



Etablissement Français du Sang
20, avenue du Stade de France
93218 La Plaine Saint-Denis Cedex

REF

232614

Hemo DTT 8

Principe

Ce produit, prêt à l'emploi, est un agent réducteur de la famille des thiols qui coupe les ponts disulfures des molécules. Le traitement par DTT 0,2 M altère voir détruit certains antigènes érythrocytaires dont la structure est riche en ponts disulfures. Ce traitement :

- détruit les antigènes des systèmes KEL, LW, SC, IN, JMH et l'antigène YT1
- affaiblit les antigènes des systèmes KN, LU, DO, AN/WJ.

Le DTT est dissout en Tampon Phosphate (TP) pH 8.

Présentation

Le produit est constitué d'une gamme comportant 1 tube de DTT 0,2 M. La solution est conditionnée en flacons de 1 mL.

Strictement réservé à l'usage *in vitro*.

Conditions de conservation et validité

Ce produit doit être conservé congelé à une température inférieure ou égale à -20°C. Il ne doit pas être utilisé au delà de la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

Utiliser immédiatement après décongélation.

Au-delà, le DTT n'est plus stable et des réactions aspécifiques et aberrantes peuvent se produire.

Ne pas recongeler les produits après décongélation.

Si l'intégrité d'un flacon n'est plus assurée, ne pas l'utiliser et l'éliminer selon la réglementation en vigueur.

Contrôle de qualité

La préparation de ce produit fait l'objet de contrôles de lot systématiques afin d'assurer une qualité constante d'un lot à l'autre.

Echantillons

Hématies de panel d'hématies-tests en solution de conservation ou hématies de tubulures de donneur.

Conditions d'utilisation et limites d'utilisation

- S'assurer, par contrôle visuel, de l'absence de précipité ou de substance dans le flacon de DTT.
- Grâce à cette technique il est possible de préparer des hématies informatives en vue de disposer d'éléments d'orientation devant une « pan-agglutination » lors de l'étape d'identification de la recherche d'anticorps irréguliers (RAI) avec un témoin autologue négatif (suspicion d'allo-anticorps dirigé contre un antigène de grande fréquence). La préparation de telles hématies permet de s'orienter vers les spécificités publiques des systèmes précédemment cités qui seront détruits ou affaiblis après le traitement.

Matériel supplémentaire nécessaire : étuve à 37°C ± 2°C, tubes secs en verre, NaCl 0,15M

Protocole

Sélection des hématies à traiter

- Sélectionner 2 hématies (à défaut 1) du panel d'hématies-test ou de donneurs (ou à défaut de patients) de groupe O dont le phénotype RH-KEL1 est antigénocompatible avec les anticorps associés (présents ou non éliminés).
- S'assurer que l'épreuve de compatibilité (EDC) avec le plasma/sérum étudié est positive avec chaque hématies sélectionnée et test indirect à l'antiglobuline (TIA) technique tube ET filtration avant tout traitement des hématies.

Méthode

- Décongeler 1 tube de DTT pH8 0,2M à température ambiante
- Préparer 1 volume de culot lavé en NaCl 0,15 M des hématies sélectionnées
- A ce volume de culot lavé, ajouter 4 volumes de DTT pH8 0,2M à température ambiante
- Incuber le mélange 30 minutes à +37°C
- Laver 4 fois en NaCl 0,15 M
- Préparer une suspension en NaCl 0,15 M à 3-5%.

Contrôle de qualité du traitement des hématies : Phénotypage des hématies avant et après traitement dans le système KEL (antigène KEL2 ou KEL4). S'assurer de la conformité du contrôle qualité

- Réaliser une EDC en TIA tube entre chaque hématie traitée et le plasma/sérum du patient étudié
L'EDC doit être réalisée conformément au mode opératoire en vigueur dans le laboratoire. L'obtention de réactions positives ou négatives fournira des éléments d'orientation de la spécificité de l'anticorps devant une « pan-agglutination ».

Contrôle et limites de la technique

L'utilisation du DTT pH8 pour traitement des hématies en vue d'obtenir une orientation diagnostique est validée pour obtenir l'altération sélective de certains antigènes, conformément aux données de la littérature.

La validation du traitement par DTT nécessite de pratiquer un phénotype KEL2 (k) (par exemple) avant et après traitement des hématies sélectionnées. Le contrôle qualité est conforme si le phénotype KEL2 est positif avant traitement par DTT et négatif après traitement.

Interprétation des résultats

Les résultats sont interprétés conformément au tableau ci-dessous.

EDC (Méthode TIA tube)	GR non traités par DTT	GR traités par DTT 0,2M pH8	Conclusion
Sérum/plasma patient	Positif	Positif	Anticorps reconnaissant un antigène non détruit par DTT 0,2 M pH8
Sérum/plasma patient	Positif	Négatif	Anticorps reconnaissant un antigène détruit par DTT 0,2 M pH8
Sérum/plasma patient	Positif	Diminution d'intensité	Anticorps reconnaissant un antigène affaibli par DTT 0,2 M pH8

Performances

Conservé à une température inférieure ou égale à -20°C et utilisé selon les modalités techniques décrites précédemment, l'efficacité du produit DTT a été vérifiée en réalisant une EDC en TIA tube entre hématies traitées et différents sérums de patients porteurs d'anticorps de spécificité connue.

Pour les sérums :

- Sérums de patients avec allo anticorps de spécificités connues (confirmée par identification au CNRGS)
- Anti-RH1 du CQI

Pour les hématies traitées par DTT pH 8 0,2 M

- Globules rouges issus de tubulures de donneurs (Tubulures de GRD)
- Globules rouges issus de solutions mères d'hématies tests de panel de dépistage

Les EDC réalisées ont donné les résultats suivants :

	Spécificité	EDC en TIA Tube AVANT traitement	EDC en TIA Tube APRES traitement
Anticorps dirigés contre Antigènes altérés par DTT 0,2 M pH8	Anti-KN Anti-AnWj Anti-Lub	Positif	Diminution d'intensité voire négatif si Ac faible
Anticorps dirigés contre Antigènes détruits par DTT 0,2 M pH8	Anti-JMH Anti-KEL2 Anti-KEL4 Anti-Yta	Positif	Négatif
Anticorps dirigés contre Antigènes non altérés par 0,2 M DTT pH8	Anti-D	Positif	Positif

Précautions d'emploi

Le DTT en solution Tampon Phosphate est considéré comme moins nocif que le DTT avant reconstitution, cependant il peut causer des brûlures cutanées ou des dommages oculaires et doit donc toujours être manipulé avec les précautions d'usage. En cas de doute ou lorsque des irritations cutanées ou oculaires persistent, consulter un médecin. En cas de contact avec les yeux, rincer abondamment à l'eau en gardant la paupière ouverte. En cas de contact avec la peau ou les cheveux, enlever les vêtements souillés et rincer à l'eau. En cas d'ingestion, rincer abondamment la bouche à l'eau (si la personne est consciente). Ne pas provoquer de vomissement. Hospitaliser.

L'élimination des déchets doit se faire selon la législation en vigueur. En cas de renversement accidentel, ventiler la zone, éviter le contact avec la peau ou les yeux, ne pas respirer les vapeurs. Diluer largement le produit répandu à l'eau, prévenir la contamination du sol et de l'eau. Absorber le produit répandu avec un matériau absorbant inerte (sable, vermiculite,...). Rincer la zone abondamment à l'eau et traiter l'eau souillée selon la réglementation en vigueur.

Bibliographie

- Jill R.Storry and al "A Review: modification of the red blood cell membrane and its application in blood group serology. Immunohematology, vol.16,2000
- T. Tamada and T. Mazda "Enzyme and DTT treatment of adherent RBCs for antibody identification by a solid phase immunoassay system" Immunohematology, vol 18, 2002
- M. Reid The blood group Antigen. Facts Book. Second edition 2007,2008

Symboles utilisés:

REF	Référence du catalogue	LOT	Numéro de lot	Utiliser jusqu'au	Limites de température
	Fabricant				

Pour une assistance technique, une demande d'information ou une réclamation, veuillez prendre contact par :

Tel : 01-55-93-79-99

E-mail : SIdc.Clientupr@efs.sante.fr

UPR/PUL/FAB/DF/FI/147

Version : 2 - 21/05/2024