

# 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 enhanced (IgM) monoclonal**

**REF K 1151**

**IVD CE 0344**

007\_v03 07/2019 (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 enhanced (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 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, laquelle implique une réaction antigène/anticorps. Le réactif peut être utilisé en tube à centrifuger ou sur microplaque. Il détecte tous les antigènes D ainsi que la plupart des variantes VI et des faibles réponses des antigènes D. 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 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. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 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 .
2. Verser dans un tube à essai:
  - 1 goutte de réactif Pelikloon
  - 1 goutte de la suspension cellulaire à 3-5%puis bien mélanger le contenu.
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 .
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.

## 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.

<b>Nombre de cas</b>	<b>Caucasiens</b>	<b>Noirs</b>
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.

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 y a un risque d'obtenir des résultats positifs ou négatifs erronés suite à une contamination des matériaux de test ou à une déviation quelconque par rapport à la technique recommandée.

Les érythrocytes qui obtiennent un résultat positif au test de Coombs direct (DAT) peuvent donner des résultats positifs erronés.

L'utilisation du Pelikloon control monoclonal est recommandée afin de détecter de telles erreurs.

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, 6<sup>th</sup> ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issit P.D.; Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> 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, 9<sup>th</sup> ed. Blackwell, Oxford, 1993.
6. Engelfriet C.P. et al.; Immunohaematology. Sanquin Blood Supply Foundation, 2003.

*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.*