

Kit RAL Kleihauer-Betke staining

RÉF. 361000-0000

Fixation et coloration différentielle pour la détection des hématies fœtales



IFU064A

Produit destiné à un usage strictement professionnel.

Veillez lire attentivement l'ensemble de ces informations avant toute utilisation de ce dispositif.

Le contenu de la notice peut changer. Assurez-vous que vous possédez la dernière version disponible sur my.ral-diagnostics.fr.

Table des matières

Utilisation prévue.....	1
Principe.....	1
Description du kit.....	2
Stockage et conditions d'utilisation	2
Composants actifs	2
Classification des dangers et informations relatives à la sécurité	2
Qualification du personnel	3
Équipement et réactifs spéciaux requis, mais non fournis.....	3
Procédure opératoire.....	4
Résultats escomptés.....	6
Performance	7
Contrôle qualité utilisateur.....	7
Autres produits	7
Recommandations, remarques et dépannage	7

Tableau des symboles et abréviations.....	9
Bibliographie	9
Suivi des modifications	9
Représentants légaux.....	9

Utilisation prévue

Le Kit RAL Kleihauer-Betke staining est destiné à être utilisée pour la fixation et coloration différentielle pour la détection des hématies fœtales avant un examen au microscope.

CellaVision RAL Diagnostics recommande, le cas échéant, d'utiliser les produits CellaVision RAL Diagnostics associés et ne saurait garantir les résultats escomptés en association avec d'autres marques de produits.

Principe

Le Kit RAL Kleihauer-Betke staining repose sur la méthode cytochimique identifiée par Kleihauer et Betke permettant une coloration différentielle des hématies selon le type d'hémoglobine qu'elles contiennent.

Le Kit RAL Kleihauer-Betke staining a été développée pour distinguer les hématies fœtales contenant de l'hémoglobine fœtale des hématies adultes contenant principalement de l'hémoglobine adulte. La distinction repose sur une résistance plus importante à l'élution en milieu acide des hématies fœtales par rapport à celles des adultes. Les hématies fœtales seront colorées en rose réfringent tandis que les hématies adultes apparaîtront vidées de leur contenu cellulaire.

Le Kit RAL Kleihauer-Betke staining permet d'évaluer le taux d'hématies fœtales dans le sang de la mère et de détecter le phénomène d'allo-immunisation conduisant à des complications cliniques.

Description du kit

RAL Kleihauer-Betke Fixative

Solution limpide incolore

RÉF. 313000-1000 1 X 1 L

RAL Kleihauer-Betke Eluting Solution

Solution limpide incolore

RÉF. 313010-1000 1 X 1 L

RAL Kleihauer-Betke Stain

Solution limpide rouge violacé

RÉF. 313030-1000 1 X 1 L

RAL Kleihauer-Betke Counterstain

Solution limpide rose clair

RÉF. 313020-1000 1 X 1 L

Pour un lot spécifique, se reporter au certificat d'analyse correspondant disponible sur my.ral-diagnostics.fr.

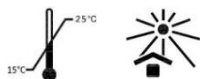
Stockage et conditions d'utilisation

Stockage et température d'utilisation : 15-25 °C.

Stockage et conditions d'utilisation : à l'abri de la lumière et des sources de chaleur.

Durée de conservation du flacon avant ouverture : se référer à la date de péremption figurant sur l'étiquette.

Durée de conservation du flacon après ouverture : se référer à la date de péremption figurant sur l'étiquette et, en présence du symbole « Durée de vie après ouverture », en tenir compte également.



Composants actifs

RAL Kleihauer-Betke Fixative

Ethanol absolu - CAS – 64-17-5: 50-80%

RAL Kleihauer-Betke Eluting Solution

Ethanol absolu- CAS – 64-17-5: 50-80%

RAL Kleihauer-Betke Stain

Hematoxylin pure – CAS- 517-28-2: <0.5%

RAL Kleihauer-Betke Counterstain

Phloxine B – CAS – 18472-87-2:< 0.5%

Classification des dangers et informations relatives à la sécurité

RAL Kleihauer-Betke Fixative

Danger:

H225 - Liquide et vapeurs très inflammables.

P210 - Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.

P240 - Mise à la terre et liaison équipotentielle du récipient et du matériel de réception.

P280 - Porter des gants de protection, des vêtements de protection, un équipement de protection des yeux.

P303+P361+P353 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) :

Enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau.



RAL Kleihauer-Betke Eluting Solution

Attention:

H226 - Liquide et vapeurs inflammables.

P210 - Tenir à l'écart des flammes nues, des étincelles, des surfaces chaudes, de la chaleur. Ne pas fumer.

P240 - Mise à la terre/liaison équipotentielle du récipient et du matériel de réception.

P280 - Porter des gants de protection, des vêtements de protection, un équipement de protection des yeux/du visage.

P303+P361+P353 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux): Enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/Se doucher.

**RAL Kleihauer-Betke Stain**

Danger :

H226 - Liquide et vapeurs inflammables.

H302 - Nocif en cas d'ingestion.

H318 - Provoque de graves lésions des yeux.

P210 - Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.

P264 - Se laver les mains, les avant-bras et le visage soigneusement après manipulation.

P270 - Ne pas manger, boire ou fumer en manipulant ce produit.

P280 - Porter des gants de protection, des vêtements de protection, un équipement de protection des yeux/du visage.

P301+P312 - EN CAS D'INGESTION : Appeler un CENTRE ANTIPOISON, un médecin en cas de malaise.

P303+P361+P353 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : Enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau.

P305+P351+P338 - EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

**RAL Kleihauer-Betke Counterstain**

Non applicable

Qualification du personnel

Tous les échantillons et produits doivent être manipulés par du personnel qualifié et habilité, protégé par une protection individuelle ou collective, selon les directives nationales en vigueur dans les laboratoires. Le personnel doit également prendre connaissance de la classification des matières dangereuses indiquées sur l'étiquetage du produit et fiche de données de sécurité (disponibles sur my.ral-diagnostics.fr).

La procédure de diagnostic est strictement réservée au personnel qualifié et habilité, conformément aux procédures en vigueur au sein du laboratoire.

Équipement et réactifs spéciaux requis, mais non fournis

Lames de microscope, bacs de coloration, support de coloration.

Cet équipement peut être différent en fonction du protocole. Veuillez-vous référer au protocole envisagé (voir la section Procédure opératoire) afin de vous assurer que vous disposez du nécessaire pour réaliser les analyses.

CONT	Acide acétique 90% ; Ethylène-glycol ; Sulfate d'aluminium hydrate
-------------	--

Procédure opératoire

L'équipement utilisé pour le traitement des échantillons doit être conforme aux instructions d'utilisation du fournisseur.

Préparation des échantillons

Traiter les échantillons conformément aux procédures en vigueur dans le laboratoire et exigées par les autorités nationales compétentes.

Les tubes d'échantillons de collecte avec les anticoagulants EDTA et Citrate de sodium sont compatibles pour l'analyse.

Pour des résultats optimaux, conserver les échantillons entre 2 et 8 °C pendant 72 heures maximum avant le test.

Frottis sanguin manuel :

Homogénéiser le tube par retournement lents et installer un dispositif de prélèvement du sang.

1. Retourner le tube et presser délicatement le dispositif de prélèvement sur une lame pour y déposer une petite goutte de sang à proximité de la zone de marquage de la lame.
2. Utiliser une seconde lame d'étalement et la placer 25-45° devant l'échantillon et reculer la lame vers l'échantillon.
3. Le sang s'étale par capillarité sur le long de la lame d'étalement.
4. Pousser la lame d'étalement d'un mouvement régulier et franc de manière à étaler le sang en une fine pellicule sur la lame.

Un frottis de bonne qualité présente une diminution progressive de l'épaisseur. Laissez le frottis sécher à l'air libre pendant au moins 5 minutes avant de le fixer ou de le colorer.

Note :

Une analyse optimale nécessite un frottis sanguin le plus fin possible afin d'optimiser la zone de lecture.

Si vous ne disposez pas d'un dispositif de prélèvement du sang, ouvrez le tube et déposez une goutte de sang à l'aide d'une pipette.

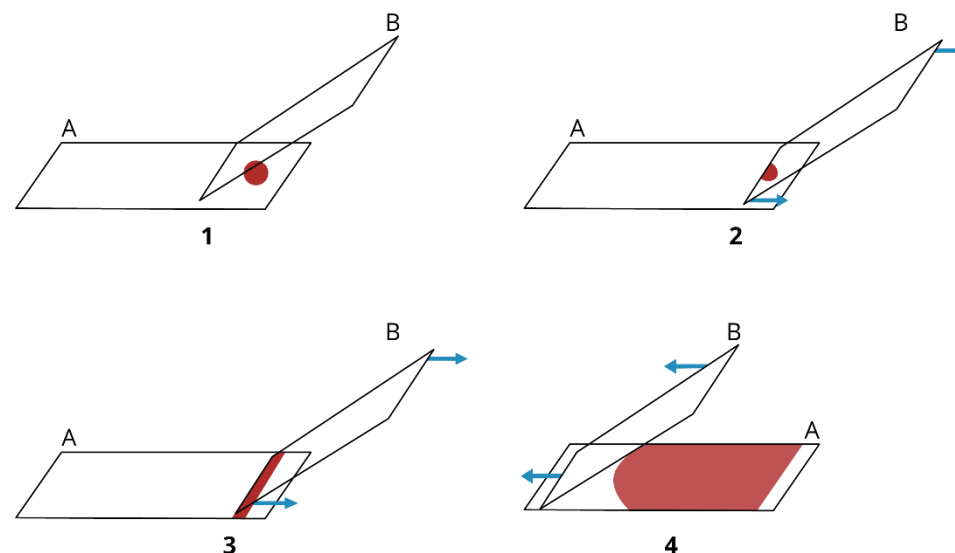


Figure 1. Représentation schématique de la réalisation d'un frottis sanguin

A & B : Lames, 1 – 4 : étapes 1 à 4

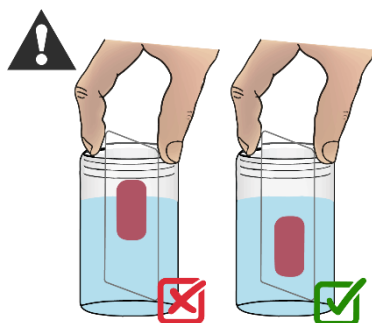
Préparation des réactifs et instruments

Aucune préparation n'est requise. Les solutions sont prêtes à l'emploi. Transférer les solutions dans les bacs de coloration numérotés comme indiqué dans les protocoles ci-dessous.

Le liquide de rinçage pour la coloration peut-être de l'eau du robinet, de l'eau déminéralisée ou de l'eau déionisée.

Protocoles

Les étapes de coloration des protocoles indiqués ci-dessous consistent à couvrir de manière successive les lames avec les différents réactifs de coloration ou à tremper les lames dans les différents bains de coloration. Veuillez-vous référer au titre pour savoir dans quel cas vous vous trouvez. Pour la méthode par recouvrement, placez la lame sur un support avec un frottis fixé sur le dessus. Le temps de traitement prend uniquement en compte le temps de trempage dans les réactifs.



NB: Remplissez chaque bac avec le réactif approprié en volume suffisant pour couvrir les frottis. Veiller à couvrir l'ensemble de l'échantillon lors de l'immersion de la lame.

Protocole pour les échantillons sanguin- Méthode de coloration manuelle par bain - Analyse manuelle au microscope

Temps de traitement [hh:mm:ss] : 00:13: 00

Étapes	Réactifs	Temps [mm:ss]	Indications	Renouvellement des réactifs
Fixer	Fixative	05: 00	Sans agitation	Toutes les 50 lames**ou 1X semaine
Sécher	NA	05: 00	Sécher les lames à la verticale, avec l'étiquette vers le bas.	NA

Colorer	Eluting Solution	01: 00	Sans agitation	Toutes les 50 lames**ou 1X semaine
Rincer	Liquide de rinçage*	00: 30	Agiter lentement dans le bain, 5 à 10 x à la fin du compte à rebours	A chaque cycle de coloration
Colorer	Stain	00: 10	Sans agitation	Toutes les 50 lames**ou 1X semaine
Rincer	Liquide de rinçage*	00: 10	Agiter continuellement dans le bain durant le compte à rebours	A chaque cycle de coloration
Contre-Colorer	Counterstain	01: 00	Sans agitation	Toutes les 50 lames**ou 1X semaine
Rincer	Liquide de rinçage*	00: 10	Agiter continuellement dans le bain durant le compte à rebours	A chaque cycle de coloration
Sécher	NA	≥03: 00	Sécher les lames à la verticale, avec l'étiquette vers le bas.	NA

* Le liquide de rinçage pour la coloration peut-être de l'eau du robinet, de l'eau déminéralisée ou de l'eau déionisée.

** Pour un bain de 100 ml de réactif.

Résultats escomptés

Hématies fœtales (1): rose réfringent

Hématies adultes (2): apparaissent vidées de leur contenu cellulaire.

Membrane des hématies adultes (2): rose clair

F-Cells (3): population hétérogène d'hématies allant du rose pâle au rose foncé. Dégradé de couleur rose du centre à la membrane (halo non coloré près de la membrane)

Noyau des globules blancs (4): violet

Cytoplasme des globules blancs (4): rose clair

Noyau éosinophile des granulocytes: violet

Granulations des granulocytes éosinophiles: apparaissent sous forme de granules vides

Plaquettes (5): rose clair

Si les résultats observés diffèrent de ceux escomptés, contacter le service technique de CellaVision RAL Diagnostics par l'intermédiaire de votre fournisseur habituel pour recevoir une assistance.

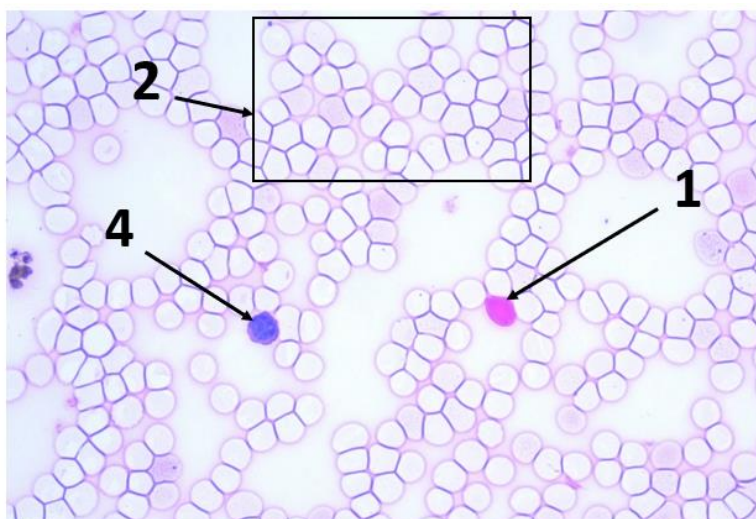


Figure 2. Frottis d'un patient positif au test de Kleihauer observé au microscope optique obj. 40X

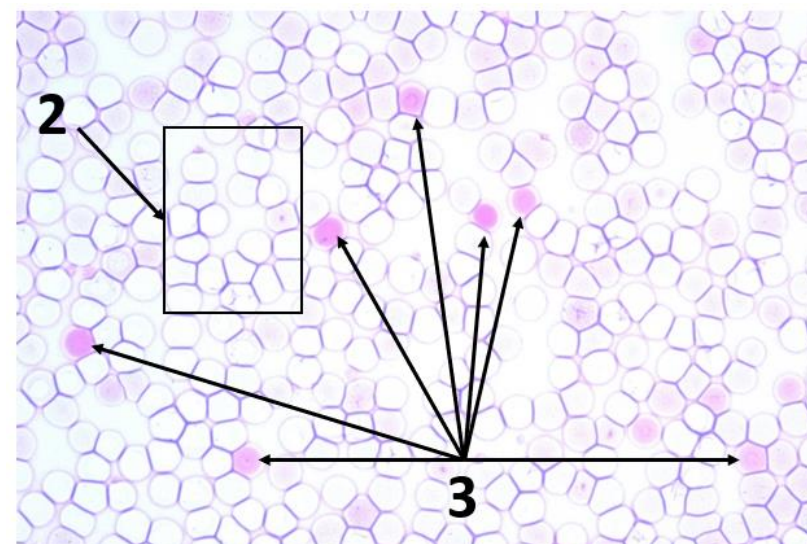


Figure 3. Frottis d'un patient présentant des F-Cells observé au microscope optique obj. 40X

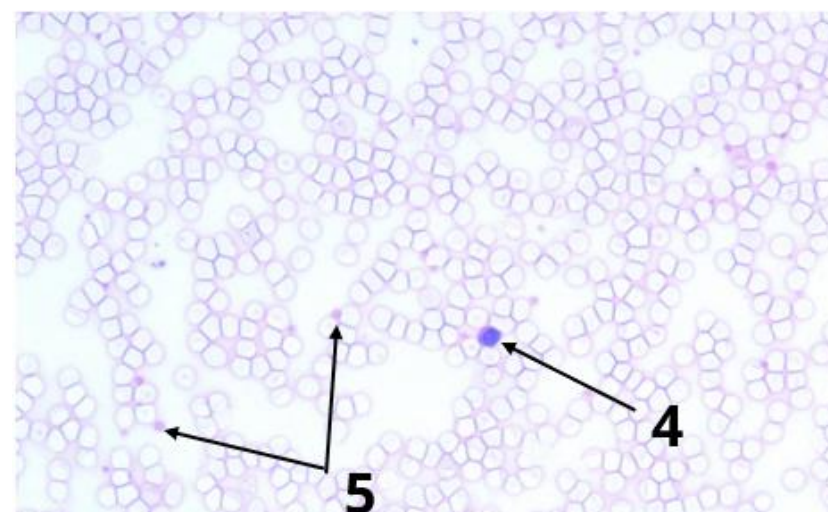


Figure 4. Frottis d'un patient négatif au test de Kleihauer observé au microscope optique obj. 20X

Performance

Ce dispositif médical est conforme à l'état de l'art. Ses performances analytiques, sa validité scientifique et sa pertinence médicale sont évaluées lors de l'examen du marquage CE.

Afin de garantir les performances du produit, utiliser un équipement de laboratoire propre et sec.

Il incombe au laboratoire de notifier au fabricant et à l'autorité compétente au niveau régional/national tout incident grave lié à l'utilisation de ce dispositif médical.

Contrôle qualité utilisateur

Les utilisateurs ont la responsabilité de déterminer les modes opératoires appropriés de contrôle qualité dans leur laboratoire et de se conformer aux réglementations de laboratoire applicables.

CellaVision RAL Diagnostics recommande de colorer un frottis sanguin fraîchement réalisé d'échantillons positifs et négatifs.

Pour un échantillon positif, utilisez du sang de contrôle qualité acheté ou préparé. Préparez deux tubes de sang de contrôle qualité : un tube de sang légèrement positif (mélange de 1/100 de sang de cordon compatible ABO à 99/100 de sang adulte) et un autre de sang hautement positif (mélange de 1/10 de sang de cordon compatible ABO sang à 9/10 du sang adulte), utiliser de préférence du sang masculin pour le sang adulte.

Pour un échantillon négatif, utilisez n'importe quel échantillon frais ne contenant pas d'hémoglobine foetale, de préférence du sang masculin.

Effectuer un contrôle qualité à chaque cycle de coloration. Les lames colorées à des fins de contrôle qualité doivent être vérifiées pour s'assurer qu'elles sont satisfaisantes pour le test prévu (correctement colorées et exemptes de précipité).

Les résultats de coloration pour chaque type cellulaire doivent également être conformes aux résultats escomptés.

Ces procédures de contrôle de la qualité ne doivent être effectuées que par du personnel qualifié.

Autres produits

Pour toute information, veuillez contacter votre fournisseur habituel.

Recommandations, remarques et dépannage

Aspect du produit

Si l'aspect du produit ne correspond pas à la description ci-dessus, ne pas l'utiliser et contacter le service technique de CellaVision RAL Diagnostics par l'intermédiaire de votre fournisseur habituel pour obtenir de l'aide.

Remarques sur les procédures

Afin de prévenir la dégradation du produit, veuillez respecter les recommandations de stockage et de manipulation indiquées dans cette notice.

CellaVision RAL Diagnostic recommande de fermer les bacs de coloration à la fin des cycles de coloration pour éviter l'évaporation des réactifs.

Pour obtenir des résultats optimaux, la dilution du sang avec du sérum physiologique est déconseillée.

Le Kit RAL Kleihauer-Betke staining permet de traiter jusqu'à 500 lames. En fonction du support de coloration, il est possible de traiter jusqu'à 20 lames simultanément.

Stabilité du produit

Chaque produit CellaVision RAL Diagnostics est utilisable jusqu'à la date de péremption figurant sur le produit, dans son emballage d'origine et hermétiquement scellé.

Stabilité de la coloration

La qualité et la reproductibilité de la coloration dépendent de l'utilisation correcte des produits.

Instructions pour le nettoyage et l'élimination des déchets

Traiter tous les échantillons biologiques, effluents et consommables usagés comme potentiellement dangereux.



Pour éviter tout risque, appliquer les instructions suivantes : éliminer les échantillons, effluents et consommables conformément aux normes du laboratoire ainsi qu'aux normes et réglementations nationales et locales en vigueur.

L'enlèvement et le traitement des déchets chimiques et biologiques doivent être effectués par des entreprises spécialisées et agréées.

Tableau des symboles et abréviations

Selon le produit, vous pouvez trouver les symboles suivants sur le dispositif ou le matériel d'emballage.

Pictogrammes GHS	Interprétation	Symboles	Interprétation
	Explosif		Code du lot
	Inflammable		Numéro de série
	Combustible		Référence du catalogue
	Gaz sous pression		Date de fabrication
	Corrosif		Utiliser jusqu'à
	Toxique		Identification unique du dispositif
	Nocif ou irritant		Fabriquant
	Danger pour la santé		Importateur
	Danger pour l'environnement		Entité distribuant le dispositif médical dans la région concernée
	Etiquetage non applicable		Dispositif marqué CE
			Dispositif médical de diagnostic in vitro
			Représentant agréé de la communauté européenne
			Représentant agréé en Suisse
			Conformes aux directives britanniques
			Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé
			Conserver à l'abri de la lumière. Craint la chaleur
			Limite de température : 15-25°C
			Limite de température : 15-30°C
			Conserver à l'abri de l'humidité
			Boîte : manutention vers le haut
			Fragile
			Stérilisé par irradiation
			Système de barrière stérile unique avec emballage de protection externe
			Combinaison de protection stérile et stérilisée par radiation
			Ne pas réutiliser
			Ne pas stériliser de nouveau
			Contenu suffisant pour n tests
			Matière dangereuse contenue
			Consulter les instructions d'utilisation
			Utilisation
			Après ouverture utiliser dans les XX mois
			Ne pas utiliser le produit en conjonction avec une machine de coloration automatique
			Dispositif médical contenant des substances potentiellement cancérigènes, mutagènes ou reprotoxiques (CMR), ou des substances classées comme perturbateurs endocriniens

Bibliographie

- AUSTIN E., BATES S., DE SILVA M., HOWARTH D., LUBENKO A., ROWLEY M., SCOTT M., THOMAS E., WHITE J., WILLIMAS M.** *British Committee for Standards in Haematology: guidelines for the estimation of fetomaternal haemorrhage* 2011.
- FLOREA D., BACAREA V.** *Development of the acid elution method (Kleihauer test) in the assessment of fetomaternal hemorrhage, Revista Română de Medicină de Laborator* 2009, 15, 2.
- HUGUET-JACQUOT S., TOLY-NDOUR C., DELABY H., BEAUD J., MAILLOUX A.** *Test de Kleihauer : recommandations du Centre National de Référence en Hémobiologie Périnatale Revue de Biologie Médicale* 2022 ; 365.
- KLEIHAUER, E., BRAUN, H. and BETKE, K.,** *Demonstration of Fetal Hemoglobin in Erythrocytes of a Blood Smear, Wiener klinische Wochenschrift* 1957, 35, 637-638.

Suivi des modifications

Date	Version	Modifications
01/2024	IFU064A	Création

Représentants légaux

Pays	Adresse
United Kingdom (UK-REP)	QAvis UK Ltd, company N° SC679796, 56-66 Frederick Street Edinburgh, EH21LS, United Kingdom
Switzerland (CH-REP)	MedEnvoy Switzerland, Gotthardstrasse 28, 6302 Zug Switzerland