1. **Principe**

Pour le dépistage de l’antigène D faible.

Les globules rouges qui réagissent au mieux faiblement lors d’épreuves d’agglutination directe avec l’anti-D peuvent réagir à l’anti-D avec le test indirect à l’antiglobuline.

Les globules rouges qui ne réagissent pas à +2 lors d’épreuves d’agglutination directe avec un anti-D sont incubés avec un anti-D à 37 C et examinés pour y détecter une agglutination. Les globules rouges sont lavés pour enlever tout anticorps non lié (anti-D IgG), puis testés avec un anti-IgG.

1. **Portée et politiques connexes**
   1. Lorsque le sang de receveurs éventuels de composants sanguins fait l’objet d’analyses, il est inutile de procéder à la recherche de l’antigène D faible9.1.
   2. La recherche du D faible doit être faite chez les nourrissons ayant un Rh négatif si leur mère est Rh négatif et ne présente aucun signe d’alloimmunisation Rh9.1. Il en va de même pour les nourrissons dont le groupe sanguin de la mère est inconnu.
   3. Les patientes en obstétrique qui se démarquent comme étant Rh positif ou D faible positif doivent être désignées comme étant Rh positif.
   4. On peut faire la recherche du D faible chez les patientes en obstétrique dont le Rh est apparemment négatif, conformément à la politique de l’établissement.
   5. L'épreuve doit comporter un témoin spécifique au réactif anti-D employé9.1. Si le témoin est positif, on doit répéter la détermination du facteur Rh avec un réactif anti-D et un témoin appropriés.
   6. S’il y a un problème lié à la détermination du facteur RH et qu’il faut procéder à une transfusion sans délai, il faut mettre en circulation des produits sanguins Rh négatif pour les femmes préménopausées et les enfants jusqu’à la résolution du problème. Les autres patients, en l’absence d’un anti-D connu, peuvent recevoir du sang Rh positif dans les situations d’urgence où il y a une pénurie de sang Rh négatif.
2. **Échantillons**

Sang total anticoagulé - tube EDTA

1. **Matériel**

**Équipement**: laveur de cellules

centrifugeuse sérologique

support à tubes

bain-marie/bloc chauffant à 37 °C

microscope

**Fournitures** : tubes 10 x 75 mm

pipettes sérologiques

**Réactifs** : réactif anti-D   
témoin pour la détermination du facteur Rh (approprié au réactif anti-D utilisé)

anti-IgG

cellules témoins recouvertes d'IgG

solution saline normale

1. **Contrôle de la qualité**
   1. Voir CAQ.001 - Contrôle de la qualité des globules rouges réactifs et des antisérums commerciaux.
   2. Avant d’effectuer la recherche de l’antigène D faible et d’en inscrire le résultat, il faut procéder à une vérification des antécédents de transfusion et de grossesse.
   3. Ne pas faire la recherche du D faible dans les situations suivantes :
      1. Si le test direct à l’antiglobuline est positif sur les globules rouges testés et fait état d’une réaction macroscopique. Consulter alors les directives du fabricant, les limites de la méthode quant au réactif utilisé.
      2. Si, au cours des 3 derniers mois, le patient a reçu une transfusion d’unités de donneur ayant un groupe Rh différent.
   4. Faire la recherche de l’antigène D faible dans les situations suivantes :
      1. En présence de réaction faible ou de niveau 1. Effectuer les lectures microscopiques seulement en cas de soupçon d’agglutination de type champ mixte.
      2. Lorsqu’il y a des écarts de détermination du type Rh entre les résultats actuels et antérieurs.
   5. Si la recherche du D faible est effectuée chez une patiente en obstétrique et qu’il en résulte un positif faible et/ou un champ mixte, il faut investiguer pour déterminer si le résultat est causé par une importante hémorragie foeto-maternelle. En cas d’hémorragie foeto-maternelle, on ne peut pas interpréter le résultat de la recherche du D faible. En aviser le médecin traitant la patiente.
   6. Pour tout autre résultat de type champ mixte, voir EC.004 – Résolution de problème lié à la détermination du facteur Rh.
2. **Procédure**
   1. Vérification de l’acceptabilité des échantillons
      1. S'assurer que les renseignements sur l'étiquette de l'échantillon correspondent au formulaire de demande. Voir PA.002 – Acceptation ou rejet des échantillons, étapes 6.1 – 6.4.
      2. Vérifier si l'aspect des échantillons est normal. Voir PA.002 - Acceptation ou rejet des échantillons, étape 6.5.
   2. Vérification des antécédents médicaux du patient.
      1. Voir PA.003 - Vérification des antécédents du patient.
   3. Étiquetage des tubes
      1. Étiqueter les tubes conformément à la procédure établie. Voir PA.004 - Étiquetage des tubes à essai et disposition dans un support en vue des épreuves de compatibilité.
   4. Ajout des réactifs
      1. Ajouter le réactif approprié aux tubes étiquetés selon les instructions du fabricant.
      2. Ajouter 1 goutte d'anti-D au tube étiqueté D.
      3. Ajouter 1 goutte de réactif témoin au tube étiqueté DT (le cas échéant).
   5. Préparation d’une suspension de cellules du patient à 3 %

Comparer le nom du patient (ou le numéro unique) sur chaque tube aux renseignements correspondants sur le formulaire de demande (ou à l'écran d'ordinateur) pour vérifier leur concordance.

* + 1. Inscrire les trois premières lettres du nom de famille du patient sur le tube; copier les renseignements à partir de l’échantillon et non du formulaire de demande. On peut utiliser une étiquette pré-imprimée (s’assurer que les renseignements correspondent exactement aux renseignements figurant sur l’étiquette de l’échantillon).
    2. Voir AR.003 – Préparation d’une suspension cellulaire à 3 % avec les cellules du patient. Il n’est pas nécessaire de pré-laver les globules rouges, toutefois, en cas de divergence, il faut laver les globules et répéter les épreuves.
    3. Ajouter une goutte de la suspension cellulaire à 3 % aux tubes étiquetés D et DT.
    4. Mélanger et centrifuger les tubes à 3400 rpm pendant 10 à 15 secondes.
  1. Interprétation et inscription des résultats
     1. Voir AR.001 – Lecture et inscription des réactions d’hémagglutination.

|  |  |
| --- | --- |
| Si…, | vous devez |
| les cellules sont fortement agglutinées (à +2 ou plus) dans le tube anti-D et négatif dans le tube témoin | inscrire les interprétations comme étant « D positif » et ne pas continuer. |
| aucune agglutination n’est observée, | passer à l’étape 6.7 |

* 1. Incubation à 37 oC
     1. Mélanger et incuber à 37 oC pendant 15 minutes.
     2. Vérifier et inscrire la température du bain-marie ou du bloc chauffant sur le formulaire CAQ.006F.
     3. Après 15 minutes d’incubation, si une lecture à 37 oC est désirée, centrifuger les tubes dans une centrifugeuse sérologique à 3400 rpm pendant 10 à 15 secondes (selon les directives du fabricant).
     4. Comparer le nom du patient sur chaque tube avec les renseignements correspondants sur le formulaire de demande d’analyse ou à l’écran de l’ordinateur pour vérifier leur concordance.
     5. Faire une lecture macroscopique. Interpréter et inscrire les résultats.Voir AR.001 – Lecture et inscription des réactions d’hémagglutination.

|  |  |
| --- | --- |
| Si…, | vous devez |
| les cellules sont fortement agglutinées (à +2 ou plus) dans le tube anti-D et négatif dans le tube témoin | inscrire les interprétations comme étant « D positif » et ne pas passer à la phase antiglobuline. |
| aucune agglutination n’est observée (macroscopique), | passer à l’étape 6.8 |

* 1. Phase antiglobuline
     1. Voir AR.002 – Lavage automatisé ou manuel des cellules.
  2. Interprétation du facteur Rh
     1. Voir la section 7.0 – Documentation pour interpréter les résultats. Inscrire le type du facteur Rh sur le formulaire de demande ou à l’ordinateur selon la procédure établie.

|  |  |
| --- | --- |
| Si…, | vous devez |
| les cellules du patient ne réagissent pas tel que décrit en 7.0 – Documentation | Clarifier la divergence avant d’inscrire le type du facteur Rh. Voir EC.004 – Résolution de problèmes liés à la détermination du facteur Rh et Remarque 8.2.inscrire les interprétations comme étant « D positif » et ne pas passer à la phase antiglobuline. |
| on trouve un résultat antécédent de la détermination du facteur Rh, | le comparer au résultat actuel. Si les résultats diffèrent, voir EC.004 – Résolution de problèmes liés à la détermination du facteur Rh. |

* 1. Vérification
     1. Une fois la procédure terminée, il faut procéder à une vérification. Pour chaque détermination du facteur Rh, il faut s'assurer des éléments suivants :
* Le nom du patient et le numéro d’identification sont identiques sur tous les échantillons et sur le formulaire de demande ou à l’écran de l’ordinateur.
* Le nom du patient est identique sur tous les tubes et sur le formulaire de demande ou à l’écran de l’ordinateur.
* Les résultats ont été interprétés correctement.
  1. Signature
     1. Mettre ses initiales ou signer le formulaire de demande et inscrire l’heure et la date de la conclusion de l’épreuve sur la demande ou à l’ordinateur.
     2. Noter que les résultats ont été vérifiés. Voir 7.0 – Documentation

1. **Documentation**
   1. Le témoin doit être négatif. Interpréter les résultats comme suit :

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **37 oC** | | **TIA** | | **Interprétation** |
| **Anti-D** | **Témoin** | **Anti-D** | **Témoin** |
| > 2 | 0 | NT | NT | Rh positif |
| < 2 | 0 | > 1 | 0 | Rh positif |
| 0 | 0 | 0 | 0 | Rh négatif |
| 0 | 0 | < 1 | 0 | Indéterminable. Investiguer davantage. Voir étape 7.2. |
| 0 | 0 | > 1 | > 1 | Indéterminable. Investiguer davantage. Voir étape 7.2. |

NT : Non testé

* + 1. Les réactions d’au moins +2 après 15 minutes d’incubation à 37 oC indiquent la présence de l’antigène D. Inscrire comme étant Rh positif.
    2. Les réactions d’au moins +1 au TIA indiquent la présence de l’antigène D. Inscrire comme étant Rh positif.
    3. L’absence de réaction (négatif) au TIA indique l’absence de l’antigène D. Inscrire comme étant Rh négatif.
  1. Si le témoin est positif ou si la réaction positive avec l’anti-D est inférieure à +1 par TIA :
     1. Ne pasinscrire le résultat du type Rh.
     2. Il faut investiguer davantage. Voir EC.004 – Résolution de problèmes liés à la détermination du facteur Rh.

1. **Remarques**
   1. Il faut lire les résultats immédiatement après la centrifugation. Tout retard permettrait aux IgG liés de se dissocier des globules rouges; leur concentration serait alors trop faible pour qu’on puisse les déceler ou les IgG pourraient neutraliser le réactif IAT et donner un faux résultat négatif.
   2. Dans les cas où le résultat de la détermination du D faible ne peut être noté ou n’est pas résolu :
      1. S’il faut immédiatement des composants du sang, avant que la divergence ait pu être résolue, il faut mettre en circulation des produits sanguins Rh négatif pour les femmes préménopausées et les enfants jusqu’à la résolution du problème. Les autres patients, en l’absence d’un anti-D connu, peuvent recevoir du sang Rh positif dans les situations d’urgence où il y a une pénurie de sang Rh négatif.
      2. Si on ne peut déterminer le type Rh et que le patient est un nouveau-né d’une mère Rh négatif, faire le test de Kleihauer-Betke sur l’échantillon maternel pour déterminer la quantité d’immunoglobuline Rh (IgRh) requise.
2. **Références**
   1. *Standards for Hospital Transfusion Services*, version 3 – février 2011. Société canadienne de médecine transfusionnelle; 5.3.3.3, 5.3.3.2.
   2. ROBACK JD, éd. *American Association of Blood Banks Technical Manual*, 17e éd. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks (2011); p. 445-448, 887-888.
   3. JUDD, WJ. *Methods in Immunohematology*, 3e éd. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks (2008); p. 15-20.
   4. *Standards for Blood Banks and Transfusion Services*, 28e éd. Bethesda, MD., AABB 2012; 5.13.2
3. **Suivi des révisions**

|  |  |
| --- | --- |
| **Date de la révision** | **Résumé des changements** |
| 31 janvier 2014 | * Changement du nom du manuel * Changement du numéro du document anciennement AR.003, maintenant AR.006. * Modification du libellé de la section 5.3.1 pour mentionner les directives du fabricant. * Mise à jour des références pour inclure les versions les plus récentes et ajout de la référence 9.4 |