MINISTÈRE DE L'EMPLOI
ET DE LA SOLIDARITÉ

MINISTÈRE DE LA SANTÉ, DE LA FAMILLE
ET DES PERSONNES HANDICAPÉES
Direction générale de la santé
Sous-direction de la politique des produits de santé
Bureau des produits de santé d'origine humaine
DGS/3 C

Circulaire DGS/DHOS/AFSSAPS n° 2003-581 du 15 décembre 2003 relative aux recommandations concernant la conduite à tenir en cas de suspicion d'incident transfusionnel par contamination bactérienne

NOR : *SANP0330709C*
(Texte non paru au *Journal officiel*)

Date d'application : immédiate.

Références : arrêté du 4 août 1994 homologuant le règlement de l'Agence française du sang relatif aux bonnes pratiques de distribution.
Texte abrogé : circulaire DGS/DH/AFS n° 85 du 10 octobre 1985 relative à la conduite à tenir en cas d'incident bactérien lié à la transfusion sanguine.

Le directeur général de la santé, le directeur de l'hospitalisation et de l'organisation des soins, le directeur général de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé à

Mesdames et Messieurs les préfets de région (directions régionales des affaires sanitaires et sociales [pour attribution]) ;
Mesdames et Messieurs les préfets de département (directions départementales des affaires sanitaires et sociales [pour information et diffusion de l'information]) ;
Mesdames et Messieurs les directeurs des agences régionales de l'hospitalisation (pour information)

Les documents annexés annulent et remplacent les recommandations diffusées par le biais de la circulaire DGS/DH/AFS n° 85 du 10 octobre 1995 relative à la conduite à tenir en cas d'incident bactérien lié à la transfusion sanguine, les premières en la matière, qui avaient été élaborées à la suite des premières remontées de l'hémovigilance. Elles étaient destinées aux établissements de transfusion

sanguine et aux établissements de santé.
Elles sont désormais actualisées et évaluées grâce aux données recueillies par le système national d'hémovigilance depuis 1994 et aux résultats de l'étude BACTHEM, pilotée par le Centre national d'hémovigilance de novembre 1996 à novembre 1998.
D'autre part, une enquête a été effectuée auprès des laboratoires en 2001 par le groupe chargé par l'AFSSAPS de revoir les recommandations de 1995. Cette enquête montre une grande hétérogénéité des modalités de réalisation des examens microbiologiques sur les produits sanguins labiles (PSL), et explique les données de l'hémovigilance : en effet, 3/4 des cas notifiés en tant qu'incident transfusionnel par contamination bactérienne des produits sanguins labiles ne sont pas retenus, le plus souvent à cause de conditions de réalisation des examens microbiologiques qui ne permettent pas de conclure.
Pour mieux standardiser les modalités de réalisation des examens microbiologiques sur les produits sanguins labiles, le groupe a élaboré un cahier des charges destiné aux laboratoires de bactériologie, joint en annexe de la circulaire. Ce cahier des charges identifie un certain nombre d'exigences techniques, en particulier en matière de personnel, de conditions à respecter pour prélever le produit sanguin, de modalités de réalisation de l'examen microscopique et des cultures. Il est nécessaire que les personnels des laboratoires qui réaliseront les manipulations et les examens sur les produits sanguins labiles bénéficient d'une formation à l'établissement de transfusion sanguine.
Le cahier des charges prévoit par ailleurs une validation des techniques de culture. Cette validation devra être effectuée pour chaque type de produit sanguin labile, à chaque fois qu'une nouvelle technique sera mise en oeuvre par le laboratoire.
Par ailleurs, le groupe a souligné que les incidents transfusionnels par contamination bactérienne des produits sanguins labiles, leurs mécanismes et leur origine, sont toujours mal connus. Il propose de centraliser au niveau national les souches bactériennes impliquées, aux fins d'étude des souches en cause et pour repérer les incidents bactériens en lien avec un matériel ou avec les pratiques. Le groupe « validation des incidents transfusionnels par contamination bactérienne des produits sanguins labiles », mis en place à l'AFSSAPS pour examiner au cas par cas les incidents transfusionnels dont l'origine bactérienne est suspectée, pourra déterminer quelles seront les souches centralisées. Des recommandations complémentaires préciseront les critères de centralisation des souches, ses modalités pratiques et le lieu de cette centralisation.
La première partie des nouvelles recommandations, plus spécifiquement destinée aux établissements de santé, a pour objectif de mieux définir les éléments devant lesquels il faut envisager la survenue d'un incident transfusionnel par contamination bactérienne des produits sanguins labiles (ITCB) chez un patient transfusé.
La deuxième partie s'adresse aux laboratoires qui réalisent des examens microbiologiques sur les produits sanguins.

1. Recommandations aux établissements de santé (annexe I)

Il faut rappeler que :

- la prescription d'une transfusion sanguine est un acte médical ;
- la réalisation d'une transfusion est un acte thérapeutique délégué sous responsabilité médicale, qui impose une surveillance clinique étroite du patient transfusé afin de pouvoir dépister et prendre en charge dans les meilleurs délais tout incident survenant en son cours ou décours ;

- la transfusion doit être effectuée chaque fois que possible la journée plutôt que la nuit ;
- elle aura lieu après avoir vérifié la disponibilité, à proximité, d'un « **chariot d'urgence** » pour lequel la date de contrôle est conforme aux recommandations de l'établissement ;
- le médecin prescripteur doit pouvoir intervenir immédiatement auprès du patient transfusé sur simple appel. S'il s'absente, il doit prévenir le médecin de garde qu'une transfusion est en cours ;
- la transfusion aura lieu après avoir au minimum recueilli et consigné sur la feuille de surveillance transfusionnelle la température, le pouls, la tension artérielle et l'état de conscience du patient transfusé juste avant la transfusion. Ces paramètres serviront de repère à l'état basal pour l'interprétation de tout éventuel événement ultérieur ;
- la surveillance du patient doit être continue pendant les 15 premières minutes puis adaptée à l'état clinique du patient ultérieurement, y compris après arrêt de la transfusion ;
- pour toutes les transfusions, il est recommandé de conserver les poches de produits sanguins labiles au minimum 2 heures après la transfusion, ceci même en l'absence de toute réaction. Cette conservation se fera dans des conditions et dans un lieu définis selon une procédure spécifique à l'établissement de santé, après validation par le comité de sécurité transfusionnelle et d'hémovigilance de l'établissement.

2. Modalités d'application du cahier des charges (annexe II)

Les laboratoires qui souhaitent réaliser les examens microbiologiques sur les produits sanguins labiles se feront connaître auprès du coordonnateur régional d'hémovigilance.
Cette demande fera l'objet d'un courrier, dans lequel les laboratoires devront au minimum préciser :

- la liste des personnels habilités à réaliser les examens microbiologiques sur les produits sanguins labiles ;
- les modalités de formation spécifique de ces personnels à l'examen microbiologique des produits sanguins labiles ;
- la présence d'une **enceinte à flux laminaire** (au minimum classe 100) qui devra être utilisée pour manipuler les produits sanguins labiles ;
- la mise en place d'une validation préalable de la technique utilisée, dont le procès verbal doit être tenu à disposition des organismes de tutelle ;
- les modalités d'identification et de comparaison des souches retrouvées chez le receveur et dans le produit sanguin labile ;
- les modalités de conservation des souches bactériennes isolées dans le produit sanguin labile par le laboratoire.

En possession de ces éléments, et si nécessaire en suscitant d'autres candidatures, le coordonnateur régional d'hémovigilance recensera les laboratoires susceptibles de réaliser les examens bactériologiques sur les produits sanguins labiles.
Le coordonnateur régional d'hémovigilance présentera cette liste au pharmacien inspecteur régional de santé public et lui communiquera pour avis les éléments transmis par les laboratoires. Celui-ci, s'il le juge nécessaire et en accord avec le coordonnateur régional d'hémovigilance, pourra proposer un choix, particulièrement s'il considère que les laboratoires qui souhaitent réaliser des examens microbiologiques sur les PSL ne sont pas à même d'appliquer le cahier des charges diffusé par le biais

de la présente circulaire.
Dans un troisième temps, et à partir de la liste revue par le pharmacien inspecteur régional que le coordonnateur lui transmettra, l'ETS proposera un choix définitif en prenant en compte les particularités géographiques de la région et les circuits qu'il est préférable de mettre en place pour que les examens microbiologiques et immunologiques des PSL puissent être réalisés dans les meilleurs délais.
Au terme de ce circuit, la liste définitive des laboratoires retenus pour réaliser les examens microbiologiques sur les produits sanguins labiles sera établie par le coordonnateur régional d'hémovigilance et sera transmise, sous signature du directeur régional des affaires sanitaires et sociales, à l'établissement de transfusion sanguine et aux établissements de santé susceptibles d'utiliser des produits sanguins labiles. Copie de cette liste sera transmise au directeur de l'agence régionale d'hospitalisation (ARH) et aux directions départementales de l'action sanitaire et sociale (DDASS). Cette liste pourra être modifiée en tant que de besoin.
Dans le laboratoire, le cahier des charges sera complété par des procédures concernant la conservation et le transfert des produits sanguins labiles impliqués dans un incident transfusionnel par contamination bactérienne des produits sanguins labiles. Ces procédures définiront par ailleurs le document type qui servira à accompagner ces prélèvements. Le coordonnateur régional d'hémovigilance s'assurera, par le biais des comités de sécurité transfusionnelle et d'hémovigilance des établissements de santé, ou des **correspondants d'hémovigilance**, que ces procédures sont mises en place.
Le coordonnateur régional d'hémovigilance de la région concernée sera destinataire de l'ensemble des procédures concernant les incidents transfusionnels par contamination bactérienne mises en place sur la région.
Les laboratoires qui effectueront les examens microbiologiques sur les produits sanguins labiles seront soumis à un contrôle de qualité spécifique organisé par l'AFSSAPS, dont les modalités seront précisées ultérieurement. A cette fin, le coordonnateur régional d'hémovigilance transmettra la liste des laboratoires retenus dans sa région à l'AFSSAPS.
Vous voudrez bien nous rendre compte de toute difficulté que vous pourriez rencontrer dans la mise en oeuvre de ces instructions.

Le directeur général de la santé,
Pr W. Dab

Le directeur général de l'hospitalisation et de l'organisation des soins,
E. Couty

Le directeur général de l'Agence française de sécurité des produits de santé,
P. Duneton

ANNEXE I

RECOMMANDATIONS DESTINÉES AUX ÉTABLISSEMENTS DE SANTÉ CONCERNANT LES INCIDENTS TRANSFUSIONNELS PAR CONTAMINATION BACTÉRIENNE DES

PRODUITS SANGUINS LABILES

Quand suspecter un ITCB

Il faut savoir évoquer le diagnostic d'incident transfusionnel par contamination bactérienne devant des manifestations cliniques souvent peu spécifiques : toutes ces manifestations peuvent également être le fait de réactions immunologiques.
Pour information, l'étude Bacon sur les incidents transfusionnels par contamination bactérienne (Transfusion 2001 ; 41 : 1493-9), réalisée aux Etats-Unis entre janvier 1998 et décembre 2000, a retenu l'apparition d'un des critères ci-dessous dans les 90 minutes après le début de la transfusion pour évoquer la survenue d'un incident transfusionnel par contamination bactérienne :

- température 39 °C ou augmentation de la température basale 2 °C ;
- frissons ;
- tachycardie 120/mn ou augmentation de la fréquence cardiaque basale 40/mn ;
- augmentation ou baisse de la pression artérielle systolique 30 mm de Hg.

En outre :

- tout incident transfusionnel par contamination bactérienne survenant au cours ou au décours d'une transfusion peut avoir une autre origine que le produit sanguin lui-même : il peut s'agir d'une décharge bactérienne provenant d'un foyer infectieux préexistant ou d'une infection du cathéter veineux central, d'une chambre implantable, etc. ;
- une antibiothérapie en cours, même à large spectre chez le receveur, ne permet pas d'écarter l'hypothèse d'un incident transfusionnel par contamination bactérienne. En effet, plusieurs cas de ce type ont été rapportés par l'étude Bacthem, pilotée par le Centre national d'hémovigilance de novembre 1996 à novembre 1998, y compris avec des bactéries sensibles aux antibiotiques reçus par le receveur pendant la transfusion (Transfusion clin biol ; 1998, 5 : 203-210).

Aspects cliniques

Etat de choc :
30 % des incidents transfusionnels par contamination bactérienne recensés par l'étude Bacthem se sont manifestés par un état de choc.
Dans cette étude, l'état de choc est survenu dans les 90 minutes suivant le début de la transfusion chez la moitié des patients, et dans un délai de 2 heures chez 75 % des patients.
Les premières manifestations cliniques pouvant apparaître immédiatement ou jusqu'à plus de 12 heures après la transfusion. L'état de choc peut associer :

- tachycardie, hypotension ;
- marbrures, polypnée ;
- habituellement hyperthermie, parfois hypothermie, mais les troubles de la régulation

thermique peuvent être absents ou retardés chez les sujets âgés ou porteurs de maladie grave sous-jacente ;
- manifestations cliniques diverses qui peuvent s'y associer (voir ci-dessous).

Des manifestations cliniques moins évocatrices isolées ou associées peuvent précéder l'état de choc ou résumer la symptomatologie de la complication bactérienne. Parmi elles, l'étude Bacthem a relevé les principales manifestations suivantes :

- dyspnée, cyanose ;
- angoisse, troubles du comportement, troubles de la conscience ;
- malaise général ;
- oligurie ;
- signes digestifs : nausées, vomissements, diarrhées ;
- douleurs : vertébrales, thoraciques, abdominales ;
- syndrome hémorragique ;
- érythème.

Le cas particulier de la réaction frissons hyperthermie isolée

La responsabilité précise de l'étiologie bactérienne dans la survenue de réactions frissons hyperthermie isolées est difficile à déterminer. Dans la majorité des cas, la réaction frissons hyperthermie est considérée comme étant de nature immunologique. Selon les données des incidents transfusionnels analysées par l'unité hémovigilance de l'AFSSAPS, de 1994 à 2000, l'origine bactérienne est évoquée dans 2 à 3 % des incidents de ce type. Lorsqu'un patient présente une réaction frissons hyperthermie isolée, la difficulté consiste pour le soignant à ne pas méconnaître une éventuelle origine bactérienne.
Chez les polytransfusés chroniques itératifs, la réaction frissons hyperthermie peut être constante au point de justifier une prémédication avant transfusion. Chez ces patients, la surveillance clinique est particulièrement importante puisque c'est devant l'apparition du moindre symptôme inhabituel que l'on devra évoquer un incident transfusionnel par contamination bactérienne.

Mesures à prendre en cas de suspicion d'incident transfusionnel par contamination bactérienne

1. Immédiatement

1.1. Arrêter la transfusion, conserver la voie veineuse à l'aide d'une nouvelle tubulure et avec un nouveau soluté.
1.2. Appeler le médecin pour prise en charge du malade : un état de choc ou toute autre situation clinique préoccupante impose la mise en route de mesures symptomatiques appropriées.
1.3. Faire pratiquer au moins deux hémocultures, si possible à une heure d'intervalle, même si le patient est déjà sous antibiotiques, et débuter une antibiothérapie probabiliste sans attendre les résultats microbiologiques si le tableau clinique et/ou la gravité de l'incident sont fortement évocateurs d'un incident transfusionnel par contamination bactérienne des PSL.

1.4. Relever et noter les éléments de surveillance du patient.
1.5. Informer immédiatement l'établissement de transfusion sanguine de manière à ce qu'il puisse bloquer les produits sanguins labiles issus du même don.

2. Dans un second temps

2.1. L'aiguille de perfusion sera retirée, la tubulure de transfusion, non dissociée de la poche, sera clampée hermétiquement (pince, clamp ou soudure), et le produit sanguin impliqué (poche déjà transfusée ou en cours de transfusion) devra être isolé dans un sac en plastique identifié. Si plusieurs produits sont suspectés, ils devront être conservés dans des sacs plastiques séparés.
2.2. Le ou les produit(s) sanguin(s) impliqué(s) seront conservé(s) dans le service (procédures locales), dans des conditions qui permettront une analyse microbiologique ultérieure (la conservation à + 4 °C est préférable).
2.3. Il sera secondairement transféré dans les meilleurs délais au laboratoire selon une procédure préétablie avec les différents intervenants au sein de l'établissement de soins. Le circuit le plus rapide sera privilégié et sera défini dans une procédure validée par le CSTH de l'établissement, ou, à défaut, par le **correspondant d'hémovigilance**.
Le transport du ou des produits en cause sera effectué dans les conditions habituellement utilisées dans l'établissement pour faire parvenir les prélèvements microbiologiques au laboratoire.
Les conditions de transport du PSL en cause devront être adaptées à la durée prévue du transport. Si le délai d'acheminement est inférieur à 2 heures, le PSL en cause pourra être adressé au laboratoire de microbiologie à température ambiante. Au-delà de 2 heures, il devra être réalisé à + 4°, ce qui nécessite l'utilisation d'une caisse isotherme avec un dispositif de production de froid.
Si les conditions précédentes n'ont pas été respectées, la décision de réaliser ou non l'examen microbiologique sera laissée à l'initiative du responsable du laboratoire (recevabilité de l'échantillon).
Le modèle de demande d'examen qui devra être utilisé sera défini dans les procédures locales.

Premières informations à recueillir pour documenter l'incident transfusionnel

Le **correspondant d'hémovigilance** de l'établissement de santé, informé de l'incident, recueillera, en étroite collaboration avec le clinicien, toutes les informations utiles.
Si les produits issus du même don ont été distribués, le **correspondant d'hémovigilance** de l'établissement de transfusion sanguine, en collaboration avec le ou les correspondant(s) d'hémovigilance de(s) l'établissement(s) de santé s'informera de l'état clinique des receveurs, précisera les examens complémentaires jugés nécessaires et fera prendre toutes les mesures utiles à la sécurité des patients transfusés.
La survenue d'une suspicion d'incident transfusionnel d'origine bactérienne impose une concertation entre le clinicien, le bactériologiste, le responsable de la distribution de l'ETS et les correspondants d'hémovigilance pour en déterminer le niveau de gravité et le degré d'imputabilité, ils consigneront leurs avis motivés. Une Fiche d'incident transfusionnel (FIT)

sera rédigée et transmise selon les modalités habituelles.
Toutes les informations devront être transmises sans délai au coordonnateur régional d'hémovigilance.
Le praticien en hygiène hospitalière sera informé de l'incident.
Rappel des procédures à mettre en place dans le cadre des recommandations concernant les incidents transfusionnels par contamination bactérienne des produits sanguins labiles

Par l'établissement de santé

Procédure de conservation des poches de produits sanguins labiles au minimum 2 heures après la transfusion pour toutes les transfusions, même en l'absence d'incident : conditions et lieu à définir, validation de la procédure par le comité de sécurité transfusionnelle et d'hémovigilance de l'établissement ou, à défaut, par le correspondant d'hémovigilance.

Par l'établissement de santé en collaboration avec le laboratoire de microbiologie et l'établissement de transfusion sanguine

Procédures de conservation et de transfert des produits sanguins labiles impliqués dans un incident transfusionnel par contamination bactérienne des produits sanguins labiles (le circuit le plus rapide sera privilégié). Ces procédures définiront le document type qui servira à accompagner ces prélèvements. Validation de la procédure par le comité de sécurité transfusionnelle et d'hémovigilance de l'établissement ou, à défaut, par le correspondant d'hémovigilance
Le coordonnateur régional d'hémovigilance de la région concernée sera destinataire de l'ensemble des procédures concernant les incidents transfusionnels par contamination bactérienne mises en place sur la région et il s'assurera, par le biais des comités de sécurité transfusionnelle et d'hémovigilance des établissements de santé, ou des correspondants d'hémovigilance, que ces procédures sont mises en place.
Mesures à prendre au niveau des établissements de transfusion sanguine en cas de suspicion d'incident transfusionnel par contamination bactérienne des produits sanguins labiles
Une procédure générale codifie les mesures à prendre en cas de suspicion d'incident transfusionnel par contamination bactérienne des produits sanguins labiles.

I. - Communication immédiate entre le service clinique et l'établissement de transfusion sanguine (ETS)

1. Au niveau de l'Etablissement de transfusion sanguine (ETS), l'information est enregistrée avec l'heure de l'appel sur une fiche de recueil comprenant les renseignements concernant le malade, la réaction, le ou les produits incriminés, leurs origines et leurs identifications.
Devant un tableau évocateur d'une cause bactérienne, l'ensemble des produits administrés au cours de l'épisode transfusionnel (produits déjà transfusés et en cours de transfusion) est potentiellement en cause.
Le médecin de l'établissement de transfusion sanguine fait préciser en particulier le circuit des produits sanguins labiles concernés, les modalités d'une éventuelle conservation, celles

de la transfusion et la chronologie des différentes étapes depuis la distribution jusqu'aux symptômes.
2. En collaboration avec l'équipe clinique, le médecin de l'ETS veille à la bonne réalisation des investigations sur le ou les produits incriminés :

- en les faisant adresser en urgence à un laboratoire de bactériologie défini dans la procédure de l'ETS ;
- en veillant à ce que, dès que les prélèvements pour investigations bactériologiques auront été effectués, le ou les produits incriminés soient acheminés à l'établissement de transfusion sanguine pour examens immuno-hématologiques et contrôle de l'intégrité de la poche ;
- en identifiant le fabricant de la poche, son modèle : le numéro et la date de péremption du lot seront relevés, de même que le type de produit sanguin, le numéro de don, la date de prélèvement et de péremption, éventuellement par le biais d'une photocopie de la poche.

La recherche soigneuse d'un défaut d'intégrité de la poche doit permettre de mettre en évidence une perforation ou une soudure défaillante. En cas de négativité, la recherche d'une autre cause de contamination éventuelle doit être entreprise.
Dans un deuxième temps, si une cause bactérienne ne peut être exclue ou si l'examen bactériologique direct révèle une contamination, lorsque l'examen de la poche n'a pas révélé de défaut, une recherche approfondie d'une anomalie de la poche doit être réalisée, ceci en collaboration avec le fabricant de poches et l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS).

II. - Informations nécessaires à l'établissement de transfusion sanguine pour prendre une décision

Les informations suivantes doivent être recueillies dans le cadre de la recherche de la cause de la contamination :

- autres accidents évoquant une étiologie bactérienne contemporains ou bactériologie positive sur un ou des PSL non distribués ;
- anomalie de la poche retrouvée à l'examen du PSL ;
- individualisation d'une anomalie isolée exposant au risque bactérien au cours des étapes suivants :
- PSL préparé en ouvert ;
- PSL d'aphérèse ;
- circuit du PSL.
- don présentant un risque au plan bactériologique :
- donneur s'avérant infecté en post-don : l'examen clinique du donneur peut, le cas échéant, mettre en évidence un épisode clinique révélateur d'une éventuelle bactériémie ou d'un foyer infectieux passés inaperçus au moment de la sélection des donneurs ou découvert postérieurement au prélèvement ;
- bactériologie positive sur les autres PSL du même don et souche bactérienne

compatible avec une bactériémie du donneur ou une contamination au prélèvement ;
- le cas échéant, résultats de la bactériologie réalisée sur d'autres PSL préparés avec le même procédé.

III. - Premiers résultats des investigations bactériologiques

La présomption de la nature du germe cultivé à partir du PSL incriminé peut constituer un élément d'orientation.
Les résultats de culture des autres produits dérivés du don peuvent attirer l'attention sur le contenant primaire, sur la technique de prélèvement, sur le circuit des prélèvements ou sur l'existence possible d'une bactériémie chez le donneur.
La mise en culture d'un nombre représentatif d'autres produits préparés sur le même lot ou sur des lots différents mais par le même procédé peut attirer l'attention sur un matériel ou un procédé.
L'ETS doit, en collaboration avec le fabricant, s'assurer que les mesures nécessaires ont bien été prises. Il informe l'EFS siège et L'AFSSAPS de l'évolution de l'enquête.
En règle générale, toute mise en évidence d'une anomalie de la poche impose que celle ci soit conservée aux fins d'analyses ultérieures.
Une procédure générale codifie le rappel des produits prélevés sur le lot ou à partir du dispositif suspect (tous produits élaborés depuis la date de mise en service), et la substitution d'un autre lot de consommables.

Conclusion

En possession d'un certain nombre d'éléments d'appréciation tels que :

- le type de germe ;
- l'existence ou non d'une rupture d'intégrité du contenant ;
- le caractère répétitif ou non de l'anomalie ;
- la concordance du germe dans les PSL issus du même don, préparés sur le même lot, ou à partir du même dispositif ou par le même procédé.

Une décision doit être prise sur le devenir des autres PSL bloqués ou des consommables du même lot.
Le **correspondant d'hémovigilance**, le responsable qualité, ou le médecin de garde en dehors des heures ouvrables se charge d'informer l'EFS siège, l'AFSSAPS et le fabricant dans les plus brefs délais pour compléter hors de l'établissement de transfusion sanguine le rappel et initialiser toute enquête étiologique nécessaire.

ANNEXE II

CAHIER DES CHARGES CONCERNANT LES MODALITÉS DE RÉALISATION DES

EXAMENS MICROBIOLOGIQUES SUR LES PRODUITS SANGUINS LABILES EN CAS DE SUSPICION D'INCIDENT TRANSFUSIONNEL PAR CONTAMINATION BACTÉRIENNE DES PRODUITS SANGUINS LABILES

TABLE DES MATIÈRES

1. Contexte
2. Situation actuelle
3. Objet et destination
4. Références
5. Exigences techniques particulières
5.1. Personnel
5.2. Conditions à respecter pour prélever le produit sanguin
5.2.1. Manipulations du PSL en cause
5.2.2. Prélèvement des échantillons
5.3. Réalisation de l'examen microscopique et des cultures
5.3.1. Réalisation de l'examen microscopique
5.3.2. Réalisation des cultures
5.3.2.1. Milieux solides
5.3.2.2. Milieux liquides
5.3.2.3. Conduite à tenir
5.4. Validation préalable de la technique
5.4.1. Objectifs
5.4.2. Méthode
5.5. Résultat des investigations microbiologiques
5.5.1. Modalités de présentation du résultat des investigations microbiologiques par le laboratoire
5.5.1.1. Recevabilité de l'échantillon à préciser systématiquement (recevable ou non en référence à la procédure de transport de la poche). Préciser les conséquences sur l'analyse microbiologique (analyse difficile, voire impossible, à cause de l'état de la poche)
5.5.1.2. Résultat
5.5.1.3. L'interprétation du résultat microbiologique portée en conclusion des résultats transmis sera réalisée en collaboration avec le clinicien et l'ETS
5.5.1.4. Transmission des résultats
5.6. Identification et comparaison des souches retrouvées chez le receveur et dans le PSL
5.6.1. Hémocultures
5.6.2. Comparaison des souches
5.7. Conservation des souches
5.8. Centralisation nationale des souches
5.8.1. Objectifs
5.8.2. Souches conservées
6. Prise en charge financière
7. Pièces jointes
8. Glossaire

1. Contexte

Les premières recommandations concernant les incidents transfusionnels par contamination bactérienne (ITCB) des produits sanguins labiles (PSL) ont été élaborées par l'Agence française du sang en 1995. Elles faisaient suite aux retours d'informations initiales relatives aux incidents transfusionnels par le biais du système national d'hémovigilance, mis en place dès 1994.
L'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS), qui assure depuis 1999 la mise en oeuvre de l'hémovigilance, a souhaité une actualisation de ces recommandations.

2. Situation actuelle

730 suspicions d'incidents transfusionnels d'origine bactérienne ont été notifiées entre mai 1994 et le 1er janvier 1999, 185 cas susceptibles d'être liés à une contamination bactérienne du produit sanguin labile ont été retenus. A ces incidents s'ajoutent 92 incidents avec culture positive d'imputabilité supérieure à 1 qui ont été déclarés de janvier 1999 au 30 avril 2002. Ces incidents ont été analysés au cas par cas, mais n'ont pas fait l'objet d'une étude systématisée, comme cela avait été fait dans l'étude Bacthem, réalisée par le Centre national d'hémovigilance entre 1997 et 1998.
Dans le cadre des travaux du groupe « Incidents transfusionnels par contamination bactérienne des PSL », mis en place par l'Afssaps début 2000, une enquête a été effectuée auprès des laboratoires sur les modalités de réalisation des examens microbiologiques sur les PSL. Cette enquête montre une grande hétérogénéité des pratiques, ce qui rejoint les observations du groupe qui souligne que 74 % des cas notifiés en tant qu'ITCB ne sont pas retenus, le plus souvent, du fait d'une réalisation des examens microbiologiques dans des conditions qui ne permettent pas de conclure.

3. Objet et destination

Ce cahier des charges a pour but de définir les exigences à respecter pour effectuer les expertises microbiologiques des produits sanguins labiles dans le cadre des incidents transfusionnels liés (ou supposés tels) à la contamination microbiologique du PSL.
En effet, il a été décidé d'encadrer les modalités de réalisation des examens microbiologiques sur le produits sanguins labiles. Le présent cahier des charges devra être appliqué par les laboratoires de bactériologie s'ils veulent effectuer des recherches microbiologiques sur les PSL.
Les laboratoires retenus pour effectuer des examens microbiologiques sur le produits sanguins labiles seront soumis à un contrôle de qualité spécifique organisé par l'Afssaps.

4. Références

Les laboratoires qui réalisent les recherches microbiologiques sur les produits sanguins labiles devront appliquer le GBEA et répondre au présent cahier des charges.

5. Exigences techniques particulières

5.1. Personnel

Le personnel chargé de la manipulation des PSL disposera des caractéristiques des produits sanguins labiles.
Le personnel sera formé et habilité par le responsable du laboratoire (liste des personnels habilités enregistrés).

5.2. Conditions à respecter pour prélever le produit sanguin

Manipulations du PSL en cause

Dans une **enceinte à flux laminaire** (au minimum classe 100).
Avec des matériels et des réactifs validés et contrôlés selon une procédure écrite.

Prélèvement des échantillons

L'opérateur, après s'être lavé les mains, met des gants.
Désinfecter les surfaces à ponctionner avec de l'alcool iodé à 1 % ou un désinfectant équivalent.
Utiliser la cheminée de perfusion restée stérile, en veillant à ne pas perforer la paroi de la poche, en se servant des dispositifs disponibles dans les établissements de transfusion sanguine pour les prélèvements stériles multiples (Sampling coupler - voir annexe - si la poche n'a plus de cheminée de perfusion stérile).
Prélever avec une seringue montée stérile, utilisée pour chaque inoculation des milieux de culture, ou tout autre dispositif stérile de transfert.
Dans le cas d'un PSL transfusé intégralement : ensemencer le liquide recueilli après rinçage de la poche avec 20 ml de liquide stérile.

5.3. Réalisation de l'examen microscopique et des cultures

5.3.1. Réalisation de l'examen microscopique

Coloration de GRAM et/ou, selon les cas, tout autre coloration que le biologiste juge nécessaire.
Prévenir dans les meilleurs délais le service clinique et l'établissement de transfusion sanguine quel qu'en soit le résultat.
Examen microscopique positif sur le produit : ensemencer également des échantillons prélevés sur des tubulures scellées attenantes au produit.

5.3.2. Réalisation des cultures

5.3.2.1. Milieux solides
Ensemencer 0,1 ml du produit sur gélose au sang de cheval ou de mouton incubée à 37 °C en aérobiose pendant 48 heures.
Ensemencer une deuxième gélose au sang de cheval ou de mouton incubée à 37 °C en anaérobiose pendant 5 jours.
5.3.2.2. Milieux liquides

Ensemencer 5 ml du produit dans un milieu pour hémoculture référencé et enregistré à l'Afssaps et incubé à 37 °C en aérobie.
Ensemencer 5 ml du produit dans un milieu pour hémoculture référencé et enregistré à l'Afssaps et incubé à 37 °C en anaérobie.
Les cultures en milieu liquide seront observées tous les jours à la recherche de signes de croissance et conservées 10 jours.
Si le laboratoire utilise un automate, le volume de PSL ensemencé sera en conformité avec le volume optimal conseillé par le fabricant. La durée d'incubation sera celle pour laquelle l'automate a été validé.
Le biologiste pourra au vu de l'examen microscopique ensemencer tout autre milieu jugé nécessaire.
5.3.2.3. Conduite à tenir
Dans le cas de milieux liquides positifs, il convient de réaliser :

- un nouvel examen microscopique ;
- un repiquage systématique des flacons.

Pour les flacons aérobies, sur :

- gélose au sang de cheval ou de mouton incubée à 37 °C pendant 48 heures ;
- gélose de type Sabouraud ou équivalent incubée à une température de 20 °C à 25 °C pendant 5 jours.

Pour les flacons anaérobies, sur :

- gélose au sang de cheval ou de mouton incubée à 37 °C en aérobie pendant 48 heures ;
- gélose au sang de cheval ou de mouton incubée à 37 °C en anaérobie pendant 5 jours.

En fonction de l'examen microscopique, le repiquage pourra être effectué sur tout autre milieu adapté.
En cas de positivité, si d'autres produits issus du même don sont disponibles à l'établissement de transfusion sanguine, ils seront étudiés séparément et selon les mêmes modalités.

5.4. Validation préalable de la technique

5.4.1. Objectifs

La validation sera réalisée pour chaque type de produit sanguin labile (concentrés de globules rouges, plaquettes, plasma), à partir de PSL fournis par l'ETS.
Pour vérifier que la nature du PSL n'interfère pas avec la méthode choisie.
Cette validation sera réalisée à chaque mise en oeuvre d'une nouvelle technique de culture par le laboratoire.

5.4.2. Méthode

Inoculation volontaire des PSL pour obtenir une contamination expérimentale de 10^2 germes dans 5 ml de PSL qui doit être détectée par la méthode retenue.
Les micro-organismes de validation :

MICROORGANISMES D'ESSAI APPROPRIÉS POUR LES TESTS DE CROISSANCE et de validation (recommandations de la pharmacopée européenne - Edition 2002) :	
Espèce	**Souches appropriées**
Type : bactéries aérobies	
Staphylococcus aureus	ATCC 6538 CIP 4.83
Bacillus subtilis	ATCC 6633 CIP 52.62
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 9027 CIP 82.118
Type : bactéries anaérobies	
Clostridium sporogenes	ATCC 19404 CIP 79.3
Type : levures et moisissures	
Candida albicans	ATCC 10231 IP 4872
Aspergillus niger	ATCC 16404

Les résultats de la validation feront l'objet d'un procès verbal qui comprendra la procédure, les résultats bruts et leur interprétation, pour chaque type de PSL. Il sera tenu à disposition du partenaire de la convention et des organismes de tutelles.

5.5. Résultat des investigations microbiologiques

5.5.1. Modalités de présentation du résultat des investigations microbiologiques par le laboratoire

5.5.1.1. Recevabilité de l'échantillon à préciser systématiquement (recevable ou non en référence à la procédure de transport de la poche). Préciser les conséquences sur l'analyse microbiologique (analyse difficile, voire impossible, à cause de l'état de la poche)
5.5.1.2. Résultat

- négatif : le résultat transmis précise les résultats de chaque étape et l'interprétation définitive, notamment au regard des critères de recevabilité ;
- positif identifier le germe et recenser l'ensemble des éléments microbiologiques pour analyse et comparaison, à savoir : tous les prélèvements pré et post transfusionnels disponibles du receveur, les prélèvements du donneur, et les PSL provenant du même don.

Le laboratoire s'assurera que la poche soit conservée jusqu'à la réponse définitive concernant le résultat des cultures.

5.5.1.3. L'interprétation du résultat microbiologique portée en conclusiondes résultats transmis sera réalisée en collaboration avec le clinicien et l'ETS
5.5.1.4 Transmission des résultats
Les résultats devront être transmis sans délai pour permettre la mise en oeuvre des mesures de sauvegarde le cas échéant. Une procédure règlera les modalités de transmission des résultats.
Les destinataires seront :

- le clinicien chargé du suivi du receveur ;
- le **correspondant d'hémovigilance** de l'établissement de transfusion sanguine ;
- le **correspondant d'hémovigilance** de l'établissement de santé.

5.6. Identification et comparaison des souches retrouvées chez le receveur et dans le PSL

5.6.1. Hémocultures

En cas de suspicion d'ITCB, lorsque les hémocultures du receveur sont positives, les souches en cause seront adressées par le laboratoire qui a effectué l'isolement au laboratoire qui a réalisé la recherche microbiologique sur le PSL.

5.6.2. Comparaison des souches

Les souches retrouvées chez le receveur et dans le PSL seront identifiées et comparées par ce laboratoire. Il identifiera les souches par les moyens phénotypiques actuellement disponibles, et, si nécessaire, mettra en oeuvre une méthode de comparaison génotypique. Si elle n'est pas possible sur place, cette expertise sera déléguée.

5.7. Conservation des souches

Les souches isolées, aussi bien dans l'hémoculture du receveur que dans le PSL, seront conservées, selon les modalités habituelles, par le laboratoire qui a effectué la comparaison, jusqu'à la centralisation nationale.

5.8. Centralisation nationale des souches

5.8.1. Objectifs

Les souches bactériennes impliquées dans les ITCB seront centralisées dans une banque nationale spécifique pour étude et comparaisons ultérieures.
A cet effet, une banque nationale de conservation des souches sera créée. Elle procèdera à une nouvelle identification et conservera les souches par congélation, à - 80° C.

5.8.2. Souches conservées

La centralisation des souches isolées chez le patient et/ou dans la poche se fera à la demande du groupe de validation des ITCB, mis en place par l'AFSSAPS pour analyser chaque incident transfusionnel pour lequel une origine bactérienne est suspectée.

6. Prise en charge financière

L'expertise microbiologique des PSL sera financièrement prise en charge par l'Etablissement de transfusion sanguine dès lors que le contrôle de stérilité est réalisé dans le cadre d'une suspicion d'incident transfusionnel par contamination bactérienne du ou des PSL et qu'il est décidé d'un commun accord entre le correspondant d'hémovigilance de l'établissement de transfusion sanguine, ou à défaut son représentant médical, le correspondant d'hémovigilance de l'établissement de santé, et le clinicien qui a la responsabilité du patient transfusé.

7. PIÈCES JOINTES

Un document annexe comprenant des illustrations pour éclairer la partie pratique des manipulations sur les poches.
Un glossaire proposant des définitions.

Description du matériel
Glossaire

Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS) : un des établissements publics de l'Etat créé par la loi du 1er juillet 1998 relative au renforcement du dispositif de la veille sanitaire et du contrôle de la sécurité sanitaire des produits destinés à l'homme. Autorité sanitaire déléguée placée sous la tutelle du ministère de la santé, l'AFSSAPS assure la protection de la santé publique pour l'ensemble des produits de santé destinés à l'homme. L'AFSSAPS a pour mission d'évaluer, de contrôler et d'inspecter l'ensemble de ces produits. Elle assure également la fonction de vigilance et d'alerte sanitaire et dispose d'un pouvoir en matière de police sanitaire.
BACTHEM : étude cas témoins réalisée par le Centre national d'hémovigilance (CNH) de 1997 à 1999, sous l'égide de l'Agence française du sang, et dont l'objectif était d'identifier les déterminants des incidents transfusionnels liés à des contaminations bactériennes. Cette étude est terminée et le CNH a cessé ses activité.
Centralisation nationale des souches : moyens mis en oeuvre pour assurer à l'échelle nationale la collection, la conservation et l'étude des souches bactériennes identifiées comme étant à l'origine d'un ITCB.
Coordonnateur régional d'hémovigilance : médecin praticien hospitalier ou possédant les qualifications équivalentes, doté d'une expérience en transfusion sanguine, placé auprès de chaque directeur régional des affaires sanitaires et sociales et chargé de la mise en oeuvre régionale de l'hémovigilance.
Correspondant d'hémovigilance d'établissement de santé : médecin ou pharmacien désigné par le directeur dans chaque établissement de santé, public ou privé et qui est chargé d'appliquer les règles d'hémovigilance dans son établissement.
Correspondant d'hémovigilance d'établissement de transfusion sanguine : médecin ou pharmacien désigné par le président de l'Etablissement français du sang et qui est chargé d'appliquer les règles d'hémovigilance dans son établissement.

Etablissement français du sang (EFS) : établissement public de l'Etat créé par la loi du 1er juillet 1998 relative au renforcement du dispositif de la veille sanitaire et du contrôle de la sécurité sanitaire des produits destinés à l'homme, placé sous la tutelle du ministre de la santé, opérateur unique qui assure le prélèvement des donneurs de sang, la préparation, la qualification et la distribution des produits sanguins labiles.
Etablissement de transfusion sanguine (ETS) : établissement local de l'EFS ou du centre de transfusion sanguine des armées (CTSA), sans personnalité morale, dont le directeur agit par délégation du président de l'EFS ou du CTSA.
Fiche d'incident transfusionnel (FIT) : support de la notification d'un incident transfusionnel.
Groupe de validation des ITCB : groupe de travail, constitué d'experts, mis en place par l'AFSSAPS, pour expertiser et valider les incidents transfusionnels pour lequel une origine bactérienne est suspectée. Il peut être amené à solliciter le laboratoire de microbiologie pour toute expertise complémentaire et pour mettre en place les enquêtes étiologiques. Les décisions de centralisation des souches seront prises par ce groupe.
Incident transfusionnel : réaction clinique ou biologique anormale chez un receveur de produit sanguin labile, quelle qu'en soit l'étiologie, survenue à l'occasion ou dans les suites de la transfusion.
Incident transfusionnel par contamination bactérienne du produit sanguin labile (ITCB) : incident survenant au cours ou au décours d'une transfusion sanguine chez un receveur de produits sanguins labiles, dû à la présence de bactéries dans le produit sanguin labile.
Produit sanguin labile (PSL) : produit fini préparé à partir du sang ou de ses composants, destiné à la transfusion ou à la fabrication des médicaments dérivés du sang. La liste des produits sanguins labiles a fait l'objet de l'arrêté du 30 mars 1998 publié au *Journal officiel* du 5 avril 1998. Elle est mise à jour en tant que de besoin.

Les données figurant dans HosmaT sont présentées uniquement pour faciliter l'accès des professionnels à l'information essentielle. Aux fins d'interprétation et d'application, seule fait foi la publication du *Ministère de la Santé*.

---

http://www.hosmat.fr