1. **Principe**

Pour dépister les anticorps irréguliers cliniquement significatifs.

Le dépistage d'anticorps suppose la comparaison du plasma du patient à un ensemble de cellules de dépistage dont la composition antigénique est connue.

Les anticorps anti-globules rouges peuvent provoquer l'agglutination directe ou la lyse des globules rouges, ou recouvrir les globules rouges de globuline (c'est-à-dire IgG). On incube les cellules de dépistage avec le plasma du patient à 37 °C. Après incubation, on examine les globules rouges pour détecter une agglutination directe ou une hémolyse, on les lave pour éliminer les globulines non fixées et on les soumet à de la globuline anti-humaine (GAH).Après centrifugation, les réactions font l’objet d’une lecture macroscopique et microscopique. On peut ajouter un agent de potentialisation qui accélère la fixation de l’anticorps aux globules rouges (solution à faible concentration ionique ou SFCI; polyéthylène glycol ou PEG).

L'agglutination directe ou l'hémolyse indique habituellement la présence d'anticorps IgM (par exemple, anticorps froids). Une agglutination en présence de GAH indique que les cellules de dépistage ont été recouvertes de globuline (IgG). Certains anticorps cliniquement significatifs habituellement décelés à l'aide de la phase GAH appartiennent aux systèmes Rh, Kell, Duffy, Kidd et MNS.

1. **Portée et politiques connexes**

N.B. Le groupage sanguin ABO, la détermination du facteur Rh et le dépistage d'anticorps forment ensemble une procédure dite de groupage et dépistage.

* 1. Le dépistage d’anticorps doit se faire à 37 °C et comprendre un test indirect à l’antiglobuline dont la sensibilité est reconnue. On peut recourir à d'autres méthodes pourvu que leur sensibilité soit documentée et que l'on respecte les instructions du fournisseur. L’utilisation d’un réactif d’antiglobuline composé uniquement d’anti-IgG est acceptable pour un dépistage d’anticorps9.1.
     1. Il faut utiliser un système témoin composé de globules rouges sensibilisés par une IgG pour chaque test à l’antiglobuline dont l’interprétation est négative9.1.
  2. Pour le dépistage d'anticorps, il faut utiliser un ensemble de globules rouges commerciaux qui expriment une grande variété d'antigènes sanguins. On doit utiliser des globules rouges homozygotes pour les antigènes qu’ils portent 9.1.
  3. Il ne faut pas mettre en pool les préparations globulaires utilisées pour le dépistage d’anticorps au cours d'une grossesse et lors des épreuves prétransfusionnelles9.1.
  4. Dépistage d’anticorps chez les nouveau-nés :
     1. Toutes les épreuves prétransfusionnelles doivent se faire sur du sang prélevé par voie veineuse ou capillaire. On ne doit jamais utiliser du sang de cordon pour ces épreuves prétransfusionnelles9.1.
        1. Les épreuves de compatibilité devraient être faites avec le plasma de la mère. On peut utiliser un échantillon de sang veineux ou capillaire du nouveau-né si le plasma maternel n’est pas disponible9.1.
     2. Les épreuves sur l'échantillon prétransfusionnel initial doivent inclure la détermination du groupe ABO et du type Rh et le dépistage des anticorps cliniquement significatifs9.1.
        1. Si le dépistage d’anticorps initial est négatif, il n’est pas nécessaire de faire d’autres épreuves de compatibilité durant les 4 premiers mois de vie9.1.
        2. Si le dépistage d’anticorps prétransfusionnel initial démontre la présence d’allo-anticorps, tous les globules rouges requis pour la transfusion devront être soumis à l’épreuve de compatibilité et doivent être de phénotype négatif pour l’antigène correspondant9.1.
  5. Dépistage d’anticorps sur les patients ayant reçu de l’IgRh :
     1. On peut utiliser des cellules spécifiques pour les patients ayant reçu de l’IgRh au cours des 3 mois précédents. Elles doivent comprendre une cellule R2 R2 et des cellules r', r'' et r. Cette combinaison devrait pouvoir exclure tout anticorps additionnel qui aurait pu se développer.

1. **Échantillons**

Sang total anticoagulé - tube EDTA

1. **Matériel**

**Équipement** : centrifugeuse sérologique

laveur de cellules

support à tubes

bain-marie/bloc chauffant à 37°C

microscope

**Fournitures** : tubes 10 x 75 mm

pipettes sérologiques

**Réactifs** : ensemble de cellules de dépistage (2 ou 3 flacons, non regroupées)

anti-IgG

cellules témoins recouvertes d'igG

solution saline normale

SFCI ou PEG (le cas échéant)

1. **Contrôle de la qualité**

Voir CAQ.001 - Contrôle de la qualité des globules rouges et des antisérums commerciaux.

1. **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 à 6.4.
   2. Vérification des antécédents médicaux du patient
      1. Voir PA.003 - Vérification des antécédents du patient.
   3. Préparation de l’échantillon
      1. Centrifuger l’échantillon pendant 5 minutes à 3500 rpm ou l’équivalent.
      2. Retirer les échantillons du patient de la centrifugeuse et vérifier toute anomalie de leur aspect. Voir PA.002 – Acceptation ou rejet des échantillons, étape 6.5.
      3. Comparer le nom du patient et le numéro d'identification sur tous les échantillons avec les renseignements correspondants sur le formulaire de demande ou à l'écran d'ordinateur.
   4. Étiquetage des tubes
      1. Étiqueter les tubes conformément à la procédure établie. Voir PA.004 - Étiquetage des tubes et disposition dans un support en vue des épreuves de compatibilité. Le test d’autocontrôle est facultatif. Voir Remarque 8.1.
   5. Ajout de plasma et de la suspension cellulaire à 3 % appropriée
      1. Mettre 3 gouttes de plasma du patient dans les tubes9.2 (voir la remarque 8.3). Tenir la pipette ou le compte-gouttes à la verticale lors de l'ajout de plasma ou de réactif. Si on se sert d’un agent de potentialisation, ajouter 2 gouttes de plasma du patient aux tubes.
      2. 1 goutte de cellules de dépistage 1 au tube approprié.
      3. 1 goutte de cellules de dépistage 2 au tube approprié.
      4. 1 goutte de cellules de dépistage 3 au tube approprié. Voir Portée et politiques connexes 2.2.
      5. 1 goutte de suspension cellulaire à 3 % du patient au tube étiqueté « auto » (facultatif).
      6. Le cas échéant, ajouter 2 gouttes d’agent de potentialisation à chaque tube (ou suivre les instructions du fabricant).
      7. Mélanger tous les tubes. Examiner l'aspect et le volume de tous les tubes.

|  |  |
| --- | --- |
| Si… | Vous devez… |
| le volume ou l'aspect semble anormal, | éliminer les tubes et reprendre tous les tests. |
| le volume ou l’aspect semble normal, | passer à l’étape 6.6. |

* 1. Incubation des tubes à 37 ºC
     1. Incuber les tubes pendant 30 à 60 minutes à 37 ºC (incuber à 37 ºC pendant 15 minutes si un agent de potentialisation a été ajouté)
     2. Vérifier et inscrire la température du bain-marie ou du bloc chauffant sur le formulaire CAQ.006F.
     3. Sortir les tubes du bain-marie. *Si du PEG a été utilisé, passer directement à 6.7.*
     4. Centrifuger les tubes à 3400 rpm pendant 10 à 15 secondes.
     5. Vérifier la présence d'hémolyse. Le cas échéant, inscrire le résultat. Voir AR.001 – Lecture et inscription des réactions d’hémagglutination.
     6. Remettre en suspension et faire une lecture macroscopique.
     7. Interpréter et inscrire les résultats à 37°C conformément à la procédure établie. Voir AR.001 – Lecture et inscription des réactions d’hémagglutination.
  2. Exécution d’un test à l'antiglobuline
     1. Laver les tubes 4 fois. Voir AR.002 – Lavage automatisé ou manuel des cellules.
     2. Ajouter 2 gouttes d'anti-IgG à chaque tube
     3. Mélanger les tubes immédiatement et centrifuger à 3400 rpm pendant 10 à 15 secondes.
     4. Immédiatement après la centrifugation, remettre les cellules en suspension et faire une lecture macroscopique. Si le résultat est négatif, faire une lecture microscopique. Voir Remarque 8.4.
     5. Interpréter et inscrire les résultats conformément à la procédure établie. Voir AR.001 - Lecture et inscription des réactions d'hémagglutination.
     6. Ajouter 1 goutte de cellules recouvertes d'IgG aux tubes dont le résultat est négatif. Centrifuger les tubes à 3400 rpm pendant 10 à 15 secondes, remettre les cellules en suspension et faire une lecture macroscopique. *En l’absence d’agglutination (>2), répéter les tests*.
     7. Interpréter les résultats du dépistage d'anticorps. Voir 7.0 – Documentation.
  3. Vérification

Pour chaque dépistage d'anticorps, 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.
* Le nom du patient est identique sur tous les tubes et sur le formulaire de demande.
* Les résultats ont été inscrits, y compris les résultats des cellules témoins recouvertes d'IgG.
  1. Conclusion de la procédure
     1. Mettre ses initiales ou signer le formulaire de demande et inscrire l’heure et la date de la conclusion de l’épreuve sur le document ou les vérifier à l’ordinateur.
     2. Noter la vérification des résultats. Voir 7.0 – Documentation.

1. **Documentation**
   1. L'absence d'agglutination ou d'hémolyse des globules rouges indique qu'il n'y avait pas d'anticorps irréguliers ou qu'ils n'étaient pas décelables. Inscrire que le dépistage d’anticorps est négatif.
   2. L'agglutination ou l'hémolyse peut indiquer la présence d'anticorps irréguliers. Inscrire que le dépistage d’anticorps est positif et investiguer.
2. **Remarques**
   1. Un autocontrôle est facultatif et ne serait pas habituellement requis de routine.
      1. Si on procède à un autocontrôle, mélanger l'échantillon et préparer une suspension cellulaire à 3 %. Voir AR.003 – Préparation d’une suspension de globules rouges à 3 %.
   2. Tenir la pipette ou le compte-gouttes à la verticale lors de l'ajout de plasma ou de réactifs.
   3. Les temps d’incubation ainsi que les volumes et concentrations de globules rouges sont ceux qui figurent dans la documentation. Un laboratoire pourrait décider d’établir des valeurs normalisées autres. Il est possible d’augmenter la sensibilité en augmentant le rapport plasma/cellules (soit en ajoutant 4 gouttes de plasma à une goutte suspension cellulaire normale ou en réduisant la concentration de globules rouges de 5 % à entre 2 % et 3 %) 9.3.
   4. Il faut lire les résultats immédiatement après la centrifugation. Tout retard permettrait aux IgG de se dissocier des globules rouges; leur concentration serait alors trop faible pour qu'on puisse les déceler ou les IgG pourraient neutraliser la GAH et donner un faux résultat négatif.
3. **Références**
   1. *Standards for Hospital Transfusion Services*, version 3 – février 2011. Société canadienne de médecine transfusionnelle, p. 5.3.5 5.9.2.
   2. JUDD, WJ. *Methods in Immunohematology*, 3e éd. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks (2008), p. 71-74.
   3. ROBACK JD, éd. *American* *Association of Blood Banks Technical Manua*l, 17e éd. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks (2008), p. 446; 443.
4. **Suivi des révisions**

|  |  |
| --- | --- |
| **Date de la révision** | **Résumé des changements** |
| 31 janvier 2014 | * Changement du nom du manuel * Changement du numéro du document, maintenant AR.008 * Ajout à la section 1 après la centrifugation. * Renumérotation de la section 2.4.2 et modification du libellé de la section 2.4.2.1 pour plus de précision * Section 4 – ajout dans les réactifs de « SFCI ou PEG (le cas échéant ») * Renumérotation de la section 6 * Section 6.5.1 – ajout de « Si on se sert d’un agent de potentialisation, ajouter 2 gouttes de plasma du patient aux tubes. * Ajout de la section 6.8.5 * Section 6.6.3 – Ajout de « *Si vous avez utilisé du PEG, passer directement à 6.7. »* * Changement à divers endroits de la référence PA 006 à AR 001 * Changement à un endroit de la référence PA 005 à AR 002 * Renumérotation des sections 7 et 8. * Changement de la référence AR 014 à AR 003 * Modification du libellé de 8.3 sur les temps d’incubation * Mise à jour des références pour inclure les versions les plus récentes |