

NOTICE D'UTILISATION DES KITS PHENSCREEN
ANTI-RH8 ET ANTI-KEL3 PK7300



KITS PHENSCREEN ANTI-RH8 ET ANTI-KEL3 POUR GROUPAGES SANGUINS EN TECHNIQUE AUTOMATISÉE PK7300

NOTICE D'UTILISATION

CE Anti-RH8 et anti-KEL3



NOTICE D'UTILISATION DES KITS PHENSREEN ANTI-RH8 ET ANTI-KEL3 PK7300

■ SOMMAIRE

■	SOMMAIRE	2
■	NOTES DES MISES À JOUR DES VERSIONS PRÉCÉDENTES	2
1.	EMPLOIS PRÉVUS ET INDICATIONS	3
2.	LÉGENDE DES SYMBOLES UTILISÉS	3
3.	COMPOSITION DES RÉACTIFS	3
3.1	Composition du kit PhenScreen anti-RH8	3
3.2	Composition du kit PhenScreen anti-KEL3	3
4.	CONDITIONS DE LIVRAISON - STOCKAGE	4
5.	ASSISTANCE TECHNIQUE	4
6.	PRÉCAUTIONS ET LIMITES D'UTILISATION - SÉCURITÉ	4
6.1	Précautions et limites d'utilisation	4
6.2	Informations de sécurité	5
7.	PRINCIPE	5
8.	MATÉRIELS ET RÉACTIFS	5
9.	PROTOCOLE	6
9.1	Mise en place des éléments sur l'automate	6
9.2	Paramètres de la méthode	6
9.3	Réglages des seuils de lecture	6
10.	INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS	6
11.	PERFORMANCES DIAGNOSTIQUES	7
11.1	Réactif monoclonal anti-RH8	7
11.2	Réactif monoclonal anti-KEL3	7
12.	LIMITES DE LA MÉTHODE	8
13.	INFORMATIONS FABRICANT	8

■ NOTES DES MISES À JOUR DES VERSIONS PRÉCÉDENTES

Ajout indication IUD

Changement du logo UPR pour EFS Réactifs

Modification adresse mail hotline et numéro de téléphone



NOTICE D'UTILISATION DES KITS PHENSCREEN ANTI-RH8 ET ANTI-KEL3 PK7300

1. EMPLOIS PRÉVUS ET INDICATIONS

Les réactifs monoclonaux d'origine humaine anti-RH8 (clone P3P276R3) et anti-KEL3 (clone SpA294LFj4) sont conditionnés en cassettes PK7300 de 20 mL prêtes à l'emploi. Ils sont donc directement utilisables en microplaques Beckman Coulter P3 par technique automatisée sur l'automate Beckman Coulter PK7300.

Ces réactifs sont utilisés dans le cadre du phénotypage RH8 et KEL3 des donneurs de sang. Ils permettent de mettre en évidence l'éventuelle présence des antigènes recherchés exprimés à la surface des hématies humaines en méthode automatisée PK7300. Les 2 réactifs peuvent être utilisés indépendamment l'un de l'autre.

2. LÉGENDE DES SYMBOLES UTILISÉS

	Marquage CE		Limite de température
	Pour diagnostic in vitro		Identification du lot
	Date de péremption		Manuel d'utilisation
	Fabricant légal		Référence du produit
	Identifiant Unique des Dispositifs		

3. COMPOSITION DES RÉACTIFS

3.1 Composition du kit PhenScreen anti-RH8

Le kit référence 260476 est composé de 2 cassettes pour PK7300 de réactif anti-RH8 et de 4 cassettes PhenScreen Control RH8. Le réactif est constitué d'anticorps monoclonal anti-RH8 issu du clone d'origine humaine P3P276R3. L'anticorps est de type IgM. Le réactif contient 0,09 % d'azide de sodium ainsi que des protéines d'origine animale. Le PhenScreen Control contient 0,09 % d'azide de sodium ainsi que des protéines d'origine animale.

Le produit prêt à l'emploi est conditionné en cassette de 20 mL compatible avec les automates PK7300 en technique hématies sensibilisées en Broméline PK. Le kit permet de réaliser 1600 tests, soit 800 tests par cassette de réactif.

3.2 Composition du kit PhenScreen anti-KEL3

Le kit référence 260477 est composé de 2 cassettes pour PK7300 de réactif anti-KEL3 et de 4 cassettes PhenScreen Control KEL3. Le réactif est constitué d'anticorps monoclonal anti-KEL3 issu du clone d'origine humaine SpA264LFj4. L'anticorps est de type IgM. Le réactif contient 0,09 % d'azide de sodium ainsi que des protéines d'origine animale. Le PhenScreen Control contient 0,09 % d'azide de sodium ainsi que des protéines d'origine animale.



NOTICE D'UTILISATION DES KITS PHENSREEN ANTI-RH8 ET ANTI-KEL3 PK7300

Le produit prêt à l'emploi est conditionné en cassette de 20 mL compatible avec les automates PK7300 en technique hématies sensibilisées en Broméline PK. Le kit permet de réaliser 1600 tests, soit 800 tests par cassette de réactif.

4. CONDITIONS DE LIVRAISON - STOCKAGE

- Les réactifs monoclonaux anti-RH8 et anti-KEL3 sont livrées dans des conditions de transport permettant de maintenir le produit une température de $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$. Ils doivent être placés et conservés à réception dans une enceinte $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.
- Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du produit lorsqu'ils sont stockés à une température de $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.
- Lors de leur utilisation, les composants des kits peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption des produits. Les flacons doivent être conservés à $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ après la journée de travail.

5. ASSISTANCE TECHNIQUE

Pour une assistance technique et plus d'informations, veuillez prendre contact :

Email : efs.reactifs.hotline@efs.sante.fr

Tél : 06.62.99.46.76

6. PRÉCAUTIONS ET LIMITES D'UTILISATION - SÉCURITÉ

6.1 Précautions et limites d'utilisation

L'utilisation des réactifs monoclonaux anti-RH8 et anti-KEL3 à usage *in vitro* doit être strictement réservée aux professionnels de la santé et plus précisément, aux techniciens de laboratoire formés au phénotypage érythrocytaire.

Il est impératif de prendre connaissance des réactifs et équipements nécessaires recommandés à la section 8 «Matériels et Réactifs ».

Il est indispensable d'utiliser PhenScreen Control RH8 ou KEL3 pour valider l'interprétation des résultats obtenus avec les réactifs. La mise en œuvre de la technique doit obligatoirement inclure en début et en fin de série de l'analyse des hématies de phénotypes connus RH:8 et RH:-8 pour le réactif anti-RH8 ainsi que KEL:3,4 et KEL:-3,4 pour le réactif anti-KEL3.

Ces produits sont strictement utilisés dans le cadre du phénotypage érythrocytaire des donneurs de sang avec les réactifs et équipements utilisés en combinaison et spécifiés dans cette notice, ou validé par l'utilisateur. Le prélèvement sanguin doit être réalisé sur anticoagulant EDTA et doit être conservé à $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ si le phénotypage ne peut pas être réalisé rapidement (aucune hémolyse ou contamination d'origine bactérienne ou autres ne doivent être observées). Les tests doivent être réalisés dans un délai de sept jours à compter de la date de prélèvement.

Il est obligatoire de travailler avec du matériel propre et des produits non contaminés (contaminations microbiologiques ou autres). En particulier, une vigilance doit être exercée sur le nettoyage des plaques P3.

L'utilisation de matériaux autres que ceux spécifiés doit être validée par l'utilisateur.



NOTICE D'UTILISATION DES KITS PHENSREEN ANTI-RH8 ET ANTI-KEL3 PK7300

De mauvaises conditions de transport, de stockage ou l'utilisation de produits périmés peuvent produire des résultats erronés.

6.2 Informations de sécurité

Les réactifs d'origine humaine ont subi un dépistage négatif concernant l'infection VIH 1 et 2, l'Hépatite B, l'Hépatite C, mais doivent cependant être manipulés comme des produits potentiellement infectieux. Ces produits contiennent des protéines d'origine animale et 0,09% d'azide de sodium.

Le port de protections individuelles tels que gants jetables, lunettes de protection et blouse est recommandé lors de la manipulation des produits. Tous les supports ayant été en contact avec les échantillons testés doivent être manipulés comme des produits potentiellement infectieux. Les conditions d'élimination des produits et les procédures de désinfection doivent être conformes à la réglementation locale.

Ces produits ne doivent pas être utilisés en cas de turbidité ou de fuite et sont strictement réservés à l'usage *in vitro*.

7. PRINCIPE

Les réactifs permettent de mettre en évidence l'éventuelle présence de l'antigène recherché exprimé à la surface des hématies humaines.

La méthode d'analyse est une réaction qualitative de type antigène-anticorps reposant sur le principe d'hémagglutination. En technique automatisée PK7300, les hématies traitées à la broméline et exprimant l'antigène recherché sont agglutinées par l'anticorps monoclonal correspondant.

Ces tests *in vitro* sont qualitatifs et informatifs sur le phénotype de l'individu testé.

Le PhenScreen Control RH8 ou KEL3 présents dans les kits doivent être utilisés lors du phénotypage dans les mêmes conditions que les réactifs anti-RH8 ou anti-KEL3 pour permettre l'interprétation des résultats obtenus.

Des hématies témoins positives et négatives de phénotype connus pour chaque système doivent être incluses en début et fin de série d'analyses.

8. MATÉRIELS ET RÉACTIFS

L'ensemble du matériel et des équipements doivent être vérifiés et ou calibrés périodiquement et selon le périmètre réglementaire en vigueur.

Réactifs et matériels	Référence produit	Fabricant
Automate PK7300	N3209000	Beckman Coulter
Microplaque P3 pour automate PK7300	ZM047000	Beckman Coulter
Broméline PK	73300	Diagast
Échantillon sanguin de phénotype garanti possédant l'antigène recherché	Au choix du laboratoire	Au choix du laboratoire
Échantillon sanguin de phénotype garanti ne possédant pas l'antigène recherché	Au choix du laboratoire	Au choix du laboratoire



NOTICE D'UTILISATION DES KITS PHENSREEN ANTI-RH8 ET ANTI-KEL3 PK7300

(*) En rouge sont identifiés les réactifs et matériels validés et préconisés.

9. PROTOCOLE

9.1 Mise en place des éléments sur l'automate

Il est nécessaire de se référer au manuel d'utilisation Beckman Coulter PK7300 afin de procéder à la mise en marche de l'automate, réaliser les opérations préalables de maintenance, vérifier et décontaminer les équipements ou pour toute information complémentaire.

Les éléments sont positionnés sans les bouchons aux emplacements prévus à cet effet dans l'automate Beckman Coulter PK7300.

9.2 Paramètres de la méthode

Paramètres	Réglages
Ratio échantillon/diluant	1,9%
Volume d'échantillon dilué	25 µL
Volume de réactif ou PhenScreen Control	25 µL
Réglage de température	[+28°C - +30°C]
Durée d'incubation	60 minutes
Puits	16 µm

9.3 Réglages des seuils de lecture

Les paramètres de réglages des automates BECKMAN COULTER PK7300 sont donnés ci-dessous à titre indicatif.

Seuils				
SPC	Bas	14	Élevé	14
P/C	(+) Limite	+22	(-) Limite	-20
LIA	(+) Limite	+300	(-) Limite	-100

Les Bonnes Pratiques de Laboratoires recommandent que les paramètres opératoires soient validés par le laboratoire utilisateur.

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

La lecture des réactions et l'interprétation des résultats sont réalisées par l'automate PK7300. L'opérateur valide l'interprétation en visualisant les images réactionnelles puits par puits.

Il y a agglutination lorsque les hématies se présentent en un tapis homogène recouvrant tout le puits de la microplaque. La réaction est positive et l'antigène recherché est présent sur les hématies testées.

S'il n'y a pas d'agglutination, les hématies sédimentent en un bouton dense au fond du puits de la microplaque. La réaction est alors négative et l'antigène recherché est absent des hématies testées.

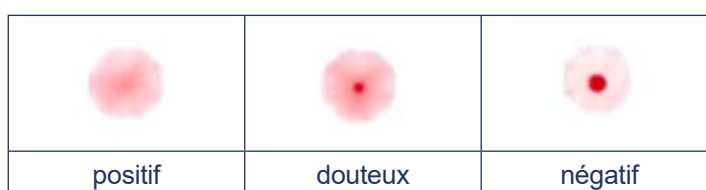


NOTICE D'UTILISATION DES KITS PHENSREEN ANTI-RH8 ET ANTI-KEL3 PK7300

Les images intermédiaires (bouton dense entouré d'anneaux diffus) sont considérées comme des réactions douteuses. Dans ce cas, il ne faut pas valider le résultat mais poursuivre l'analyse conformément aux recommandations et protocoles en vigueur ou transmettre le prélèvement à un laboratoire expert.

La réaction est interprétable uniquement lorsque le puits du PhenScreen Control présente une réaction parfaitement négative.

Quelques exemples de profils de réactions sont présentés ci-dessous :



11. PERFORMANCES DIAGNOSTIQUES

11.1 Réactif monoclonal anti-RH8

Au cours de la validation clinique, un laboratoire de Qualification Biologique des Dons de l'EFS a testé 1000 prélèvements de donneurs de sang sans sélection phénotypique et a obtenu les résultats suivants:

- 20 ont été trouvés positifs, soit 2% des prélèvements
- 980 ont été trouvés négatifs, soit 98% des prélèvements

Toutes les hématies porteuses de l'antigène RH8 ont été agglutinées. Les prélèvements positifs ont été confirmés manuellement par le Laboratoire National de Production de Réactifs Monoclonaux de l'EFS avec un réactif de référence (clone MS110).

Au cours de cette validation clinique, 47 échantillons de donneurs phénotypés connus ont également été analysés (22 RH:8 et 25 RH:-8). Aucune discordance phénotypique n'a été constatée.

La spécificité est donc de 100%.

11.2 Réactif monoclonal anti-KEL3

Au cours de la validation clinique, un laboratoire de Qualification Biologique des Dons de l'EFS a testé 1000 prélèvements de donneurs de sang sans sélection phénotypique et a obtenu les résultats suivants:

- 23 ont été trouvés positifs, soit, 2,3% des prélèvements
- 977 ont été trouvés négatifs, soit 97,7% des prélèvements

Toutes les hématies porteuses de l'antigène KEL3 ont été agglutinées. Le phénotype de l'ensemble des prélèvements a été confirmé en technique manuelle par le Laboratoire National de Production de Réactifs Monoclonaux de l'EFS avec un réactif polyclonal de référence.

Au cours de cette validation clinique, 29 échantillons de donneurs phénotypés connus ont également été analysés (16 KEL:3,4 et 13 KEL :-3,4). Aucune discordance phénotypique n'a été constatée.

La spécificité est donc de 100%.

NOTICE D'UTILISATION DES KITS PHENSCREEN ANTI-RH8 ET ANTI-KEL3 PK7300



12. LIMITES DE LA MÉTHODE

L'usage des réactifs de groupage sanguin est réservé au personnel qualifié et habilité.

Il est impératif d'utiliser la Broméline PK (Diagast) et de suivre les recommandations d'utilisation données par le fabricant.

Il est nécessaire d'utiliser le PhenScreen Control pour chaque échantillon testé afin pouvoir interpréter les réactions obtenues. La réaction est interprétable uniquement si la réaction obtenue avec le PhenScreen Control est négative.

L'étalonnage, la surveillance préventive et la maintenance de l'automate PK7300 sont recommandés afin de garantir l'optimisation du dispositif.

13. INFORMATIONS FABRICANT



KITS PHENSCREEN ANTI-RH8 ET ANTI-KEL3 POUR GROUPAGES SANGUINS EN TECHNIQUE AUTOMATISÉE PK7300



ÉTABLISSEMENT FRANÇAIS DU SANG (EFS)

20, avenue du Stade de France

93218 LA PLAINE SAINT-DENIS Cedex

Tél : 06.62.99.46.76

Email : efs.reactifs.hotline@efs.sante.fr