1. **Principe**

L’épreuve de compatibilité croisée permet de dépister la présence anticorps irréguliers dans le plasma du receveur éventuel de sang en fonction des antigènes présents sur les globules rouges du donneur. Dans cette épreuve, les globules rouges de donneur en suspension dans une solution saline hypotonique sont combinés au plasma du patient pour susciter une interaction antigène-anticorps dans la partie supérieure du microtube. Cette manipulation stimule la fixation des anticorps. Les cartes sont ensuite incubées pour stimuler l’interaction antigène/anticorps; si les globules rouges sont sensibilisés, ils réagiront avec l’anti-IgG dans le microtube pendant la centrifugation. L’agglutination indique la présence d’une réaction antigène-anticorps. L’absence d’agglutination indique l’absence de réaction antigène-anticorps.

1. **Portée et politiques connexes**
   1. Si le temps manque pour déterminer le groupe ABO et le facteur Rh du receveur, il faut émettre des culots de groupe O. Dans ce cas, des globules rouges O négatif devraient être émis autant que possible aux enfants et aux femmes en âge d’avoir des enfants9.1.
   2. Si les culots globulaires sont émis avant que les épreuves de compatibilité ne soient terminées, on doit inscrire sur le bordereau d’émission que les épreuves ne sont pas terminées. Cette donnée doit être notée au dossier du receveur. Si par la suite les culots globulaires émis se révèlent incompatibles, il faut en informer le médecin traitant et le directeur médical du Laboratoire de médecine transfusionnelle (LMT) (ou leur représentant). On doit cesser immédiatement la transfusion des culots incompatibles et les mettre à l’écart en attendant la décision des médecins9.1.

2.3 Avant toute administration, la compatibilité d’un échantillon du plasma du receveur sera vérifiée contre un échantillon des cellules de donneur provenant d’un segment attaché à l’origine au sac de sang total ou de culot globulaire. L’épreuve de compatibilité se fera à l’aide de méthodes qui démontrent l’incompatibilité ABO et la présence d’anticorps cliniquement significatifs; elle doit comprendre une épreuve à l’antiglobuline pour le dépistage d’anticorps9.1

* + 1. S’il s’agit d’un patient qui a reçu une transfusion ou d’une patiente qui a été enceinte au cours des trois derniers mois, ou si les antécédents de transfusion ou de grossesse ne sont pas clairs, les échantillons soumis à des épreuves de compatibilité auront été prélevés dans les 96 heures qui précèdent9.1.
    2. S’il s’agit d’un patient qui n’a pas subi de transfusion ou d’une patiente qui n’a pas été enceinte au cours des 3 derniers mois, le plasma soumis aux épreuves de compatibilité peut être entreposé et servir en tout temps à des fins d’analyse au cours de son hospitalisation courante9.1. La période d’hospitalisation courante va de l’admission au congé, mais comprend aussi jusqu’à un mois entre le moment des analyses de préadmission et l’admission courante9.1.
    3. Il est inutile de reprendre le dépistage d’anticorps, si l’échantillon utilisé pour l’épreuve de compatibilité croisée a déjà fait l’objet d’un tel dépistage.

2.4 Les épreuves de compatibilité doivent être effectuées avant chaque transfusion de globules rouges, sauf si la vie du patient est en danger9.2**.**

2.5 Il est inutile de confirmer le groupe ABO des globules rouges prélevés et préparés par le fournisseur de sang si une épreuve de compatibilité sérologique est faite9.1.

2.6 Un bordereau d’émission et/ou une étiquette de compatibilité doit être rempli pour tous les globules rouges mis en circulation. Les éléments d’information suivants doivent y figurer9.1 :

* les nom de famille et prénom du receveur
* le(s) numéro(s) d’identification du receveur
* le groupe ABO et le facteur Rh du receveur
* le groupe ABO et le facteur Rh des globules rouges
* le numéro d’identification du produit (incluant le code de contrôle et le code de l’établissement de collecte)
* le type de produit
* la date et l’heure de l’émission  
  1. Transfusions néonatales :
     1. Toutes les épreuves prétransfusionnelles doivent se faire sur du sang prélevé par voie veineuse ou capillaire. On ne doit jamais utiliser du sang de cordon pour des épreuves prétransfusionnelles9.1.
     2. Les épreuves sur l’échantillon prétransfusionnel initial doivent inclure la détermination du groupe ABO et du facteur Rh et le dépistage des anticorps cliniquement significatifs9.1.
     3. Si l’échantillon de plasma du nouveau-né est insuffisant, on peut utiliser un échantillon de plasma maternel pour effectuer les épreuves de compatibilité et le dépistage d’anticorps9.1.
     4. Si le dépistage d’anticorps initial est négatif, il n’est pas nécessaire de faire d’autres épreuves de compatibilité durant les 4 premiers mois de vie en cas de transfusions de petits volumes9.1.
     5. Pour les exsanguino-transfusions, faire les épreuves de compatibilité sur du plasma maternel. On doit utiliser un échantillon de sang du nouveau-né si le plasma maternel n’est pas disponible9.1.
  2. Si le dépistage d’anticorps prétransfusionnel initial démontre la présence d’allo-anticorps, tous les globules rouges requis pour la transfusion devront être soumis à l’épreuve de compatibilité et doivent être de phénotype négatif pour l’antigène correspondant9.1.
  3. Voir CCP.001 - Choix des composants sanguins à transfuser.
  4. Une technique de pré-réchauffement est habituellement utilisée en présence d’anticorps froids non significatifs dans l’échantillon d’un patient ou lors d’un soupçon à cet effet. Voir TG.004 - Identification d’anticorps.

1. **Échantillons**

Sang total anticoagulé - tube EDTA prélevé dans les quatorze (14) jours précédant l’épreuve, de préférence, même si du sérum peut servir.

En cas de transfusion récente ou de grossesse, il faudrait tester l’échantillon dans les 96 heures suivant son prélèvement.

Les échantillons hémolysés et nettement ictériques peuvent compliquer l’interprétation des résultats. Voir la Remarque 8.6.

On peut éclaircir par centrifugation ou par filtration et ensuite tester à nouveau les échantillons nettement lipémiques contenant des particules qui obstruent le gel et dont la présence forme des taches diffuses de globules rouges.

1. **Matériel**

Équipement : centrifugeuse

incubateur

pipetteur

distributeur

poste de préparation, facultatif

centrifugeuse sérologique

Fournitures : ID-Tips (embouts de pipettes)

tubes 10 x 75 mm

pipettes sérologiques

dépliant du fournisseur

Réactifs : MTS Diluent 2, solution saline hypotonique tamponnée carte MTS anti-IgG, Anti-IgG (lapin) en suspension dans un gel

solution saline

Ne pas utiliser après la date de péremption. Entreposer les cartes entre 2 °C et 25 °C. Entreposer les diluants et les globules rouges entre 2 °C et 8 °C. Amener les réactifs à la température ambiante (18 °C à 25 °C) avant l’utilisation.

1. **Contrôle de la qualité**
   1. Pour confirmer la spécificité et la réactivité des cartes anti-IgG MTS, on recommande de tester chaque lot à chaque jour d’utilisation avec des échantillons d’anticorps positifs et négatifs connus et les globules rouges appropriés. Il doit y avoir réactivité uniquement avec les échantillons positifs.
   2. Ne pas congeler ni exposer les cartes à une chaleur excessive. Entreposer en position verticale entre 2 °C et 25 °C. Si les cartes n’ont pas été entreposées en position verticale, il faut les centrifuger avant l’utilisation.
   3. Ne pas utiliser les cartes qui présentent des signes de dessiccation. Il doit y avoir une couche liquide par-dessus le gel dans chaque microtube.
   4. Ne pas utiliser les cartes en cas de décoloration ou de présence de bulles ou de cristaux dans les microtubes.
   5. Ne pas utiliser les cartes de microtubes si l’opercule du microtube semble endommagé ou ouvert.
   6. Enlever l’opercule en aluminium des microtubes juste avant leur utilisation.

* 1. Il faut inspecter à l’œil nu le MTS Diluent 2 PlusMC pour s’assurer qu’il n’y a ni décoloration, ni turbidité, ni autre signe de contamination bactérienne. Les globules rouges doivent être en suspension dans le MTS Diluent 2 PlusMC; il peut aussi s’agir de globules rouges commerciaux à 0,8 % dans une solution à faible concentration ionique dont l’usage avec le système ID-Micro TypingMC est approuvé.
  2. Le fabricant recommande de faire la lecture des épreuves immédiatement après la centrifugation. La dessiccation du gel, l’hémolyse des globules rouges et l’inclinaison des motifs de réactions due à un entreposage autre qu’à la verticale peuvent modifier les résultats.

1. **Procédures**
   1. Préparation des cellules de donneur à 0,8 %, à l’aide de globules rouges concentrés de segments d’unités de donneur ou de tubes pilotes.
      1. Étiqueter un tube pour chaque donneur à tester.
      2. Mettre 1,0 mL de Diluent 2 de MTS dans le ou les tubes étiquetés. Ajouter 10 µL de globules rouges concentrés du donneur.
      3. Mélanger doucement. Les suspensions cellulaires finales devraient avoir une concentration d’environ 0,8 %; elles sont stables pendant 24 heures. Pour de meilleurs résultats, la concentration des suspensions doit se situer entre 0,6 % et 1,0 %.
   2. Procédure de l’épreuve de compatibilité
      1. Étiqueter la carte anti-IgG MTS avec les renseignements appropriés concernant l’identification du patient et l’épreuve.
      2. Enlever l’opercule en aluminium des microtubes à utiliser.

**Remarque** : l’opercule doit être retiré juste avant le test ou dans l’heure qui le précède. Une fois l’aluminium retiré, le gel peut commencer à sécher, ce qui affecterait les résultats. On doit s’assurer qu’il ne reste aucun morceau d’aluminium obstruant l’ouverture d’un microtube

* + 1. À l’aide d’une pipette appropriée, ajouter 50 µL de suspension de globules rouges à 0,8 % de chaque donneur au bon microtube. La pipette ne doit pas toucher la carte de gel.
    2. À l’aide d’une pipette appropriée, ajouter 25 µL de sérum ou de plasma du patient au bon microtube.
    3. Incuber à 37±2 oC pendant 15 minutes. Consulter le dépliant pour des détails sur la prolongation du temps d’incubation.
    4. Centrifuger la carte de gel à la valeur prédéfinie de 895±25 rpm pendant 10 minutes.
    5. Après la centrifugation, retirer la ou les cartes de la centrifugeuse et faire une lecture de chaque carte à la recherche des signes suivants :
* La présence de globules rouges non agglutinés dans le gel est habituellement due à une interruption du cycle de centrifugation. Ces globules rouges sont rose foncé et flous.
* La présence d’une traînée de globules rouges qui forme une sorte de « J » le long d’une paroi est due à une mauvaise disposition des cartes dans le support à cartes.

Si la ou les cartes semblent mal centrifugées, répéter le test. Ne jamais centrifuger une autre fois la ou les cartes.

* + 1. Lire l’avant et l’arrière de chaque microtube.
    2. Inscrire les réactions conformément au tableau suivant.

|  |  |
| --- | --- |
| **Code** | **Description de la réaction\*** |
| Nég | Pas d’agglutination ni d’hémolyse; des globules rouges non agglutinés forment un culot bien défini au fond du microtube. Voir Remarque 8.1 si quelques cellules non agglutinées sont piégées à la surface ou sur les côtés du gel. |
| 1 | Agglutination surtout observée dans la moitié inférieure du microtube. Les globules rouges non agglutinés forment un culot au fond du microtube. |
| 2 | Agglutinats dispersés tout le long de la colonne de gel. Quelques agglutinats peuvent être présents au fond du microtube. |
| 3 | La plupart des agglutinats sont piégés dans la moitié supérieure du microtube. Voir Remarque 8.3. |
| 4 | Bande solide de globules rouges agglutinés à la surface du gel. Quelques agglutinats peuvent descendre dans le gel, mais restent à proximité de la bande principale. |
| H | Hémolyse et absence ou presque de globules rouges dans le gel. Inscrivez la présence d’hémolyse dans le microtube, mais non dans l’échantillon. |
| cm | Bande de globules rouges agglutinés à la surface du gel et culot de globules rouges non agglutinés au fond du microtube. |
| NT ou NF | Non testé ou non fait |
| \* Ne pas utiliser de demi-niveau, d’exposant ou de signes « plus ». | |

Voir la section de discussion sur chaque niveau dans le guide d’interprétation MTS pour plus d’information.

1. **Documentation**
   1. L’absence d’agglutination ou d’hémolyse des globules rouges est un résultat négatif qui indique l’absence de réaction antigène-anticorps. Les unités de donneur sont compatibles avec le plasma du patient. Noter qu’elles sont compatibles.
   2. La présence d’agglutination indique l’existence d’une réaction antigène-anticorps; les unités du donneur ne sont pas compatibles avec le plasma ou le sérum du patient et ne doivent pas être transfusées à moins d’en obtenir l’autorisation du directeur médical du Service de médecine transfusionnelle ou de son représentant. Cette autorisation doit être documentée. Voir CAQ.010 – Protocole de consultation du directeur médical.
   3. L’hémolyse en l’absence d’un échantillon hémolysé ou l’agglutination de tout globule rouge dans un microtube de la carte de gel signale la présence d’un anticorps contre l’antigène correspondant présent sur les cellules de donneur. La présence d’agglutinat ou d’hémolyse indique que la ou les unités du donneur sont incompatibles. (Voir 7.2 au sujet de l’émission d’unités incompatibles.)
   4. Les tests de suivi peuvent comprendre une technique de pré-réchauffement. Voir TG.004 - Identification d’anticorps – Pré-réchauffement - carte de gel anti-IgG et/ou EC.001 – Technique de pré-réchauffement.
   5. En cas d’anémie hémolytique autoimmune avec anticorps chauds (*WAIHA*), les unités de donneurs qui auraient dû être négatives d’un point de vue sérologique peuvent sembler positives en raison de l’activité de l’autoanticorps. Confirmer l’absence sur les cellules du donneur de tout antigène à un allo-anticorps connu d’importance clinique significative. Entreprendre des études d’absorption, au besoin. Si la situation est urgente ou qu’une absorption complète est impossible, suivre l’étape 7.2 relative à l’émission d’unités incompatibles.
2. **Remarques**
   1. Les anticorps spécifiques aux antigènes peu fréquents qui ne sont pas représentés dans les cellules témoins ne seront pas dépistés.
   2. Il est possible que cette épreuve ne permette pas la détection d’anticorps en deçà du niveau seuil.
   3. À l’occasion, les anti-IgG ne permettent pas la détection d’anticorps dont on peut démontrer la présence à l’aide d’un réactif d’antiglobuline contenant des anti-C3.
   4. La présence dans le sérum d’anticorps réagissant à des composants de la solution de conservation pourrait entraîner de faux résultats positifs.
   5. Présence de segments coagulés sur une unité de donneur :

|  |  |
| --- | --- |
| *Si…* | *vous devez…* |
| des segments coagulés sont trouvés sur une unité de donneur, | ouvrir les segments suivants attachés au sac, jusqu’à ce que vous trouviez un segment qui ne soit pas coagulé |
| tous les segments sont coagulés, | en aviser le fournisseur de sang. Voir GS.005 - Disposition finale du sang, des composants sanguins et des produits connexes qui ne sont pas en état d’être transfusés - procédure manuelle. |

* 1. Présence de segments hémolysés au moment du lavage du segment (c.-à-d. surnageant rougeâtre) :

|  |  |
| --- | --- |
| *Si…* | *vous devez…* |
| Un segment hémolysé est trouvé, | ouvrir les segments suivants attachés au sac, jusqu’à ce que vous trouviez un segment qui ne soit pas hémolysé |
| tous les segments sont hémolysés, | en aviser le fournisseur de sang. Voir GS.005 - Disposition finale du sang, des composants sanguins et des produits connexes qui ne sont pas en état d’être transfusés - procédure manuelle. |

* 1. On doit procéder avec soin à l’interprétation des réactions de type champ mixte. La présence de fibrine, de caillots ou de particules peut entraîner la formation d’une couche de cellules par-dessus le gel. Habituellement, on observe des réactions de type champ mixte uniquement dans les épreuves qui contiennent deux populations de globules rouges, comme chez les transfusés et les receveurs de moelle osseuse ou quand on utilise un échantillon de cellules mises en pool. Toutefois, on ne peut pas détecter toutes les situations où il y a présence de cellules mixtes, car la population mineure est parfois trop petite. Il faut vérifier les antécédents du patient.
  2. La présence de trop ou de trop peu de cellules dans le microtube peut susciter des réactions faussement positives ou faussement négatives. Cette situation peut être due à l’une ou aux deux erreurs suivantes :
     + suspension de cellules mal préparée
     + ajout d’une mauvaise quantité de cellules dans la partie supérieure du microtube

Si c’est le cas, répéter le ou les tests en s’assurant que les quantités sont bonnes et à l’aide de nouvelles suspensions de cellules.

* 1. Les rouleaux constituent une caractéristique du sérum ou plasma qui correspond à une disposition précise de l’agrégat globulaire. Ces rouleaux peuvent se former en présence d’une quantité suffisante de protéines irrégulières dans l’échantillon et peuvent – quoique rarement – compliquer l’interprétation du test en gel. Il faut confirmer la présence de rouleaux à l’aide de méthodes d’hémagglutination en tube et d’un remplacement par une solution saline, au besoin.
  2. La présence de globules rouges dans le gel et d’une hémolyse dans la portion liquide est habituellement due au fait que l’échantillon est hémolysé. Dans ce cas, l’hémolyse ne doit pas être inscrite comme un résultat positif du test. Si l’hémolyse survient pendant la centrifugation, la partie liquide au-dessus du gel semblera rose ou rouge, mais il n’y aura pas ou presque pas de globules dans le gel.
  3. De faux résultats positifs ou négatifs peuvent survenir dans les situations suivantes : contamination bactérienne du matériel de l’épreuve, température ou durée d’incubation inadéquate, mauvaise centrifugation, mauvais entreposage du matériel.
  4. De faux résultats positifs peuvent survenir dans le cas de cartes de gel qui présentent des signes de dessiccation.
  5. Le sérum frais, la présence de fibrine ou de particules dans le plasma, ou l’adhérence de globules rouges aux parois du microtube peuvent entraîner des résultats anormaux. Le recours à du plasma avec EDTA minimisera le problème.
  6. Ajout de cellules et de plasma ou de sérum :  
     1. On doit ajouter la suspension de globules rouges avant le plasma ou le sérum, car le volume de la suspension de globules rouges est plus grand que le volume de plasma. Si on ajoute le plus petit volume de plasma avant la suspension de globules rouges, le mélange pourrait être inadéquat.
     2. On doit ajouter le plasma ou le sérum dans les 10 à 15 minutes suivant l’ajout de la suspension de globules rouges aux chambres de réaction. Tout globule rouge qui entre en contact avec la colonne de gel avant la centrifugation pourrait ne pas avoir l’occasion d’entrer en contact avec le plasma et ainsi commencer à migrer dans le gel et possiblement entraîner une réaction plus faible après la centrifugation.
  7. Dans la documentation, on recommande une incubation d’une durée de 5 à 40 minutes dans des solutions à faible concentration ionique. Il n’y a pas de durée d’incubation optimale unique pour tous les anticorps. Si on change la durée d’incubation recommandée par le fabricant, il faut mener des études de validation.
  8. Il se pourrait que les anticorps IgM réagissent dans cette épreuve. Certains anticorps de type IgM pourraient réagir aux antigènes correspondants dans la partie supérieure du microtube et rester pris dans le haut du gel au moment de la centrifugation, entraînant une réaction positive.
  9. Pour assurer le bon déroulement de l’épreuve, il est essentiel de respecter les directives du dépliant du fournisseur.

1. **Références**
2. *Standards for Transfusion Services*, version 3 - février 2011. Société canadienne de médecine transfusionnelle, 5.3.7.4.4 5.3.7.4.3, 5.3.7.2.1, 5.2.5.1, 5.7.2.1, 5.7.5.2, 5.9.2.1, 5.9.2.2, 5.9.2.3, 5.9.4.1
3. Roback JD, éd. *American Association of Blood Banks Technical Manual*, 17e éd. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks (2011): 452
4. Implementation Guide and Procedures -Procedure 11 Antiglobulin Crossmatch Using MTSTM Anti-IgG Card Version 5 2010-05-31, ID-Micro Typing System
5. ID-Micro Typing SystemTM Interpretation Guide-2010-06-04
6. Instructions for use - Anti-Human Globulin Anti-IgG (Rabbit) MTS™ Anti-IgG Card, Version 2.0
7. **Suivi des révisions**

|  |  |
| --- | --- |
| **Date de la révision** | * **Résumé des changements** |
| 30 avril 2014 | * Changement du nom du manuel * Changement du numéro du document anciennement TG.006, maintenant TG.007 * Révision de la section 1.0 pour y ajouter des explications * Changement à 96 heures dans la section 2.3.1 * Changement à « 96 heures » en 2.3.1 * À la section 3, changement du délai d’utilisation des échantillons à « 14 jours » * Révision et renumérotation de la section 8.0 * Mise à jour des références |