

# 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	
<b>Pelikloon anti-A (IgM) monoclonal</b>	<b>REF K 1188</b>	<b>IVD CE 0344</b>
<b>Pelikloon anti-B (IgM) monoclonal</b>	<b>REF K 1189</b>	<b>IVD CE 0344</b>
<b>Pelikloon anti-A,B (IgM) monoclonal</b>	<b>REF K 1190</b>	<b>IVD CE 0344</b>
001_v04 07/2019 (fr)	Réservé à l'usage professionnel	

Réactifs pour la détermination des groupes sanguins permettant l'identification des antigènes A et/ou B sur les érythrocytes

## Informations générales

Les réactifs monoclonaux pour la détermination des groupes sanguins Pelikloon anti-A, anti-B, et anti-A,B (IgM) (les numéros des clones sont mentionnés sur le certificat d'analyse/ publication correspondants) sont préparés à partir de surnageants de culture d'hybridomes stables décrits pour la première fois par Köhler et Milstein (Nature 1975). Ces réactifs monoclonaux contiennent des anticorps IgM murins et ont été spécifiquement sélectionnés et développés afin de fournir une alternative fiable aux réactifs polyclonaux. Ces réactifs sont conformes aux normes et directives concernées. Les spécifications concernant leurs performances sont indiquées dans les publications fournies sur demande avec le produit. Le principe du test s'appuie sur la technique d'agglutination, laquelle implique une réaction antigène/anticorps. Les réactifs peuvent être utilisés en tube à centrifuger ou sur microplaque. Ils peuvent également être employés dans des systèmes d'analyse automatisés et doivent être normalisés et validés par l'utilisateur. L'inclusion de tests positifs et négatifs pour chaque série de détermination des groupes sanguins est fortement recommandée. En déterminant le groupe érythrocytaire ABO, il convient aussi de déterminer la présence d'alloanticorps anti-A et / ou anti-B correspondants au moyen des hématies-tests A<sub>1</sub> et B (notice technique incluse dans la boîte).

## Précautions

Uniquement à usage de diagnostic in vitro. Les réactifs doivent être conservés entre 2–8°C. Les flacons endommagés ou présentant une fuite seront impérativement 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<sub>3</sub> 0,1% (poids/volume) est utilisé comme agent de conservation. Les réactifs anti-A et anti-B ont été colorés afin de les reconnaître plus facilement. Les réactifs ne peuvent être garantis exempts d'agents infectieux. Il convient de prêter attention à la manipulation et à l'élimination de chaque conteneur et de son 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 aseptiquement, avec ou sans addition 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% 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.

### 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 le 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 de se déposer.
8. Il est dès lors possible d'effectuer une lecture macroscopique des réactions ou de recourir à un lecteur automatique.

### Interprétation

Une réaction positive (une agglutination) traduit la présence de l'antigène correspondant. Une réaction négative (aucune agglutination visible) traduit l'absence de l'antigène correspondant. Le groupe sanguin ABO est déterminé par le profil réactionnel obtenu avec les différents antisérum (consulter le tableau au verso). Si le profil réactionnel ne correspond à aucune des 4 combinaisons ci-dessous, la cause des résultats discordants doit être déterminée en assignant préalablement un groupe sanguin ABO au patient / donneur concerné.

Réactions d'agglutination impliquées dans la détermination routinière des groupes sanguins ABO

érythrocytes + réactif de détermination des groupes sanguins			sérum/plasma + Réactif: solution d'érythrocytes		
anti-A	anti-B	anti-A,B	cellules A1	cellules B	groupe sanguin (fréquence)
0	0	0	+	+	O (46,7%) <sup>4)</sup>
+	0	+	0	+	A (41,7%) <sup>4)</sup>
0	+	+	+	0	B (8,6%) <sup>4)</sup>
+	+	+	0	0	AB (3,0%) <sup>4)</sup>

### Limites du test

Résultats positifs inattendus en raison de: pseudoagglutination, autoagglutination, 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.

Les cellules variantes antigéniques peuvent produire des réactions positives ou négatives inattendues avec des échantillons dont le type a été déterminé auparavant avec des réactifs pour la détermination des groupes sanguins issus de sources polyclonales ou d'autres sources monoclonales dérivées de lignées cellulaires.

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.

### Références

1. Widmann F.K. ed; AABB Technical Manual, 11<sup>th</sup> ed. 1993, Bethesda (MD).
2. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6<sup>th</sup> ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
3. Issit P.D.; Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
4. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service H.M.S.O. 2<sup>nd</sup> ed. 1993.
6. Reid M.E., et al. The Blood Group Antigen FactsBook, FactsBook Series, 3<sup>rd</sup> ed. 2012.

*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.*