1. **Principe**

Des globules rouges sont testés contre des antisérums spécifiques pour déterminer la présence ou l'absence d'antigènes au groupe sanguin.

Dans la procédure de typage direct des antigènes, l’antisérum spécifique provoquera une agglutination des globules rouges qui possèdent l’antigène correspondant. L’agglutination peut se produire à température ambiante, à 4ºC ou à 37ºC, en fonction de l’antisérum utilisé.

Dans la procédure de typageindirect des antigènes, l’antisérum spécifique sensibilisera les globules rouges qui possèdent l’antigène correspondant. L’agglutination se manifestera lors du test indirect à l’antiglobuline (TIA).

Greffe de moelle osseuse

Lors d'une procédure de typage d'antigène chez des patients ayant reçu une greffe de moelle osseuse (GMO), il faut toujours prendre en compte les antécédents du patient. Après une GMO, on peut constater un chimérisme dû à la présence d'antigènes aux globules rouges, en raison de la persistance des lymphocytes B du receveur.

1. **Portée et politiques connexes**
   1. Il faut faire un autocontrôle ou un test direct à l’antiglobuline en conjonction à tout typage de globules rouges exigeant un test indirect à l’antiglobuline9.1.
   2. Le typage d'antigènes (phénotypage) des cellules de patient est fait sur un échantillon d’un patient qui n’a pas reçu de transfusion au cours des 3 derniers mois. La procédure :
      1. doit être faite avant que l’on puisse attribuer une spécificité à un anticorps nouvellement dépisté;
      2. peut aider à exclure un ou des anticorps lors d’une procédure d’identification d’anticorps;
      3. est recommandée pour les patients qui auront besoin de transfusions à long terme [p.ex. patients atteints d’anémie chronique (drépanocytose, thalassémie)]. Envisager le typage avec des antisérums comme anti-C, -c, -E, -e, -K, -Jka, -Jkb, -Fya, -Fyb, -S et –s pour fournir des données de base en cas de production ultérieure d’anticorps.
   3. Le typage des antigènes (phénotypage) des unités de donneur est nécessaire pour choisir des unités de donneur pour un patient qui présente un ou des anticorps cliniquement significatifs ou qui a des antécédents de tels anticorps.
      1. Le typage des antigènes n’est pas nécessaire quand un patient possède un ou des anticorps sans importance clinique et qu’il est possible de trouver des unités de donneur compatibles à l’aide d’une épreuve sérologique.
2. **Échantillons**
   1. Le typage des antigènes doit être fait sur un échantillon prétransfusionnel (sang total anticoagulé - tube EDTA). Voir la Remarque 8.2.

* Analyser les échantillons de préférence dans les deux jours suivant leur prélèvement.
* Les échantillons qui ne peuvent être analysés immédiatement doivent être entreposés à 4ºC.
  1. Les globules rouges entreposés dans les segments d’une unité de donneur peuvent être analysés jusqu’à la date de péremption de l’unité, s’ils sont entreposés entre 1 et 6ºC.

1. **Matériel**

**Équipement** : centrifugeuse sérologique

laveur de cellules

support à tubes

bain-marie/bloc chauffant à 37ºC

microscope

**Fournitures** : tubes 10 x 75 mm

pipettes sérologiques

dispositif à segment

**Réactifs**: cellules de panel ou de dépistage à 3 à 5 % (témoins)

antisérums commerciaux (et dépliant du fabricant)

anti-IgG

cellules recouvertes d'IgG

solution saline normale

**Feuilles de travail :** Typage des antigènes – EC.009F

1. **Contrôle de la qualité**
   1. Les antisérums commerciaux doivent être testés avec des cellules témoins positives et négatives appropriées chaque fois que l’on s’en sert9.1.
   2. La cellule témoin positive doit avoir l’expression la plus faible de l’antigène correspondant (c.-à-d. dosage simple, ou expression hétérozygote de l’antigène, le cas échéant)9.1. Le témoin négatif ne doit pas révéler l’antigène correspondant.
2. **Procédures**
   1. Vérifier l'acceptabilité des échantillons. Voir PA.002 - Acceptation ou rejet des échantillons.
   2. Remplir une feuille de typage d’antigènes du patient – EC.009F. Transcrire sur la feuille de travail le nom et le numéro d’identification du patient à partir de l’échantillon ou se servir d’une feuille de travail informatisée.

Pour le typage d’unités de donneur, remplir une feuille de typage d’antigènes d’unités de donneur – EC.009F. Pour estimer le nombre d’unités à tester, voir la Remarque 8.1. Si la feuille est informatisée, procéder à l’entrée des résultats à l’ordinateur.

* 1. Confirmer que le patient n’a pas reçu de transfusion au cours des 3 derniers mois. Inscrire cette information sur la feuille de travail.

|  |  |
| --- | --- |
| ***Si…*** | ***Vous devez…*** |
| le patient a reçu une transfusionau cours des 3 derniers mois, | utiliser un échantillon prétransfusionnel s’il y en a un. Voir la Remarque 8.2. |

* 1. Si le typage d’antigènes se fait à l’aide d’un test indirect à l’antiglobuline, confirmer qu’un autocontrôle par TIA ou test direct à l’antiglobuline (TDA) sur les cellules est négatif. Inscrire les résultats de l’autocontrôle (par TIA ou TDA) sur la feuille de travail.

|  |  |
| --- | --- |
| ***Si…*** | ***Vous devez…*** |
| les résultats de l’autocontrôle par TIA ou du TDA révèlent seulement de l’anti-C3, | faire un typage d’antigènes au moyen d’un test indirect à l’antiglobuline à condition de vous servir d’un réactif anti-IgG |
| les résultats de l’autocontrôle par TIA ou du TDA sont positifs avec un anti-IgG, | ne pas procéder au typage d’antigènes au moyen d’un test indirect à l’antiglobuline. Pour l’épreuve, se servir d’antisérum monoclonal ou prétraiter les cellules par chloroquine ou EGA. Voir PS.011 ou 012. |

* 1. Préparer une suspension cellulaire à 3 % avec les cellules du patient.
     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 utiliser une étiquette préimprimée (s’assurer que les renseignements correspondent exactement à ce qui figure sur le 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.
  2. Préparation d’une suspension cellulaire à 3 % d’unités de donneur :
     1. À l’aide du dispositif à segment, laisser tomber une goutte de sang dans un tube à essai étiqueté comportant le numéro complet du donneur.
     2. Ajouter de 0,5 à 1,0 ml de solution saline normale pour remettre en suspension à 3 %.
     3. Comparer à une suspension cellulaire commerciale à 3 % et ajuster au besoin la concentration de la suspension.
  3. Revoir le dépliant courant du fabricant de l’antisérum utilisé pour obtenir des directives précises quant au nombre de gouttes, à la méthode, à la température et au temps d’incubation.
  4. Choisir les cellules appropriées comme témoins positif et négatif à partie de cellules du panel ou de cellules de dépistage.
* Le témoin négatif ne doit pas être porteur de l’antigène.
* La cellule choisie comme témoin positif doit avoir l’expression la plus faible de l’antigène [c.-à-d. si possible, le témoin positif doit avoir une dose simple (hétérozygote) de l’antigène].
  1. Étiqueter les tubes comme suit :
     1. Un tube portant les trois premières lettres du nom de famille du patient et le nombre requis de tubes pour les unités de donneurs à l’étude, chacun portant les quatre derniers chiffres du donneur approprié et le nom de l’antigène : p. ex. JON Fya (ou 4267 Fya).
     2. Un tube pour le témoin positif : p. ex. « Fya + ».
     3. Un tube pour le témoin négatif : p. ex. « Fya – ».
     4. Noter le numéro du panel et celui des cellules utilisées comme témoins positif et négatif.
  2. Ajouter le nombre approprié de gouttes (conformément au dépliant du fabricant) et inscrire le numéro de lot et la date de péremption de l’antisérum sur la feuille de travail ou à l’ordinateur.
  3. Ajouter 1 goutte de suspension des cellules du patient, du donneur ou de la suspension appropriée de cellules témoins aux tubes appropriés.
  4. Mélanger tous les tubes.
  5. Conformément aux directives du dépliant du fabricant, procéder aux étapes selon les directives.
  6. Ajouter des cellules recouvertes d’IgG à tous les résultats négatifs au TIA; centrifuger, remettre en suspension et faire une lecture macroscopique. Inscrire les résultats. En l’absence d’agglutination macroscopique, il faut répéter le test et les témoins. Consulter les directives du fabricant.
  7. Mettre ses initiales ou signer et inscrire l'heure et la date de la conclusion de l'épreuve sur la feuille de travail ou à l'ordinateur.
  8. Inscrire le résultat du typage d’antigènes. Voir 7.0 – Documentation.

1. **Documentation**
   1. Une agglutination macroscopique avec un antisérum spécifique indique la présence de l’antigène correspondant sur les cellules. L’absence d’agglutination avec un antisérum spécifique indique l’absence de l’antigène correspondant sur les cellules. Consulter les directives du fabricant sur l’interprétation avec chaque antisérum utilisé.
2. **Remarques**
   1. Pour obtenir un certain nombre d’unités de donneur exemptes d’un antigène donné, penser à la fréquence de l’antigène dans une population donnée.

Exemple :

Fréquence de l’antigène E = 30 %

ou % d’unités de donneur E négatives = 70 %

S’il y a 70 donneurs E négatifs dans une population de 100 donneurs, il devrait y avoir environ 2 donneurs E négatifs dans une population de 3 donneurs.

C’est pourquoi si l’on veut obtenir 2 unités de donneur exempts de l’antigène E, il faudra probablement procéder au typage de 3 unités de donneur.

* 1. Si le patient a reçu une transfusion au cours des 3 derniers mois, on peut tenter de procéder à une séparation de ses propres cellules9.2 à l’interne si possible. Le génotypage de l’échantillon peut aussi être fait dans un laboratoire externe.

1. **Références**
   1. *Standards for Hospital Transfusion Services*, version 3 – février 2011, Société canadienne de médecine transfusionnelle; 5.3.4
   2. ROBACK JD, éd. *American Association of Blood Banks Technical Manual*, 17e éd, Bethesda, MD, American Association of Blood Banks (2011), p. 472, 892.
2. **Suivi des révisions**

|  |  |
| --- | --- |
| **Date de la révision** | **Résumé des changements** |
| 1er mars 2014 | * Changement du nom du manuel * Renumérotation et changements mineurs au libellé des sections   2.0, 6.0 et 7.0   * Précision apportée à la section 3.2 : «  s’ils sont entreposés entre 1 et 6ºC » * Précision sur cellules à 3 à 5 % à la section 4.0 * Modification du libellé à la section 6.14 pour mentionner l’agglutination macroscopique et les directives du fabricant * Ajout à la section 8.2 sur la possibilité de faire le génotypage à l’interne * Mise à jour des références |