1. **Principe**

Pour prévenir la réactivité des anticorps froids cliniquement non significatifs tout en dépistant les anticorps chauds cliniquement significatifs.

Immédiatement avant l’épreuve, le plasma du patient et les globules rouges commerciaux sont réchauffés séparément jusqu’à 37ºC. Le plasma et les globules rouges sont ensuite mélangés, incubés à 37ºC, lavés dans une solution saline chaude (37ºC) pour en retirer les anticorps froids non fixés et ensuite analysés par le test à l’antiglobuline recourant à des anti-IgG. Par le maintien d’une température de 37ºC, seuls les anticorps cliniquement significatifs capables de réagir à la température du corps devraient être détectés. Toute solution de potentialisation utilisée doit aussi être maintenue à 37ºC.

1. **Portée et politiques connexes**
   1. Une technique de préréchauffement est habituellement utilisée en présence d’anticorps froid non significatif dans l’échantillon d’un patient ou lors d’un soupçon à cet effet.
   2. La technique de préréchauffement doit être faite en tube.
2. **Échantillons**

Sang total anticoagulé – tube EDTA

1. **Matériel**

**Équipement** : centrifugeuse sérologique

support à tubes

bain-marie/bloc chauffant à 37°C

microscope

**Fournitures** : tubes 10 x 75 mm

pipettes sérologiques

**Réactifs :** cellules de dépistage, cellules du donneur ou cellules de panel

Anti-IgG

cellules recouvertes d’IgG

solution saline normale

réactifs de potentialisation, le cas échéant :

* polyéthylène glycol (PEG) **ou**
* solution à faible concentration ionique (SFCI)

1. **Contrôle de la qualité - S.O.**
2. **Procédures**
   1. Réchauffer la solution saline normale.
      1. Réchauffer jusqu’à 37ºC la solution saline normale qui servira au lavage des cellules dans la technique à l’antiglobuline de l’étape 6.7(au moins 10 minutes).
   2. Réchauffer le plasma du patient. (*Voir Remarque 8.1*).
      1. Inscrire sur un tube le nom et le numéro d’identification du patient.

* Transcrire le nom figurant sur le tube de prélèvement et non sur le formulaire de demande.
* Une étiquette préimprimée peut servir (s’assurer que les renseignements correspondent exactement aux renseignements figurant sur le formulaire de demande).
  + 1. Pipetter suffisamment de plasma pour faire l’épreuve dans le tube étiqueté. La quantité peut varier en fonction de la méthode et du nombre de tubes requis pour faire l’épreuve.  
       Laisser la pipette dans le tube.
    2. Incuber à 37ºC pendant 10 minutes.
  1. Préchauffer la solution de potentialisation au besoin. (*Voir Remarque 8.1*).
     1. Inscrire sur le tube le nom de la solution de potentialisation (PEG ou SFCI).
     2. Pipetter suffisamment de la solution de potentialisation dans le tube étiqueté. Laisser la pipette dans le tube.
     3. Incuber à 37ºC pendant 10 minutes.
  2. Mettre en place un autocontrôle (*au besoin*).
     1. Inscrire le nom de famille complet du patient sur le tube.
* Transcrire les renseignements à partir de l’échantillon et non du formulaire de demande.
* On peut utiliser une étiquette préimprimée si les renseignements correspondent exactement aux renseignements figurant sur le formulaire de demande.
  + 1. Mettre 2 gouttes de sang total (ou l’équivalent : 1 goutte de cellules concentrées) dans le tube étiqueté.
    2. Ajouter 0,5 mL de solution saline normale et mélanger pour remettre en suspension à 3 %.
    3. Comparer à une suspension cellulaire commerciale à 3 % et ajuster au besoin la concentration de la suspension.
    4. Inscrire sur un tube le nom du patient et « auto ».
    5. Pipetter dans le tube étiqueté 1 goutte de la suspension cellulaire à 3 % de cellules du patient.
    6. Incuber à 37ºC pendant 5 minutes.
  1. Chauffer les cellules à tester.
     1. Inscrire sur le nombre approprié de tubes le nom du patient et le type de cellules (cellules de dépistage, cellules de panel, etc.).
     2. Pipetter une goutte de suspension cellulaire bien mélangée à chaque tube étiqueté.
     3. Incuber à 37ºC pendant 5 à 10 minutes.
  2. Ajouter le plasma du patient aux tubes étiquetés et incuber.
     1. Après la période d’incubation, en se servant de la ou des pipettes laissées dans le ou les tubes :

Transférer 3 gouttes9.2 de plasma chaud du patient à chaque tube contenant des cellules. En cas d’utilisation de PEG ou de SFCI, ajouter 2 gouttes de plasma du patient, puis 2 gouttes de solution de potentialisation chaude à chaque tube.

* + 1. Mélanger le contenu de chaque tube, en le gardant à 37ºC.
    2. Incuber les tubes à 37ºC pendant 30 à 60 minutes. Si une solution de potentialisation a été ajoutée, incuber les tubes à 37ºC pendant 15 minutes.
    3. Vérifier la température du bain-marie ou du bloc chauffant et l’inscrire sur le formulaire CAQ.006F.
  1. Effectuer un test à l'antiglobuline.
     1. Voir AR.002 - Lavage manuel ou automatisé des cellules
* Laver manuellement tous les tubes 4 fois avec une solution saline normale chaude (voir 6.1).
  1. Interpréter le résultat du test
     1. Voir 7.0 - Documentation.
  2. Procéder à une vérification.
     1. S’assurer que les renseignements sur l’étiquette de chaque échantillon sont identiques à ce qui figure sur la demande d’analyse et les tubes à essai correspondants.
  3. Signer le formulaire.
     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 remplir le dossier à l’ordinateur.
     2. Noter que les résultats ont été vérifiés. Voir Documentation 7.0.

1. **Documentation**
   1. L’absence d’agglutination ou d’hémolyse des globules rouges, après l’utilisation de la technique de préréchauffement, indique habituellement qu’il n’y avait pas d’anticorps irréguliers cliniquement significatifs ou qu’ils étaient indécelables.
   2. La présence d’agglutination ou d’hémolyse des globules rouges, après l’utilisation de la technique de préréchauffement, indique la présence d’anticorps irréguliers cliniquement significatifs.
2. **Remarques**
   1. Un mL de plasma du patient (ou de solution de potentialisation, le cas échéant) suffit à effectuer un dépistage d’anticorps. S’il y a un plus grand nombre de globules rouges à tester, il faut augmenter en conséquence le volume de plasma du patient ou de solution de potentialisation. Un mL = 20 gouttes (environ).
   2. Pour les anticorps réactifs froids faibles, il peut suffire de réchauffer le plasma du patient avant de l’ajouter aux globules rouges commerciaux (et à la solution de potentialisation, le cas échéant) pour prévenir l’interférence des anticorps réactifs froids.
   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 négatif.
   4. La technique de préréchauffement ne permet pas le dépistage d’allo-anticorps qui s’agglutinent à 37ºC ou moins et qui ne sont pas réactifs dans la phase à l’antiglobuline. Pour démontrer la présence de ces anticorps, il faudra peut-être faire le test (y compris la centrifugation) à 37ºC.
3. **Références**
   1. ROBACK JD, éd. *American Association of Blood Banks Technical manual*, 17e éd., American Association of Blood Banks, Bethesda, MD (2008), p. 900-901.
   2. Judd WJ, Methods in Immunohematology 3e éd.; 2008:27
4. **Suivi des révisions**

|  |  |
| --- | --- |
| **Date de la révision** | **Résumé des changements** |
| 1ermars 2014 | * Changement du nom du manuel * Modification du libellé de la section 2.2 * Reformatage de la section 6.0. * Modification au libellé du paragraphe 6.4.1. pour inclure des directives précises sur l’étiquetage des tubes. * Ajout de Voir AR.002 – Lavage manuel ou automatisé des cellules au paragraphe 6.7.1. * Mise à jour des références pour inclure les versions les plus récentes |