# **Principe**

Pour enlever les protéines plasmatiques humaines non fixées avant l’addition des réactifs d’antiglobuline ou pour éliminer toute divergence quant aux épreuves.

Un lavage incomplet peut laisser des protéines résiduelles qui pourraient neutraliser la globuline anti-humaine utilisée dans le test indirect à l’antiglobuline. Cette neutralisation se manifestera par une absence d’agglutination des cellules recouvertes d’IgG, ce qui rendra les résultats du test non valides.

1. **Portée et politiques connexes**
   1. Les globules rouges sont lavés lorsque l’on veut faire un test direct à l’antiglobuline (TDA) ou un test indirect à l’antiglobuline (TIA).
   2. Le lavage des cellules du patient et/ou du donneur avant la préparation d’une suspension de globules rouges à 3 % peut être fait dans le cadre de la résolution de problèmes soulevés par les épreuves de compatibilité.
2. **Échantillons - S.O.**
3. **Matériel**

**Équipement** : laveur de cellules automatique

## centrifugeuse sérologique appareil d’aspiration sous vide pour pipette

**Fournitures** : tubes 10 x 75 mm

contenant pour objets contaminés

bouteille pour la solution saline

tissu absorbant

pipettes sérologiques

vêtements de protection personnelle, au besoin

**Réactifs :** suspension de globules rouges à 3 %

solution saline normale

1. **Contrôle de la qualité**

Voir CAQ.007 – Calibration fonctionnelle des centrifugeuses sérologiques

1. **Procédure**
   1. Lavage automatisé des cellules pour le TFA ou le TIA
      1. Lelavageautomatisé des cellules pour le TDA ou le TIA doit se faire selon les instructions du fabricant du laveur de cellules.
   2. Lavagemanueldes cellules des tubes pour le TDA ou le TIA  
      1. Prendre une bouteille en plastique de solution saline normale munie d’un bec verseur, comprimer la bouteille (ou se servir d’un autre dispositif) et verser 5 à 6 cm de solution saline normale dans chaque tube (en laissant vide 1 cm au haut du tube). Voir Remarque 8.1.
      2. Placer le ou les tubes dans une centrifugeuse sérologique et centrifuger pendant 45 à 60 secondes à 3500 rpm ou l’équivalent. Voir Remarque 8.2.
      3. Décanter la solution saline normale des tubes comme suit :
         * Tenir le ou les tubes entre le pouce et les quatre doigts.
         * Inverser rapidement le ou les tubes et laisser s’échapper tout la solution saline normale.

*Si le décantage se fait à la main dans un contenant pour objets contaminés, suivre les procédures de sécurité établies (c.-à-d. port d’équipement de protection, notamment lunettes de protection, écran facial ou écran protecteur). Voir Remarque 8.3.*

* + - * Tenir le ou les tubes à l’envers et agiter fermement le bras vers le bas pour expulser la solution saline normale qui pourrait rester.

Essuyer à l’aide d’une tissue absorbante toute solution saline normale qui pourrait rester dans le haut du ou des tubes.

* + - * Remettre le ou les tubes à l’endroit et agiter délicatement pour déloger le culot globulaire.
    1. Répéter trois autres fois les étapes ci-dessus.
    2. Après le dernier lavage, essuyer complètement avec un tissu absorbant toute solution saline normale.
    3. S’assurer que le diamètre du culot globulaire est de 3-4 mm environ.
  1. Lavagemanuel des globules rouges pour préparer une suspension à 3 %.
     1. Mettre 1 goutte de cellules concentrées (ou 2 gouttes de sang total) dans un tube étiqueté.
     2. Prendre une bouteille en plastique de solution saline normale munie d’un bec verseur, comprimer la bouteille (ou se servir d’un autre dispositif) et verser 5 à 6 cm de solution saline normale (en laissant vide 1 cm au haut du tube). Voir Remarque 8.1.
     3. Mettre le ou les tubes dans une centrifugeuse sérologique et centrifuger pendant 45 à 60 secondes. Voir Remarque 8.2.
     4. Retirer la solution saline normale avec une pipette ou un appareil d’aspiration sous vide, en laissant le culot intact.

*Si le décantage se fait à la main dans un contenant pour objets contaminés, suivre les procédures de sécurité établies (c.-à-d. port d’équipement de protection, notamment lunettes de protection, écran facial ou écran protecteur). Voir Remarque 8.3.*

* + 1. Agiter délicatement le ou les tubes pour déloger le culot.
    2. Si plus d’un (1) lavage est nécessaire, répéter les étapes 6.3.2 à 6.3.5.
    3. Après le dernier lavage, ajouter 0,5 à 1,0 mL de saline normale; mélanger pour remettre en suspension à 3 % et comparer à une solution cellulaire commerciale. Si la solution de globules rouges est trop dense, ajouter de la saline normale. Si elle n’est pas assez dense, répéter les étapes 6.3.3 à 6.3.5 en ajoutant moins de la saline normale.

1. **Documentation - S.O.**
2. **Remarques**
   1. Diriger la solution saline normale vers le fond du tube pour assurer un mélange homogène des cellules dans le soluté, mais sans laisser le bec de la bouteille toucher l’intérieur du tube. C’est une précaution importante pour éviter la contamination d’un tube à l’autre quand on verse du soluté dans plusieurs tubes.
   2. Après la centrifugation, les cellules devraient former un culot au fond du tube. On ne doit pas voir de traînée de globules rouges le long du tube. En présence d’une traînée de globules rouges sur la paroi du tube, il faut prolonger le temps de centrifugation jusqu’à ce que tous les globules rouges forment un culot au fond du tube.
   3. Contenant pour objets contaminés : tout contenant approuvé par le Comité de sécurité du laboratoire qui peut être utilisé afin de prévenir tout risque d’exposition à un produit présentant un risque biologique.
3. **Références**
   1. Consulter le manuel d’utilisation du laveur de cellules automatique fourni par le fabricant.
4. **Suivi des révisions**

|  |  |
| --- | --- |
| **Date de la révision** | **Résumé des changements** |
| 31 janvier 2014 | * Changement du nom du manuel * Changement du numéro du document anciennement PA.005., maintenant AR.002. * Retrait de la section 6.1.1 à 6.1.3 portant sur les étapes à suivre si aucune instruction n’est fournie * Renumérotation des sections 6.2 et 8.0 |