



REACTIFS MONOCLONAUX POUR LA DETERMINATION DES GROUPES SANGUINS MODE D'EMPLOI

Réactif monoclonal Anti-K : Pour les techniques des tubes, des cartes Bio-Rad ID, des colonnes Ortho BioVue, des lames et des microplaques.

RÉSUMÉ

L'antigène K a été découvert en 1946. L'antigène est entièrement développé à la naissance et peut être fortement immunogène. Il est impliqué dans les réactions transfusionnelles hémolytiques et la maladie hémolytique du nouveau-né.

Anti-K	Anti-k	Phénotype	Caucasiens ¹	Afro-américains ¹
+	0	K+k-	0,2 %	Rare
+	+	K+k+	8,8 %	2 %
0	+	K-k+	91 %	98 %
0	0	K _o	Très rare	

OBJECTIF

Le réactif permet la détermination des groupes sanguins et a pour objectif de déterminer de manière qualitative la présence ou l'absence de l'antigène Kell (KEL1) 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

Le réactif contient des anticorps dirigés contre l'antigène K des globules rouges humains et entraîne l'agglutination directe (amas) des globules rouges humains porteurs de l'antigène Kell. L'absence d'agglutination (pas d'amas) indique généralement l'absence de l'antigène Kell (voir **Limites**).

REACTIF

Le réactif monoclonal anti-K de détermination des groupes sanguins de Lorne est un réactif à faible concentration en protéines contenant l'anticorps monoclonal IgM, clone MS-56, dilué dans un tampon phosphate contenant du chlorure de sodium, de l'albumine bovine et des potentialisateurs macromoléculaires (4,0 g%). Le réactif ne contient pas et n'est pas composé de substances CMR, de perturbateurs endocriniens ni de substances qui pourraient entraîner une sensibilisation ou une réaction allergique chez l'utilisateur. Le 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**.

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

- Le réactif est conçu pour le diagnostic *in vitro* uniquement.
- Si un flacon de réactif est fendu ou s'il fuit, jetez son contenu immédiatement.
- N'utilisez pas le réactif après sa date d'expiration (voir **l'étiquette sur le flacon**).
- N'utilisez pas le réactif 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.
- Le réactif a été filtré dans une capsule de 0,2 µm afin de réduire sa charge biologique, mais il n'est pas fourni stérile. 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.
- Le réactif contient < 0,1 % d'azote de sodium. L'azote 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.
- Les matériaux utilisés pour fabriquer le réactif ont été testés à la source à l'aide de tests microbiologiques approuvés et considérés comme négatifs aux anticorps contre le VIH 1+2 et le VHC et à l'HBsAg.

- 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 (idéalement hétérozygote) 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.
- Lors du typage des globules rouges d'un patient, il est important d'inclure un contrôle négatif du réactif (contrôle monoclonal Rh de Lorne, numéro de référence 640010) car les potentialisateurs macromoléculaires contenus dans le réactif peuvent provoquer des réactions faussement positives avec les cellules recouvertes d'IgG.
- Les antigènes K faibles sont susceptibles d'être faiblement détectés par les techniques des cartes de gel, des microplaques et des lames. Il est recommandé de tester les antigènes K faibles à l'aide de la technique des tubes.
- 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 le réactif peut être utilisé avec d'autres techniques.

RÉACTIFS ET MATÉRIELS REQUIS MAIS PAS FOURNIS

Technique des tubes

- Tubes en verre (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm).
- Centrifugeuse capable de tourner à 1 000 rcf pendant 20 secondes.
- Solution PBS (pH = 6,8-7,2) ou solution saline isotonique (pH = 6,5-7,5).
- Globules rouges de contrôles positifs (idéalement Kk) et négatifs (kk)

Technique de micro typage Bio-Rad ID

- Cartes Bio-Rad ID (NaCl, test enzymatique et agglutinines froides).
- Centrifugeuse Bio-Rad ID.
- Solution Bio-Rad ID-CellStab ou ID-Diluent 2.

Technique de typage Ortho BioVue

- Cassettes Ortho BioVue (neutres).
- Centrifugeuse Ortho BioVue.
- Diluant de globules rouges Ortho à 0,8 %.

Technique des microplaques

- Microplaques à puits en U validées
- Centrifugeuse pour microplaques.
- Agitateur de microplaques

Technique des lames

- Lames de microscope en verre ou cartons blancs
- Bâtonnets applicateurs.
- Minuteur ou chronomètre

Toutes techniques

- Pipettes volumétriques.

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 de Lorne et 1 volume de la suspension de globules rouges.
- Mélangez complètement et centrifugez tous les tubes 20 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 3 et 4.

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

1. Préparez une suspension à 0,8 % de globules rouges dans une solution ID-CellStab ou ID-Diluent 2.
2. Retirez le film d'aluminium du nombre de microtubes requis sur la ou les cartes ID NaCl, de test enzymatique ou d'agglutinines froides.
3. Placez dans le microtube approprié : 50 µl de suspension de globules rouges et 25 µl de réactif de Lorne.
4. Centrifugez la ou les cartes ID dans une centrifugeuse de cartes Bio-Rad ID.
5. Lisez l'agglutination au niveau macroscopique.

C. Technique Ortho BioVue (cassettes neutres)

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

D. Technique sur microplaque avec puits en U

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

E. Technique des lames

1. Préparez une suspension à 35-45 % de globules rouges dans du sérum, du plasma ou une solution PBS ou saline isotonique. Si cela n'est pas possible, du sang total anticoagulé peut également être utilisé comme échantillon.
2. Placez sur une lame en verre ou un carton blanc étiqueté(e) : 1 volume du réactif de Lorne et 1 volume de la suspension de globules rouges.
3. À l'aide d'un bâtonnet applicateur propre, mélangez le réactif et les cellules sur une surface d'environ 20 x 40 mm.
4. Toujours à température ambiante, inclinez lentement la lame d'avant en arrière pendant 1 minute.
5. Lisez au niveau macroscopique après 1 minute sur une lumière diffuse sans prendre les filaments de fibrines pour de l'agglutination.
6. Toute réaction faible doit être retestée par la technique des tubes.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS DU TEST

1. **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 K sur les globules rouges.
2. **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 K sur les globules rouges.
3. Les résultats de test présentant des cellules qui sont agglutinées à l'aide du contrôle négatif doivent être exclus, car l'agglutination est probablement due à l'effet des potentialisateurs macromoléculaires sur les cellules sensibilisées.

STABILITÉ DES RÉACTIONS

1. Lisez tous les tubes et microplaques immédiatement après la centrifugation.
2. Les tests sur lames doivent être interprétés en 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.
3. Il convient de faire preuve de prudence lors de l'interprétation des résultats des tests à des températures autres que celles recommandées.

LIMITES

1. Le sang conservé pourrait donner des résultats plus faibles que le sang frais.
2. 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

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE SPÉCIFIQUES

1. Avant sa commercialisation, chaque lot de ce réactif 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) et dans les spécifications techniques communes.
2. La spécificité des anticorps monoclonaux sources est démontrée à l'aide d'un panel de cellules négatives à l'antigène.
3. Le contrôle qualité du réactif 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

1. L'utilisateur est responsable des performances du réactif s'il utilise une méthode non mentionnée dans la section **Techniques recommandées**.
2. Le non-respect des **techniques recommandées** doit être validé avant utilisation⁵.

RÉFÉRENCES

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 186.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 12.
3. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
5. 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.

TAILLES DES RÉACTIFS DISPONIBLES

Taille de flacon	Numéro de référence	Tests par flacon
10 ml	760010	200
1 000 ml	760000*	20 000

*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, 2nd Flr.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malte