1. **Principe**

Pour déterminer l’amplitude thermique des autoanticorps froids en effectuant un test de dépistage à 37ºC, à 32ºC, à 28ºC et à 22ºC.

1. **Portée et politiques connexes** 
   1. Il faut que le dépistage d’anticorps – agglutinines froides soit positif pour effectuer cette procédure.
   2. Toutes les épreuves seront montées en se servant de plasma séparé à chaud (37ºC).
2. **Échantillons**

Sang total anticoagulé - tube EDTA

1. **Matériel**

**Équipement** : centrifugeuse sérologique

support à tubes

bain-marie ou bloc chauffant à 37ºC, 32ºC, 28ºC et 22ºC

**Fournitures** : tubes 10 x 75 mm

pipettes sérologiques

**Réactifs :** suspension à 3 % de cellules adultes du groupe O P1 (I) négatives (cellules de dépistage)

suspension à 3 % des propres globules rouges du patient (cellules autologues)

1. **Contrôle de la qualité - S.O.**
2. **Procédure** 
   1. Vérifier l’acceptabilité de l’échantillon pour s’assurer que les renseignements sur l’étiquette de l’échantillon correspondent au formulaire de demande. Voir PA.002 - Acceptation ou rejet des échantillons.
   2. Vérifier les antécédents du patient. Voir PA.003 – Vérification des antécédents du patient.
   3. Séparer à chaud l’échantillon du patient en le plaçant dans un bain-marie ou bloc chauffant à 37ºC pendant au moins 15 minutes et en le mélangeant de temps à autre. Réchauffer aussi les paniers de centrifugation dans un bain-marie à 37ºC. Centrifuger l’échantillon dans les paniers réchauffés environ 2 à 5 minutes à 3000 rpm et le placer dans un bain-marie à 37ºC immédiatement après la fin de la centrifugation. Avec une pipette réchauffée à 37ºC, transférer le plasma dans un tube propre et étiqueté en évitant toutes les cellules. Centrifuger encore l’échantillon de plasma pour le rendre limpide.
   4. Étiqueter 2 tubes de 10 x 75 mm en y mettant les 3 premières lettres du nom de famille du patient. Sur l’un des tubes, écrire « adulte » et sur l’autre, « auto »
   5. Réchauffer les globules rouges, le plasma et le tubes 10 x 75 mm à 37ºC
   6. Pipetter 3 gouttes de plasma du patient dans chacun des 2 tubes étiquetés.

* 1. Pipetter 1 goutte de la suspension à 3 % de cellules O adultes dans le tube étiqueté « adulte ».
  2. Pipetter 1 goutte de la suspension à 3 % de cellules du patient dans le tube étiqueté « auto ».
  3. Placer les tubes dans un bain-marie ou un bloc chauffant à 37ºC et incuber pendant 1 heure.
  4. Centrifuger à 3400 rpm pendant 10 à 15 secondes. Remettre en suspension et faire une lecture macroscopique à la recherche d’agglutinat. Interpréter et inscrire les résultats conformément à la procédure établie. Voir AR.001 – Lecture et inscription des réactions d’hémagglutination.
  5. Placer les tubes dans un bain-marie ou un bloc chauffant à 32ºC et incuber pendant 1 heure.
  6. Centrifuger à 3400 rpm pendant 10 à 15 secondes. Remettre en suspension et faire une lecture macroscopique à la recherche d’agglutinat. Interpréter et inscrire les résultats conformément à la procédure établie.
  7. Placer les tubes dans un bain-marie ou un bloc chauffant à 28ºC et incuber pendant 1 heure.
  8. Centrifuger à 3400 rpm pendant 10 à 15 secondes. Remettre en suspension et faire une lecture macroscopique à la recherche d’agglutinat. Interpréter et inscrire les résultats conformément à la procédure établie.
  9. Placer les tubes dans un bain-marie ou un bloc chauffant à 22ºC et incuber pendant 1 heure.
  10. Centrifuger à 3400 rpm pendant 10 à 15 secondes. Remettre en suspension et faire une lecture macroscopique à la recherche d’agglutinat. Interpréter et inscrire les résultats conformément à la procédure établie.
  11. Interpréter les résultats du dépistage d’anticorps. Voir 7.0 – Documentation.
  12. Mettre ses initiales ou signer et noter l'heure et la date de la conclusion de l'épreuve sur le formulaire de demande ou vérifier à l'ordinateur.
  13. Procéder à une vérification. Vérifier que le nom du patient et le numéro d'identification sont identiques sur tous les échantillons et sur le formulaire de demande. Vérifier que le nom du patient est identique sur tous les tubes et sur le formulaire de demande. Vérifier que les résultats de l’épreuve sont inscrits. Vérifier que les résultats ont été interprétés correctement.
  14. Transmettre le résultat de l’amplitude thermique. Voir 7.0 – Documentation.

1. **Documentation**
   1. L’amplitude thermique est la température la plus élevée à laquelle survient une réaction des cellules autologues. Par exemple, il peut n’y avoir aucune réaction à 37ºC, mais une réaction à 32ºC, de sorte que l’amplitude thermique serait de 32ºC.
2. **Remarques**
   1. Le titrage et le dosage des agglutinines froides pour déterminer l’amplitude thermique ne sont pas effectués de routine. Ces dosages ne sont faits qu’à la demande du médecin.
3. **Références**
   1. Judd, WJ éd. *Judd’s Methods in Immunohematology*, 3e éd., Bethesda, MD: 435-436.
4. **Suivi des révisions**

|  |  |
| --- | --- |
| **Date de la révision** | **Résumé des changements** |
| 1er septembre 2014 | * Changement du nom du manuel * Révision de la section 4.0 » * Révision et renumérotation de la section 6.0; déplacement du paragraphe qui devient 6.2 * Changement du numéro de la procédure de PA.006 à AR.001 à la section 6.10 * Mise à jour des références |