|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | Principe | | | | | |
|  | | Pour déterminer le temps optimal de centrifugation lors des épreuves d’agglutination. | | | | | |
|  | | Portée et politiques connexes | | | | | |
|  | | 2.1 | | La vitesse de rotation et la minuterie de toute centrifugeuse doivent être réglées lors de l'installation, après tout entretien et maintenu selon les recommandations du fabricant9.1 ou aux six mois par la suite. | | | |
|  | | 2.2 | | Le temps optimal de centrifugation de chaque centrifugeuse sérologique doit être déterminé lors de l'installation, après toute réparation et annuellement par la suite. | | | |
|  | | 2.3 | | Il faut garder des dossiers pendant toute la durée de vie de l’appareil et les cinq années qui suivent9.1. | | | |
|  | | 2.4 | | Il faut mettre sur l’appareil une étiquette indiquant la date du dernier étalonnage et celle où le prochaine étalonnage devrait être fait9.2. | | | |
|  | | Échantillons – S.O. | | | | | |
|  | | Matériel | | | | | |
|  | | **Équipement** : centrifugeuse sérologique  manuel du propriétaire de la centrifugeuse  chronomètre  **Fournitures :** tubes  formulaire d’étalonnage fonctionnel d’une centrifugeuse sérologique (CAQ.007F)  **Réactifs :** antisérums (même périmés)  cellules positives pour l'antigène (correspondant à l'anticorps présent dans l’antisérum servant au CQ)  cellules négatives pour l'antigène (correspondant à l'anticorps présent dans l’antisérum servant au CQ)  solution de potentialisation (PEG ou SFCI)  anti-IgG  solution saline normale  plasma | | | | | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | |
|  | | Contrôle de la qualité – S.O. | | | | | |
|  | | Procédure | | | | | |
|  | 6.1 | | Au moment de la réception (et de la vérification prévue) de la centrifugeuse sérologique ou après toute réparation : | | | | |
|  |  | | 6.1.1 | | Installer l'appareil conformément aux directives du fabricant. S'assurer de garder le manuel du propriétaire à portée de la main. | | |
|  |  | | 6.1.2 | | Vérifier la minuterie. Voir la Remarque 8.1. | | |
|  |  | |  | | 6.1.2.1 | Mettre la minuterie en marche pour 10 secondes et mettre immédiatement le chronomètre en marche. | |
|  |  | |  | | 6.1.2.2 | Dès que la centrifugeuse commence à décélérer, arrêter le chronomètre. Voir la remarque 8.2. | |
|  |  | |  | | 6.1.2.3 | Comparer le temps de centrifugation au temps chronométré. | |
|  |  | |  | | 6.1.2.4 | Inscrire le temps sur le formulaire CAQ.007F. | |
|  |  | |  | | 6.1.2.5 | Répéter les étapes 6.1.2.1 à 6.1.2.4 en réglant le temps à 15, 20, 30 et 45 secondes. | |
|  |  | |  | | 6.1.2.6 | Vérifier la minuterie conformément aux recommandations du fabricant aux six (6) mois si rien n’a été précisé | |
|  | |  | | 6.1.3 | Exécuter un étalonnage fonctionnel du temps optimal de centrifugation lors des épreuves d’agglutination. | | |
|  | |  | |  | 6.1.3.1 | Préparer une dilution d’antisérum : | |
|  | |  | |  |  | * Préparer une dilution progressive de raison 2 d’antisérum (p. ex. anti-C ou anti-D) jusqu’à 512. Voir la remarque 8.3. Prendre du plasma comme solution de dilution. | |
|  | |  | |  |  | * Tester chaque dilution avec une cellule positive connue en se servant de la méthode à l’antiglobuline utilisée de routine au laboratoire (p.ex. SFCI, PEG ou solution saline). | |
|  | |  | |  |  | * Choisir la dilution qui suscite une forte réaction de niveau 1 aux cellules positives. C'est la « dilution optimale ». | |
|  | |  | |  |  | * Inscrire la « dilution optimale » sur le formulaire CAQ.007F. Jeter les tubes à titrage. | |
|  | |  | |  |  | * Diluer l’antisérum commercial avec la même solution que celle utilisée pour faire le titrage jusqu'à l’obtention d’un volume final de 5 mL. | |
|  | |  | |  | 6.1.3.2 | Étiqueter 10 tubes comme suit : 10+, 10-, 15+, 15-, 20+, 20- 30+, 30-, 45+, 45-. | |
|  | |  | |  | 6.1.3.3 | Ajouter 2 gouttes de l'antisérum dilué à chaque tube. | |
|  | |  | |  | 6.1.3.4 | Ajouter 1 goutte de cellules positives pour l’antigène dans les tubes 10+, 15+, 20+, 30+ et 45+. | |
|  | |  | |  | 6.1.3.5 | Ajouter 1 goutte de cellules négatives pour l’antigène aux tubes 10-, 15-, 20-, 30- et 45-. | |
|  | |  | |  | 6.1.3.6 | Ajouter 2 gouttes de solution de potentialisation à chaque tube. Omettre si l’on exécute un TIA avec une solution saline. | |
|  | |  | |  | 6.1.3.7 | Incuber les tubes pendant 15 minutes à 37 oC.  (30 à 60 minutes si l'on exécute un TIA avec une solution saline). | |
|  | |  | |  | 6.1.3.8 | Après l’incubation, laver les tubes 4 fois. Voir la remarque 8.3. | |
|  | |  | |  | 6.1.3.9 | Retirer les tubes du laveur de cellules, sauf les tubes 10+ et 10-, et mettre de côté. | |
|  | |  | |  | 6.1.3.10 | Immédiatement avant la centrifugation, ajouter 2 gouttes d’anti-IgG aux tubes 10+ et 10-. | |
|  | |  | |  | 6.1.3.11 | Centrifuger les tubes pendant 10 secondes dans l’appareil (c.à.d. centrifugeuse ou laveur de cellule) à étalonner. | |
|  | |  | |  | 6.1.3.12 | Retirer les tubes de la centrifugeuse ou du laveur de cellules et vérifier l’apparence des éléments suivants :   * surnageant (est-il limpide?) * bouton cellulaire (est-il nettement délimité et sa périphérie bien définie, non floue?) | |
|  | |  | |  | 6.1.3.13 | Inscrire les résultats sur le formulaire CAQ.007F. | |
|  | |  | |  | 6.1.3.14 | Remettre les cellules en suspension et examiner les deux tubes :   * le culot globulaire est-il facile à remettre en suspension? * quelle est l'intensité de l'agglutination? (niveau 1 en cas de test positif). | |
|  | |  | |  | 6.1.3.15 | Inscrire les observations et les résultats sur le formulaire CAQ.007F. | |
|  | |  | |  | 6.1.3.16 | Répéter les étapes 6.2.3.10 à 6.2.3.15 pour chaque ensemble de tubes - 15, 20, 30 et 45 - en modifiant le temps de centrifugation en fonction du temps écrit sur le tube. | |
|  | |  | | 6.1.4 | En fonction des résultats, choisir le temps optimal de centrifugation pour obtenir une agglutination. | | |
|  | |  | | 6.1.5 | Le temps optimal de centrifugation est le temps le plus court requis pour atteindre les critères suivants :   * liquide surnageant limpide * culot globulaire nettement délimité et périphérie bien définie (non floue) * culot globulaire facile à remettre en suspension * intensité attendue de la réaction (c.-à-d. niveau 1 ou négative). | | |
|  | |  | | 6.1.6 | Inscrire le temps optimal de centrifugation sur le formulaire CAQ.007F ainsi que sur le laveur de cellules ou la centrifugeuse appropriée. | | |
|  | | 6.2 | Une fois par année : | | | |  |  |
|  | |  | | 6.2.1 | Exécuter un étalonnage fonctionnel pour déterminer le temps optimal de centrifugation lors des épreuves d’agglutination. Voir les étapes 6.1.3 à 6.1.6. | | |
|  | | Documentation – S.O. | | | | | |
|  | | Remarques | | | | | |
|  | | 8.1 | | Validation des minuteries et chronomètres | | | |
|  | |  | | 8.1.1 | Prendre une minuterie ou un chronomètre et appeler le CNRC pour savoir l'heure juste au (613) 745-1576 en anglais. S’assurer que la minuterie ou le chronomètre qui sert à valider les autres minuteries affiche l’heure du CNRC. (Le CNRC donnera l’heure juste pendant 30 secondes.) | | |
|  | |  | | 8.1.2 | Pour tester les autres minuteries du laboratoire : faire durer le test au moins une minute. Si les minuteries semblent incapables de marquer le temps, en avertir le gestionnaire des Opérations ou le technologue principal. | | |
|  | | 8.2 | | Le temps de centrifugation comprend le temps d'accélération, mais non de décélération. | | | |
|  | | 8.3 | | La dilution peut varier en fonction de la concentration de l'anticorps dans l'antisérum. | | | |
|  | | Références | | | | | |
|  | | 9.1 | | Standards for Hospital Transfusion Services, version 3, février 2011, Société canadienne de médecine transfusionnelle, 3.1.4, 3.1.5, 3.4.3.1, 6.6.9, Annexe A.  .  : C1.01, C7.01. | | | |
|  | | 9.2 9.3 | | IQMH Requirements and Guidance Information (décembre 2013), Version 6.0; IV  Roback, JD, éd. American Association of Blood Banks Technical Manual, 17e éd. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks (2011), p. 972-973. | | | |

**10.0 Suivi des révisions**

|  |  |
| --- | --- |
| **Date de la révision** | **Résumé des changements** |
| 1er septembre 2015 | * Changement du nom du manuel * Révision des sections 2.0 et 6.0 * Mise à jour des références |