

Circulaire DGS/3B/552 du 17 mai 1985 relative à la prévention des accidents transfusionnels et des accidents d'allo-immunisation

17/05/1985

Abrogée par la circulaire DGS/DHOS/AFSSAPS n° 2003-582 du 15 décembre 2003 relative à la réalisation de l'acte transfusionnel

Les circulaires citées en référence vous donnaient des instructions sur les dispositions à prendre pour assurer la sécurité des transfusions sanguines.

Après une nouvelle étude par la commission consultative de la transfusion sanguine siégeant auprès de mon administration centrale et à la suite de la modification de la nomenclature des actes de biologie médicale concernant l'immuno-hématologie, il est apparu nécessaire de regrouper en un seul texte toutes les dispositions concernant la sécurité transfusionnelle et de décrire les techniques actuelles à utiliser dans ce domaine pour obtenir des résultats fiables.

Les instructions contenues dans cette circulaire visent plus particulièrement:

- les prescriptions médicales, afin d'adapter la prescription des examens spécifiques en fonction des besoins et de l'état du patient;
- les prélèvements, afin que le prélèvement soit effectué selon des règles strictes;
- les analyses de biologie médicale, afin de réaliser ces examens selon des règles qui garantissent des résultats aussi fiables et précis que possible.

La prévention des accidents d'allo-immunisation antiérythrocytaires repose sur plusieurs tests:

- le groupage sanguin (GS) qui correspond à la détermination des groupes sanguins ABO et rhésus standard (D) associée ou non à un dépistage simple des anticorps irréguliers (DSAI);
- la recherche d'anticorps irréguliers (RAI);
- l'épreuve directe de compatibilité au laboratoire (EDC);
- la détermination des phénotypes érythrocytaires;
- la vérification ultime au lit du malade.

Chacun de ces tests doit être réalisé dans des conditions techniques précises définies dans l'annexe n° 1 de la présente circulaire; la prévention des accidents de transfusion sanguine et des accidents d'allo-immunisation foeto-maternelle dépend de leur réalisation correcte.

I. - Le groupage sanguin (GS): détermination des groupes ABO et rhésus standard (D) (chapitre BV n° d'ordre 143 de la nomenclature des actes de biologie médicale)

A. - Prélèvement

Le prélèvement doit être assuré selon des règles bien précises. La personne ayant effectué le prélèvement porte sur l'étiquette les indications suivantes, concernant le sujet prélevé: nom (complété s'il y a lieu par le nom marital), prénoms, le sexe, la date et le lieu de naissance, la date de prélèvement, et si possible le lieu. La vérification directe d'identité doit être réalisée par la personne effectuant le prélèvement.

Si l'on prélève du sang à plusieurs personnes comme c'est souvent le cas en milieu hospitalier, les étiquettes ne doivent jamais être fixées d'avance sur les flacons ou les tubes. C'est immédiatement après chaque prélèvement, et après contrôle de l'identité que l'étiquette doit être remplie (en interrogeant l'intéressé et non pas seulement en se fiant à une pièce du dossier présenté) puis placée sur le flacon ou le tube.

Une dernière vérification doit être effectuée en faisant relire par le patient l'étiquette collée.

Les contrôles doivent être particulièrement vigilants chez les sujets comateux, chez les nouveau-nés et plus généralement <http://affairesjuridiques.aphp.fr/textes/circulaire-dgs3b552-du-17-mai-1985-relative-a-la-prevention-des-accidents-transfusio-nnels-et-des-accidents-dallo-immunisation/>

chez tout sujet ininterrogeable.

Dans tous les cas, il convient de joindre au flacon étiqueté une fiche d'accompagnement, sur laquelle figureront outre les mentions déjà portées sur l'étiquette:

- la nature de l'examen demandé;
- le nom, la qualité et la signature de la personne ayant effectué le prélèvement;
- s'il y a lieu des renseignements cliniques succincts: ictères, hémorragies, anémies, maladies par autoanticorps ou autres affections hématologiques, maladies virales transmissibles, voire toutes autres indications pouvant avoir des répercussions sur la détermination des épreuves à réaliser. Si le malade a déjà reçu des transfusions, il importe de le rappeler en précisant le nombre et les dates.

B. - Groupage sanguin

1° Groupage ABO: deux épreuves doivent obligatoirement être réalisées:

Epreuve de Beth-Vincent ou épreuve globulaire: elle consiste à mettre en évidence à la surface des hématies la présence des antigènes A ou B à l'aide de 3 réactifs: anti A, anti B et anti A + B. Ces réactifs doivent être conservés dans les conditions données par le producteur, ils ne seront pas utilisés au-delà de leur date limite d'activité. Cette activité sera au mieux contrôlée périodiquement au moyen d'échantillons d'hématies de groupes sanguins connus. Il s'agit d'une recommandation essentielle notamment pour les établissements dont l'activité en matière de groupage est limitée, des erreurs pouvant en effet résulter de l'emploi de réactifs conservés dans de mauvaises conditions ou utilisés après leur date de péremption. La garantie d'activité anticorps de ces réactifs est liée à la présence d'un numéro de conformité délivré par le centre national de référence pour les groupes sanguins (C.N.R.G.S.).

Epreuve de Simonin ou épreuve sérique: elle consiste à rechercher des anticorps anti A ou anti B dans le sérum. Ces anticorps sont détectés à l'aide d'hématies A 1, A 2, B et O préparées selon les règles définies à l'article 9 de l'arrêté du 8 février 1984 (J.O. du 17 mars 1984). Ces globules rouges de contrôle doivent être conservés à 4 °C en récipient stérile dans un milieu approprié au maintien de leur qualité.

Ces deux épreuves (épreuve globulaire et épreuve sérique) doivent être réalisées par deux techniciens différents, à l'aide de deux séries de réactifs différentes. Les conditions techniques de ces tests sont précisées en annexe I. L'ensemble de ces tests correspond à une détermination.

2° Détermination du phénotype Rh standard (D): cet examen est réalisé au moyen de deux réactifs anti D. En même temps que la réaction, sera réalisée une épreuve témoin, à l'aide d'un réactif «témoin», de constitution identique aux réactifs anti D et dépourvu de toute activité anticorps spécifique. Les conditions techniques de ce test sont mentionnées en annexe I. L'ensemble de ces tests correspond à une détermination. L'activité anticorps des réactifs anti D sera attestée par le numéro de conformité délivré par le C.N.R.G.S.

Il faut rappeler que l'on doit désigner par Rh + les sujets dont les globules rouges sont agglutinés par les réactifs anti D et par Rh-, ceux dont les globules rouges ne le sont pas. Ces déterminations doivent être réalisées par deux techniciens différents et à l'aide de deux séries de réactifs différentes.

Il convient de souligner que les résultats de groupage sanguin ne pourront être considérés comme définitifs qu'après une seconde détermination pratiquée ultérieurement à partir d'un nouveau prélèvement à distance du précédent et selon l'ensemble des modalités indiquées ci-dessus.

C. - Transcription des résultats

1° Transcription interne

Le plus grand soin sera apporté à l'exactitude de la transcription des résultats de la détermination des groupes, d'une part sur les registres du laboratoire qui a pratiqué les examens, et, d'autre part, sur les documents délivrés aux intéressés. Cette responsabilité doit être confiée à deux personnes, l'une contrôlant l'autre. Elles doivent veiller à ce que les résultats consignés soient bien ceux obtenus à partir du prélèvement de la personne dont l'identité figure sur l'étiquette apposée sur le tube ou le flacon.

2° Etablissement et délivrance des cartes de groupes sanguins

La carte de groupe sanguin doit au minimum comporter les indications précisées à l'annexe II et mentionner que l'examen est réalisé conformément aux dispositions de la présente circulaire.

La détermination des groupes sanguins par des techniques automatiques ou semi-automatiques doit être effectuée avec les mêmes règles que celles énoncées pour les techniques manuelles.

II. - Le dépistage simple des anticorps irréguliers (DSAI) (Chapitre B V n° 144 de la nomenclature des actes de biologie médicale)

Au cours de la détermination des groupes sanguins ABO et Rh standard (D) un dépistage simple d'anticorps irréguliers peut être effectué. Ce dépistage est réalisé à l'aide d'une gamme d'hématies tests de dépistage définie à l'article 9, paragraphe 2 de l'arrêté du 8 février 1984 selon au moins une technique capable de dépister des «anticorps incomplets»; la positivité de ce test nécessite la réalisation d'une recherche d'anticorps irréguliers (RAI). Les techniques recommandées sont indiquées en annexe 1. Les résultats ainsi que les spécificités des anticorps recherchés doivent être mentionnés sur la carte de groupes sanguins avec la date d'exécution et sur le compte rendu d'examen. En aucun cas, la DSAI ne se substitue à la RAI. Sauf urgence, aucun patient ne peut être transfusé à la seule vue des résultats de la DSAI.

III. - La recherche des anticorps irréguliers anti-érythrocytaires (RAI) à l'exclusion des anticorps dirigés contre les antigènes A et B

A. - Indications

Les anticorps irréguliers anti-érythrocytaires sont actuellement encore responsables d'accidents transfusionnels ou foeto-maternels qui sont d'autant plus regrettables qu'une bonne organisation de détection de ces anticorps a montré que ces accidents pouvaient être évités.

La recherche d'anticorps irréguliers est indiquée chez:

- tout patient susceptible à court terme d'être transfusé;
- les patients polytransfusés, en bonne place au cours des séries de transfusion;
- la femme enceinte, conformément aux dispositions de l'arrêté du 19 avril 1985 relatif aux examens médicaux pré et post-nataux. Cette recherche est:

a) systématique chez les femmes enceintes de phénotype Rh négatif au moins à quatre reprises:

- avant la fin du troisième mois (premier examen prénatal);
- au cours du sixième mois (deuxième examen prénatal);
- dans les quinze premiers jours du huitième mois (troisième examen prénatal);
- à l'accouchement ou dans les huit semaines suivantes.

b) systématique, au moins une fois, chez les femmes enceintes de phénotype Rh +, à l'occasion du deuxième ou troisième examen prénatal.

En cas de présence d'anticorps susceptibles d'entraîner des accidents d'incompatibilité foeto-maternelle, une nouvelle programmation des examens est possible et des titrages doivent être effectués à périodes rapprochées; les patients transplantés, et dans certains cas rares.

B. - Réalisation

La recherche d'anticorps irréguliers (RAI) est un examen de réalisation difficile et d'interprétation souvent complexe. Cet examen réalisé dans de bonnes conditions est la base de la sécurité immunologique des transfusions, et de la prévention et de la détection des accidents d'allo-immunisation foeto-maternelle.

Les modalités de prélèvement pour l'exécution de cet examen doivent répondre aux mêmes règles que celles observées pour la détermination du groupe sanguin.

La recherche d'anticorps irréguliers se déroule toujours en deux temps: le dépistage et l'identification.

Le dépistage est le premier temps de toute recherche d'anticorps irréguliers; au terme de cette épreuve, le laboratoire a la capacité de répondre «présence» ou «absence» d'anticorps irréguliers (chapitre B V n° d'ordre 147 de la nomenclature des actes de biologie médicale).

En cas de dépistage positif dans l'une ou l'autre des techniques utilisées, il faut alors procéder à l'épreuve d'identification qui consiste à déterminer la spécificité de ou des anticorps présents (chapitre B V n° d'ordre 148 de la nomenclature des actes de biologie médicale).

Les recherches d'anticorps irréguliers sont essentiellement pratiquées selon des techniques manuelles. Trois techniques exécutées conjointement sont souhaitables pour mettre en évidence la totalité des anticorps irréguliers: le test d'agglutination en «saline» (1) à la température du laboratoire 20 + 2 °C, le test de Coombs indirect et un test aux enzymes, ces deux dernières techniques étant obligatoires. Les conditions techniques de ces tests sont précisées en annexe I. Le titrage d'anticorps irréguliers n'est pas obligatoire en dehors de la grossesse.

(1) Soluté isotonique de chlorure de sodium à 9 p. 1000 ou 0,15 M.

Le matériel utilisé dans les épreuves permettant la recherche des anticorps irréguliers doit être particulièrement bien défini:

1° Les gammes d'hématies tests doivent répondre aux données de l'arrêté du 8 février 1984 précité:

a) L'épreuve de dépistage doit être réalisée à l'aide de globules rouges tests de dépistage: il s'agit d'une gamme de 2 à 4 échantillons d'hématies tests de groupe O capables de détecter les anticorps correspondant aux antigènes D, C, c, E, e, Kell, Cellano, Lea, Leb, Fya, Fyb, Jka, Jkb, M, N, S, s et P 1. Cette gamme est indispensable pour toute épreuve de dépistage;

b) L'épreuve d'identification doit être réalisée à l'aide des gammes adéquates définies ci-après: la gamme d'hématies pour l'identification comporte 10 échantillons d'hématies tests sélectionnées pour les systèmes Rhésus, Kell, Duffy, Kidd, Lewis, P, MNSs et Lutheran. En fait, une identification complète nécessite plus d'une gamme de 10 globules rouges. La gamme d'hématies de référence peut être également utilisée, elle comporte 10 échantillons dont le phénotype est établi dans tous les systèmes de groupes sanguins connus et pour le plus grand nombre possible d'antigènes «publics» et «privés». Cet échantillonnage doit permettre l'identification des anticorps courants ainsi que des anticorps plus rares correspondant à des antigènes non monomorphiques connus. Il doit permettre une orientation dans l'identification des mélanges d'anticorps.

2° Les antiglobulines:

Trois types d'antiglobulines sont essentiellement utilisés: polyvalentes, anti-IgG, anti-compléments. Il est recommandé d'utiliser conjointement une antiglobuline polyvalente et une antiglobuline anti-IgG. Les antiglobulines utilisées doivent avoir été contrôlées par le C.N.R.G.S. et de ce fait porter un numéro de conformité.

3° Les enzymes protéolytiques:

La trypsine peut être utilisée dans le test de Coombs indirect trypsiné; la papaïne est uniquement utilisée dans les tests à la papaïne à 37 °C. Il est recommandé de demander au distributeur les performances et les modalités d'utilisation de chaque lot d'enzymes; en effet, certains enzymes peuvent détruire les antigènes de groupes sanguins, par exemple Fya, Fyb, MNSs . . . Ces caractéristiques peuvent être attestées à la demande des distributeurs par le C.N.R.G.S.

c) Résultats:

Les résultats de ces examens doivent être mentionnés en clair sur le compte rendu d'examen en vue de la transcription sur la carte de groupes sanguins et la fiche transfusionnelle définies dans l'annexe II. Sur le document de résultats, le laboratoire doit notamment mentionner:

a) L'utilisation de panels de «n» hématies répondant au texte du 8 février 1984;

b) Les techniques utilisées;

c) Le respect des dispositions de la présente circulaire.

IV. - L'épreuve directe de compatibilité au laboratoire (EDC) (chapitre B V numéro d'ordre 151 de la nomenclature <http://affairesjuridiques.aphp.fr/textes/circulaire-dgs3b552-du-17-mai-1985-relative-a-la-prevention-des-accidents-transfusio-nels-et-des-accidents-dallo-immunisation/>)

des actes de biologie médicale)

Il s'agit d'un test personnalisé qui permet de mettre en réaction le sérum du patient et les globules rouges qui doivent être transfusés. Les modalités de prélèvement répondent aux mêmes règles décrites ci-dessus. Ce test doit au minimum comporter deux épreuves dont un test à l'antiglobuline et de préférence être réalisé selon les mêmes techniques que celles utilisées pour la recherche d'anticorps irréguliers. Les réactifs utilisés doivent répondre aux mêmes conditions que pour la recherche d'anticorps irréguliers.

Recherche d'anticorps irréguliers et épreuves directe de compatibilité au laboratoire sont en fait deux épreuves complémentaires qui ne s'excluent en aucun cas.

V. - La détermination des phénotypes érythrocytaires

En dehors de la détermination des phénotypes ABO et Rh standard (D), le laboratoire peut, dans certains cas, devoir réaliser la détermination du phénotype dans les systèmes de groupes sanguins Rhésus (C, c, Cw, E, e) et Kell (K) (chapitre B V n° d'ordre 145 de la nomenclature des actes de biologie médicale). D'autres phénotypes peuvent, dans certains cas, être pratiqués: système Duffy (Fya, Fyb) système Kidd (JKa, JKb) système MNSs (S, s), système Lewis (Lea, Leb), (chapitre B V n° d'ordre 146 de la nomenclature des actes de biologie médicale). Cette liste de phénotypes n'est pas exhaustive.

Ces phénotypes doivent être réalisés à l'aide de réactifs contrôlés par le C.N.R. G.S. selon l'arrêté du 8 février 1984 suscité. Les principales indications de la détermination des phénotypes érythrocytaires sont indiquées principalement:

- en cas d'existence d'anticorps irréguliers, afin de pouvoir confirmer ce résultat et ultérieurement de transfuser le patient à l'aide de sang phénotypé; cet examen peut être pratiqué à l'initiative du biologiste;
- chez le patient polytransfusé potentiel (en sachant que les systèmes impliqués dans l'allo-immunisation sont essentiellement les systèmes Rhésus, Kell, Duffy, Kidd, Ss . . .);
- chez les sujets de sexe féminin non ménopausés devant recevoir des transfusions afin d'éviter une allo-immunisation notamment dans les systèmes Rhésus et Kell;
- lorsqu'une transplantation est prévue.

Les résultats de la détermination des phénotypes doivent être consignés sur la carte de groupes sanguins et sur la fiche transfusionnelle.

VI. - La vérification ultime au lit du malade

La transfusion sanguine est un acte médical qui engage la responsabilité du médecin qui la prescrit, de celui qui l'effectue et des personnes agissant sous leur direction. La vérification des compatibilités au lit du malade est effectuée sous la responsabilité directe du médecin qui réalise la transfusion.

Il est indispensable d'effectuer cette vérification de la compatibilité du sang du receveur et du sang à injecter, avant toute transfusion; cette vérification comporte:

- a) Le contrôle attentif de la concordance entre l'identité du receveur et les nom, prénoms et date de naissance portés sur la carte de groupes sanguins (ou le document qui en tient lieu) entre les groupes sanguins mentionnés sur cette carte et l'étiquette de l'unité de sang à transfuser;
- b) Une vérification ultime au lit du malade, réalisée par le médecin lui-même ou par un auxiliaire médical placé sous sa responsabilité directe. Les modalités pratiques sont précisées en annexe I.

VII. - Les documents correspondant aux examens

Les résultats de ces examens doivent être consignés selon les cas sur plusieurs types de documents définis dans l'annexe II:

- carte de groupes sanguins;
- compte rendu des résultats des recherches d'anticorps irréguliers;
- fiche transfusionnelle.

Ce dernier document a été établi pour tenir compte du fait que dans toute transfusion interviennent le médecin prescripteur, le laboratoire, le service qui délivre le sang et le médecin transfuseur. Il est donc indispensable que les renseignements que chacun d'eux détient puissent facilement et rapidement être portés à la connaissance de ses partenaires; il est notamment très important que le médecin prescripteur transmette les informations qu'il possède sur les antécédents du malade; il est d'ailleurs souhaitable, dans certains cas, qu'il recueille le point de vue du médecin de l'établissement de transfusion sanguine sur le choix du produit sanguin à injecter au malade.

L'information mutuelle des médecins impliqués dans la transfusion sanguine sera facilitée par la tenue d'une fiche transfusionnelle. Plusieurs établissements utilisant déjà un tel document, il n'est pas apparu opportun d'imposer le même modèle à tous; par contre, un certain nombre de renseignements devront figurer sur cette fiche; ils sont énumérés dans l'annexe II.

Il appartient aux médecins concernés de définir les modalités de conservation de cette fiche transfusionnelle; il est en effet, difficile de décider d'emblée quelle serait sa meilleure place: dossier constitué par le médecin traitant, dossier hospitalier, archives de l'établissement de transfusion sanguine, ou dossier personnel du patient.

L'établissement de cette fiche transfusionnelle n'exclut pas, bien entendu, la remise à tout malade polytransfusé possédant un ou plusieurs anticorps ayant une importance transfusionnelle, d'une carte particulière qu'il devra conserver sur lui mentionnant l'existence de la fiche et le médecin ou le service qui la détient.

Je vous demande de bien vouloir diffuser largement les présentes instructions auprès des médecins chefs de service d'hospitalisation public ou privé, des médecins des établissements de transfusion sanguine, des directeurs de laboratoire de biologie médicale et de veiller à ce qu'elles soient commentées au cours d'une prochaine réunion du comité départemental de transfusion sanguine.

Je souhaiterais être tenu informé par vos soins de toutes suggestions que cette question de la sécurité transfusionnelle pourrait entraîner de la part de ceux ayant le souci d'assurer aux malades le bienfait total d'une thérapeutique rendue possible par le dévouement des donneurs de sang bénévoles.

Circulaires abrogées par la présente circulaire: n° 84 du 15 décembre 1965; DGS/ 1247/AS. 1-2 du 28 décembre 1977; DGS/359/AS. 1-2 du 30 juin 1980.

ANNEXES
ANNEXE N° I A LA CIRCULAIRE DU 17 MAI 1985
(CONDITIONS TECHNIQUES RECOMMANDEES)

LE GROUPAGE ABO ET RHESUS (D)

Le prélèvement doit être effectué dans un tube avec ou sans anticoagulant. Ce tube doit être parfaitement étiqueté et accompagné d'une fiche de renseignements.

LA DETERMINATION DES GROUPES SANGUINS
ABO ET RHESUS STANDARD (D)

I. - Groupage ABO

Quelle que soit la technique, l'ordre des réactions doit toujours être le même dans un laboratoire donné. L'ordre indiqué ci-après n'est donné qu'à titre indicatif. Chaque détermination complète comprend en fait deux séries comportant chacune une épreuve globulaire et une épreuve sérique.

1. - Technique plaque à la température du laboratoire

(20 plus ou moins 2 °C)

Sur une plaque d'opaline rigoureusement propre, déposer, pour l'épreuve globulaire, une goutte d'anti B, une goutte d'anti A, une goutte d'anti A + B, et pour l'épreuve sérique, une goutte d'hématies tests lavées à 10 p. 100 en « saline » * de groupes A 1, A 2, B et éventuellement O. A chacune des trois gouttes de réactifs ajouter une goutte d'hématies du sujet à grouper en suspension à 10 p. 100 dans son propre sérum ou en « saline » * et à chacune des trois gouttes d'hématies tests ajouter deux gouttes du sérum du sujet à grouper.

Mélanger les hématies et les sérums de chaque réaction à l'aide d'une baguette de verre ou du fond d'un tube, afin d'obtenir un cercle d'environ trois centimètres de diamètre.

Faire osciller légèrement la plaque d'opaline pendant trente secondes. Laisser reposer et lire les réactions tout en imprimant à la plaque un léger mouvement d'oscillation. La lecture définitive sera effectuée au terme de trois minutes.

2. - Technique tube à la température du laboratoire

(20 plus ou moins 2 °C)

Dans une rangée de six tubes à hémolyse, déposer pour l'épreuve globulaire deux gouttes d'anti B, deux gouttes d'anti A, deux gouttes d'anti A + B et, pour l'épreuve sérique, une goutte d'hématies tests lavées à 5 p. 100 en « saline » * de groupes A 1, A 2, et B. A chacun des tubes de réactifs ajouter une goutte d'hématies du sujet à grouper en suspension à 5 p. 100 dans son propre sérum ou en « saline » et à chacun des trois tubes restants ajouter deux gouttes du sérum du sujet à grouper.

Mélanger le contenu de chaque tube par légère agitation du portoir à la main. Centrifuger 1 minute à 1 000 t/mn et lire les réactions sur fond blanc après une légère agitation.

L'interprétation des résultats nécessite la concordance entre l'épreuve sérique et l'épreuve globulaire. En cas de discordance, il faut pratiquer les témoins « auto » (sérum du sujet vis-à-vis de ses propres hématies lavées), « AB » (sérum AB vis-à-vis des hématies lavées du sujet) et « allo » (sérum du sujet vis-à-vis d'une gamme d'hématies 0).

II. - Groupage rhésus (D)

Quelle que soit la technique, deux déterminations avec témoins sont obligatoires.

1° Technique plaque chauffante 40 °C:

Déposer sur la plaque éclairée et chauffée à 40° C d'un «rhésoscope», trois fois une ou deux gouttes du réactif anti-D albumineux et, sur une rangée inférieure trois fois une ou deux gouttes du réactif témoin albumineux, afin de réaliser trois colonnes de deux réactions sur deux rangées.

Ajouter aux réactifs de la première colonne une goutte concentrée d'hématies à tester à 40 p. 100 dans leur propre sérum et aux réactifs de la deuxième et de la troisième colonnes une goutte identique d'hématies témoins Rh + et Rh - de la gamme des hématies tests ABO et Rh -.

Etaler rapidement les hématies et les sérums de chaque réaction à l'aide d'une baguette de verre ou du fond d'un tube afin d'obtenir un cercle d'environ deux centimètres de diamètre. Faire osciller légèrement la plaque jusqu'à l'apparition des agglutinats et lire les réactions après trois minutes.

N.B. Les témoins positifs/négatifs réalisés grâce à la gamme d'hématies tests Rh + et Rh - peuvent n'être utilisés qu'une seule fois au cours de la même série de tests.

2° Technique microtube 37 °C:

Déposer dans six microtubes disposés en deux rangées de trois et à raison d'une goutte par tube, trois gouttes du réactif

anti D albumineux dans la deuxième rangée. Ajouter, comme dans la technique précédente, aux tubes de la première colonne une goutte d'hématies à tester à 2 ou 3 p. 100 dans leur propre sérum et aux tubes de la deuxième et troisième colonnes une goutte identique d'hématies Rh + et Rh -.

Incuber à 37 °C pendant quatre-vingt dix minutes.

N.B. Dans cette technique, les hématies des sangs prélevés sur anticoagulants doivent être au préalable lavées et remises en suspension à 2 ou 3 p. 100 en sérum AB. Au cours de la même série de tests, il suffit d'effectuer les réactions témoins une seule fois avec les hématies tests Rh + et Rh -.

3° Technique tube centrifugation à 37 °C:

Les conditions techniques de cette méthode sont fonction des différents réactifs utilisés. Il importera donc de se conformer aux recommandations préconisées par chaque producteur.

La négativité de la réaction avec le témoin albumineux est une condition impérative de la validité des résultats du groupage. En cas de positivité du témoin, il faut refaire le groupage à l'aide d'«anti D salin».

En cas de discordance des résultats entre les deux déterminations obligatoires, il faut suspecter la présence d'un antigène D faible (qui pourra être mise en évidence par test de Coombs ou épreuve de fixation-élution).

III. - Les techniques automatisées ou semi-automatisées

Ces techniques doivent respecter les mêmes principes que ceux énoncés pour les techniques manuelles.

LA RECHERCHE D'ANTICORPS IRREGULIERS (R.A.I.)

Parmi les méthodes manuelles disponibles, trois semblent essentielles pour réaliser actuellement une recherche d'anticorps irréguliers fiable. Ces trois méthodes sont réalisées conjointement à la fois au cours du dépistage et de l'identification éventuelle. Les méthodes suivantes sont conseillées et leurs détails techniques donnés à titre d'exemple.

I. - Le test d'agglutination en «saline»

à la température du laboratoire (20 plus ou moins 2 °C)

1° Lavage: laver à trois reprises au minimum en «saline» les hématies de la gamme d'hématies-tests.

2° Test: mettre dans un microtube une goutte d'hématies en suspension à 3 p. 100 et une goutte de sérum à tester. Laisser incuber une heure trente à 20 plus ou moins 2 °C, puis effectuer une lecture à l'aide d'un microscope ou de tout autre dispositif grossissant.

II. - Le test de Coombs indirect

C'est la réaction essentielle de l'immunohématologie. Il en existe plusieurs formes qui ont des avantages propres:

1° Le test de Coombs indirect normal:

Lavage: les hématies de la gamme d'hématies-tests doivent être lavées trois fois en «saline». Mettre les hématies en suspension à 2 p. 100 en «saline».

Sensibilisation: mettre en présence dans un tube à hémolyse un volume de sérum à tester et un volume de la suspension globulaire (un volume = une ou deux gouttes). Laisser incuber à 37 °C durant quarante minutes à l'étuve ou trente-cinq

minutes au bain-marie.

Lavage: les hématies sensibilisées doivent de nouveau être lavées au moins trois fois en «saline».

Phase antiglobuline:

- pour les antiglobulines utilisables en centrifugation: ajouter une goutte d'antiglobuline, puis centrifuger pendant une minute à cent trente g (soit en règle 1 000 tours par minute ou trente secondes à 500 g). La lecture est macroscopique et microscopique;
- pour les antiglobulines utilisables sur plaque: faire une suspension globulaire à 5 p. 100; déposer sur une plaque d'opaline une goutte d'antiglobuline et une goutte de la suspension globulaire: mélanger, chalouper et lire à l'oeil nu.

Il est conseillé d'utiliser deux antiglobulines, une antiglobuline polyvalente et une antiglobuline anti-IgG.

2° Les variantes du test de Coombs indirect:

a) Le test de Coombs indirect à basse force ionique.

L'utilisation du tampon à basse force ionique entraîne une réduction du temps d'incubation à dix minutes au bain-marie et à quinze minutes à l'étuve.

b) Le test de Coombs indirect sur hématies trypsinées.

c) Le test de Coombs indirect utilisant des milieux macromoléculaires.

III. - Le test aux enzymes protéolytiques

Les enzymes protéolytiques comme la broméline et la papaïne peuvent permettre de détecter de nombreux anticorps irréguliers. A titre d'exemple le test à la papaïne 37 °C est décrit:

1. Traitement des hématies lavées de la gamme d'hématies-tests par la solution de papaïne; les conditions de ce traitement sont précisées sur la notice du producteur.
2. Lavage: laver à trois reprises en «saline» les hématies ainsi traitées puis remettre en suspension à 2 p. 100 en «saline».
3. Test: ajouter à un volume de sérum (une goutte), un volume d'hématies papaïnées (une goutte). Laisser incuber quarante minutes à 37 °C à l'étuve ou trente-cinq minutes au bain-marie puis effectuer une lecture à l'aide d'un microscope ou de tout autre dispositif grossissant.

L'EPREUVE DIRECTE DE COMPATIBILITE (E.D.C.)

Les techniques utilisées sont identiques à celles présentées dans la recherche d'anticorps irréguliers.

LE DEPISTAGE SIMPLE DES ANTICORPS IRREGULIERS (D.S.A.I.)

Les techniques utilisées peuvent être différentes selon les équipements dont on dispose. Il est impératif d'utiliser au minimum une technique capable de détecter les «anticorps incomplets». Parmi les techniques manuelles, le test de Coombs indirect est préconisé.

LA VERIFICATION ULTIME AU LIT DU MALADE

Elle peut être réalisée selon l'une des deux modalités techniques suivantes:

1° Contrôle des groupes du receveur et du sang qui lui est destiné au moyen de la méthode de Beth-Vincent, en utilisant:

<http://affairesjuridiques.aphp.fr/textes/circulaire-dgs3b552-du-17-mai-1985-relative-a-la-prevention-des-accidents-transfusio-nels-et-des-accidents-dallo-immunisation/>

- pour le contrôle du sang du flacon les premières gouttes sortant du dispositif transfusionnel;
- pour le contrôle du sang du receveur, soit les premières gouttes sortant de l'aiguille intraveineuse, soit du sang prélevé par piqûre du doigt ou de l'oreille.

2° Contrôle direct de la compatibilité en mettant en présence du sérum ou du plasma du malade avec le sang à transfuser. Dans ce cas il faut impérativement utiliser le sérum ou le plasma du receveur et le sang à transfuser, mais ne jamais mélanger le sang total du receveur avec celui du donneur.

Ces contrôles doivent être effectués sur plaque d'opaline ou à l'aide de dispositifs propres à cet usage comme les cartes de contrôle pré-transfusionnel.

LA DETERMINATION DES PHENOTYPES ERYTHROCYTAIRES

Les méthodes sont fonction des réactifs utilisés. Il importe donc de bien suivre la technique préconisée. Les réactifs d'origine humaine doivent porter le numéro de conformité du C.N.R.G.S. en application des dispositions de l'arrêté du 8 février 1984.

LES TITRAGES

Les principes des méthodes de titrage sont précisés dans l'arrêté du 8 février 1984. Pour le titrage des anti D l'utilisation des méthodes semi-quantitatives à flux continu, permettant une mesure de concentration, est conseillée.

ANNEXE N° II A LA CIRCULAIRE DU 17 MAI 1985 (DOCUMENTS CORRESPONDANT AUX EXAMENS)

1. - Carte de groupes sanguins

Outre l'identification du laboratoire, les renseignements suivants doivent apparaître:

Nom (complété s'il y a lieu par le nom marital).

Prénoms.

Date de naissance, lieu de naissance.

Domicile.

Groupages sanguins:

- première et deuxième détermination;

- phénotype (s'il a été réalisé).

Résultats de la D.S.A.I. ou de la R.A.I. en précisant les spécifications de la gamme d'hématies tests utilisée.

Chaque examen ou détermination doit être daté et signé par le biologiste responsable.

2. - Compte rendu des résultats des recherches d'anticorps irréguliers

Outre l'identification du laboratoire, les renseignements suivants doivent apparaître:

Nom (complété s'il y a lieu par le nom marital).

Prénoms.

Date de naissance.

La ou les gammes d'hématies-tests utilisées en précisant les spécificités étudiées et le nombre d'hématies testées:

- les techniques utilisées;

- le résultat de l'examen;

- le phénotype (s'il a été réalisé à cette occasion).

Chaque examen doit être daté et signé par le biologiste responsable.

3. - Fiche transfusionnelle

(à gestion manuelle ou informatisée)

I. - Les renseignements suivants, concernant le malade, doivent apparaître:

Nom (complété s'il y a lieu par le nom marital).

Prénoms.

Date de naissance.

Groupes sanguins:

- première et deuxième déterminations;
- phénotype;
- anticorps irréguliers (en précisant chaque fois la date et le laboratoire);

Antécédents:

- notamment: grossesses et fausses couches, en précisant si possible le groupe de l'enfant;
- précédentes transfusions.

II. - Un tableau chronologique constitue le corps de cette fiche. Sur ce tableau doivent figurer, d'une part, les renseignements concernant les transfusions et, d'autre part, ceux relatifs aux examens pratiqués.

Pour les transfusions:

- date;
- lieu;
- nature du produit sanguin;
- numéro de l'unité du dérivé sanguin;
- observations.

Pour les examens:

- date;
- laboratoire;
- nature de l'examen;
- résultats.

Il n'y aurait que des avantages à ce que les abréviations suivantes soient utilisées. Dans ce cas, leur signification doit impérativement être imprimée sur la fiche, au bas de celle-ci par exemple:

S.T. Sang total.

C.G. Concentré globulaire.

C.P. Concentré plaquettaire.

C.U.P. Concentré unitaire de plaquettes.

C.U.G. Concentré unitaire de granulocytes.

G.R.C. Globules rouges congelés.

P.F.C. Plasma frais congelé.

P.C. Plasma cryodesséché.

P.D.C. Plasma dépourvu de cryoprotéines.

A. Albumine.

G.S. Groupage sanguin.

D.S.A.I. Dépistage simple des anticorps irréguliers.

R.A.I. Recherche d'anticorps irréguliers.

A.L.P. Recherche d'anticorps leucoplaquettaire anti-H.L.A.

E.C.L. Epreuve de compatibilité leucocytaire.

E.D.C. Epreuve directe de compatibilité.

E.I.H. Examen immunohématologique (recherche d'auto-anticorps anti-érythrocytes).

5414. MINISTERE DES AFFAIRES SOCIALES ET DE LA SOLIDARITE NATIONALE Direction générale de la santé Sous-direction de l'organisation des soins et des programmes médicaux. Le ministre des affaires sociales et de la solidarité nationale, porte-parole du Gouvernement à Messieurs les commissaires de la République de région (direction régionale des affaires sanitaires et sociales), pour information ; Messieurs les commissaires de la République de département (direction départementale des affaires sanitaires et sociales), pour exécution. Non parue au Journal officiel.

Bulletin Officiel du ministère des affaires sociales et de la solidarité nationale, secrétariat d'Etat chargé à la santé n° 24 du 6 juillet 1985