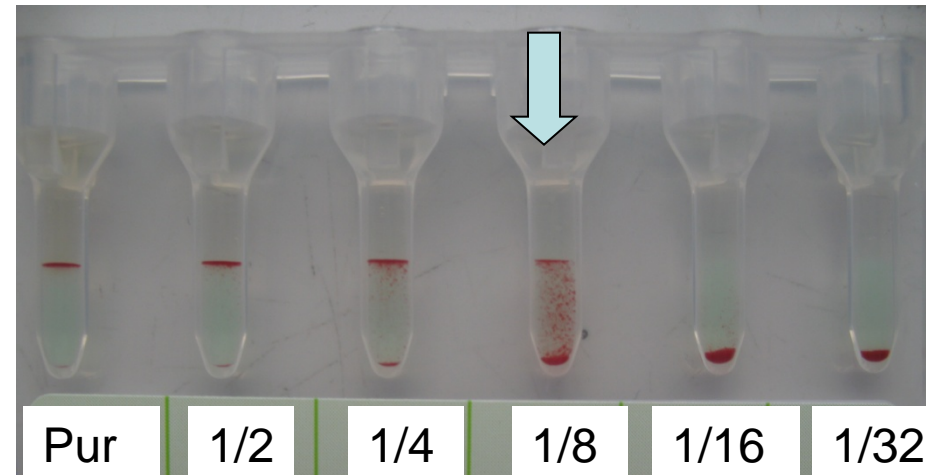
## **INTERET DU MICROTITRAGE**

# TECHNIQUE DE MICROTITRAGE

Technique simple d'hémagglutination en support gel



STANDARD



PATIENT

**Concentration approchée =  $8 \times 1.5 = 12$  ng/ml**

Concentration en anti-RH1 = Inverse de la dernière dilution réactive de l'échantillon

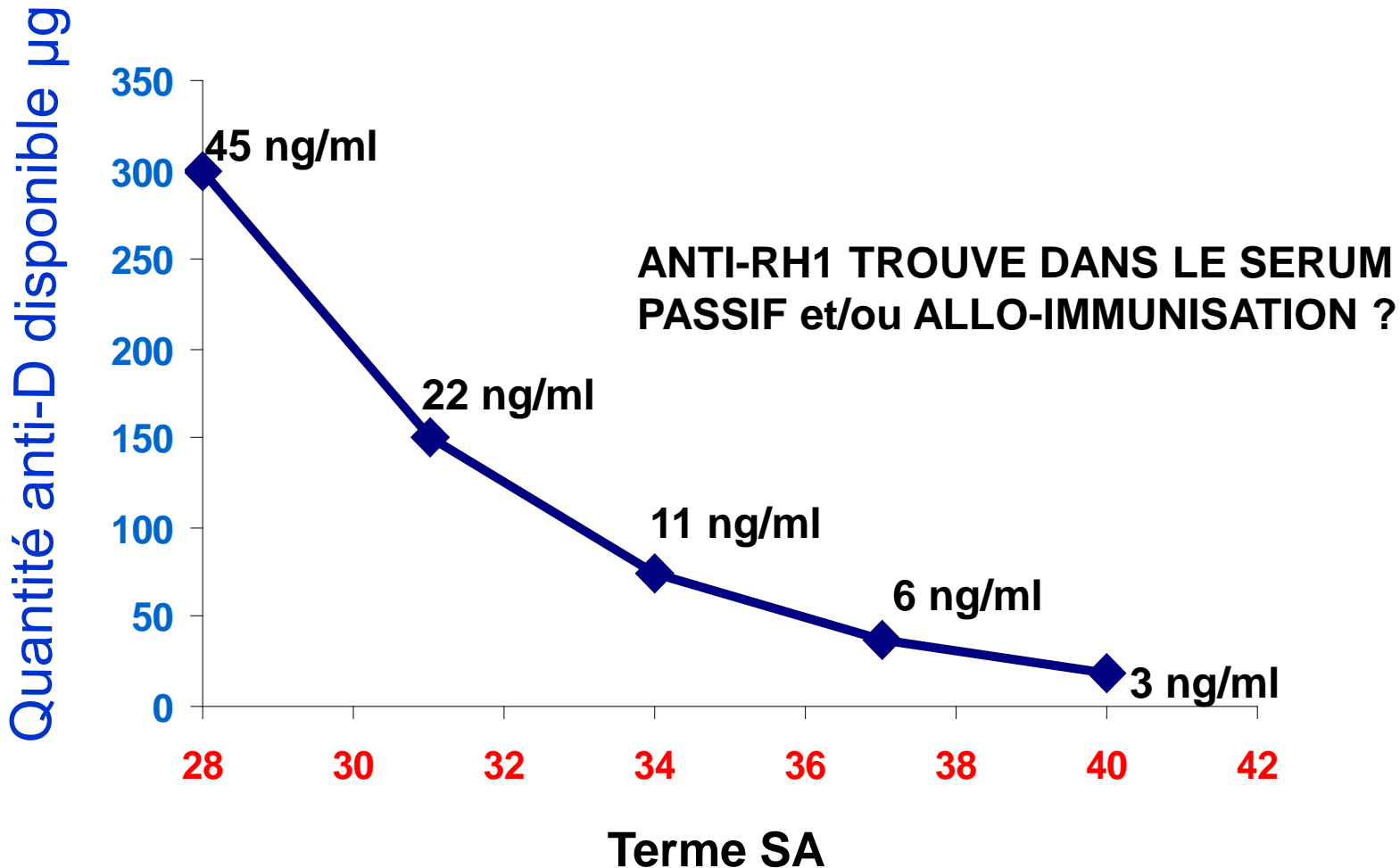
X

Concentration de la dilution du standard avec la même intensité de réaction

# INTERPRETATION DU MICROTITRAGE

## Concentration en anti-RH1 comparée à la concentration théorique

$\frac{1}{2}$  VIE 3 SEMAINES  $\longleftrightarrow$  DIMINUTION DE MOITIE TOUTES LES 3 SEMAINES



## (4) AUTORISATION DU SANG DE CORDON POUR LA PREVENTION RH

### « 3- Cas particulier du nouveau-né

Le phénotypage érythrocytaire chez un nouveau-né nécessite un prélèvement de sang effectué chez l'enfant pour la réalisation d'examens à visée transfusionnelle. La détermination du phénotype ABO fait appel uniquement à l'épreuve globulaire.

Les résultats du phénotype érythrocytaire ne sont valides que jusqu'à l'âge de six mois. Ils doivent mentionner une date de validité correspondant à la date de naissance + 6 mois.

**Dans le cadre de la prophylaxie de l'allo-immunisation anti-RH1 chez la femme accouchée RH :-1, la détermination du phénotype érythrocytaire du nouveau-né peut être réalisée à partir d'un prélèvement de sang chez l'enfant ou effectué au cordon. Afin de détecter un antigène de faible réactivité, le phénotypage RH1 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. »

# Prélèvement de sang de cordon pour la prévention Rhésus à l'accouchement

**1- Avantage** : évite de piquer l'enfant

**2- Exclut phénotypage érythrocytaire en vue d'une transfusion** (prélèvement n'étant pas effectué chez le véritable receveur, problème d'identification du prélèvement)

**3- Conditions strictes de prélèvement** doivent être parfaitement définies :

- A l'aiguille
- Prélèvement directement au niveau de la veine ombilicale
- Avant expulsion du placenta

**Si le prélèvement est réalisé dans des conditions strictes : pas de risque de contamination**



## (5) SIGNALEMENTS

### « **4 Cas particulier de la sécurité transfusionnelle pour la femme enceinte** »

Afin d'anticiper les besoins transfusionnels et d'assurer la sécurité des transfusions en contexte obstétrical, les résultats de la dernière RAI du suivi de grossesse (8ème ou 9ème mois) **doivent être adressés au site présumé de délivrance des produits sanguins labiles**. Leurs modalités de transmission sont définies conformément à l'organisation transfusionnelle mise en place dans la maternité où la patiente est susceptible d'accoucher. »

- Importance de mettre un commentaire avec le résultat
- d'informer la patiente surtout lorsqu'un anticorps différent du système Rh ou Kell est identifié

Exemple de commentaire :

« **POUR FACILITER LA SELECTION DU SANG EN CAS D'URGENCE**

**TRANSFUSIONNELLE**, Merci de transmettre ce résultat au

Site EFS correspondant de la Maternité, avec la date prévisible d'accouchement »

## (6) INTERPRETATIONS, CONSEILS ET SIGNALEMENTS

« L'interprétation est réalisée grâce aux informations cliniques pertinentes transmises par le prescripteur, relatives notamment aux antécédents transfusionnels datant de moins de quatre mois »

### « 5. conduite à tenir vis-a-vis d'une allo-immunisation anti-érythrocytaire, d'un phénotype rare »

#### *5-1 Validation, interprétation et conseil*

Afin de pouvoir répondre aux besoins des prescripteurs, le laboratoire de biologie médicale définit des résultats « critiques » (**notamment une allo-immunisation en cours de grossesse, une allo-immunisation complexe, un phénotype rare...**) qui nécessitent un conseil adapté, une alerte rapide du clinicien et une information systématique et sans délai du site de délivrance des produits sanguins.

#### *5-2 Transmission des résultats de phénotype rare*

**Tout phénotype érythrocytaire rare (fréquence inférieure à 4/1000 dans la population générale) fait l'objet d'une validation par le Centre National de Référence pour les Groupes Sanguins (Institut National de la Transfusion Sanguine - Paris) afin de le faire figurer dans le fichier national des sujets présentant un phénotype érythrocytaire rare. »**

# LES PHENOTYPES RARES : BESOIN D'UN SIGNALLEMENT

« En cas de besoin transfusionnel, les résultats de phénotypes rares RH:-1,2,-3,-4,5, RH:-1,-2,3,4,-5, RH:1,2,3,-4,-5, RH:-1,2,3,-4,-5, RH:-1,2,3,-4,5, RH:-1,2,3,4,-5 et ceux comportant l'absence d'antigènes antithétiques, sont transmis sans délai au site de délivrance des produits sanguins labiles. »

**Absence d'expression de plusieurs antigènes de prévalence équilibrée (1-99%) dans un même système de groupe sanguin**

<b>RH:-1,2,-3,-4,5</b>	<b>D-C+E-c-e+</b>	<b>dCCee</b>	<b>4/10 000</b>
<b>RH:-1,-2,3,4,-5</b>	<b>D-C-E+c+e-</b>	<b>dccEE</b>	<b>1/10 000</b>
<b>RH:1,2,3,-4,-5</b>	<b>D+C+E+c-e-</b>	<b>DCCEE</b>	<b>&lt; 1/10 000</b>
<b>RH:-1,2,3,-4,-5</b>	<b>D-C+E+c-e-</b>	<b>dCCEE</b>	<b>&lt; 1/10 000</b>
<b>RH:-1,2,3,-4,5</b>	<b>D-C+E+c-e+</b>	<b>dCCee</b>	<b>&lt; 1/10 000</b>
<b>RH:-1,2,3,4,-5</b>	<b>D-C+E+c+e-</b>	<b>dCcEE</b>	<b>&lt; 1/10 000</b>

# INTERPRETATIONS CONSEILS ET SIGNALEMENTS

## 1- Recueil des éléments cliniques pertinents,

Chez une femme enceinte :

- Date de grossesse
- Nombre de grossesse
- **Injection d'IgRh avec la date et dose**
- transfusion antérieure
- lieu de la maternité d'accouchement

## 2- Définir des valeurs critiques

- Les allo-anticorps devant être signalés au clinicien

## 3- Examens biologiques complémentaires à réaliser

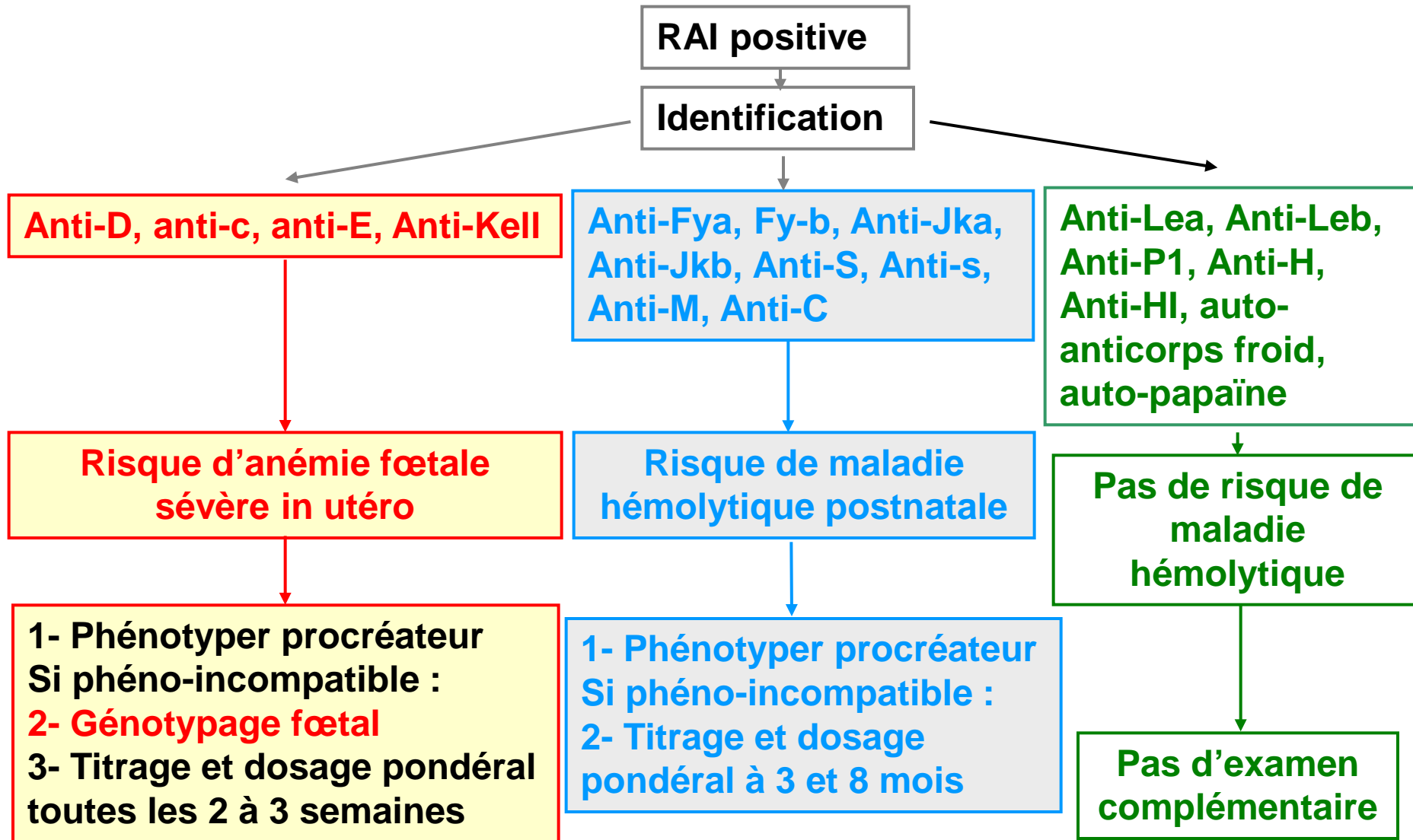
- Titrage
- Dosage pondéral ou microtitrage
- Recours à un laboratoire expert

# **ANTI-KELL**

## **Dans anémie foétale sévère**

- **Est toujours identifiable au 1er trimestre**
- **Piège : l'agglutination est parfois faible**
- **Faire d'emblée un titrage**
- **Son titre est d'emblée très élevé > ou = au 1/32**

# Dépistage et surveillance des incompatibilités foetomaternelles au cours de la grossesse



## **(7) TRANSFERT DES DONNEES IH**

### **« 6. Sécurisation du transfert des résultats**

Transmission des résultats aux services de délivrance des produits sanguins. Afin d'éviter la saisie manuelle des résultats à partir de supports matérialisés, les données immunohématologiques du receveur, doivent être transférées en totalité et informatiquement, après validation, vers le site de délivrance de l'Etablissement Français du Sang ou le dépôt de délivrance autorisé des Etablissements de Santé. »

- **Besoin d'une connexion bidirectionnelle (différente d'ERA)**
- **Besoin d'une base commune Nationale des données IH**

# Projet d'arrêté fixant les conditions de réalisation des examens de biologie médicale d'immuno-hématologie érythrocytaire

## Conclusions

### DIFFERENCES AVEC L'ARRETE DU 26/04/2002

#### **Disparition des champs d'application**

Les indications se retrouvent dans la révision du sous-chapitre 5-03 Immuno-hématologie

#### **Simplification de certains chapitres techniques**

Prenant en compte l'évolution de la sensibilité des techniques

#### **Met l'accent sur l'interprétation et le conseil**

Conformément aux exigences de l'ordonnance du 13 janvier 2010



# CONCLUSIONS

- Actualisation réglementation
- Applicable dès la parution de l'arrêté
- Vérifié rarement par l'inspection
- Vérifié dans la plupart des cas par l'évaluateur technique du COFRAC lors de la visite d'accréditation du LBM
- Avis CNRHP :
  - renforcement du lien clinico-biologique,
  - prise en compte du statut spécifique «femme enceinte »