1. **Principe**

Les globules rouges autologues nouvellement formés ont une gravité spécifique plus faible que les globules rouges transfusés; on peut donc les séparer de la population de cellules transfusées par simple centrifugation. Les cellules autologues se concentreront dans la partie supérieure d’un

tube centrifugé. La densité des globules rouges augmente avec l’âge de la cellule, ce qui permet la séparation des cellules jeunes et des cellules plus vieilles, en fonction de leur densité relative. Lors d’une centrifugation à haute vitesse, les cellules plus jeunes et moins denses restent dans la couche supérieure alors que les cellules plus vieilles et plus denses s’accumulent au fond de l’échantillon de globules rouges.

Dans un échantillon de globules rouges, les globules rouges les plus jeunes, la portion riche en réticulocytes (RR), sont habituellement des globules rouges autologues. Les vieilles cellules, la portion pauvre en réticulocytes (PR) sont autologues, elles aussi, et combinées, le cas échéant, à des globules rouges de donneur transfusés.

1. **Portée et politiques connexes**
   1. Il faut tenter de séparer les globules rouges autologues dans les circonstances suivantes :
2. le phénotypage des cellules autologues est nécessaire
3. il faut déterminer si un TDA positif est causé par une réaction transfusionnelle hémolytique tardive ou par un processus auto-immun
4. lorsque des cellules positives au TDA ne peuvent pas susciter un résultat négatif au moyen d’une procédure de routine et qu’un phénotypage par TIA est requis
   1. La méthode choisie dépendra du volume de l’échantillon et le temps disponible.
5. **Échantillon**

Sang total anticoagulé (tube EDTA) prélevé de préférence moins de 24 heures auparavant.

1. **Matériel**

**Équipement :** centrifugeuse Fisher à haute vitesse (capacité de 7000 G)

**Fournitures :** microtubes Fisher en polystyrène pour centrifugeuse (no4-978-145)

pipettes sérologiques

**Réactifs :** S.O.

1. **Contrôle de la qualité – S.O.**
2. **Procédure**
   1. Centrifuger l’échantillon pendant 10 minutes à 3000 rpm ou l’équivalent.
   2. Retirer le plasma sans troubler ni aspirer les globules rouges.
   3. Boucher et bien mélanger l’échantillon de globules rouges.
   4. Étiqueter les tubes coniques en plastique en y inscrivant le nom complet du patient. Transcrire les données à partir de l’étiquette de l’échantillon du patient (et non du formulaire de demande). Le nombre de tubes dépend du volume de globules rouges.
   5. Boucher les tubes et centrifuger à 7000 G pendant 1 heure.
   6. Étiqueter 2 tubes de 10 x 75 mm en y inscrivant les 3 premières lettres du nom de famille du patient ainsi que HAUT sur l’un et BAS sur l’autre.
   7. Après la centrifugation, retirer doucement les tubes en prenant soin de ne pas troubler les globules rouges.
   8. À l’aide d’une pipette Pasteur, écumer la couche supérieure des globules rouges. N’exercer aucune succion. Laisser les globules rouges monter dans la pipette par capillarité. Rincer la pipette avec de la solution saline normale dans le tube étiqueté « haut ». Prélever les couches supérieures de tous les tubes de la même manière.
   9. Prendre une pipette propre, déprimer la poire en caoutchouc et insérer le bout de la pipette au fond du tube. Appliquer une légère succion et retirer un petit volume de globules rouges du fond du tube, puis rincer la pipette avec de la solution saline normale dans le tube étiqueté « bas ».
   10. Analyser en parallèle la portion RR (haut) et la portion PR (bas) ainsi que les globules rouges non séparés dans le cadre d’une TDA et de phénotypage de globules rouges. Voir AR.007 – Test direct à l’antiglobuline et EC.009 Typage des antigènes – Agglutination directe et indirecte.

* 1. Observer attentivement la portion RR à la recherche d’agglutination de type champ mixte pour s’assurer que la séparation cellulaire a bien réussi à isoler les globules rouges autologues.

1. **Documentation - S.O.**
2. **Remarques**
   1. Le délai entre la transfusion du patient et le prélèvement de l’échantillon sanguin de même que le nombre d’unités transfusées auront un impact sur l’efficacité de cette procédure.
   2. Le patient doit produire des réticulocytes pour que cette méthode donne des résultats.

1. **Références**
   1. Méthode interne élaborée à L’Hôpital d’Ottawa à partir de principes énoncés.
2. **Suivi des révisions­**

|  |  |
| --- | --- |
| **Date de la révision** | **Résumé des changements** |
| 1er septembre 2014 | * Changement du nom du manuel * Révision du libellé des sections 1.0 et 2.0 * Remplacement de « globules rouges » par « sang total » à la section 3.0 * Changement du numéro de la procédure, de AR.004 à AR.007 au paragraphe 6.10 * Ajout des mots « pour que cette méthode donne des résultats » au paragraphe 8.2. |