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 d’un encombrement stérique diminué 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. **Échantillon**

Sang total anticoagulé - tube EDTA.

1. **Matériel**

**Équipement :**  bain-marie / bloc chauffant à 37ºC

**Fournitures** : tubes 10 x 75 mm

pipettes sérologiques

**Réactifs :** papaïne lyophilisée de BCA

solution saline normale (0,9 %)

solution Alsevers

anti-c

sérum anti-Fya

1. **Contrôle de la qualité**

5.1 On doit tester les témoins pertinents avec les cellules traitées par enzyme pour valider les traitements adéquats.

* 1. À effectuer sur un volume reconstitué de globules rouges de panel traités par enzyme ou sur des cellules de dépistage :

|  |  |
| --- | --- |
| Sérum | Réactions attendues |
| Anti-c dilué (faible - niveau 1) TIAS, TIAL | TIAP positif à 37ºC |
| Anti-Fya > niveau 2 TIAS, TIAL | TIAP négatif à 37ºC |
| \* Plasma inerte négatif, TIAS, TIAL | TIAP négatif à 37ºC |

TIAS TIA avec solution saline

TIAL TIA avec SFCI (LISS)

TIAP TIA avec papaïne

\*plasma inerte ou ABS à 6 %

1. **Procédure**

**Méthode en deux étapes (indirecte) de prétraitement des globules rouges**

* 1. Reconstituer la fiole de papaïne lyophilisée avec 2 mL de solution saline normale à 0,9 %.
  2. Étiqueter des tubes de 10 x 75 mm en prévision du prétraitement par enzyme.
  3. Ajouter 10 gouttes de suspension à 3 % de cellules lavées deux fois à traiter au tube approprié (inclure les propres cellules du patient).
  4. Ajouter une goutte de papaïne lyophilisée reconstituée. Mélanger.
  5. Incuber à 37ºC pendant 10 minutes. Le temps d’incubation est important.
  6. Laver les cellules au moins trois (3) fois avec une solution saline normale.
  7. Préparer une suspension à 3 % de chacune des cellules traitées.
  8. Voir en annexe la préparation d’un stock de cellules de panel et de dépistage d’anticorps.

*NOTA : La procédure suivante sera suivie s’il faut traiter des cellules de panel ou de dépistage.*

**Préparation d’un stock de cellules de panel**

* 1. Laver tout le contenu du flacon (3 mL) une fois avec une solution saline normale.
  2. Reconstituer à 3 % avec une solution saline normale.
  3. Ajouter 6 gouttes de papaïne lyophilisée reconstituée.
  4. Incuber à 37ºC pendant 10 minutes.
  5. Laver 3 fois avec une solution saline normale.
  6. Préparer une suspension à 50 % avec une solution Alsevers (le panel est bon jusqu’à la date de péremption).

**Préparation d’un panel reconstitué**

* 1. Prendre 1 goutte du stock et la laver une fois avec une solution saline normale.
  2. Remettre en suspension à 3 % dans une solution saline.
  3. Faire un test témoin des cellules de panel traitées avec des sérums anti-c et anti-Fya.

**Préparation d’un stock de cellules de dépistage d’anticorps**   
(en utilisation courante) 2 ensembles

* 1. Prendre 3 mL de chaque ensemble et préparer des suspensions de stock et reconstituées, comme pour les cellules de panel ci-dessus.
  2. **Procédure du test** :
     1. Inscrire sur les tubes les trois premières lettres du nom de famille du patient et le numéro correspondant de cellule de panel traitée par papaïne et sur un tube supplémentaire pour procéder à un contrôle autologue.
     2. Préparer des cellules autologues traitées par papaïne, tel que décrit en 6.1 à 6.7.
     3. Mettre 2 gouttes de plasma du patient 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 minutes.
     6. Laver les cellules au moins trois (3) fois avec une solution saline.
     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.

6.19.10 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 indique l’absence de réaction antigène-anticorps.
   2. Les résultats négatifs sont confirmés par l’addition de cellules témoins d’antiglobuline sensibilisées à l’IgG.
   3. La présence d’agglutination ou l’hémolyse est un résultat positif qui indique la présence d’une réaction antigène-anticorps.
2. **Remarques**
   1. Voir le tableau suivant (page 6) qui dresse la liste des réactions de certains anticorps aux cellules traitées par papaïne.

**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 papaïne lyophilisée utilisée.

1. **Suivi des révisions­**

|  |  |
| --- | --- |
| **Date de la révision** | **Résumé des changements** |
| 1er septembre 2014 | * Changement du nom du manuel * Ajout du paragraphe 2.1 * Changement de 5 % à 3 % au paragraphe 6.10 * Précision quant au plasma « du patient » à la ligne 6.19.3 * Modification de la température d’incubation à 37ºC à la ligne 6.19.5 * Renumérotation de la section 6.0 * Mise à jour des références |

**Tableau PS.008-1**

Réactions de certains anticorps à des cellules traitées par papaïne au moment d’un test indirect à l’antiglobuline avec papaïne (PIDAT)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| ANTICORPS | RÉACTIF | NON RÉACTIF | ANTICORPS | RÉACTIF | NON RÉACTIF |
| Ata | X |  | Kpa (K3) | X |  |
| Bga, Bgb, Bgc | X |  | Kpb (K4) | X |  |
| C | X |  | Ku (K5) | X |  |
| C | X |  | Lan | X |  |
| ces (V) | X |  | Lea | X |  |
| Ch |  | X | Leb | X |  |
| Coa | X |  | Lsa | X |  |
| Cob | X |  | Lua | X |  |
| Cote (K11) | X |  | Lub | X |  |
| Cw | X |  | Lu3 | X |  |
| D | X |  | Lu8 | X |  |
| Dia | X |  | Lu11 | X |  |
| Dib | X |  | LW | X |  |
| Doa | X |  | M |  | X |
| E | X |  | McCoy |  | X |
| E | X |  | Mg |  | X |
| Ena\*\*\* |  | X | Mur\* | X |  |
| Fya |  | X | N |  | X |
| Fyb |  | X | P1 | X |  |
| F | X |  | Rg |  | X |
| G | X |  | S |  | X |
| Ge | X |  | S |  | X |
| Gya | X |  | Sc1 (SM) | X |  |
| H | X |  | Sda | X |  |
| He\* | X\* |  | Sgro (K13) | X |  |
| Hy | X |  | Swa\* | X\* |  |
| I | X |  | U |  | X |
| i | X |  | Ula | X |  |
| Jka | X |  | V (ces) | X |  |
| Jkb | X |  | Vel | X |  |
| JMH |  | X | Wb |  | X |
| Jra | X |  | Wra | X |  |
| Jsa | X |  | Wrb | X |  |
| Jsb | X |  | Wu | X |  |
| K | X |  | Xga |  | X |
| k | X |  | Yka |  | X |
| Kna | X |  | Yta\*\* |  | X |
|  |  |  | Ytb\*\* |  | X |

\* = Nég ou réaction minime par TIAP, forte réaction à température ambiante.

\*\* = Réactions variables.

\*\*\* = Sensibilité possible en fonction de la structure moléculaire.

Référence : REID ME, LOMAS-FRANCIS C. Blood Group Antigen Factsbook, 2e édition, San Diego, CA, Academic Press (2004).