1. **Principe**

Le traitement des globules rouges par une solution à 6 % d’AET (bromure de 2-aminoéthylisothirouronium) inactive les antigènes Kell (sauf KX) et crée artificiellement des hématies KoKo. L’AET peut aussi atténuer la concentration des antigènes de titre élevé et de faible avidité (HTLA) suivants : JMH, Kn(a), McC(a), McC(d), Hy, Gy(a), Yk(a), de même que les antigènes Yt(a), Yt(b), Vel et LW(a).

Les hématies traitées par AET peuvent contribuer à une investigation sur les anticorps.

1. **Portée et politiques connexes**
	1. Pour déterminer si les anticorps qui réagissent à un antigène fréquent ont une spécificité dans le système Kell.
	2. Pour aider à identifier d’autres alloanticorps dans le plasma qui contient déjà des anticorps HTLA ou Kell.
2. **Échantillon**

Sang total anticoagulé tube EDTA

1. **Matériel**

**Équipement :** laveur de cellules

 centrifugeuse sérologique

 support à tubes

microscope

bain-marie / bloc chauffant à 37ºC

**Fournitures** : tubes 10 x 75 mm

 pipettes sérologiques

**Réactifs** : solution saline phosphatée

solution saline normale

 globules concentrés lavés à traiter (ou cellules de panel)

 anti-IgG (voir Remarque 8.1)

 cellules recouvertes d’IgG

 solution d’AET à 6 %

 réactif anti-K ou anti-cellano

 solution Alsevers

1. **Contrôle de la qualité**
	1. Tester les cellules traitées par AET avec un anti-K connu (cellules traitées K+) ou avec un anti-k connu (cellules k+) pour s’assurer de la destruction des antigènes Kell.
2. **Procédure**

**Traitement des globules rouges :**

* 1. Mélanger un (1) volume de globules rouges concentrés lavés avec quatre (4) volumes de solution d’AET à 6 %.

Pour traiter les cellules du panel, prendre 10 gouttes (3-5 %), laver 2 fois, ajouter 2 gouttes d’AET à 6 % aux globules rouges concentrés

* 1. Incuber à 37ºC pendant 20 minutes en mélangeant aux 5 minutes.
	2. Le lavage des cellules avec une solution saline tamponnée au phosphate de pH 7.0 arrête la réaction. Par la suite, faire 3 ou 4 lavages avec une solution saline normale à 0,9 %. Les globules traités sont de couleur brunâtre.
	3. Les cellules traitées par AET peuvent être entreposées dans des conditions stériles dans une solution Alsevers pendant 7 jours.
	4. Avant de s’en servir, préparer une suspension saline normale à 3 % des cellules.

 **Procédure d’analyse :**

* 1. Étiqueter correctement le nombre de tubes de nécessaires pour analyser le plasma du patient contre des hématies traitées par AET et les mêmes globules rouges non traités.
	2. Ajouter 3 gouttes de plasma du patient à chaque tube.
	3. Ajouter 1 goutte de suspensions cellulaires à 3 % (traitée et non traitée) au tube étiqueté approprié.
	4. Incuber à 37ºC pendant 1 heure.
	5. Laver au moins 3 fois dans une solution saline normale.
	6. Pour faire sécher le culot de globules rouges, ajouter 2 gouttes d’anti-IgG et mélanger.
	7. Centrifuger à 3400 rpm pendant 10 à 15 secondes, remettre délicatement en suspension, faire une lecture microscopique et noter les résultats.
	8. Confirmer toutes les réactions négatives par l’addition de cellules témoins d’IgG. Si une réaction négative est obtenue avec les cellules témoins, répéter le test sur ce tube avant d’inscrire les résultats.
1. **Documentation**

Interprétation des résultats

|  |
| --- |
|  Réactivité avec : |
| Globules rouges traités par AET  | Globules rouges non traités |  Spécificité possible de l’anticorps |
|  + |  + |  Ne fait pas partie du système Kell |
|  O |  + |  Fait partie du système Kell |
|  + ou O |  + |  Anti-JMH, -Kna, -McCa, -McCd, -Gya, -Yka, -Yta, -Ytb, -VEL |
|  + |  + |  Anti-Kx, -S, -M |

+ = Réactivité

O = Absence de réactivité

 = Baisse

 = Hausse

On verra au tableau PS009-1, en page 5, les effets de l’AET sur certains antigènes.

1. **Remarques**
	1. Les hématies traitées par AET fixent les composants du complément d’une manière non spécifique. Se servir de réactifs anti-IgG pour faire les épreuves d’antiglobuline avec des hématies traitées par AET.
	2. Pour vérifier que l’AET inactive les antigènes Kell, tester les hématies traitées par AET avec les antisérums appropriés (p. ex. globules rouges k+ testés avec anti-k).
	3. Les tests peuvent être faits à l’aide de méthodes SFCI ou LIDAT.

**9.0 Références**

9.1 Judd, WJ, éd*, Judd’s Methods in Immunohematology*, 3e éd. Bethesda, MD, American Association of Blood Banks: 271-272.

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

1. **Suivi des révisions­**

|  |  |
| --- | --- |
| **Date de la révision** | **Résumé des changements** |
| 1er septembre 2014  | * Changement du nom du manuel
* Changement du numéro du document anciennement PS.010, maintenant, PS.009
* Révision des sections 1.0 et 4.0
* Changement au libellé de la section 3.0 pour mentionner sang total anticoagulé – tube EDTA
* Révision et renumérotation de la section 6.0
* Mise à jour des références du document
* Révision et renumérotation du tableau PS.009-1
* Mise à jour des références du tableau PS.009-1
 |

TABLEAU PS.009-1

# EFFETS DE L’AET SUR LES ANTIGÈNES

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **AUCUN EFFET** | **DÉNATURATION** | **INTENSIFICATION** |
| ABH | K, k | K15 |
| Rh, (C, Cw, D, c, E, e, Rh 29) | Kp(a) Kp(b) Kp(c) |  |
| Lewis (Lea, Leb) | Ku |  |
| P1 | Jsa, Jsb |  |
| MNSs | K17, 11 | Lea – résultats obtenus à L’HO-Campus Civic  |
| Kidd (Jka, Jkb, Jk3) | U1(a) | \*Leb  |
| Sp1 | K12, 13, 14, 18, 19 | Duffy (Fya) |
| Ii | K20, 22 | E |
| Sd(x) | MacLeod | C |
| LW | Kna | C |
| Ge | Yka |  |
| Yta | JMH |  |
| Dia | Hy |  |
| Jra | Gy |  |
| Sc:1 | McCa |  |
| Ata | LWa, LWb |  |
| Wra | Antigènes du système Luther |  |
| Cha | Antigènes du système Dombrock  |  |
| Rga | Antigènes du système Cromer  |  |
| En(a) | JMH |  |
| Xg(a) | Yta, Ytb |  |
| Lan |  |  |
| Vel |  |  |
| Coa |  |  |
| Cs |  |  |

\* Intensification et/ou hémolyse observée avec certains échantillons.

Références : 1. Berger, R. Laboratoire de référence national, SCCR, Toronto.

 2. Roback, JD. éd. *AABB Technical Manual*, 17e éd. Bethesda MD: AABB : 478