1. **Principe**

Pour identifier les alloanticorps réactifs froids, notamment anti-M, anti-Lea,ou anti P1.

Le plasma est mis à l’épreuve contre un panel de huit cellules de groupe O ou plus dont la composition antigénique est connue, en utilisant la technique par laquelle l’anticorps a d’abord été dépisté. Les réactions positives sont comparées au schéma de réactions des antigènes présents sur les cellules du panel. Ces réactions sont étudiées pour identifier le ou les anticorps présents.

Cette procédure peut aussi servir à identifier des autoanticorps réactifs froids. Bon nombre d’autoanticorps froids ont aussi une spécificité anti-I ou anti-H9.2. Il est souvent utile d’inclure des cellules adultes de groupe O et des cellules de cordon, ainsi que des cellules de groupe A1 et A2 (si le patient est de groupe A) et de cellules B (si le patient est de groupe B) au moment de l’identification d’anticorps réactifs froids9.2.

1. **Portée et politiques connexes**

Un panel à froid est habituellement utilisé lors d’un soupçon d’anticorps réactif froid. Exemples :

* lors de l’investigation d’une divergence de groupe ABO
* en présence de résultat(s) positif(s) à une épreuve de compatibilité avec centrifugation immédiate lorsque le dépistage d’anticorps a été négatif
* lorsque les résultats du panel pour anticorps chauds sont non concluants (en particulier quand les résultats à 37 oC sont de niveau nettement plus élevé que les résultats du TIA)
* si l’on soupçonne la présence d’un anticorps réactif froid

1. **Échantillons**

Sang total anticoagulé - tube EDTA

1. **Matériel**

**Équipement** : centrifugeuse sérologique

support à tubes

réfrigérateur

microscope

**Fournitures** : tubes 10 x 75 mm

pipettes sérologiques

**Réactifs :** panel de cellules et feuille d’antigramme correspondante

solution saline normale

1. **Contrôle de la qualité**
   1. Faire un autocontrôle en parallèle au panel pour aider à déterminer si les anticorps dépistés sont des alloanticorps ou des autoanticorps.
   2. Voir CAQ.001 - Contrôle de la qualité des globules rouges et des antisérums commerciaux.
2. **Procédure**
   1. Vérification de l’’acceptabilité des échantillons.
      1. Voir PA.002 - Acceptation ou rejet des échantillons.
   2. Inscription de données sur la feuille d’antigramme :
      1. Transcrire les données suivantes à partir de l’étiquette de l’échantillon :

* nom de famille et prénom du patient
* numéro d’identification du patient
* date du prélèvement (heure facultative)

ou mettre une étiquette informatisée

* + 1. Inscrire la date du jour de l’épreuve
    2. Noter la méthode utilisée pour faire le test. Ce renseignement est habituellement écrit au-dessus de la colonne dans laquelle les résultats seront inscrits.
    3. Identifier sur la feuille d’antigramme toutes les cellules à tester, p. ex. cellules de cordon, cellules A1, A2 ou B
    4. S’assurer que la feuille d’antigramme correspond au panel de cellules en comparant le numéro de lot sur la feuille d’antigramme et sur les flacons de cellules du panel
  1. Centrifugation
     1. Centrifuger le ou les échantillons pendant 5 minutes à 3500 rpm ou l’équivalent.
     2. Vérifier l’apparence du ou des échantillons du patient à la recherche d’anomalies. Voir PA.002 – Acceptation ou rejet des échantillons, étape 6.5.
     3. Comparer le nom et le numéro d’identification du patient sur tous les échantillons avec les données correspondantes sur la feuille de demande ou à l’écran.
  2. Préparation d’une suspension cellulaire à 3 % (cellules du patient et de cordon, groupe A ou B, au besoin)  
     1. Inscrire le nom de famille complet du patient sur le tube; copier les renseignements à partir de l’échantillon et non du formulaire de demande. On peut se servir d’une étiquette préimprimée (s’assurer que les données sont identiques à celles du formulaire de demande).
     2. Placer 2 gouttes de sang total (ou l’équivalent : 1 goutte de culot globulaire) dans le tube étiqueté.
     3. Ajouter 0,5 à 1,0 ml de solution saline normale et mélanger pour remettre en suspension à 3 %.
     4. Comparer à une suspension cellulaire commerciale à 3 % et ajuster au besoin la concentration de la suspension.
     5. Préparer des suspensions à 3 % de cellules de cordon de groupe O, de groupe A1, A2 et B, au besoin.
  3. Étiquetage des tubes
     1. Étiqueter le nombre nécessaire de tubes à préparer en y inscrivant le nom de famille et le numéro de cellule du panel. Raccourcir au besoin le nom de famille aux trois premières lettres. Placer les tubes en ordre numérique dans le support.
     2. Étiqueter un tube en y mettant le nom de famille et « auto ». Placer le tube dans le support.
  4. Ajout de l’échantillon et des cellules aux tubes étiquetés :
     1. Récupérer l’échantillon dans la centrifugeuse et vérifier s’il est d’apparence normale. Comparer le nom et le numéro d’identification de l’échantillon aux données correspondantes sur l’antigramme.
     2. Ajouter 2-3 gouttes9.2 de plasma dans chaque tube.
     3. Ajouter 1 goute de la suspension à 3 % des cellules du patient dans le tube étiqueté « auto ».
     4. Ajouter 1 goutte de cellule de panel appropriée dans le tube étiqueté correspondant.
     5. Mélanger le contenu de chaque tube. Comparer l’aspect et le volume de chaque tube.
  5. Incubation et centrifugation
     1. Incuber à température ambiante (TA), environ 20 à 22ºC, pendant 30 minutes.
     2. Centrifuger les tubes dans une centrifugeuse sérologique à 3400 rpm pendant 15 secondes.
     3. Vérifier la présence d’hémolyse. Le cas échéant, remettre en suspension et faire une lecture macroscopique.
     4. Interpréter et inscrire les résultats sur la feuille d’antigramme. Voir AR.001 - Lecture et inscription des réactions d’hémagglutination.
     5. Si toutes les cellules de panel sont négatives, inscrire les résultats conformément à Documentation – 7.0.
  6. Interprétation des résultats

|  |  |
| --- | --- |
| ***Si…*** | **vous devez…** |
| les cellules réagissent, mais que l’autotémoin est négatif, | procéder à une exclusion d’anticorps. Voir EC.008 - Exclusion d’anticorps.  En l’absence de spécificité évidente, envisager des causes comme la variabilité et le dosage de l’antigène. Certains antigènes (p. ex. I, P1, Lea, Sda) sont exprimés à divers degrés sur les globules rouges de divers donneurs adultes. Les globules rouges de personnes hétérozygotes quant au gène qui détermine l’antigène peuvent exprimer moins d’antigène et réagir faiblement ou pas du tout. Envisager la possibilité d’un anticorps à un antigène peu fréquent |
| toutes les cellules de groupe O, incluant l’autotémoin, sont positives : | Déterminer la spécificité, si possible à l’aide de cellules de cordon ou de cellules de groupe A1 et A2, le cas échéant9.1. Voir la Remarque 8.2. |

* 1. Revue des antécédents
     1. Obtenir le diagnostic, les antécédents transfusionnels et obstétriques (ainsi que la médication si l’autocontrôle ou le TDA est positif). Inscrire les antécédents sur la feuille d’antigramme.

|  |  |
| --- | --- |
| ***Si…*** |  |
| le patient n’a pas reçu de transfusion au cours des 3 derniers mois, | confirmer l’identité de l’anticorps en faisant un phénotypage des cellules du patient pour l’antigène correspondant. Les cellules du patient devraient être négatives pour l’antigène dont le patient possède l’alloanticorps correspondant.  Voir la Remarque 8.1. |
| le patient a reçu une transfusion au cours des 3 derniers mois, | ne pas procéder au phénotypage de l’échantillon courant. Faire la procédure de phénotypage uniquement si un échantillon prétransfusionnel est disponible. |
| la spécificité de l’anticorps est jugée sans importance clinique, | le typage des antigènes des unités de donneur ou des cellules du patient n’est pas requis. |

* 1. Transmission des résultats
     1. Transmettre le résultat de l’identification d’anticorps. Voir 7.0 – Documentation.
  2. Épreuve de compatibilité
     1. Procéder à une épreuve de compatibilité à l’antiglobuline des unités de donneur; les unités de donneur compatibles peuvent être transfusées. Une technique de préréchauffement peut être utile pour obtenir des unités de donneur compatibles.
     2. S’il est impossible de trouver des unités de donneur compatibles par technique de préréchauffement, il faut faire une épreuve de compatibilité avec du sang dénué de l’antigène.
     3. Exemples d’anticorps réactifs froids sans importance clinique : anti-HI, anti-P1, anti-Lea, anti-M, anti-N, anti-Lua, anti-Bg, anti-Sda, la plupart des exemples d’anti-Leb et d’anti-A1.
  3. Vérification
     1. Remplir la feuille de contrôle pertinente pour s’assurer que tous les aspects ont été couverts. Voir le formulaire EC.006F.
     2. Préparer un « registre » ou une fiche d’anticorps (pour les dossiers internes) si cela semble pertinent d’un point de vue clinique.
     3. Garder toutes les feuilles de travail (c.-à-d. feuille d’antigramme, de phénotypage, etc.) conformément aux règles provinciales.
     4. Inscrire l’anticorps sur le formulaire de demande ou à l’ordinateur.

1. **Documentation**
   1. Pour tous les anticorps, inscrire le nom de chaque anticorps identifié et indiquer la pertinence clinique de l’anticorps.
2. **Remarques**
   1. Il n’est pas nécessaire de procéder au typage si l’antigène si l’anticorps n’est pas jugé cliniquement significatif.
      1. Certains établissements procèdent au phénotypage des antigènes correspondants et antithétiques. Même si c’est désirable en certaines circonstances (le patient qui recevra des transfusions de façon chronique), ce n’est pas nécessaire pour l’identification des anticorps. Voir EC.009- Typage des antigènes – Agglutination directe et indirecte.
      2. Le phénotypage d’antigènes Lea et Leb peut être fait si un anti-Lea ou un anti-Leb a été identifié. Les patients ayant un anticorps du système Lewis auront comme résultat Le (a-b-), sauf en cas de grossesse. Le typage des antigènes de type Lewis n’est pas inscrit au cours de la grossesse puisque leur expression est faible ou absente.
   2. Si toutes les cellules réagissent (force égale), y compris l’autotémoin, la spécificité pourrait être anti-Pr. Les cellules traitées par enzyme ne devraient pas réagir en présence d’anti-Pr9.1.
3. **Références**
   1. ROBACK JD, éd. *American Association of Blood Banks Technical Manual*, 17e éd, Bethesda, MD, American Association of Blood Banks (2011), p. 923.
   2. Judd WJ. *Methods in immunohematology*, 3e éd. Montgomery Scientific Publications (1998), p. 68-70.
4. **Suivi des révisions**

|  |  |
| --- | --- |
| **Date de la révision** | **Résumé des changements** |
| 1er mars 2014 | * Changement du nom du manuel * Modification du libellé de la section 1 pour préciser que « bon nombre d’autoanticorps froids ont aussi une spécificité anti-I ou anti-H » et donner des exemples d’alloanticorps réactifs froids * Renumérotation des sections 6 et 8 et modifications mineures du libellé * En 6.6, précision de 2-3 gouttes conformément à la référence citée * Ajout à la section 6.9 : si la spécificité de l’anticorps est jugée sans importance clinique, le typage des unités de donneur ou des cellules du patient n’est pas requis.1 * Ajout à la section 7.1 : « et indiquer la pertinence clinique de l’anticorps » * Ajout à la section 8.1 : « Il n’est pas nécessaire de procéder au typage si l’antigène si l’anticorps n’est pas jugé cliniquement significatif. » * Mise à jour des références |