- 8.1. Qualification biologique du don : marqueurs infectieux
  - 8.1.1. Autorisation et exigences générales
  - 8.1.2. Préanalytique des échantillons
  - 8.1.3. Archivage des échantillons : « sérothèque »
  - 8.1.4. Dépistage des marqueurs infectieux
  - 8.1.5. Documentation
  - 8.1.6. Contrôles de la qualité
  - 8.1.7. Obligation de déclarer
  - 8.1.8. Libération (laboratoire)
- 8.2. Qualification biologique du don : immuno-hématologie
  - 8.2.1. Immuno-hématologie donneur
  - 8.2.2. Réalisation des analyses immuno-hématologiques
  - 8.2.3. Libération (laboratoire)

8.1. Qualification biologique du don : marqueurs infectieux

8.1.1. Autorisation et exigences générales

Les laboratoires de microbiologie qui analysent le sang, les produits sanguins ou les transplants afin d'exclure la présence de maladies transmissibles dans le but de procéder à une transfusion, une transplantation ou une préparation doivent bénéficier d'une autorisation (LEp, G1) et se conformer aux règles des bonnes pratiques (annexe G1). La qualification biologique du don doit être rigoureusement séparée (séparation spatiale ou temporelle) des analyses pratiquées chez les patients.

Les activités de laboratoire doivent être effectuées dans des locaux réservés à celles-ci. Les conditions dans lesquelles les analyses sont réalisées – y compris les analyses génomiques (PCR) – ne doivent pas être susceptibles de compromettre les résultats ou la qualité requise pour la mesure.

8.1.2. Préanalytique des échantillons

8.1.2.1. Préparation et identification

Les analyses de qualification biologique sont pratiquées dans des tubes primaires contenant les échantillons de sang prélevés à cet effet.

La position de l'étiquette doit permettre une lecture automatisée du code-barres. L'identification et la distribution des échantillons doivent être automatisées et soutenues par le système informatique.

Les examens de dépistage doivent être réalisés dans les tubes primaires, sans décantation préalable.

8.1.2.2. Manutention, transport, centrifugation et stockage des échantillons

Les analyses biologiques doivent être effectuées le plus rapidement possible après le prélèvement.

La manutention, le transport, la centrifugation, le stockage et l'analyse doivent être effectués conformément aux instructions du fabricant du kit de test.

Les tubes sont transportés dans des récipients appropriés et livrés en 24 heures à température ambiante. En l'absence des spécifications de température du fabricant, il faut choisir des systèmes de transport qui garantissent que les échantillons ne sont pas exposés à des températures inférieures à +2 et supérieures à + 30C. Les récipients doivent être régulièrement nettoyés et désinfectés. Le nombre de tubes livré doit être contrôlé. Si un entreposage ultérieur avant test devait avoir lieu, les tubes devraient être conservés à une température comprise entre +2C et +10C, sauf si une vérification interne rend un autre entreposage possible ou nécessaire.

Un contrôle visuel des échantillons (aspect, volume, identification) est effectué à la réception, de façon à s'assurer que les critères de qualité internes sont respectés.

L'analyse doit être effectuée au plus tard dans les sept jours ouvrables.

Les tubes bouchés sont centrifugés. Les conditions de centrifugation (vitesse, temps, freinage, température) doivent être définies et validées pour les analyses à réaliser. Les bouchons ne doivent pas être réutilisés.

Les échantillons ne peuvent être transférés sur d'autres supports (plaques, tubes) que si les systèmes utilisés (microplaque, etc.) peuvent être automatiquement identifiés.

Une fois les analyses effectuées, les tubes d'échantillons (tubes d'origine) doivent être conservés à une température comprise entre +2C et +8C jusqu'à l'obtention de tous les résultats analytiques requis pour la libération des produits sanguins labiles, sauf si une vérification interne rend un autre entreposage possible ou nécessaire (tableau 1).

Des aliquotes de sérum ou de plasma de chaque don doivent être conservées en sérothèque (voir point 8.1.3.).

Tableau 1 :

	Transport d'échantillons	Stockage des échantillons avant l'analyse	Conditions (paramètres) de centrifugation	Stockage des échantillons après l'analyse
Température	2-30C	2-10C (ou selon les données de la vérification)	Selon les données de la vérification	2-8C (ou selon les données de la vérification)
Durée	24 h	Indications de test/ 7 jours au maximum	Selon les données de la vérification	Jusqu'à 5 jours après la libération des résultats

8.1.3. Archivage des échantillons : « sérothèque »

8.1.3.1. Procédure

Les échantillons doivent être pipetés dans les tubes primaires et avant réalisation des analyses. La traçabilité des échantillons doit être validée.

8.1.3.2. Volume

Une quantité minimale de 2,0 ml de sérum ou de plasma de chaque don de sang doit être conservée, suffisamment pour effectuer les mêmes analyses que celles pratiquées lors du dépistage des marqueurs infectieux et/ou la NAT/PCR.

8.1.3.3. Supports pour échantillons

Les échantillons doivent être conservés dans des plaques de microtitrage de grand format vertical, de format normal ou dans des microtubes. Il convient d'éviter toute contamination lors de la préparation (p. ex. pointes jetables, pointes à usage unique). Les supports doivent être fermés.

8.1.3.4. Identification

L'identification positive des échantillons et des plaques doit être garantie (pour cela, il faut impérativement utiliser un appareil de pipetage automatisé et un logiciel adapté).

8.1.3.5. Température et durée de stockage

Les échantillons doivent être stockés à basse température (congélateur ou chambre froide à – 25C) pendant 5 ans au minimum.

8.1.3.6. Règles d'utilisation

Le recours à la sérothèque se limite exclusivement aux procédures de look back. Au décours d'incidents post-transfusionnels ou d'une information post-don, une demande d'accès à l'échantillon archivé peut être adressée à la direction médicale de T-CH SA.

La sérothèque ne peut pas être utilisée pour des études scientifiques (toute dérogation doit être agréée par T-CH SA). Il convient d'employer le strict nécessaire et de conserver le reste de l'échantillon.

8.1.4. Dépistage des marqueurs infectieux

8.1.4.1. Méthodologie analytique

La qualification biologique du don pour les marqueurs infectieux désigne les analyses effectuées au laboratoire qui permettent de déterminer si le sang des donneurs peut être libéré, pour être utilisé à des fins thérapeutiques.

Une distinction est faite entre les tests sérologiques et les tests NAT.

Les tableaux ci-dessous en donnent un aperçu :

Analyses obligatoires effectuées systématiquement à chaque don, significatives pour la libération		
Type d'analyse	Sérologie	NAT (PCR)
VIH 1/2	X	X
Hépatite C (VHC)	X	X
Hépatite B (VHB)	X	X
Hépatite E (VHE)		X
Syphilis (*T. pallidum*)	X	

Analyses sélectives (p. ex. pour clarifier l'admissibilité du donneur conformément aux critères d'aptitude au don de sang), significatives pour la libération si un examen est demandé		
Type d'analyse	Sérologie	NAT (PCR)
Chagas (*T. cruzi*)	X	
Malaria (*Plasmodium spp.*)	X	
CMV	X	
WNV (saisonnier)		X

Analyses non significatives pour la libération des PSL destinés à la transfusion mais néanmoins réalisées systématiquement pour chaque don (significatives pour la libération du plasma destiné au fractionnement)		
Type d'analyse	Sérologie	NAT (PCR)

Parvo B19		X
Hépatite A (VHA)		X

La qualification biologique du don comporte une première étape de dépistage (tests de dépistage) suivie, si nécessaire, d'une seconde phase comportant des examens complémentaires (tests de confirmation), qui permettent de préciser le statut biologique pour le marqueur donné. Les résultats d'analyses et le statut biologique sont une partie intégrante de la qualification biologique des dons ultérieurs. Ces étapes font partie du concept global de qualification biologique du don.

Les tests de confirmation sont effectués par le laboratoire de référence désigné par T-CH SA et qualifié selon un cahier des charges déterminé. Les détails concernant les différents virus sont définis dans l'annexe, à l'article 8.

Le SRTS concerné envoie au laboratoire de référence l'ensemble des données sur le « formulaire de demande d'analyse ». Si l'échantillon est prélevé dans le cadre d'une procédure de look-back, il faut indiquer s'il s'agit d'un look-back lié au donneur ou au receveur.

Le statut biologique du don est établi sur la base du résultat du dépistage et, le cas échéant, des analyses complémentaires. Afin d'identifier les donneurs avec des résultats répétitifs, il convient de tenir compte des résultats des dons ou des échantillons antérieurs.

Le transfert des résultats doit être effectué selon des procédures validées.

8.1.4.2. Méthodes et réactifs

Les méthodes de dépistage dépendent de l'équipement et des réactifs utilisés.

Seuls les tests (dispositifs médicaux de diagnostic in vitro) autorisés par Swissmedic (L1, OAMéd) peuvent être utilisés. En conséquence, ces tests doivent avoir été soumis à une procédure d'évaluation de la conformité selon l'ordonnance sur les dispositifs médicaux et porter un marquage de conformité correspondant (marquage CE) (L1, ODim).

8.1.4.3. Validation/vérification

1. a) Réactifs commerciaux marqués CE

Les méthodes utilisées doivent être vérifiées avec un réactif et un équipement déterminé avant d'être mises en vigueur.

Les exigences concernant les tests et procédés appropriés en matière de sang et de produits sanguins (L1) énoncées dans le guide doivent être respectées.

1. b) Réactifs de diagnostic in vitro préparés localement

Les réactifs de diagnostic in vitro préparés ou modifiés en fonction des besoins spécifiques internes doivent répondre aux exigences légales en vigueur (ODim). Les exigences concernant les tests et procédés appropriés en matière de sang et de produits sanguins (L1) énoncées dans le guide complémentaire dédié doivent être respectées.

8.1.4.4. Contrôle de la qualité des réactifs et des kits de test

À réception, chaque lot de réactifs ou de kits de test fera l'objet d'un contrôle de qualité, dont les modalités doivent être définies dans une procédure (SOP).

La conformité des réactifs doit être vérifiée en permanence selon le point 8.1.6.1 Contrôles de qualité internes. Les résultats de ces contrôles permettent de réaliser un contrôle continu de la qualité des réactifs concernés.

8.1.4.5. Stockage et gestion des réactifs et kits de test

Les réactifs et les kits de test doivent être stockés conformément aux recommandations du fournisseur.

Une gestion des stocks de réactifs et des kits de test doit être mise en place, afin, primo, d'interdire l'utilisation de lots non contrôlés, non conformes ou périmés et, secundo, de permettre leur utilisation dans un ordre chronologique par rapport à leur date de péremption. Elle doit, de plus, permettre d'éliminer sans délai les lots rappelés par le fournisseur. Les numéros de lots de réactifs utilisés pour chaque don de sang testé doivent être documentés.

8.1.4.6. Matériovigilance

En cas de non-conformité d'un lot de réactifs susceptible de mettre en doute la qualité des analyses et la sécurité des produits sanguins, il faut en informer le fournisseur ainsi que Swissmedic (OAMéd, ODim) dans les meilleurs délais, avec en copie T-CH SA.

8.1.4.7. Analyses obligatoires, significatives pour la libération

8.1.4.7.1. VHB, VHC ainsi que VIH et syphilis

Selon les résultats obtenus, l'interprétation des résultats d'analyse pour chaque marqueur infectieux nécessite une ou deux étapes, c'est-à-dire après le dépistage ou la confirmation.

Chaque test de dépistage est effectué sur un échantillon correspondant à un don.

Les algorithmes VHB, VHC, VIH apportent des précisions concernant les NAT spécifiques et le dépistage sérologique. Le test de dépistage de la syphilis est illustré dans l'algorithme T. pallidum/syphilis.

Les exigences techniques de Swissmedic doivent être respectées sans restriction (L1).

8.1.4.7.2. Dépistage initial sérologique

Pour mettre en évidence un marqueur donné, le dépistage initial doit être pratiqué sur chaque don en utilisant une méthode et des réactifs validés. Le résultat obtenu est soit *Réactif Initial* soit *Non Réactif.*

Un résultat est dit *Réactif Initial* pour un marqueur donné lorsque le signal obtenu se situe dans la zone définie comme positive ou grise par le fournisseur. Un tel résultat bloque la qualification biologique du don et la libération des produits sanguins labiles correspondants.

1. *a) Procédure en cas de résultat Réactif Initial*

En cas de résultat *Réactif Initial*, toute analyse doit être répétée. Celle-ci est réalisée en double, avec les mêmes réactifs que ceux utilisés lors du dépistage initial, afin de contrôler la répétabilité de la réaction. L'analyse doit être réalisée selon la même procédure de dépistage et avec le même équipement.

Si les deux résultats obtenus sont 2 fois *Non Réactif*, le statut biologique de cet échantillon est *Répétition Négative* pour le marqueur donné.

1. *b) Interprétation des résultats répétitivement réactifs*

Si au moins un résultat obtenu lors de la répétition de l'analyse est *Réactif (R/R ou NR/R)*, le statut biologique de l'échantillon est *Répétition Non Négative,* et les produits correspondants sont à *Détruire*. Le don doit être détruit dans sa totalité, sachant qu'une utilisation documentée par le laboratoire (recherche, diagnostic) correspond à une destruction. Le statut biologique *Libéré* ne peut s'appliquer ni aux produits sanguins ni au donneur.

8.1.4.7.3. Confirmation du résultat de dépistage sérologique

Tout échantillon pour lequel le dépistage est *R/R* ou *NR/R* (statut biologique *Répétition Non Négative*) pour un marqueur donné doit faire l'objet de tests de confirmation (voir exigence technique « Algorithmes d'aide au diagnostic virologique »).

Ces tests permettent de qualifier définitivement le don / les produits sanguins, de déterminer la nature de l'information à fournir au donneur, et peuvent conduire à demander l'analyse d'un 2^{e} échantillon de sang.

Pour un marqueur donné, les tests de confirmation peuvent générer plusieurs types de résultats :

1. *Négatif : entraîne un statut biologique Libéré pour le donneur. Si cette situation (dépistage Non Négatif / confirmation négative) se reproduit à plusieurs reprises, le médecin décide si le donneur est apte au don.*
2. *Non Négatif : peut conduire à deux possibilités :*
   - Douteux ou confirmation indéterminée (p. ex. les résultats des tests de confirmation ne permettent pas de conclure en l'état des connaissances) : le fractionneur est alors informé, conformément au contrat signé entre les parties (généralement des dons précédents livrés au cours des 6 derniers mois). Un contrôle doit être pratiqué chez le donneur par le laboratoire de référence pour les marqueurs infectieux, sur un 2^{e} échantillon de sang ;
   - *Positif confirmé ou confirmation positive : le fractionneur doit alors être informé, conformément au contrat signé entre les parties (généralement des dons précédents livrés au cours des 6 derniers mois). Un contrôle doit également être pratiqué chez le donneur par le laboratoire de référence pour les marqueurs infectieux, sur un 2^{e} échantillon de sang, y compris NAT quantitatif ou qualitatif.*

8.1.4.7.4. Délai entre le premier et le deuxième (ou un autre) échantillon de sang

Si les résultats de la première confirmation sont douteux, le 2^{e} échantillon doit être analysé dans un délai n'excédant pas 12 semaines.

Si la première confirmation est positive, un contrôle doit être effectué dans les meilleurs délais sur un 2^{e} prélèvement (en règle générale, 7-14 jours après le don initial), cela dans l'intérêt du patient ayant reçu les produits préparés à partir du don précédent. Ainsi, un look-back lié au donneur peut être déclenché sans délai, en cas de résultats positifs confirmés.

8.1.4.7.5. Confirmation sur le deuxième échantillon de sang

L'interprétation définitive des examens de dépistage, de confirmation et du statut biologique établi à l'issue des analyses effectuées sur le 2^{e} échantillon de sang détermine les mesures à prendre chez le donneur.

Lorsque le résultat d'analyses sur le 2^{e} échantillon de sang (pratiquées selon les procédures requises) est *Négatif*, le statut biologique est soit *Donneur Négatif*, soit *Donneur à informer/Libéré*. La discordance entre dépistage et confirmation doit être élucidée.

Si le résultat d'analyses sur le 2^{e} échantillon de sang (pratiquées selon les procédures requises) est *Douteux* ou *Confirmation indéterminée* (p. ex. les résultats des tests de confirmation ne permettent pas de conclure en l'état des connaissances), le statut biologique est *Donneur indéterminé* et *Donneur à informer/Exclure*. Des contrôles ultérieurs peuvent être pratiqués après un délai supplémentaire d'environ 12 semaines. En cas de résultats douteux non spécifiques pour la syphilis, la réintégration dans le registre des donneurs ne doit avoir lieu qu'après la réalisation d'échantillons de contrôle supplémentaires, au moins un an plus tard.

Si le résultat d'analyses sur le 2^{e} échantillon de sang (pratiquées selon les procédures requises) est *Positif confirmé*, le statut biologique est *Donneur confirmé Positif* et *Donneur à informer/Recueillir le risque d'exposition /Exclure*. Le statut biologique *Confirmé Positif* (après analyse du 2^{e} échantillon) impose une information détaillée et rapide par le médecin du donneur, systématiquement assortie d'une offre de conseil et d'assistance. Pour les donneurs réguliers, un look-back doit être déclenché. Lorsque le donneur refuse de prendre connaissance d'un tel statut, cela doit être documenté.

S'il n'est pas possible d'obtenir ces résultats dans le délai prescrit (voir point 8.1.4.7.4.), le donneur est à *Exclure*, et un look-back doit être déclenché.

8.1.4.7.6. Tests NAT

Les tests NAT peuvent être effectués en pools ou en dons individuels. Les pools positifs sont dissous jusqu'à ce que le don unique positif soit identifié. Les dons individuels avec un résultat NAT positif pour le VIH, le VHC ou le VHB seront évalués en tenant compte du résultat sérologique correspondant. Dans le cas d'un dépistage sérologique négatif, deux

nouveaux tests utilisant la même méthode NAT ou la même discrimination devraient être effectués pour écarter la possibilité de faux résultats réactifs.

Du reste, le test et la confirmation sont pratiqués conformément aux algorithmes VHB, VHC, VIH et à l'algorithme VHE. Pour les NAT VHA et Parvo B19, cf. l'annexe relative aux tests non significatifs pour la libération.

Seuil de détection pour le test NAT conformément au guide complémentaire concernant les tests et procédés appropriés en matière de sang et de produits sanguins – Swissmedic (L1) :

VIH : 500 UI/ml

VHC : 50 UI/ml

VHB : 25 UI/ml

8.1.4.7.7. Analyses sélectives

La procédure et les algorithmes des analyses sélectifs sont décrits dans l'annexe Art. 8.4 Analyses sélectives.

8.1.5. Documentation

La documentation doit se conformer aux exigences légales en vigueur.

Les statistiques annuelles doivent être transmises à T-CH SA une fois par an.

8.1.6. Contrôles de la qualité

8.1.6.1. Contrôles de la qualité internes

Toutes les méthodes doivent être validées, l'état de vérification devant ensuite être maintenu. Conformément à l'ordonnance sur les laboratoires de microbiologie, les échantillons de contrôle positifs en kit sont soumis à une analyse systématique. Se référer aux « recommandations pour l'analyse statistique des échantillons de contrôle sérologique positifs lors des déterminations qualitatives de marqueurs infectieux » à titre d'exemple.

L'exactitude ainsi que, dans le cas de méthodes quantitatives, la précision des résultats obtenus en laboratoire doivent, de plus, être vérifiées ou contrôlées périodiquement au moyen de témoins indépendants des contrôles en kit.

Ces témoins devront être adaptés aux méthodes utilisées.

En ce qui concerne les tests sérologiques (VHB, VHC, VIH et syphilis), les échantillons de contrôle de qualité indépendants du kit doivent être effectués quotidiennement, une fois sur chaque plaque/support. Un résultat positif pour les échantillons de contrôle de qualité indépendants du kit est une condition préalable à la vérification des résultats de l'examen. L'interprétation de la tendance des valeurs mesurées permet en outre d'identifier un éventuel affaiblissement de la performance du test et de prendre les mesures qui s'imposent (cf. DOK_2311_Recommandations_analyse_statistique_contrôle_pos_V01). La direction du laboratoire est responsable de l'évaluation de la tendance des valeurs mensuelle et sa documentation par écrit. Cette évaluation ne doit pas être pertinente pour la libération de chaque test / plaque microtitrage individuelle.

8.1.6.2. Contrôles de la qualité externes

Le laboratoire doit se qualifier pour la qualification biologique des dons, en participant régulièrement à des contrôles de la qualité externes reconnus ; c'est pourquoi ceux-ci sont obligatoires. Les résultats doivent être conservés pour contrôle éventuel par Swissmedic, conformément aux exigences légales en vigueur.

Afin de confirmer, chaque année, que les essais de contrôle qualité externe obligatoire ont été réalisés avec succès, il convient d'utiliser le FOR 3304 Défaillances du dépistage. En cas d'écarts, les SRTS sont tenus d'en informer immédiatement T-CH.

8.1.7. Obligation de déclarer

Conformément à l'« ordonnance du DFI sur la déclaration des cas de maladies transmissibles chez l'homme » et à l'« ordonnance sur les épidémies », les maladies infectieuses doivent être déclarées à l'OFSP (résultats d'analyses de laboratoire) et/ou au médecin cantonal (résultats cliniques). Les déclarations doivent être effectuées conformément à l'ordonnance ; le site Internet de l'OFSP et le guide sur l'obligation de déclaration qui y est référencé constituent une aide utile.

Les déclarations obligatoires supplémentaires à adresser à Swissmedic, au centre de coordination « Look-back » et à T-CH SA concernant l'hémovigilance et les maladies infectieuses sont énumérées dans l'article Vigilance (18.1.2.2.2.1. Déviation des critères d'admissibilité au don).

8.1.8. Libération (laboratoire)

La libération médicale et technique doit être réglée dans une procédure (SOP).

8.2. Qualification biologique du don : immuno-hématologie

8.2.1. Immuno-hématologie donneur

8.2.1.1. Exigences générales (OAMéd)

Les analyses immuno-hématologiques des donneurs comportent les déterminations :

- du groupe ABO;
- de l'antigène RH1 (RhD);
- du phénotype RH/KEL1 (antigènes RH2 [C], RH3 [E], RH4 [c], RH5 [e] et KEL1 [K]),
- ainsi que le dépistage et, devant un résultat positif, l'identification des anticorps irréguliers.

Ces déterminations immuno-hématologiques doivent être effectuées à l'aide de systèmes d'analyse automatisés et qualifiés, y compris le transfert de données.

Les résultats des analyses immuno-hématologiques pratiquées lors d'un don chez un donneur régulier doivent être comparés avec ceux du (des) don(s) antérieur(s).

Le donneur doit être informé de la présence d'anticorps érythrocytaires, de DAT positif, de variants antigéniques (p. ex. variants RHD/RHCE/ABO) ou de particularités sérologiques (p. ex. phénotype rare).

Chez les donneurs de sang, une attention particulière doit être accordée à la détection des antigènes faiblement exprimés lors de la détermination des phénotypes érythrocytaires.

Les exigences et prescriptions relatives aux analyses immuno-hématologiques pour la qualification biologique du don figurent à :

- l'article 17, point 17.2.2. en ce qui concerne les contrôles de qualité,
- l'article 12, point 12.3. en ce qui concerne les équipements,
- l'article 15, point 15.2.2. en ce qui concerne les instructions de travail.

8.2.1.2. Documentation

Des précisions sur la documentation peuvent être trouvées à l'article 15, point 15.2.2.

8.2.1.3. Responsabilités et compétences (G1)

La direction du laboratoire est responsable du respect des prescriptions et des exigences légales.

8.2.1.4. Matériel d'analyse

8.2.1.4.1. Échantillons sanguins des donneurs

Chaque tube-échantillon doit être clairement identifié avant le prélèvement à l'aide d'un numéro de prélèvement et d'un code-barres. Si l'étiquetage d'un tube ou du don est incomplet, le don doit être intégralement détruit.

Les analyses doivent être effectuées au plus tard 7 jours après le don, à partir du tube primaire.

Les tubes primaires doivent être conservés à une température comprise entre + 2 C et + 8 C pour contrôle ultérieur éventuel, jusqu'au moment où toutes les analyses immuno-hématologiques obligatoires pour la libération des produits sanguins sont terminées et documentées.

8.2.1.4.2. Solutions de lavage

Les érythrocytes doivent être lavés avec une solution-tampon au phosphate (PBS) dont le pH est compris entre 7,0 et 7,5 (EDQM).

8.2.1.4.3. Hématies-tests

a) Épreuve sérique ou plasmatique
Le groupage ABO est pratiqué avec des hématies-tests A1, B et O. L'emploi d'hématies-tests A2 est facultatif.

b) Dépistage des anticorps
Les hématies-tests utilisées pour le dépistage des anticorps doivent porter les antigènes suivants : RH1, RH2, RH3, RH4, RH5, KEL1, KEL2, FY1, FY2, JK1, JK2, MNS1, MNS2, MNS3, MNS4, LE1, LE2 et, si possible, RH8 et KEL3 (RhD, C, c, E, e, K, k, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, M, N, S, s, Le^a, Le^b et, si possible, Cw et Kp^a).
On admet qu'il est possible d'utiliser un ou plusieurs pools. Un pool ne peut contenir un mélange de plus de 2 types d'hématies-tests.

8.2.2. Réalisation des analyses immuno-hématologiques

8.2.2.1. Groupage ABO

a) Généralités

- Les antigènes de groupe ABO doivent être déterminés avec des sérums-tests monoclonaux. Lors de l'analyse, un sérum-test de contrôle négatif doit être utilisé.
- Les divers sérums-tests utilisés (pour la détermination des groupes sanguins et les contrôles) doivent être issus de clones différents.
- Les sérums-tests monoclonaux anti-B ne doivent pas dépister un « antigène B acquis ».

b) Premier et deuxième don

Le groupage ABO comprend:

- l'épreuve globulaire avec des sérums-tests anti-A, anti-B et anti-AB;
- lors du premier don, le contrôle, par ailleurs, de l'épreuve globulaire (test de confirmation) avec des sérums-tests anti-A et anti-B de clones différents de ceux utilisés lors de la 1^e détermination;
- l'épreuve sérique/plasmatique avec des hématies-tests A1, B et O. L'utilisation d'hématies-tests A2 est facultative.

Résultats des tests et interprétation:

- Les résultats s'expriment de manière simple, sous la forme suivante : groupe « O », « A », « B » ou « AB ».
- Les résultats du deuxième don doivent être identiques à ceux du premier.

Résultats divergents des tests :

- Si les résultats sont divergents ou douteux, il n'est pas possible d'interpréter le groupe ABO ; les produits issus du don ne pourront être libérés que lorsque des examens complémentaires auront permis d'expliquer les divergences.

c) Dons réguliers (à partir du 3e don)

Le contrôle du groupe ABO comprend une épreuve globulaire avec des sérums-tests anti-A et anti-B.

Résultats des tests et interprétation :

- Les résultats s'expriment de manière simple, sous la forme suivante : groupe « O », « A », « B » ou « AB ».
- Les résultats doivent être identiques à ceux des dons précédents.

Résultats divergents des tests :

- Si les résultats sont divergents ou douteux, il n'est pas possible d'interpréter le groupe ABO ; les produits issus du don ne pourront être libérés que lorsque des examens complémentaires auront permis d'expliquer les divergences.

8.2.2.2. Groupage de l'antigène RH1

a) Généralités

- La détermination du RH1 doit être faite au moyen de sérums-tests monoclonaux. À cet effet, on utilisera un sérum-test de contrôle.
- Tous les donneurs sérologiquement RH1 négatifs doivent être contrôlés une seule fois par biologie moléculaire pour déterminer la présence du gène *RHD*.

b) Premier et deuxième don

Lors du premier don, le groupage RH1 comprend :

- la détermination à l'aide d'un sérum-test anti-RH1,
- le contrôle de tous les donneurs RH1 négatifs déterminés RH2 (C) et RH3 (E) négatifs, une seule fois par biologie moléculaire, selon un procédé validé, pour déterminer la présence du gène *RHD* (au moins l'exon 10, 5 et un exon supplémentaire ou les séquences d'intron accompagnantes),
- chez tous les donneurs RH1 négatifs déterminés RH2 (C) et/ou RH3 (E) positifs, prioritairement un test individuel par biologie moléculaire, selon un procédé validé, pour déterminer la présence du gène *RHD* (au moins l'exon 10, 5 et un exon supplémentaire ou les séquences d'intron accompagnantes).

Lors du deuxième don :

- Le groupage RH1 comprend la détermination à l'aide d'un sérum-test anti-RH1.
- Les résultats du deuxième don doivent concorder sérologiquement avec ceux du premier don.

Résultats divergents des tests :

- Si les résultats s'avèrent divergents ou douteux, la détermination du RH1 ne pourra faire l'objet d'une interprétation ; les produits issus de ce don ne devront pas être mis en circulation avant que des examens plus poussés n'aient élucidé les divergences constatées.

c) Dons réguliers (à partir du 3e don)

Lors de dons réguliers, le groupage RH1 comprend :

- la détermination à l'aide d'un sérum-test anti-RH1;
- chez les donneurs réguliers qui n'ont pas encore fait l'objet d'un contrôle par biologie moléculaire quant à la présence du gène *RHD*, la même procédure que chez les nouveaux donneurs.

d) Résultats des tests et interprétation

Les résultats des dons réguliers doivent concorder sérologiquement avec ceux des dons précédents.

Résultats divergents des tests :

- Si les résultats s'avèrent divergents ou douteux, la détermination du RH1 ne pourra faire l'objet d'une interprétation ; les produits issus de ce don ne devront pas être mis en circulation avant que des examens plus poussés n'aient élucidé les divergences constatées.

e) Marche à suivre pour les donneurs RH1 négatifs au screening moléculaire positif

Les donneurs sérologiquement RH1 négatifs présentant un screening génétique *RH1* positif devront faire l'objet d'une élucidation et d'une description subséquente de l'allèle *RHD* au moyen de méthodes moléculaires appropriées. Le nom de l'allèle *RHD ainsi que* l'attribution de l'allèle *RHD* identifié à une classe déterminée (voir ci-dessous) sont établis et référencés dans la « RHD mutation database » : http://www.uni-ulm.de/~fwagner/RH/RB/.

1. **Classe / DEL (class DEL) :** l'allèle *RHD* est du type « DEL » ; sa mise en évidence sérologique n'est généralement possible qu'au moyen de l'adsorption-élution. En voici des exemples :
   *RHD*01EL.08 (RHD(IVS3+1g>a), RHD*11 (RHD*weak partial 11, RHD*01EL.01 (RHD(K409K)).*
   Ces donneurs apparemment RH1 négatifs devront être caractérisés autrement, soit « positif en tant que donneur, négatif en tant que receveur ».
2. **Classe « nul » (class null) :** l'allèle *RHD* est du type « nul » ; le gène *RHD* est bien présent, mais n'est *pas* identifiable en tant que protéine RH1 spécifique, ou alors pas du tout exprimé en tant que protéine. Les exemples les plus répandus dans le monde sont :
   *RHD*01N.03 (RHD-CE(2-9)-D), RHD*01N.04 (RHD-CE(3-9)-D), RHD01N.05 (RHD-CE(2-7)-D), RHD*08N.01 (RHD*psi), RHD*03N.01, RHD*01N.08 (RHD(W16X)).*
   Ces donneurs sérologiquement RhD négatifs continuent d'être considérés comme donneurs et receveurs RhD négatifs.
3. **Classe « pendant » (class pendent) :** cette classe contient tous les allèles *RHD* dont l'allèle ne peut être indiscutablement rangé ni dans la classe DEL ni dans la classe « nul ». L'attribution de ces allèles à la classe DEL ou à la classe « nul » requiert au préalable une adsorption-élution. **En fonction du résultat, le donneur est classé DEL (élution pos.) ou nul (élution nég.).**

f) Don de sang autologue

Les donneurs autologues RH1 négatifs ne devront pas être testés par voie moléculaire.

8.2.2.3. Détermination du phénotype RH/KEL1

a) Généralités

La détermination du phénotype RH/KEL1 doit être effectuée avec des sérums-tests monoclonaux. Un sérum-test de contrôle correspondant doit être utilisé.
La détermination du phénotype RH/KEL1 chez un donneur doit être effectuée dès le premier don et imprimée sur l'étiquette.

b) Premier don

La détermination du phénotype Rhésus RH/KEL1 du premier don comprend :

- la détermination effectuée avec un sérum-test pour chacun des anti-RH2, anti-RH3, anti-RH4, anti-RH5 et anti-KEL1 (anti-C, anti-E, anti-c, anti-e et anti-K).

c) Deuxième don et dons ultérieurs réguliers

- Les donneurs réguliers qui n'ont jamais fait l'objet de tests phénotypiques sont traités comme des nouveaux donneurs. Cela s'applique également aux donneurs réguliers lorsque les résultats historiques du phénotype Rhésus RH/KEL1 sont disponibles mais ne répondent pas aux critères indiqués au point 8.1.1. (système d'analyse automatique, transfert automatique des données).
- Les résultats des déterminations des phénotypes RH/KEL1 doivent correspondre à ceux des dons antérieurs.

d) Résultats divergents des tests

- Si les résultats s'avèrent divergents ou douteux, la détermination du phénotype RH/KEL1 ne pourra faire l'objet d'une interprétation ; les produits issus de ce don ne devront pas être mis en circulation avant que des examens plus poussés n'aient élucidé les divergences constatées.
- Les divergences notifiées à Swissmedic doivent être communiquées à T-CH SA.

8.2.2.4. Recherche d'anticorps irréguliers (RAI)

a) Généralités

- Une RAI doit être effectuée chez tous les nouveaux donneurs et les donneurs dont le statut RAI est inconnu, chez les donneuses après chaque grossesse et après chaque transfusion sanguine.

b) Méthodes

- La méthode utilisée doit dépister les anticorps chauds (37 C) en IAT. La spécificité et la sensibilité doivent être au moins équivalentes à celles d'une méthode en tube en IAT.
- Un dépistage positif doit être élucidé (identification des anticorps) et l'importance clinique des anticorps identifiés.
- Pour la conduite à tenir ultérieure, se référer aux spécifications des produits sanguins.
- Les anticorps ayant une importance clinique doivent être documentés dans le fichier du donneur.

- Il convient de fournir au donneur un certificat ou une carte de groupe portant la mention de la présence de ces anticorps.

8.2.3. Libération (laboratoire)

La libération médicale et technique doit être réglée dans une procédure (SOP).