

**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 facon 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:**

 Référence du catalogue  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: 06.62.99.46.76**  
 E-mail: efs.reactifs.hotline@efs.sante.fr

UPR/PUL/FAB/DF/FI/147  
 Version : 3 - 26/05/2026

REF **232614** **Hemo DTT 8**

#### Principle

This ready-to-use product is a reducing agent from the thiol family that breaks the disulphide bonds in molecules. Treatment with 0.2 M DTT alters or even destroys certain erythrocyte antigens, the structure of which has a lot of disulphide bonds. This treatment:

- destroys antigens from the KEL, LW, SC, IN, JMH systems and the YT1 antigen
- weakens the antigens of the KN, LU, DO and AN/WJ systems.

The DTT is dissolved in Phosphate Buffer (PB) pH 8.

#### Presentation

The product consists of a range comprising 1 tube of 0.2 M DTT. The solution is packaged in 1 mL vials.

**Strictly for *in vitro* use only.**

#### Storage conditions and shelf life

This product must be stored frozen at a temperature of -20°C or below. It must not be used after the expiry date stated on the label.

Use immediately after thawing.

Beyond this point, DTT is no longer stable and non-specific and aberrant reactions may occur.

Do not refreeze the products after thawing.

If the integrity of a vial is compromised, do not use it and dispose of it in accordance with the regulations in force.

#### Quality control

The preparation of this product is subject to systematic batch controls to ensure consistent quality from batch to batch.

#### Samples

Red blood cells from a panel of test red blood cells in storage solution or red blood cells from donor tubes.

#### Conditions of use and limitations

- Check visually that there is no precipitate or substance in the DTT vial.
- Using this technique, it is possible to prepare informative red blood cells in order to provide guidance in the event of "pan-agglutination" during the identification stage of irregular antibody testing (IAT) with a negative autologous control (suspicion of alloantibodies directed against a high-frequency antigen). The preparation of these red blood cells makes it possible to focus on the public specificities of the above-mentioned systems, which will be destroyed or weakened after treatment.

**Additional equipment required:** incubator at 37°C ± 2°C, dry glass tubes, 0.15M NaCl

#### Protocol:

##### Selection of red blood cells for treatment

- Select 2 red blood cells (or 1 if necessary) from the panel of test red blood cells or donors (or patients if necessary) with group O whose RH-KEL1 phenotype is antigen-compatible with the associated antibodies (present or not eliminated).
- Ensure that the blood compatibility test (BCT) with the plasma/serum under study is positive with each selected red blood cell and perform an indirect antiglobulin test (IAT) using the tube AND filtration technique before any treatment of the red blood cells.

##### Method

- Thaw 1 tube of 0.2M DTT pH 8 to thaw at room temperature.
- Prepare 1 volume of washed red cell concentrate in 0.15 M NaCl of the selected red blood cells
- To this volume of washed red cell concentrate, add 4 volumes of DTT pH 8 0.2M at room temperature
- Incubate the mixture for 30 minutes at +37°C
- Wash 4 times in 0.15 M NaCl
- Prepare a 3-5% suspension in 0.15 M NaCl.

Quality control of the red blood cell treatment: Phenotyping the red blood cells before and after treatment in the KEL system (KEL2 or KEL4 antigen). Ensure compliance with quality control

- Perform a BCT in an IAT tube between each treated red blood cell and the plasma/serum of the patient under investigation  
The BCT must be performed in accordance with the laboratory's standard operating procedure. Obtaining positive or negative reactions will provide guidance on the specificity of the antibody in the event of "pan-agglutination".

#### Control and limitations of the technique

The use of DTT pH8 for the treatment of red blood cells to obtain diagnostic guidance is validated for the selective alteration of certain antigens, in accordance with data in the literature.

Validation of DTT treatment requires performing a KEL2 (k) phenotype (for example) before and after treatment of the selected red blood cells. Quality control is compliant if the KEL2 phenotype is positive prior to DTT treatment and negative after treatment.

#### Interpretation of the results

The results are interpreted in accordance with the table below.

BCT (IAT tube method)	RBC not treated with DTT	RBC treated with 0.2M DTT pH8	Conclusion:
Patient serum/plasma	Positive	Positive	Antibodies recognising an antigen not destroyed by DTT 0.2 M pH 8
Patient serum/plasma	Positive	Negative	Antibodies recognising an antigen destroyed by DTT 0.2 M pH 8
Patient serum/plasma	Positive	Reduced intensity	Antibodies recognising an antigen weakened by DTT 0.2 M pH 8

#### Performances

Stored at a temperature of -20°C or below and used in accordance with the technical procedures described above, the efficacy of the DTT product was verified by performing a BCT in an IAT tube between treated red blood cells and different serums from patients carrying antibodies of known specificity.

For the serums:

- Serums from patients with alloantibodies of known specificity (confirmed by identification by the CNRGS)
- Anti-RH1 from the CQI

For red blood cells treated with DTT pH 8 0.2 M

- Red blood cells from donor tubing (RBD tubing)
- Red blood cells from master solutions of red blood cells for screening panels

The BCTs carried out gave the following results:

	Specificity	BCT in IAT Tube BEFORE treatment	BCT in IAT Tube AFTER treatment
Antibodies directed against Antigens altered by 0.2 M DTT pH 8	Anti-KN Anti-AnWj Anti-Lub	Positive	Reduced intensity or even negative if Ac is weak
Antibodies directed against Antigens destroyed by 0.2 M DTT pH 8	Anti-JMH Anti-KEL2 Anti-KEL4 Anti-Yta	Positive	Negative
Antibodies directed against Antigens not altered by 0.2 M DTT pH 8	Anti-D	Positive	Positive

#### Precautions for use






The DTT in Phosphate Buffer solution is deemed less harmful than DTT before reconstitution; however, it can cause skin burns or eye damage and should therefore always be handled with the usual precautions. If in doubt, or if skin or eye irritation persists, seek medical advice. In case of contact with the eyes, rinse thoroughly with water, keeping the eyelids open. In case of contact with skin or hair, remove contaminated clothing and rinse with water. If swallowed, rinse mouth thoroughly with water (if the person is conscious). Do not induce vomiting. Hospitalize.

Waste disposal must be carried out in accordance with the legislation in force. In the event of accidental spillage, ventilate the area, avoid contact with skin or eyes, do not breathe vapours. Dilute the spilled product thoroughly with water and prevent contamination of the soil and water. Absorb the spilled product with an inert absorbent material (sand, vermiculite, etc.). Rinse the area thoroughly with water and treat the contaminated water in accordance with the regulations in force.

#### Bibliography

- 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

#### Symbols used:

 REF	Catalogue reference	 LOT	Batch number		Use by		Temperature limits
	Manufacturer						

For technical assistance, information requests or complaints, please contact us at:

Tel: **06.62.99.46.76**

E-mail: [efs.reactifs.hotline@efs.sante.fr](mailto:efs.reactifs.hotline@efs.sante.fr)

UPR/PUL/FAB/DF/FI/147

Version : 3 - 26/05/2026