



## REACTIFS MONOCLONAUX POUR LA DETERMINATION DES GROUPES SANGUINS

### MODE D'EMPLOI

**Réactifs monoclonaux anti-A, anti-B et anti-A,B :** Pour les techniques des tubes, des cartes Bio-Rad ID, des colonnes Ortho BioVue, des lames et des microplaques.

### RÉSUMÉ

En 1900, Landsteiner a découvert que le sérum de certaines personnes s'agglutinait lorsqu'il était mis en présence des globules rouges d'autres personnes. Nous connaissons maintenant quatre phénotypes communs : O, A, B et AB. Depuis, des sous-groupes des phénotypes A et B ont été identifiés.

Groupe direct			Groupe inverse				ABO Phénotype	Caucasiens % <sup>1</sup>
A	B	A,B	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	43
0	+	+	+	+	0	0	B	9
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

### OBJECTIF

Les réactifs ABO sont des réactifs de détermination des groupes sanguins qui ont pour objectif de déterminer de manière qualitative la présence ou l'absence d'antigènes A et/ou B sur les globules rouges de donneurs ou de patients nécessitant une transfusion sanguine lors de tests conformes aux techniques recommandées dans ce mode d'emploi.

### PRINCIPE

Les réactifs contiennent des anticorps dirigés contre les antigènes A et/ou B appropriés des globules rouges humains et entraîneront l'agglutination directe (amas) des globules rouges porteurs de l'antigène ABO correspondant. L'absence d'agglutination indique généralement l'absence de l'antigène ABO correspondant sur les globules rouges humains (voir **Limites**).

### REACTIFS

Les réactifs monoclonaux IgM de détermination des groupes sanguins de Lorne contiennent des anticorps monoclonaux murins dilués dans un tampon phosphate contenant du chlorure de sodium, de l'EDTA et de l'albumine bovine. Les réactifs ne contiennent pas et ne sont pas composés de substances CMR, de perturbateurs endocriniens ni de substances qui pourraient entraîner une sensibilisation ou une réaction allergique chez l'utilisateur. Chaque réactif est fourni à une dilution optimale pour une utilisation avec toutes les techniques recommandées ci-dessous sans nécessiter de dilution ou d'ajout supplémentaire. Pour connaître le numéro de référence du lot et sa date d'expiration, consultez l'**étiquette sur le flacon**.

Produit	Lignée cellulaire/Clone	Couleur	Colorant utilisé
Anti-A	9113D10	Bleu	Bleu patenté
Anti-B	9621A8	Jaune	Tartrazine
Anti-A,B	152D12 + 9113D10 + ES15	Incolore	Aucun

### CONSERVATION

Les flacons de réactifs doivent être conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C dès leur réception. Une conservation prolongée à des températures en dehors de cette plage peut accélérer la perte d'efficacité du réactif. Ce réactif a fait l'objet d'études sur la stabilité dans les transports à 37 °C et -25 °C comme décrit dans le document BS EN ISO 23640:2015.

### PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Les échantillons de sang peuvent être prélevés et placés dans de l'EDTA, du citrate, des anticoagulants CPDA, ou utilisés sous la forme d'échantillons coagulés. Les échantillons doivent être testés dès que possible après le prélèvement. En cas de retard du test, conservez les échantillons à une température comprise entre 2 et 8 °C. Les échantillons présentant une hémolyse ou une contamination microbienne flagrante ne doivent pas être testés. Les échantillons de sang présentant des signes clairs de lyse peuvent produire des résultats incertains. Il est préférable (mais pas indispensable) de laver tous les échantillons de sang avec un tampon phosphate salin (PBS) ou une solution saline isotonique avant le test.

### PRÉCAUTIONS

- Les réactifs sont conçus pour le diagnostic *in vitro* uniquement.
- Si un flacon de réactif est fendu ou s'il fuit, jetez son contenu immédiatement.
- N'utilisez pas les réactifs après leur date d'expiration (voir l'**étiquette sur le flacon**).
- N'utilisez pas les réactifs en présence d'un précipité.
- Portez des vêtements de protection lors de la manipulation des réactifs, tels que des gants jetables et une blouse de laboratoire.

- Les réactifs ont été filtrés dans une capsule de 0,2 µm afin de réduire leur charge biologique, mais ils ne sont pas fournis stériles. Dès qu'un flacon est ouvert, son contenu reste viable jusqu'à la date d'expiration tant qu'il n'y a pas de traces de turbidité, pouvant indiquer une détérioration ou une contamination du réactif.
- Les réactifs contiennent < 0,1 % d'azoture de sodium. L'azoture de sodium peut être toxique s'il est ingéré et peut réagir avec les canalisations en plomb et en cuivre pour former des azotures métalliques explosifs. Éliminez-le dans de grandes quantités d'eau.
- Aucun test ne peut garantir que les produits dérivés de sources humaines ou animales ne comportent pas d'agents infectieux. Faites très attention lors de l'utilisation et de l'élimination de chaque flacon et de son contenu.

### ÉLIMINATION DU RÉACTIF ET GESTION DES DÉVERSEMENTS

Pour plus d'informations sur l'élimination du réactif et sur la procédure de décontamination en cas de déversement, consultez la **Fiche de données de sécurité**, disponible sur demande.

### CONTRÔLES ET CONSEILS

- Il est recommandé de tester un contrôle positif et un contrôle négatif avec chaque série de tests. Les tests doivent être considérés comme non valides si les contrôles ne présentent pas les résultats attendus.
- Puisque ces réactifs ne contiennent pas de potentialisateurs macromoléculaires, il est très improbable que des résultats faux positifs soient dus à des cellules recouvertes d'IgG.
- Les échantillons de sang de sous-groupes A ou B faibles (par exemple, Ax) pourraient augmenter les faux négatifs ou les réactions faibles lorsqu'ils sont testés sur des lames, des microplaques ou des cartes de gel. Dans ce cas, il est recommandé de procéder à un nouveau test des sous-groupes à l'aide de la technique des tubes.
- Pour les personnes de plus de six mois, il est recommandé de confirmer la détermination du groupe sanguin ABO en procédant à un test sérique ou plasmatique contre les cellules des groupes A<sub>1</sub> et B connues.
- Avant son utilisation, laissez le réactif se réchauffer à température ambiante. Dès que le réactif a été utilisé, remettez-le directement dans son emplacement de conservation à une température comprise entre 2 et 8 °C.
- Dans la section **Techniques recommandées**, un volume représente approximativement 50 µl lorsque le flacon compte-gouttes fourni est utilisé.
- L'utilisation des réactifs et l'interprétation des résultats doivent être assurées par du personnel formé et qualifié conformément aux exigences du pays où les réactifs sont utilisés.
- L'utilisateur doit déterminer si les réactifs peuvent être utilisés avec d'autres techniques.

### REACTIFS ET MATÉRIELS REQUIS

- Pipettes volumétriques.
- Cartes Bio-Rad ID (NaCl, test enzymatique et agglutinines froides).
- Centrifugeuse Bio-Rad ID.
- Solution Bio-Rad ID-CellStab ou ID-Diluent 2.
- Cassettes Ortho BioVue (neutres).
- Centrifugeuse Ortho BioVue.
- Diluant de globules rouges Ortho à 0,8 %.
- Lames de microscope en verre ou cartons blancs
- Bâtonnets applicateurs.
- Tubes en verre (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm).
- Centrifugeuse pour tubes.
- Microplaques à puits en U validées.
- Centrifugeuse pour microplaques.
- Agitateur de microplaques.
- Solution PBS (pH = 6,8–7,2) ou solution saline isotonique (pH = 6,5–7,5).
- Contrôles positifs et négatifs (globules rouges) :  
Anti-A : groupe A (contrôle positif) et groupe O (contrôle négatif).  
Anti-B : groupe B (contrôle positif) et groupe O (contrôle négatif).  
Anti-A,B : groupe A et groupe B (contrôle positif) et groupe O (contrôle négatif).

### TECHNIQUES RECOMMANDÉES

#### A. Technique des tubes

- Préparez une suspension à 2-3 % de globules rouges dans une solution PBS ou saline isotonique.
- Placez dans un tube étiqueté : 1 volume du réactif anti-ABO de Lorne et 1 volume de la suspension de globules rouges.
- Mélangez complètement et laissez incuber à température ambiante pendant 1 minute.
- Centrifugez tous les tubes 10 secondes à 1 000 rcf ou selon une période et une force alternatives appropriées.
- Attendez la resuspension du culot de globules rouges, puis lisez l'agglutination au niveau macroscopique.

- Tous les tubes qui présentent un résultat négatif ou douteux doivent être incubés pendant 15 minutes à température ambiante.
- Après l'incubation, répétez les étapes 4 et 5.

#### B. Technique Bio-Rad ID (NaCl, cartes de test enzymatique et d'agglutinines froides)

- Préparez une suspension à 0,8 % de globules rouges dans une solution ID-CellStab ou ID-Diluent 2.
- Retirez le film en aluminium du nombre de microtubes requis.
- Placez dans le microtube approprié : 50 µl de suspension de globules rouges et 25 µl de réactif anti-ABO de Lorne.
- Centrifugez la ou les cartes ID dans la centrifugeuse de cartes de gel Bio-Rad.
- Lisez l'agglutination au niveau macroscopique.

#### C. Technique Ortho BioVue (cassettes neutres)

- Préparez une suspension à 0,8 % de globules rouges dans une solution à 0,8 % de diluant de globules rouges Ortho.
- Retirez le film en aluminium du nombre de chambres de réaction requis.
- Placez dans une chambre de réaction appropriée : 50 µl de suspension de globules rouges et 40 µl de réactif anti-ABO de Lorne.
- Centrifugez la ou les cassettes dans la centrifugeuse Ortho BioVue.
- Lisez l'agglutination au niveau macroscopique.

#### D. Technique sur microplaque avec puits en U

- Préparez une suspension à 2-3 % de globules rouges dans une solution PBS ou saline isotonique.
- Placez dans le puits approprié : 1 volume du réactif anti-ABO de Lorne et 1 volume de suspension de globules rouges.
- Mélangez complètement, de préférence à l'aide d'un agitateur de microplaques, en prenant soin d'éviter la contamination entre les puits.
- Laissez incubé à température ambiante pendant 15 minutes (le temps dépend de l'utilisateur).
- Centrifugez la microplaque 1 minute à 140 rcf ou selon une période et une force alternatives appropriées.
- Attendez la resuspension du culot de globules rouges en utilisant une technique d'agitation soigneusement contrôlée sur l'agitateur de microplaques.
- Lisez au niveau macroscopique ou à l'aide d'un lecteur automatique validé.
- Toute réaction faible doit être retestée par la technique des tubes.

#### E. Technique des lames

- Préparez une suspension à 35-45 % de globules rouges dans du sérum, du plasma, une solution PBS ou saline isotonique ou utilisez du sang total anticoagulé (dans son propre plasma).
- Placez sur une lame en verre ou un carton blanc étiqueté(e) : 1 volume du réactif anti-ABO de Lorne et 1 volume de la suspension de globules rouges.
- À l'aide d'un bâtonnet applicateur propre, mélangez le réactif et les cellules sur une surface d'environ 20 x 40 mm.
- Toujours à température ambiante, inclinez lentement la lame d'avant en arrière pendant 30 secondes et procédez à de nouveaux mélanges occasionnels pendant 1 minute.
- Lisez au niveau macroscopique après 1 minute sur une lumière diffuse sans prendre les filaments de fibrines pour de l'agglutination.
- Toute réaction faible doit être retestée par la technique des tubes.

#### INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS DU TEST

- Positif** : l'agglutination des globules rouges indique un résultat positif et, dans les limites acceptées de la procédure de test, la présence d'un antigène ABO approprié sur les globules rouges.
- Négatif** : l'absence d'agglutination des globules rouges indique un résultat négatif et, dans les limites acceptées de la procédure de test, l'absence d'un antigène ABO approprié sur les globules rouges.
- Différences** : si les résultats obtenus avec le groupe inverse ne correspondent pas aux résultats avec les résultats obtenus avec le groupe direct, des tests supplémentaires sont requis.

#### STABILITÉ DES RÉACTIONS

- Lisez tous les tubes et microplaques immédiatement après la centrifugation.
- Les tests sur lames doivent être interprétés après un maximum d'une minute afin de garantir la spécificité et d'éviter la possibilité d'interpréter un résultat négatif comme positif à cause du séchage du réactif.
- Il convient de faire preuve de prudence lors de l'interprétation des résultats des tests à des températures autres que celles recommandées.

#### LIMITES

- Les antigènes ABO ne sont pas entièrement développés à la naissance. Par conséquent, des réactions faibles peuvent survenir avec les échantillons de sang de cordon ombilical ou les échantillons prénataux.
- Lors de l'utilisation du réactif monoclonal anti-A,B, les échantillons de sang de sous-groupes A ou B faibles (par exemple, Ax) pourraient augmenter les faux négatifs ou les réactions faibles lorsqu'ils sont testés sur des lames, des microplaques ou des cartes de gel. Il est recommandé de procéder à un nouveau test des sous-groupes à l'aide de la technique des tubes.
- Les réactifs monoclonaux anti-A et anti-B de Lorne ne sont pas validés pour détecter la réponse des antigènes Ax et A3 ou Bx et B3 ; par

conséquent, nous n'affirmons pas la réactivité du réactif monoclonal anti-A ou anti-B contre ces sous-groupes A et B faibles.

- Le sang conservé pourrait donner des résultats plus faibles que le sang frais.
- Des résultats faux positifs ou faux négatifs pourraient également survenir à cause de :
  - La contamination des matériaux de test
  - Un stockage, une concentration cellulaire, un temps d'incubation ou une température incorrect(e)
  - Une centrifugation excessive ou incorrecte
  - Le non-respect des techniques recommandées
  - La contamination des échantillons de sang de cordon ombilical par la gelée de Wharton

#### CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE SPÉCIFIQUES

- Avant sa commercialisation, chaque lot de réactif monoclonal ABO de Lorne a été testé à l'aide des méthodes de test recommandées énumérées dans le mode d'emploi. Les tests étaient conformes aux exigences de test publiées dans la version actuelle du document « Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom » (Lignes directrices pour les services de transfusion de sang au Royaume-Uni)<sup>3</sup> et dans les spécifications techniques communes.
- La spécificité des anticorps monoclonaux sources est démontrée à l'aide d'un panel de cellules négatives à l'antigène.
- La puissance des réactifs a été testée à l'aide des étalons de référence d'une puissance minimale obtenus auprès du NIBSC (National Institute of Biological Standards and Controls, Institut national des étalons et contrôles biologiques) suivants :
  - Étalon de référence anti-A 03/188 **et/ou**
  - Étalon de référence anti-B 03/164
- Le réactif anti-B de Lorne ne réagit pas avec les globules rouges « B acquis ».
- Les réactifs monoclonaux ABO de Lorne ne détectent pas les antigènes cryptiques tels que T, Tn ou Cad.
- Le contrôle qualité des réactifs a été réalisé à l'aide de globules rouges dont les phénotypes ont été vérifiés par un centre de transfusion sanguine du Royaume-Uni et lavés à l'aide d'une solution PBS ou saline isotonique avant utilisation.

#### AVIS DE NON-RESPONSABILITÉ

- L'utilisateur est responsable des performances des réactifs s'il utilise une méthode non mentionnée dans la section **Techniques recommandées**.
- Le non-respect des **techniques recommandées** doit être validé avant utilisation<sup>5</sup>.

#### RÉFÉRENCES

- Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 181.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6<sup>th</sup> Edition 2002. The Stationary Office.
- AABB Technical Manual, 16<sup>th</sup> edition, AABB 2008.
- British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

#### RÉACTIFS DISPONIBLES

	Taille de flacon	Numéro de référence	Tests par flacon
Réactif monoclonal anti-A	10 ml	600010	200
	1 000 ml	600000*	20 000
	5 000 ml	600000X5*	100 000
Réactif monoclonal anti-B	10 ml	610010	200
	1 000 ml	610000*	20 000
	5 000 ml	610000X5*	100 000
Réactif monoclonal anti-A,B	10 ml	620010	200
	1 000 ml	620000*	20 000
	5 000 ml	620000X5*	100 000

\*Cette taille est destinée à un usage pour fabrication ultérieure et n'est donc pas accompagnée du marquage CE.



**Lorne Laboratories Limited**  
Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate  
Danehill  
Lower Earley  
Berkshire, RG6 4UT  
Royaume-Uni  
Tél : +44 (0) 118 921 2264  
Fax : +44 (0) 118 986 4518  
E-mail : info@lornelabs.com



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2<sup>nd</sup> Flr.,  
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta