

Instructions for use



Sanquin Reagents B.V.
Plesmanlaan 125
1066 CX Amsterdam
The Netherlands

Phone: +31 20 5123599
Fax: +31 20 5123570
Reagents@sanquin.nl
www.sanquin.org/reagents

Pelikloon anti-D mix (IgG/IgM) monoclonal

REF K1157

IVD CE 0344

006_v02 01/2017 (fr)

Réservé à l'usage professionnel

Réactif pour la détermination des groupes sanguins permettant de détecter des antigènes D sur les érythrocytes humains

Informations générales

Le réactif pour la détermination des groupes sanguins Pelikloon anti-D mix (IgG/IgM) monoclonal (les numéros des clones sont mentionnés sur le certificat d'analyse/publication correspondants et l'étiquette du produit) est préparé à partir de surnageants de culture de lignées cellulaires stables d'hybridomes décrits pour la première fois par Köhler et Milstein (Nature 1975). Ce réactif monoclonal contient des anticorps IgG/IgM humains et a été spécifiquement sélectionné et développé afin de fournir une alternative fiable aux réactifs polyclonaux. Ce réactif est conforme aux normes et directives concernées. Les spécifications concernant ses performances sont indiquées dans les publications fournies sur demande avec le produit. Le principe du test s'appuie sur la technique d'agglutination basée sur une réaction antigène/anticorps. Le réactif peut être utilisé en tube à centrifuger, sur microplaque ou sur lame. Ce réactif détecte tous les antigènes normaux D ainsi que la plupart des faibles réponses des antigènes D. La catégorie VI variante de D n'est détectée dans le tube à essai qu'après adjonction de sérum anti-humain polyspécifique. La sensibilité de la technique sur lame est inférieure à celle des techniques du tube à centrifuger ou sur microplaque. Par conséquent, le Rhésus D de certains échantillons de faibles réponses d'antigènes D ne sera pas positif avec cette technique alors qu'il sera positif avec les techniques du tube à centrifuger ou de la microplaque. L'inclusion de tests positifs et négatifs pour chaque série de détermination des groupes sanguins est fortement recommandée.

Précautions

Uniquement à usage de diagnostic in vitro. Les réactifs doivent être conservés entre 2-8 °C. Les flacons endommagés ou présentant une fuite doivent impérativement être écartés. Les flacons de réactifs (fermés ou ouverts) ne doivent pas être utilisés au-delà de la date de péremption imprimée sur l'étiquette du flacon. NaN_3 0,1% (poids/volume) est utilisé comme agent de conservation. Le réactif ne peut être garanti exempt d'agents infectieux. Il convient d'agir avec précaution lors de la manipulation et de l'élimination des conteneurs et de leur contenu. Une turbidité peut indiquer une contamination microbienne. Afin de détecter une détérioration des réactifs, il est recommandé de les analyser conformément au programme de contrôle de qualité du laboratoire, au moyen de tests appropriés. Au terme du test, l'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux directives de votre laboratoire.

Recueil des spécimens et préparation

Le prélèvement des échantillons sanguins doit s'effectuer dans des conditions d'asepsie, avec ou sans adjonction d'anticoagulants. Si l'examen des échantillons est différé, il faut conserver ceux-ci entre 2-8 °C. La préparation des spécimens est décrite dans les procédures de test correspondantes.

Procédures de test

Technique du tube à centrifuger

Spécifications des tubes: tubes en verre à fond rond; dimensions: 75 x 10/12 mm.

1. Préparer une suspension cellulaire à 3-5% des érythrocytes à tester dans une solution saline isotonique ou dans leur propre plasma ou sérum.
2. Verser dans un tube à essai:
 - 1 goutte de réactif Pelikloon
 - 1 goutte de la suspension cellulaire à 3-5% et bien mélanger.
3. Centrifuger pendant 20 secondes à 1000 fcr ou pendant un laps de temps approprié au calibrage de la centrifugeuse.
4. Remettre les cellules en suspension en agitant légèrement et effectuer une lecture macroscopique de l'agglutination.

Si aucune agglutination n'est visible, le test doit être poursuivi comme suit:

5. Bien mélanger puis incuber les tubes dans un bain d'eau à 37 °C pendant 15 à 20 minutes.
6. Rincer une fois les cellules dans une quantité abondante de solution saline isotonique. Décanter complètement (un lavage suffit; il n'y a aucun inconvénient à procéder à 3 ou 4 lavages comme pour les tests traditionnels).
7. Ajouter 2 gouttes de sérum anti-humain polyspécifique et bien mélanger.
8. Centrifuger pendant 20 secondes à 1000 fcr ou pendant un laps de temps approprié au calibrage de la centrifugeuse.
9. Remettre les cellules en suspension en agitant légèrement et effectuer une lecture macroscopique de l'agglutination.
10. Si aucune agglutination n'est visible, ajouter 1 goutte de cellules de contrôle Coombs et répéter les étapes 8 et 9. La réaction doit être positive. Si le test reste négatif, le résultat n'est pas valide et il faut le répéter.

Technique sur microplaque

Spécifications des microplaques: microplaques en polystyrène avec puits à fond rond.

1. Préparer une suspension cellulaire à 2-3% des érythrocytes à tester dans une solution saline isotonique ou dans leur propre plasma ou sérum.

2. Verser dans un puits:
 - 1 goutte de réactif Pelikloon
 - 1 goutte de la suspension cellulaire à 2-3%
3. Homogénéiser le mélange pendant 5 secondes, au moyen d'un agitateur tournant à 600-700 tm.
4. Laisser incuber 10-15 minutes au repos et à température ambiante (18-25 °C).
5. Centrifuger pendant 10-20 secondes à 700 fcr ou pendant un laps de temps approprié au calibrage de la centrifugeuse.
6. Replacer la microplaque sur l'agitateur tournant à 600-700 tm durant 1-4 minutes ou le temps nécessaire pour remettre complètement les cellules en suspension dans les puits, en présence de réactions négatives.
7. Laisser la microplaque au repos pendant 1 minute pour permettre aux agglutinats plus petits de se déposer.
8. Il est dès lors possible d'effectuer une lecture macroscopique des réactions ou de recourir à un lecteur automatique.

Technique sur lame

1. Déposer une goutte de réactif Pelikloon sur une lame de verre propre et chauffée à 37-45 °C posée sur un négatoscope éclairé.
2. Ajouter 2 gouttes de suspension cellulaire à 35-45% des érythrocytes à tester dans une solution saline isotonique ou dans leur propre plasma ou sérum.
3. Bien mélanger au moyen d'un bâtonnet applicateur propre et répartir sur une surface circulaire d'un diamètre de 20 mm environ.
4. Faire bouger lentement la lame et observer l'agglutination des érythrocytes pendant un laps de temps n'excédant pas 2 minutes.
5. Effectuer une lecture macroscopique de l'agglutination.

Interprétation

Une réaction positive (c'est-à-dire une agglutination) traduit la présence de l'antigène Rh D. Une réaction positive, même faible ou négative avec d'autres techniques, indique la présence d'un antigène D faible ou partiel. Une investigation plus approfondie visant à élucider le statut Rh D est alors recommandée. Une réaction négative (c'est-à-dire pas d'agglutination visible) traduit l'absence de l'antigène Rh D.

Nombre de cas	Caucasiens	Noirs
Antigène D	85%	92%

Limites

Résultats positifs inattendus en raison de : pseudo-agglutination, auto-agglutination, réaction de double population, utilisation concomitante de la gelée de Wharton et de cellules de sang de cordon ombilical.

Résultats négatifs ou faibles inattendus en raison de : faibles réponses des antigènes, réaction de double population, activité réduite du réactif.

Il existe un risque d'obtenir de faux résultats positifs ou négatifs suite à une contamination du matériel de test ou à une déviation quelconque par rapport à la technique recommandée.

Les érythrocytes qui produisent un résultat positif au test de Coombs direct (DAT) peuvent donner de faux résultats positifs. L'utilisation du contrôle Pelikloon monoclonal est recommandée afin de détecter de telles erreurs.

Un lavage inefficace des érythrocytes testés peut aboutir à de faux résultats négatifs en raison de la neutralisation du sérum anti-humain polyspécifique par des protéines (IgG) contenues dans le tube.

Les réactifs Pelikloon monoclonaux pour la détermination des groupes sanguins ont été optimisés pour être utilisés dans la (les) technique(s) recommandée(s) par la notice incluse dans cette boîte. Sauf indication contraire, il incombe à l'utilisateur de déterminer son usage approprié dans d'autres procédés.

Références

1. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issitt P.D.; Applied Blood Group Serology, 3rd ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
3. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
4. Reid M.E. and Lomas-Francis C.; The Blood Group Antigen Facts Book. Facts Book Series, 1997.
5. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9th ed. Blackwell, Oxford, 1993.

Nous garantissons que les produits Sanquin produiront les résultats décrits dans le mode d'emploi du fabricant original. Il est essentiel de respecter rigoureusement les procédures et les schémas d'essai et d'utiliser les réactifs et le matériel recommandés. Sanquin n'acceptera aucune responsabilité relativement au non-respect de ces indications.