

Jean-Yves Py*, Maryvonne Delamaire**, Francis Roubinet***

L'évolution réglementaire en immuno-hématologie

RÉSUMÉ

L'arrêté du 26 avril 2002 a profondément remanié la pratique de l'immuno-hématologie érythrocytaire. Trois ans après, les modifications techniques prescrites sont pour la plupart en place et ont simplifié la vie des laboratoires. Les modifications organisationnelles demandées ont accentué l'automatisation et l'informatisation, et vont encore continuer à le faire. Le texte continue aussi de modifier le fonctionnement des acteurs concernés par la transfusion (établissements de soins, laboratoires et centres de transfusion).

MOTS-CLÉS

Immuno-hématologie, automatisation du laboratoire, groupage sanguin.

Development of immuno-hematology regulations

SUMMARY

Ministerial order dated 2002, April 26th, has greatly amended the practice of red cell immuno-hematology. Three years later, ordered technical modifications have mostly been installed and have made work easier. Ordered organisational modifications have enhanced automation and computerisation, and will continue to do so. The text will also continue to modify the operation of people involved in blood transfusion (hospitals, laboratories and blood transfusion centres).

KEYWORDS

Immuno-hematology, laboratory automation, blood grouping.

I – Introduction

L'arrêté du 26 avril 2002 (1), annexe du GBEA (2) avait pour but de mettre en œuvre une sécurisation des analyses et des résultats en immuno-hématologie érythrocytaire en précisant les conditions techniques de réalisation des actes pour les patients et les femmes enceintes. Comme cela avait été évoqué à sa sortie (3, 4), il marquait le point de départ d'une évolution réglementaire forte de l'immuno-hématologie. Certains aspects, dans le cadre du lien direct de cette discipline biologique avec la transfusion sanguine, ont été repris ou complétés par deux autres textes (5, 6). Trois ans plus tard, à l'occasion de la nouvelle édition du tableau comparatif des équipements automatisés en immuno-hématologie (7), il est intéressant de faire le bilan des conséquences pratiques de cette évolution.

II - Principales modifications techniques concernant le laboratoire

L'arrêté a d'abord été l'occasion de modifier d'anciennes règles de pratiques de certaines analyses.

1. La suppression des hématies A2 dans le groupage ABO

- Cette décision s'est notamment appuyée sur une étude réalisée sur plus de 100 000 prélèvements de donneurs de sang, montrant l'absence de modification du résultat du groupe sanguin, que l'on utilise ou pas cette hématie lors de l'épreuve de Simonin (8).
- A contrario, cette étude démontrait que la faiblesse de l'expression antigénique des hématies

* EFS Centre Atlantique – Site d'Orléans – 14, avenue de l'Hôpital – 45072 Orléans cedex – Tél. : 02 39 49 93 02 – Fax : 02 38 49 93 09

E-Mail : jean-yves.py@efs.sante.fr

** EFS Bretagne – Site de Rennes – rue PJ Gineste – BP 91614 – 35016 Rennes Cedex – Tél. : 02 99 54 83 30 – Fax : 02 99 54 83 20

E-Mail : maryvonne.delamaire@efs.sante.fr

*** EFS Centre Atlantique – Site de Tours – 2 boulevard Tonnellé – BP 2009 Tours cedex 1 – Tél. : 02 47 36 01 00 – Fax : 02 47 36 01 60

E-Mail : francis.roubinet@efs.sante.fr

de phénotype A2, était responsable de 66,5% des non-interprétations initiales d'analyses sur automates, rendant nécessaire des reprises manuelles longues, coûteuses et non dénuées de risque par la rupture de la chaîne automatisée / informatisation.

- En fait l'utilisation de cette hématie n'apporte une valeur ajoutée que dans le cas des difficultés de groupage, notamment pour la discrimination d'anticorps anti-A1 lors de l'épreuve de Simonin, et en particulier pour identifier certains A faible, situations qui nécessitent de toute façon une reprise de l'échantillon dans des tests complémentaires.
- A ce jour, aucune conséquence négative inattendue de cette suppression n'a été décrite.

2. L'arrêt de l'obligation du test enzymatique dans le dépistage de la recherche d'anticorps irréguliers

- De nombreuses études avaient démontré l'absence d'intérêt clinique en transfusion sanguine des anticorps anti-érythrocytaires actifs en technique enzymatique seule (9).
- L'apport discriminant des techniques enzymatiques reste utile, mais il est logiquement reporté à la phase d'identification de l'analyse.
- Comme prévu, le nombre de dépistages positifs a été en forte baisse partout, sans qu'aucun cas d'hémolyse post-transfusionnelle liée à un anticorps qui serait sorti en technique enzymatique seule n'ait été décrit.
- L'intérêt de maintenir la technique enzymatique dans la phase de dépistage de la RAI chez la femme enceinte fait par contre, encore aujourd'hui, l'objet de nombreuses discussions. S'il est prouvé qu'une immunisation débutante anti-RH est d'abord décelée en technique enzymatique, l'anticorps ne présente un éventuel danger réel que s'il est détecté en test indirect à l'antiglobuline. Le problème est lié à la possibilité théorique que la production maternelle d'un anticorps détecté seulement par la technique enzymatique puisse augmenter de façon importante et rapide, et entraîner des conséquences graves pour le fœtus, avant que la RAI suivante ne la mette en évidence. La détection précoce par le test enzymatique de l'immunisation RH d'une femme RH:-1 ou RH:-3 aurait-elle permis, par la mise en place d'une surveillance biologique et clinique rapprochée, de limiter les conséquences de cette immunisation ? La réponse à cette question n'est aujourd'hui pas clairement tranchée mais le mériterait sans aucun doute.
- Les apports positifs de cette suppression ont par contre été réels, en diminuant les cas « d'auto-enzymes », source de retard transfusionnel parfois préjudiciable aux patients.

3. La suppression de l'antiglobuline polyvalente dans le test direct à l'antiglobuline (TDA) et son remplacement par l'utilisation de 2 antiglobulines spécifiques

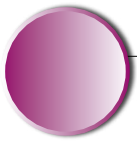
- L'épreuve initiale avec l'antiglobuline polyvalente n'avait d'intérêt que dans l'élimination des réactions négatives dès ce stade.
- L'hétérogénéité des préparations d'antiglobuline polyvalente génère un risque au moins potentiel de résultat faussement négatif.
- Le test est désormais plus sûr, et contribue d'emblée à une aide diagnostique en identifiant les anticorps IgG et ceux qui fixent le complément.
- Toutefois, pour les TDA réalisés chez le nouveau-né, l'arrêté précise (annexe D1) que cet examen a pour but de démontrer la sensibilisation des hématies par des allo-anticorps de nature IgG. Donc ce test pourrait être limité à l'utilisation d'une antiglobuline spécifique anti-IgG.

4. La détection des variants du RH1

- L'arrêté du 26 avril 2002 ne mentionne plus l'obligation d'identifier les sujets RH1 faible à l'aide d'un test indirect à l'antiglobuline. Cette décision se base d'une part sur l'amélioration des performances des réactifs monoclonaux anti-RH1 utilisés au laboratoire et sur l'absence d'intérêt de cette détection pour les patients, si ce n'est l'économie d'immunoglobulines anti-D et de concentrés de globules rouges de groupe RH1 négatif en cas de transfusion.
- L'application de cette mesure est aujourd'hui encore très variable du fait :
 - qu'aucun réactif n'a démontré aujourd'hui sa capacité à détecter par un test direct d'agglutination l'ensemble des RH1 faibles dont l'extrême hétérogénéité est démontrée par biologie moléculaire ;
 - que plusieurs articles ont démontré la possibilité d'immunisation d'un sujet RH1 négatif par des hématies RH1 faible, même d'expression très faible (10).
- Pour ces raisons, si dans de nombreux laboratoires d'immuno-hématologie la recherche de RH1 faible n'est plus réalisée chez les patients en vue de transfusion, elle est dans la plupart des cas encore effectuée chez la femme enceinte et le nouveau-né.

III - Principales modifications organisationnelles concernant le laboratoire

L'arrêté a été l'instrument d'une forte pression pour « moderniser » la paillasse d'immuno-hématologie dans le sens de l'évolution logique des laboratoires d'analyses et de la sécurisation des actes.



1. La pression en faveur de l'automatisation des analyses

- La validité des analyses réalisées avec un seul technicien et un seul lot de réactif en cas d'utilisation d'équipements automatiques (au sens du cahier des charges présenté dans le texte) a fortement incité les laboratoires à se doter de ceux-ci.
- L'alourdissement des règles en cas d'analyses faites en techniques manuelles, comme la double saisie des résultats, a d'une part sécurisé ces dernières, et d'autre part renforcé l'intérêt de la migration vers les techniques automatiques.
- Bien qu'aucune étude publiée ne vienne l'étayer objectivement, chacun a le sentiment d'une progression importante de l'automatisation des laboratoires à partir de la publication de l'arrêté.

2. La pression en faveur de l'informatisation de la gestion des analyses

- L'hémovigilance est là pour rappeler qu'il existe toujours un risque transfusionnel par incompatibilité immunologique, que ce risque est le plus souvent multifactoriel et que le laboratoire d'immuno-hématologie n'y échappe pas.
- L'obligation de la double saisie des échantillons constitue un moyen de lutte contre les encore trop nombreuses erreurs d'identité qui sont à l'origine de tels accidents.
- La montée en puissance de l'automatisation évoquée au point précédent vise à faire disparaître tout risque d'erreur de saisie des résultats.

3. L'obligation d'utiliser des contrôles de qualité interne (CQI)

- L'utilisation de certains « témoins » internes de réaction constitue une vieille tradition de l'immuno-hématologie (hématies O du Simonin, témoin AB, témoin auto, témoin RH contrôle du groupage RH, ...). Mais, à la différence d'autres paillasses du laboratoire, il s'agissait plus de validation individuelle d'une analyse que de validation technique d'une série de résultats.
- L'intégration d'un vrai contrôle de qualité interne (utilisant des échantillons sanguins traités dans les mêmes conditions que les prélèvements des patients) validant les séries d'analyses vient considérablement sécuriser l'ensemble du processus et les résultats, notamment pour les échantillons ne disposant pas d'une comparaison significative avec des résultats antérieurs.

IV - Principales modifications ayant des conséquences élargies aux établissements de soins

L'arrêté et les textes suivants ont été à l'origine de modifications significatives des règles de prescrip-

tion des analyses pré-transfusionnelles et des produits sanguins.

1. L'obligation d'associer le groupage ABO-RH1 et le phénotypage RH/KEL

- Ceci découle logiquement de la pratique habituelle de transfusion en sang phénotypé RH/KEL chez une majorité de patients, destinée à prévenir l'immunisation RH/KEL et il convient ici de rappeler l'immunogénicité remarquable de l'antigène KEL1 qui se positionne juste après l'antigène RH1 (11).
- Il semble que ceci ait parfois entraîné une augmentation de ces analyses pour mettre à jour les dossiers transfusionnels des patients. Cette situation devrait être transitoire si ces analyses ne sont prescrites, comme il convient, que dans des situations transfusionnelles et dans le suivi des femmes enceintes.

2. La définition d'une carte de groupe sanguin « valide »

- Elle découlait de l'obligation précisée ci-dessus, mais était surtout pleinement justifiée par les risques majeurs attachés aux problèmes d'identification des patients dans les documents pré-transfusionnels.
- Ce point s'est conjugué avec le précédent pour générer dans certains endroits une assez forte augmentation des demandes de groupage et de phénotypage afin d'épurer les documents non valides, une tendance qui devrait désormais tendre à reculer.
- Un effet indésirable a été d'entraîner parfois une certaine confusion entre la notion de carte valide et celle de documents conformes pour accompagner une prescription de produits sanguins, obligeant à une révision des pratiques en place localement.

3. L'identification obligatoire en cas de dépistage d'anticorps irréguliers positif

- Il ne s'agissait que de la reconnaissance officielle d'une pratique largement admise.

4. La limitation des épreuves directe de compatibilité (EDC)

- Les règles de sécurité transfusionnelle dans les situations avec présence d'anticorps irréguliers ou avec test direct à l'antiglobuline positif imposent la pratique des EDC.
- Leur suppression dans les situations à dépistage d'anticorps irréguliers négatif ne laisse subsister qu'un risque très faible lié à la présence d'anticorps anti-privé.
- La diminution de ces analyses a été observée, avec à la clef une économie financière et une disponibilité facilitée des produits sanguins, sans augmentation du risque sanitaire rapportée.

5. L'interdiction de réaliser une détermination de groupe sanguin sur sang de cordon

- Il s'agit là certainement d'une des décisions qui est aujourd'hui encore la plus contestée.
- L'objectif était de mettre un frein au très grand nombre de groupages et phénotypages RH/K réalisés inutilement chez le nouveau né et dans de mauvaises conditions techniques (sur sang de cordon).
- Cette décision imposant l'utilisation du sang veineux, pose des problèmes considérables d'organisation et se trouve donc souvent non appliquée. Beaucoup de praticiens ont maintenu le prélèvement sur sang de cordon ; le groupe sanguin est alors réalisé sans délivrance de carte de groupe sanguin, mais avec édition d'un résultat mentionnant « document pour délivrance d'immunoglobuline anti-D » qui ne peut aucunement être utilisé en vu d'une transfusion. Il faut ajouter qu'un résultat positif (enfant RH1 né d'une mère RH-1 ou test direct à l'antiglobuline positif) est le plus souvent contrôlé sur sang veineux.
- Cette mesure a toutefois eu l'intérêt de limiter cette analyse au seul cas réellement légitime que constitue la prévention de l'alloimmunisation anti-RH1 de la femme RH :-1

6. Le transfert électronique des résultats aux centres de transfusion

- Il concrétise la suite logique de la pression pour l'informatisation des tâches, visant à sécuriser les différentes étapes qui conduisent à l'acte transfusionnel.
- Des études pilotes et un fonctionnement en routine dans certaines régions en ont démontré la faisabilité et les bénéfices (12, 13).
- Force est de reconnaître cependant qu'il s'agit là encore d'une disposition de l'arrêté qui a du mal à se mettre en place, même si tout porte à croire que c'est bien le sens de l'évolution des moyens et des techniques.

7. L'extension de la validité de la recherche d'anticorps irréguliers à 21 jours

- La sécurité transfusionnelle a été grandement accrue et simplifiée quand les premières bonnes pratiques transfusionnelles ont défini une validité de trois jours de la recherche d'anticorps irréguliers.
- L'extension de validité vient néanmoins reconnaître une réalité scientifique dans les situations où aucune circonstance d'immunisation n'a été observée dans les six mois précédant l'analyse.
- La mise en pratique effective de cet assouplissement progresse, avec une responsabilisation du prescripteur qui est une excellente chose par elle-même.

V - Conclusion

Trois ans après sa parution, la majorité des dispositions prévues dans l'arrêté du 26 avril 2002 sont parfaitement appliquées. Elles ont permis une sécurisation importante des conditions de réalisation et d'exploitation des résultats d'immuno-hématologie. Toutefois, quelques rares points du texte posent des problèmes de mise en place, soit parce qu'ils ne paraissent pas adaptés à la réalité biologique ou du terrain, soit en raison de difficultés techniques d'application. Sans remettre en cause l'arrêté du 26 avril qui, dans la plupart de ses préconisations, constitue un grand progrès, ces rares points mériteraient sans aucun doute d'être discutés à nouveau.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) Arrêté du 26 avril 2002 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale, JO du 04 mai 2002, 8375-8382.
- (2) Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale, JO du 11 décembre 1999, 18441-18452.
- (3) PY J.-Y., Les équipements automatisés en immuno-hématologie, *Spectra Biologie*, 2002, **125** (21), 51-57.
- (4) DELAMAIRE M. et al. La place de l'automatisation dans l'organisation du laboratoire d'immuno-hématologie, *Spectra Biologie*, 2002, **125** (21), 47-50.
- (5) Arrêté du 10 septembre 2003 définissant les principes de bonnes pratiques dont doivent se doter les établissements de transfusion sanguine, JO du 30 septembre 2003, 16665-1678.
- (6) Circulaire DGS/DHOS/AFSSAPS n° 2003-582 du 15 décembre 2003 relative à la réalisation de l'acte transfusionnel, BO n° 2004-2 SP 4 47 109
- (7) PY J.-Y. et ROUBINET F., Les équipements automatisés en immuno-hématologie, *Spectra Biologie*, 2005, **146** (24), 28-33.
- (8) CHIARONI J., Impact of the removal of A2 test erythrocytes and the anti-AB reactant on the interpretation of the ABO blood grouping, *Transfus. Clin. Biol.*, 2001, **8**, 381-389.
- (9) ISSITT PD et al. Lack of clinical significance of "enzyme-only" red cell alloantibodies, *Transfusion*, 1993, **33**, 284-293.
- (10) MOTA M. et al. Anti-D alloimmunization by weak D type 1 red blood cells with a very low antigen density, *Vox Sang.*, 2005, **88**, 130-135.
- (11) ISSITT PD et al. Applied blood group serology, Montgomery Scientific Publications 4th ed, 1999, 609-653.
- (12) LEGRAND D. et al. Échange de résultats d'analyses ERA, *La Gazette de la Transfusion*, 2004, **188**, cahier pratique.
- (13) SANSONETTI N. Le projet ERA : échanges de données immuno-hématologiques, *La Gazette de la Transfusion*, 2005, **190**, 14-16.