1. **Principe**

Le traitement enzymatique des globules rouges améliore la réactivité d'un anticorps avec l'antigène correspondant en stimulant la fixation de l'anticorps aux globules rouges en raison de l'exposition de sites antigéniques latents ou de la diminution de l’encombrement stérique par l'élimination des glucides et des polypeptides à la surface des globules rouges.

La diminution de la réactivité d'un antigène avec l'anticorps adéquat peut s'expliquer par le clivage total du site antigénique ou l'élimination d'un constituant à proximité du site de réaction qui modifie la configuration stérique ou de charge de l'antigène de façon telle que l'anticorps ne le reconnaisse plus.

1. **Portée et politiques connexes**
   1. La papaïne lyophilisée et la ficine lyophilisée peuvent servir d’enzymes de traitement.
2. **Échantillons**

Sang total anticoagulé - tube EDTA

1. **Matériel**

**Équipement** : centrifugeuse sérologique

support à tubes

bain-marie/bloc chauffant à 37ºC

**Fournitures** : tubes de 10 x 75 mm

pipettes sérologiques

**Réactifs :** panel commercial de globules rouges traités par ficine

solution de ficine - fournie avec le panel commercial

solution témoin de ficine – fournie avec le panel commercial

1. **Contrôle de la qualité**
   1. Il faut se servir de la solution témoin de ficine fournie avec le panel et obtenir les résultats attendus pour pouvoir qualifier le traitement de réussi.
   2. Il faut utiliser et entreposer la ficine en suivant les instructions du fabricant.
2. **Procédure**
   1. Préparation des cellules :

6.1.1 Pour traiter par ficine les globules rouges du patient et/ou toutes autres cellules requises, préparer une suspension saline à 3 % de cellules lavées.

* + 1. Préparer une solution reconstituée de ficine en diluant 0,1 mL de solution de ficine dans 0,9 mL de solution saline normale.
    2. Étiqueter correctement un (1) tube de 10 x 75 mm pour chaque cellule à traiter.
    3. À chaque tube, ajouter 10 gouttes de suspension à 3 % de cellules appropriées et 10 gouttes de la solution reconstituée de ficine. (Proportions 1 : 1)
    4. Mélanger et incuber les tubes à 37ºC pendant 10 à 15 minutes. Voir Remarque 8.1.
    5. Laver les globules rouges au moins 3 fois avec une solution saline normale à 0,9 % en les laissant bien décanter après chaque lavage. Préparer une suspension à 3 % des cellules traitées.
    6. Étiqueter un (1) tube de 10 x 75 mm qui servira à faire une épreuve témoin pour chacune des cellules traitées.
    7. À chaque tube, ajouter 1 goutte de la suspension saline à 3 % appropriée de cellules traitées par ficine et 2 gouttes de solution témoin de ficine. Mélanger. Centrifuger à 1000 rpm pendant 1 minute.
    8. Remettre délicatement en suspension le culot globulaire et examiner pour détecter toute agglutination. Les cellules correctement traitées à l’aide de la solution de ficine devraient produire une réaction de niveau 3 ou 4 avec la ficine témoin.
    9. Si on obtient des réactions faibles avec le TÉMOIN, répéter le traitement par ficine. Si le témoin est valide, tester le plasma du patient avec les cellules traitées par ficine.
  1. Procédure du test :
     1. Écrire sur les tubes les trois premières lettres du nom de famille du patient et le numéro correspondant de cellule de panel traitée par ficine et sur un tube supplémentaire pour procéder à un contrôle autologue.
     2. Préparer des cellules autologues traitées par ficine, tel que décrit en 6.1.1 à 6.1.10.
     3. Mettre 2 gouttes de plasma dans chaque tube étiqueté.
     4. Ajouter 1 goutte de chacune des cellules réactives traitées et 1 goutte de cellules traitées du patient aux tubes étiquetés appropriés.
     5. Mélanger le contenu de chaque tube et incuber les tubes à 37ºC pendant 15 à 30 minutes.
     6. Laver les globules rouges au moins trois (3) fois avec une solution saline normale.
     7. Ajouter 2 gouttes d’anti-IgG à chaque tube.
     8. Mélanger et centrifuger les tubes à 3400 rpm pendant 10 à 15 secondes.
     9. Remettre délicatement en suspension chaque culot globulaire et faire une lecture macroscopique pour détecter toute agglutination. Inscrire les résultats.
     10. Confirmer la validité de toute réaction négative à l’aide de cellules témoins d’antiglobuline sensibilisées à l’IgG.

1. **Documentation**
   1. L’absence d’agglutination est un résultat négatif qui est confirmé par l’addition de cellules témoins d’antiglobuline sensibilisées à l’IgG.
   2. La présence d’agglutination ou l’hémolyse est un résultat positif qui indique la présence d’une réaction antigène-anticorps.
2. **Remarques**
   1. Le temps d’incubation de globules rouges traités ne de pas dépasser 15 minutes. Une prolongation de l’incubation pourrait entraîner des réactions faussement positives.
   2. Les techniques enzymatiques sont particulièrement susceptibles de provoquer des réactions équivoques. La sensibilité accrue ne se limite pas aux anticorps cliniquement significatifs, mais détecte aussi les autoanticorps, tant froids que chauds, qui peuvent être en concentration trop faible pour être dépistés par les méthodes traditionnelles. L’examen au microscope n’
   3. Il ne faut pas se servir de globules rouges dont le TDA a été positif pour procéder au test indirect à l’antiglobuline.
   4. Une technique fautive peut rendre les résultats non valides.
   5. Le dépistage d’anticorps ne doit pas reposer uniquement sur une procédure enzymatique.

**9.0 Références**

9.1 Roback, JD. éd. *AABB Technical Manual*, 17e éd. Bethesda MD: American Association of Blood Banks (2011) : 902-905.

9.2 Dépliant du fabricant accompagnant la ficine ou le panel utilisé.

1. **Suivi des révisions­**

|  |  |
| --- | --- |
| **Date de la révision** | **Résumé des changements** |
| 1er septembre 2014 | * Changement du nom du manuel * Ajout du paragraphe 5.2 * Révision de la section 6 * Révision et renumérotation de la section 7.0 * Mise à jour des références |