



5/ Le pré-analytique en immuno-hématologie

Guillaume Letizia

Biologiste médical - CH de Dunkerque

Auteur du document : **Patrick Joubaud**

Date de diffusion : **01/02/2024**

| | |
|--|----------|
| 1. Matrices sanguines utilisables en IH : anticoagulants utilisables et volumes nécessaires | 3 |
| 1.1. Types de tubes utilisables en IH | 3 |
| 1.2. Volumes nécessaires | 4 |
| 2. Cas du prélèvement de nouveau-né sur sang de cordon | 4 |
| 3. Identification de l'échantillon | 4 |
| 4. Cas du prélèvement de deux déterminations de phénotype érythrocytaire | 5 |
| 5. Conditions de conservation pré-analytiques | 6 |
| 5.1. Concernant les conditions de centrifugation des échantillons | 6 |
| 5.2. Stabilité des échantillons | 6 |

1. Matrices sanguines utilisables en IH : anticoagulants utilisables et volumes nécessaires

1.1. Types de tubes utilisables en IH

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

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

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

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

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

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

Attention : une seconde détermination de phénotypage érythrocytaire ne peut être réalisée sur cet échantillon si la première détermination est déjà réalisée à partir du même acte de prélèvement.

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

1.2. Volumes nécessaires

En cas d'identification : 11 x (minimum) 25 à 50 µL selon fournisseur (550 µL minimum). Ainsi, habituellement un tube EDTA suffit pour une détermination de phénotype érythrocytaire et le dépistage des anticorps (voire avec une identification simple).

En cas de RAI positive connue, il est recommandé de prélever d'emblée deux tubes EDTA (identification, titrage +/- dosage pondéral chez la femme enceinte).

2. Cas du prélèvement de nouveau-né sur sang de cordon

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

Ainsi l'utilisation de sang de cordon est conforme sous réserve d'une réalisation adéquate du prélèvement, avec un échantillon clairement identifié comme du sang de cordon et un compte-rendu précisant l'interdiction de l'utilisation de ces résultats pour la délivrance de PSL. En cas de technique manuelle, la détermination du phénotype érythrocytaire sur sang de cordon repose obligatoirement sur deux réalisations sur l'échantillon biologique unique, par deux personnes habilitées différentes.

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

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

3. Identification de l'échantillon

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

Comme pour tout prélèvement en biologie médicale, ce dernier est effectué après vérification de l'identité du patient par une question ouverte ou lorsque cela n'est pas possible auprès de la famille ou à l'aide du bracelet d'identification, d'une pièce d'identité officielle, de la famille ou tutelle, en croisant plusieurs sources d'informations.

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

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

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

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

4. Cas du prélèvement de deux déterminations de phénotype érythrocytaire

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

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

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

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

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

5. Conditions de conservation pré-analytiques

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

5.1. Concernant les conditions de centrifugation des échantillons

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

5.2. Stabilité des échantillons

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

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

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

Conditions pré-analytiques

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