1. **Principe**

Pour confirmer les soupçons de présence d’anticorps anti-A ou-B immuns acquis de façon passive et cliniquement significatifs.

Le dépistage d'anticorps suppose la comparaison du plasma du patient à des globules rouges de groupe A et B.

Les anticorps immuns peuvent entraîner l'agglutination directe ou la lyse à 37 ºC 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 ºC. Après incubation, on examine les globules rouges pour détecter une agglutination directe et/ou une hémolyse, on les lave pour éliminer les globulines non fixées et on les soumet à de la globuline anti-humaine (GAH).

L'agglutination directe, l’hémolyse ou l’agglutination en présence de GAH (indiquant que les cellules de dépistage ont été recouvertes de globuline) confirme la présence d’anticorps anti-A et/ou -B immuns.

1. **Portée et politiques connexes**
	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 IgG pour chaque test à l'antiglobuline dont l'interprétation est négative9.1.
	2. On peut se servir des cellules (A et B) d’épreuve sérique ou de cellules de donneur connu. Les cellules de groupe O seront incluses comme témoin.
	3. Dépistage d’anticorps anti-A ou anti-B immuns :
		1. Les épreuves peuvent être faites sur des échantillons de sang veineux, capillaire ou de cordon.
		2. Vérifier la présence d’anticorps responsables de la divergence de groupe ABO entre la mère et le nouveau-né.
		3. Si le nouveau-né reçoit des globules rouges d’un groupe autre qu’O, il faut procéder au dépistage d’anticorps Anti-A et/ou anti-B par test indirect à l’antiglobuline. Il faut privilégier la transfusion d’unités exemptes de l’anticorps (si dépisté)9.1.
		4. Faire des tests pour dépister des anti-A ou anti-B acquis de façon passive lors d’une transfusion récente de globules rouges, de plaquettes, de plasma ou d’immunoglobuline intraveineuse (IgIV) de groupe sanguin différent de passifs
2. **Échantillons**

Sang total anticoagulé – tube EDTA

Sang de cordon

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 à épreuve sérique ou cellules A et B de donneurs connus en suspension dans une solution saline à 3 %

cellules O de donneurs connus dans une solution saline à 3 %

anti-IgG

 cellules témoins recouvertes d’IgG

 solution saline normale

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. Centrifuger l’échantillon pendant 5 minutes à 3500 rpm ou l’équivalent.
		3. Après la centrifugation, vérifier toute anomalie de l’aspect des échantillons. Voir PA.002 – Acceptation ou rejet des échantillons, étape 6.5.
	2. Vérification des antécédents du patient
		1. Voir PA.003 - Vérification des antécédents du patient.
	3. Étiquetage des tubes
		1. Comparer le nom et le numéro d'identification du patient sur tous les échantillons avec les renseignements correspondants du formulaire de demande d'analyse ou à l'écran de l'ordinateur.
		2. Écrire sur les tubes appropriés le nom du patient et les lettres A, B et O. Voir Remarque 8.1.
	4. Ajout du plasma ou sérum du patient
		1. Mettre 2 gouttes de plasma/sérum du patient dans les tubes. Voir la remarque 8.4.
	5. Ajout de la suspension cellulaire à 3 % appropriée
		1. 1 goutte de cellules A au tube approprié ou 1 goutte de cellules B au tube approprié.
		2. 1 goutte de cellules O au tube approprié.

***Remarque : Tenir la pipette ou le compte-gouttes à la verticale lors de l'ajout des cellules***.

* + 1. Mélanger tous les tubes. Examiner l'aspect et le volume de tous les tubes.

Si le volume ou l'aspect semble anormal, il faut éliminer les tubes et reprendre tous les tests.

* 1. Incubation à à 37 oC
		1. Incuber les tubes pendant 30 minutes à 37 oC.
		2. Vérifier et inscrire la température du bain-marie ou du bloc chauffant sur le formulaire CAQ.006F.
		3. Retirer les tubes du bain-marie.
		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. 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.
		3. Mélanger les tubes immédiatement et centrifuger à 3400 rpm pendant 10 à 15 secondes.
		4. Immédiatementaprès la centrifugation, remettre les cellules en suspension et faire une lecture macroscopique. Si le résultat est négatif, faire une lecture microscopique. Voir Remarque 8.3.
		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 en suspension, faire une lecture macroscopique et inscrire les résultats. En l’absence d’agglutination (>2), répéter les tests.
	3. Interprétation des résultats
		1. Interpréter les résultats du dépistage d'anticorps. Voir 7.0 – Documentation.
	4. Vérification.
		1. Pour chaque patient, 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 numéros d’unités de donneur sont identiques sur les s les tubes et sur le formulaire de demande.
	1. Conclusion de la procédure
		1. Mettre ses initiales ou signer et inscrire l’heure et la date de la conclusion de l’épreuve sur le formulaire de demande ou à l’ordinateur.
		2. Noter que les résultats ont été vérifiés. 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 indique la présence d’anticorps immuns. Inscrire le résultat du dépistage d’anticorps : Présence d’\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ (anti -A et / ou -B) immuns.
	3. Si on obtient un résultat positif avec les cellules du groupe O, amorcer une recherche d’anticorps. Voir EC.007- Identification d’anticorps réactifs chauds
2. **Remarques**
	1. Inscrire les trois premières lettres du nom de famille du patient sur le tube; copier ces renseignements à partir de l'échantillon et non du formulaire de demande. On peut utiliser une étiquette pré-imprimée.
	2. Tenir la pipette ou le compte-gouttes à la verticale lors de l'ajout de plasma ou de réactif.
	3. Il faut lire les résultats immédiatement après la centrifugation. Tout retard pourrait permettre 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 négatif9.2.
	4. Les temps d’incubation et les volumes et concentrations des globules rouges sont ceux qui figurent dans la documentation. Certains laboratoires peuvent opter pour des normes différentes. La sensibilité peut augmenter si on augmente le ratio, si on diminue la concentration de globules rouges de 5 % à entre 2 % et 34 % ou si on ajoute 4 gouttes de sérum ou plasma à 1 goutte de suspension de globules rouges normalisée9.2.
3. **Références**
	1. *Standards for Hospital Transfusion Services*, version 3 (février 2011). Société canadienne de médecine transfusionnelle; 5.3.5.3, 5.3.5.4, 5.9.2.4.
	2. Roback JD, éd. *AABB Technical Manual* 17e éd. Bethesda MD; AABB (2011); p. 443-446.
4. **Suivi des révisions**

|  |  |
| --- | --- |
| **Date de la révision** | **Résumé des changements** |
| 31 janvier 2014 | * Changement du nom du manuel
* Modification du numéro du document anciennement AR.008, maintenant AR.014
* Modification du libellé des principes pour préciser « la présence d’anticorps… acquis de façon passive et… ».
* Ajout de la section 2.3.4 relative aux épreuves de dépistage de la présence d’anti-A ou d’anti-B passif
* Reformatage et renumérotation de la section 6 pour la rendre plus conviviale
* Ajout d’un renvoi à la remarque 8.4 dans la section 6.7
* Changement du numéro de documents de renvoi dans la section 6 : PA.005 devient AR.002 et PA.006 devient AR.001.
* Ajout de la remarque 8.4
* Mise à jour des références
 |