1. **Principe**

Le réactif ZZAP contient du dithiothrétiol (DDT) et de la papaïne, Le traitement des globules rouges par ZZAP détruit l’enveloppe des anticorps des globules rouges du patient, libérant ainsi des sites de liaison d’antigènes. Les hématies autologues traitées par ZZAP peuvent mieux fixer les autoanticorps à chaud pour en faciliter le retrait du plasma afin de permettre le dépistage d’alloanticorps.

1. **Portée et politiques connexes**
   1. Cette procédure ne doit pas servir chez les patients ayant récemment reçu une transfusion (< 3 mois) puisque les globules rouges de donneur en circulation pourraient adsorber les alloanticorps.
2. **Échantillon**

Sang total anticoagulé (tube EDTA) prélevé de préférence moins de 72 heures auparavant

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 tamponnée au phosphate (STP) à un pH de 7,3

DDT à 0,2 M (7,7 g/250 mL STP 7.3)

papaïne lyophilisée (BCA) – reconstituée selon les directives du fabricant

solution saline à 0,9 %

**Préparation du réactif ZZAP**: (faire une préparation fraîche chaque jour)

1. Placer 2,5 mL de DDT à 0,2 M dans un tube.
2. Ajouter 0,5 mL de solution de papaïne reconstituée.
3. Ajouter 2,0 mL de solution tamponnée au phosphate à un pH de 7,3 (la préparation doit être fraîchement faite).

Le volume préparé devrait suffire à traiter 2,5 mL de globules rouges concentrés.

1. **Contrôle de la qualité**
   1. Les cellules traitées par ZZAP ne devraient pas réagir à l’anti-k.
2. **Procédure**

**Traitement de globules rouges autologues en vue d’une autoadsorption :**

* 1. Ajouter 2 volumes de réactif ZZAP à 1 volume de globules rouges concentrés du patient recouverts d’IgG. Il n’est pas nécessaire de laver les cellules.
  2. Incuber à 37ºC pendant 30 minutes en mélangeant de temps à autre.
  3. Laver les globules rouges 3 fois dans de grands volumes de solution saline normale à 0,9 %.
  4. Centrifuger le dernier lavage à 3000 rpm pendant au moins 5 minutes et retirer tout le surnageant possible.
  5. Effectuer un test direct à l’antiglobuline (TDA) sur les hématies du patient traitées par ZZAP pour voir si l’IgG a été retirée des cellules.
  6. Les hématies traitées par ZZAP sont prêtes à servir pour une autoadsorption si le TDA est négatif ou nettement moindre que le TDA effectué sur l’échantillon de globules rouges non traités.
  7. Réserver quelques gouttes d’hématies traitées par ZZAP en suspension dans une solution saline normale à 3 % pour analyse ultérieure.

**Technique d’adsorption :**

* 1. Diviser les hématies traitées par ZZAP en 3 aliquotes égales.
  2. Ajouter un volume égal de plasma du patient à 1 aliquote d’hématies concentrées traitées par ZZAP. Boucher et bien mélanger.
  3. Immerger le tube en position horizontale dans un bain-marie à 37ºC et incuber pendant 30 minutes. Remuer délicatement aux 10 minutes.
  4. Centrifuger à 3400 rpm pendant 2 à 3 minutes et transférer le plasma à la seconde aliquote d’hématies traitées par ZZAP. Mélanger.
  5. Répéter l’étape 6.10.
  6. Centrifuger à 3400 rpm pendant 3 minutes et transférer dans le troisième tube d’hématies traitées par ZZAP. Mélanger.
  7. Répéter l’étape 6.10.
  8. Centrifuger à 3400 rpm pendant 2-3 minutes et transférer le plasma adsorbé dans un autre tube propre et bien étiqueté. Trois absorptions suffisent habituellement à retirer les anticorps du plasma, sauf s’il s’agit d’un autoanticorps de titre très élevé très puissant.
  9. Analyser le plasma adsorbé contre les cellules de dépistage d’anticorps et les hématies du patient traitées par ZZAP (si le TDA est négatif) à la recherche d’activité de l’anticorps par technique indirecte à l’antiglobuline.

1. **Documentation** 
   1. Interprétation des résultats du test direct à l’antiglobuline par rapport aux éléments suivants :

| CELLULES DE DÉPISTAGE D’ANTICORPS | HÉMATIES DU PATIENT TRAITÉES PAR ZZAP | INTERPRÉTATION |
| --- | --- | --- |
| Absence de réaction | Absence de réaction | La présence d’alloanticorps est peu probable. |
| Réaction à toutes les cellules | Réaction | Présence d’autoanticorps résiduel; une autre procédure d’adsorption peut être requise. |
| Réaction à toutes les cellules | Absence de réaction | Le plasma contient des autoanticorps du système Kell; une autre procédure d’autoadsorption par chloroquine ou à l’aide de globules rouges traités à chaud est requise. |
| Réaction à une ou plusieurs cellules | Absence de réaction | Le plasma contient des alloanticorps; des études d’identification d’anticorps sont requises. |

1. **Remarques**

* 1. En plus des antigènes normalement détruits par enzyme (M, N, Fy et S) le traitement des hématies par ZZAP détruit aussi les antigènes du système Kell, sauf Km, qui n’est pas affecté et Kx qui est intensifié.
  2. Dans les échantillons de globules rouges traités par ZZAP, l’hémolyse est minime mais peut varier en fonction de l’âge de l’échantillon et de l’ampleur de la sensibilisation à l’autoanticorps.

**9.0 Références**

9.1 Judd, WJ, éd*, Judd’s Methods in Immunohematology*, 3e éd. Bethesda, MD, American Association of Blood Banks : 461-463.

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.011, maintenant, PS.010 * Révision de la section 1.0 * Changement au libellé de la section 3.0 pour mentionner sang total anticoagulé – tube EDTA * Ajout du paragraphe 5.1 * Révision et renumérotation de la section 6.0 * Révision du tableau du paragraphe 7.1 * Mise à jour des références |