



# MDmulticard® (Medion Grifols Diagnostics)

## Un réactif de groupage sanguin tout-terrain

*Clamart 11-12 octobre 2018*

*Médecin Chef des Services Benoît Clavier*

*TACT – Centre de Transfusion Sanguine des Armées*



# PLAN : de la méthode standard au réactif tout-terrain

- Présentation du dispositif
- Méthode standard
- 2009 : Evaluation de la robustesse 18 mois après péremption.
- 2011 : Enquête de faisabilité à KAIA (laboratoire de Role 3 – Kaboul International Airport – Afghanistan.
- 2015 : Mise au point d'une technique simplifiée
- 2016 - 2018 : Evaluation de la performance et fiabilité de la technique simplifiée
- Etude et expérience en environnement extrême :
  - *2016 : Etude de faisabilité opérationnelle en zone chaude – MADAMA - Role 2*
  - *2014 : Prise en charge des patients EBOLA à HIA Bégin*
- Conclusion





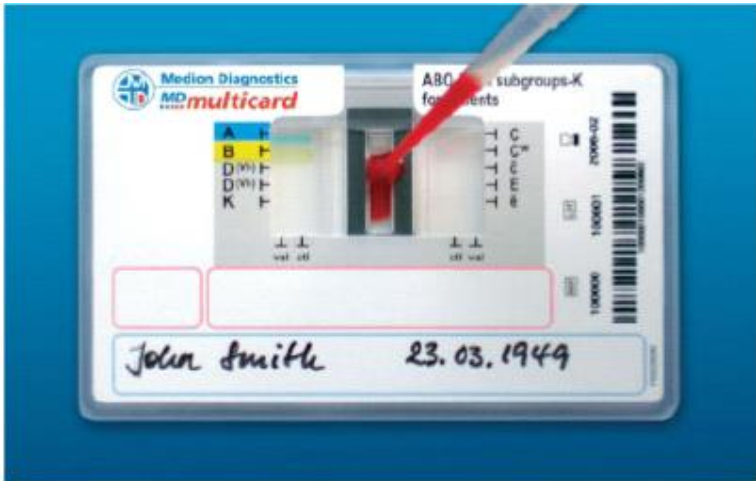
# PRÉSENTATION DU DISPOSITIF

- Test multiparamétrique permet le typage simultané ABO-RH1 et phénotypage Rh-KEL1
- Principe de chromatographie en flux latéral
- Fournit un résultat final stable pendant  $\leq 72\text{h}$  (+2 à +8°C). En pratique dans notre expérience, peut atteindre plusieurs années à température ambiante.
- Echantillon : sang total + anti-coagulant (ou sang total natif ou GR sédimentés)

## • Matériel

- Carte :
  - format carte de crédit
  - Une fenêtre centrale de dépôt de l'échantillon séparant 2 zones imprégnées par les anticorps monoclonaux en lignes parallèles de détection des antigènes
- pipettes x 2
- tube à hémolyse x 1
- Diluent F (Medion Grifols)

# METHODE STANDARD (1)



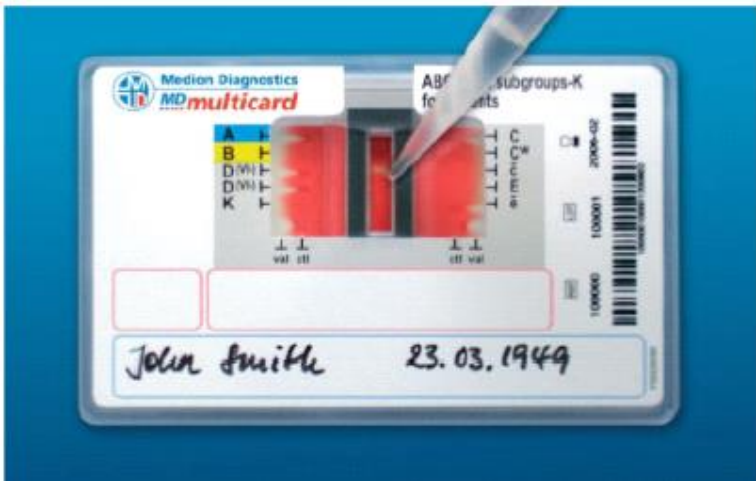
**100 $\mu$ l cell suspension**

(Dilution 50 $\mu$ l sang + 200 $\mu$ l diluent F  
= 1 goutte de sang + 5 gouttes de diluent F)



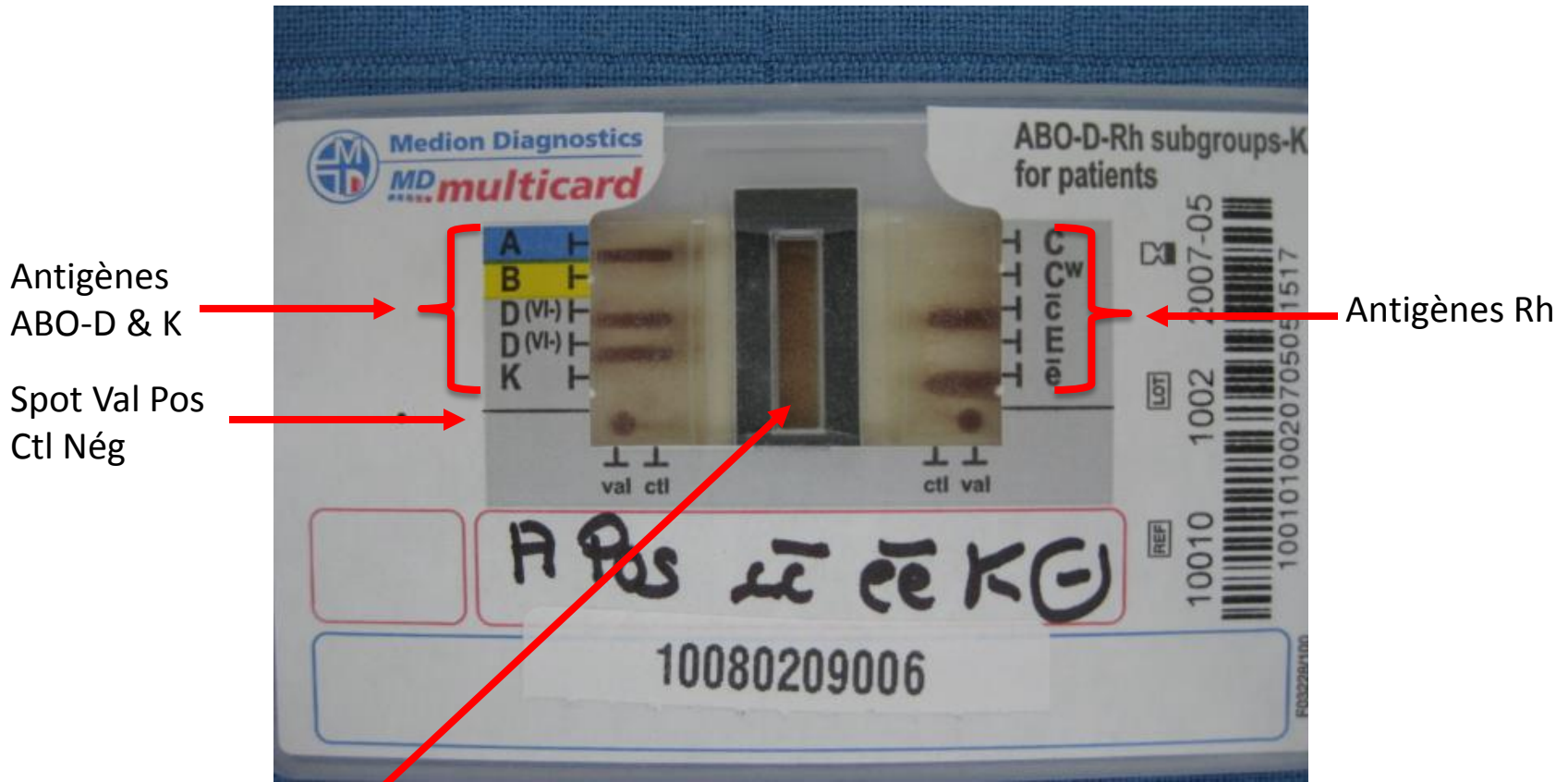
Ajouter au bout de 30 secondes

**300 $\mu$ l diluent F**



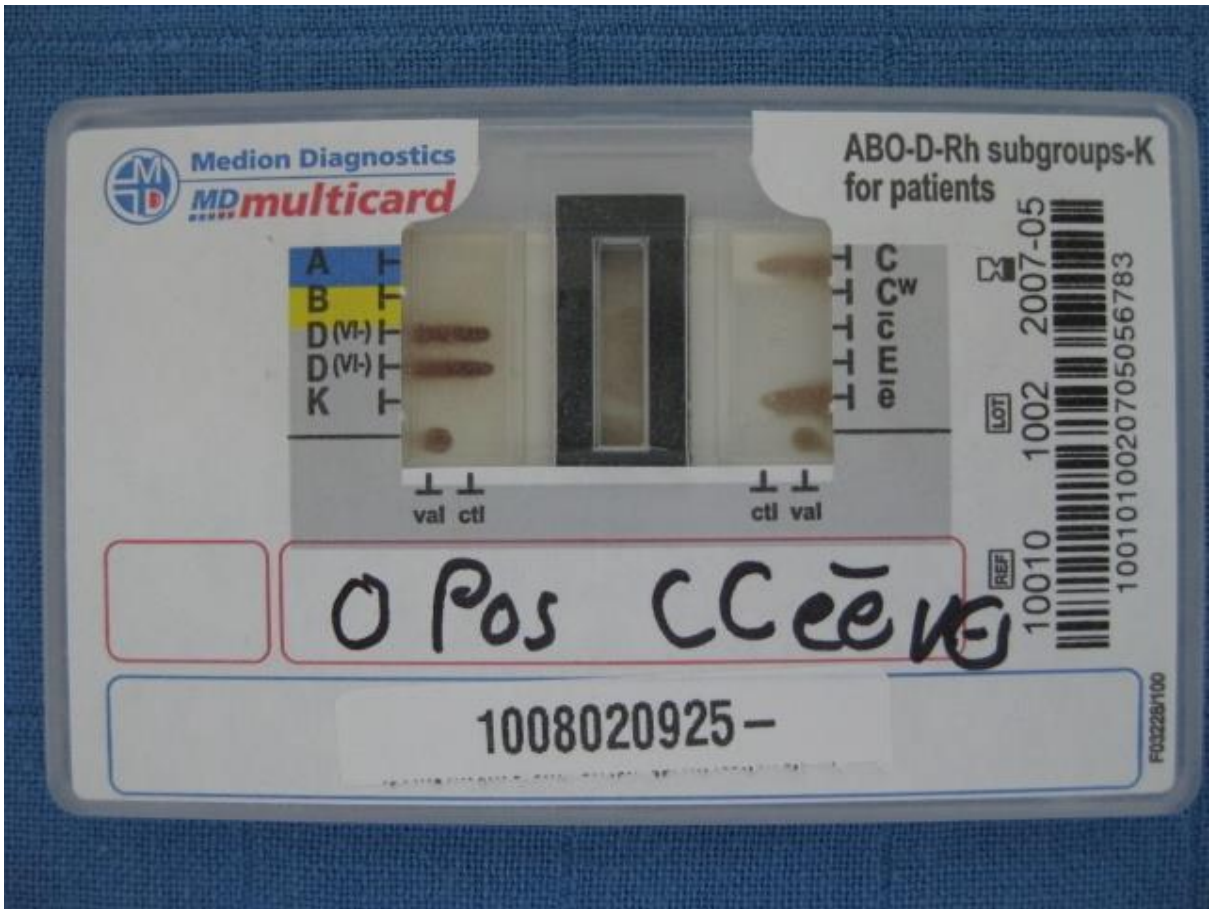
# METHODE STANDARD (2)

Lecture des résultats au bout de **5 minutes**  
*Aligner le spot Val avec la ligne noire*



Zone d'application  
Sang total dilué avec diluent F

# METHODE STANDARD (3)



Vidéo Disponible

# EVALUATION DE LA ROBUSTESSE EN DUREE DE CONSERVATION – SFTS – STRASBOURG 2009 – H. Desudde

**150 échantillons** de donneurs < 4 jours

Groupe A	67
O	64
B	14
AB	5

Réactifs :

- MDmulticard® subgroups-K for patients **périmées depuis 18 mois**
- diluent F en cours de validité

Méthode de référence : Olympus PK 7200 – réactifs Diagast

Discordances testées en technique gel filtration monoclonale Diamed – automate Swing

Résultats : 100 % validés (Val pos., Ctl nég.) **Aucune discordance / méthode de référence**

- 2 Cartes : réaction affaiblie pour le RhD. Les réactions sont non répétable sur les autres supports MDmulticard® non périmée (RH1), gel filtration Diamed (RH1, 4+) et Olympus (RH1)

- 1 carte : bruit de fond répétable sur MDmulticard® non périmé => la durée de conservation n'est pas en cause

Conclusion : MDmulticard® conserve de bonnes performances au-delà de sa date de péremption si les conditions de conservation sont respectées





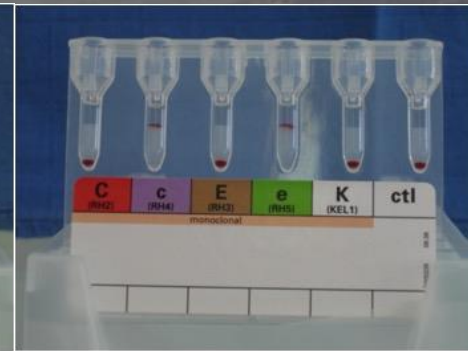
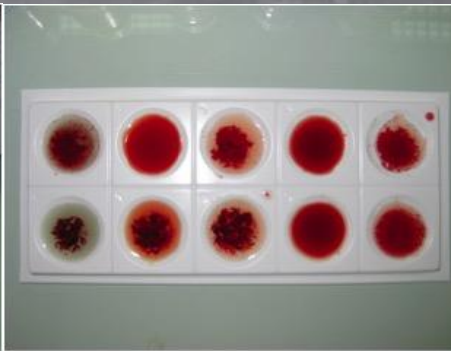
# ENQUETE DE FAISABILITE EN ROLE 3, HMC KABUL INTERNATIONAL AIRPORT, 2011



Laboratoire de KAIA,  
Adjudant-Chef Nopre,  
Novembre 2011

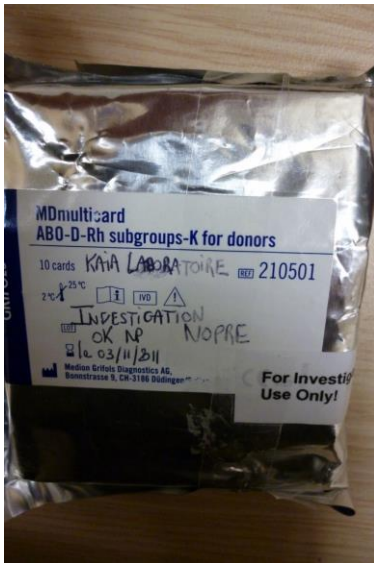


Principe : comparaison de praticabilité MDmulticard® / groupage sur plaque avec réactifs liquides/ gel filtration





# ENQUETE DE FAISABILITE EN ROLE 3, HMC KABUL INTERNATIONAL AIRPORT, 2011



ME CLAVIER, CTE4 4011 41 41 71 41, POJA 420 928 72 41 23/05/2011

FICHE DE RESULTATS

Nom de la personne	D	Donneur	Quantité de groupes ABO	Qualité du matériel	Commentaires
groupe	+	de sang (ml)	groupe (ml)	à manipuler	
		à éléver		Tub. Mat. Ph.	
		sur base		BOCCE, autre	
				ou	
B	24/10/11	13H50	B	Positif	Doubt for C/B on 1st gel read
B	24/10/11	13H55	B	Positif	/AS
B	24/10/11	13H20	B	Positif	/AS
D	24/10/11	13H40	B	Positif	/AS
D	24/10/11	13H24	B	Positif	/AS
D	24/10/11	13H27	B	Positif	/AS
B	03/10/11	13H05	B	Positif	Doubt for C/B on 1st gel read
B	03/10/11	13H20	A	Positif	/AS
B	03/10/11	13H05	A	Positif	/AS

CTE4, 1 rue de l'Université, Paris, France, BP 401, 92141 CLAMART Cedex



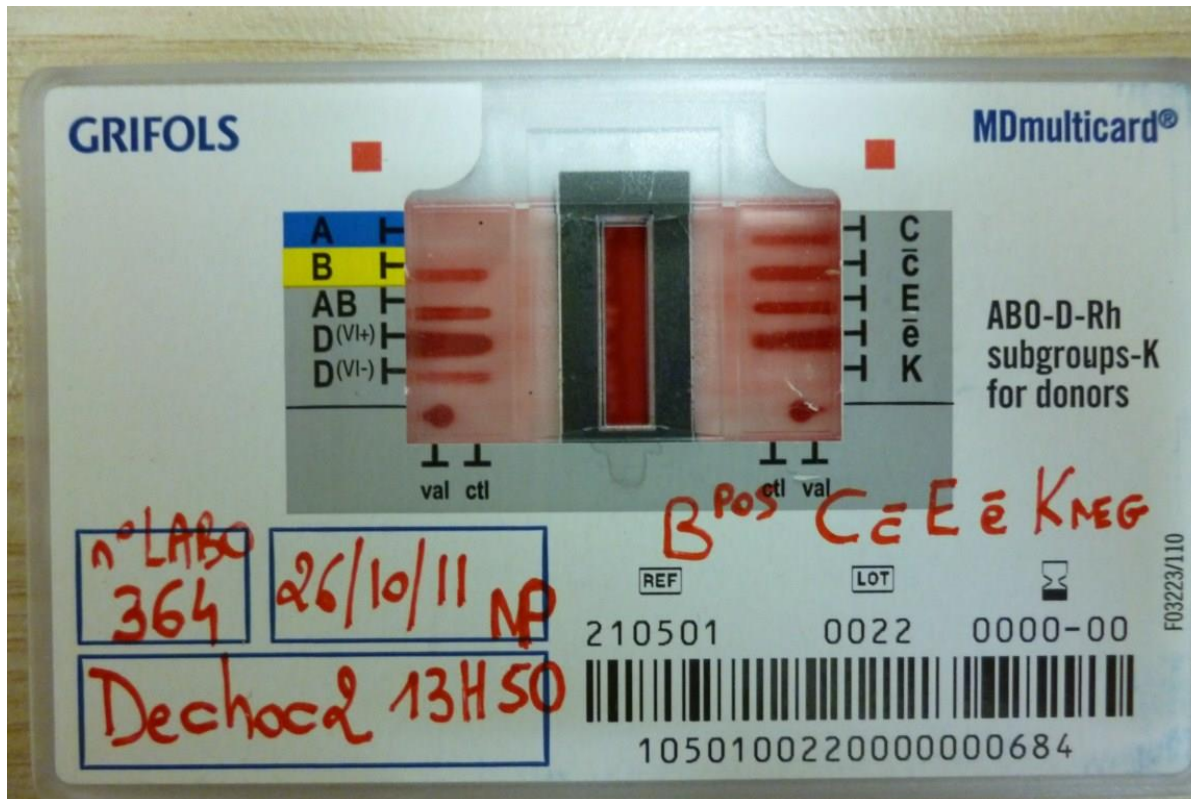
## Compte-rendu de l'enquête

- Avantages :
  - Rapidité : MDmulticard® 6 min / gel filtration 25 min
  - Nombre de manipulations réduites avec MDmulticard® /plaque – réactifs liquides
  - Résultats lisibles ≥ 72h : la MDmulticard® peut accompagner le blessé depuis le théâtre d'opération jusqu'au retour en métropole
- Limites : absence d'image spécifique des double-populations
- Exigence de mise en œuvre :
  - Formation initiale
  - Prédilution => difficulté pour un opérateur non technicien de laboratoire



# ENQUETE DE FAISABILITE EN ROLE 3, HMC KABUL INTERNATIONAL AIRPORT, 2011

*Erreur fortuite de méthodologie : oubli de pré-dilution  
(2 gtes de sang total + 6 gtes diluent F)*



Proposition  
d'une  
méthode  
simplifiée



# MISE AU POINT ET ÉVALUATION DE LA ROBUSTESSE DE LA MÉTHODE SIMPLIFIÉE

## – SFTS – MONTPELLIER 2015 – H. Desudde

- **Objet :**

- mettre au point une méthode simplifiée sans dilution préalable
- vérifier sa robustesse sur échantillons hémodilués et hémococoncentrés

- **Protocole de mise au point :**

- carte témoin selon méthode standard
- méthode simplifiée : distribuer X gouttes de diluent F dans la fenêtre de la carte, distribuer 1 goutte de sang total dans la fenêtre de la carte, après 30 secondes distribuer 6 gouttes de diluent F, lire après 5 min.
- Trois cartes sont réalisées selon la méthode simplifiée en faisant varier le nombre de gouttes de diluent F (X) de 2 à 4.



# MÉTHODE SIMPLIFIÉE : RESULTATS

N° Lot Péremption  
MDmulticard 1012 01/2011  
Diluant F 5006.1A 02/2012

Echantillon testé : Hématocrite 40,4 %  
Hémoglobine 13,7 g/dl



Carte témoin en méthode standard

Vidéo disponible

Quel que soit le nombre de gouttes de diluant F distribués dans la fenêtre avant le dépôt de la goutte de sang total, le résultat est aussi lisible que sur la carte témoin.

Choix : 2 gouttes de diluant lors du dépôt initial pour la méthode simplifiée.



Distribution de 2 gouttes de diluant F  
+1 goutte de sang total  
dans la fenêtre de la MDmulticard



Distribution de 3 gouttes de diluant F  
+1 goutte de sang total  
dans la fenêtre de la MDmulticard



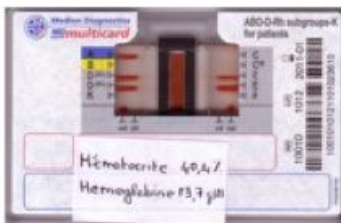
Distribution de 4 gouttes de diluant F  
+1 goutte de sang total  
dans la fenêtre de la MDmulticard



# VERIFICATION DE LA ROBUSTESSE SUR ECHANTILLONS HEMODILUES – Méthode standard

Médmulticard N°Lot Péremption  
 Diluant F 1012 01/2011  
 Voluven® 5006.1A 02/2012  
 13DIL061 09/2012

Echantillons de donneurs < 4j, A RH1, dilués en soluté de remplissage Voluven®



Carte Témoin : échantillon natif  
 Hématocrite 40,4 %  
 Héoglobine 13,7 g/dl

Echantillons	Témoin : natif	3/4	1/2	1/4	1/8
Hb g/dl	13,7	10,2	7,7	4,2	1,7
Ht %	40,4	30,5	23,3	14,5	5,1



Dilution 3/4  
 Hématocrite 30,5 %  
 Héoglobine 10,2 g/dl



Dilution 1/2  
 Hématocrite 23,3 %  
 Héoglobine 7,7 g/dl



Dilution 1/4  
 Hématocrite 14,5 %  
 Héoglobine 4,2 g/dl



Dilution 1/8  
 Hématocrite 5,1 %  
 Héoglobine 1,7 g/dl

Résultats obtenus en méthode standard :  
 Le résultat devient pâle à partir de la dilution au ¼ : hématocrite (Ht) = 14,5% (Hb=4,2g/dl).  
 Il reste lisible par un biologiste ou un technicien expérimenté.



# VERIFICATION DE LA ROBUSTESSE SUR ECHANTILLONS HEMODILUES – Méthode std / simplifiée

Mdmulticard	N°Lot 1012	Péremption 01/2011
Diluant F	5006.1A	02/2012
Voluven®	13DIL061	09/2012

Echantillon testé :  
Dilution 1/4  
Hématocrite 14,5 %  
Hémoglobine 4,2g/dl

Méthode  
standard



Protocole standard : prédilution dans un tube à hémolyse  
4 gouttes diluant F + 1 goutte de sang total

Distribution de 2 gouttes de sang dilué dans la fenêtre de la MDmulticard

Méthode  
simplifiée



Protocole simplifié : distribution de 2 gouttes de diluant F  
+ 1 goutte de sang total  
dans la fenêtre de la MDmulticard

Échantillon choisi : le plus hémodilué  
encore lisible : Ht = 14,5% (Hb=4,2g/dl)

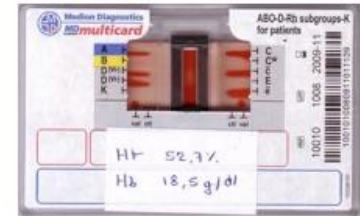
**Le résultat est nettement plus lisible et plus net en méthode simplifiée**



# VERIFICATION DE LA ROBUSTESSE SUR ECHANTILLONS HEMOCONCENTRES – Méthode std / simplifiée

Echantillons	Témoin : natif	Retrait 250µl	Retrait 500µl	Retrait 750µl	Retrait 1000µl
Hb g/dl	16,6	18,5	19,8	21,1	22,5
Ht %	47,3	52,7	56,9	61,3	63,6

**Procédure simplifiée**  
Distribution de 2 gouttes de diluant F  
+ 1 goutte de sang total  
dans la fenêtre de la MDmulticard



**Retrait de 250 µl de plasma**  
Hématocrite 52,7 %  
Hémoglobine 18,5 g/dl



Retrait de 500 µl de plasma



**Retrait de 750 µl de plasma**  
Hématocrite 61,3%  
Hémoglobine 21,1 g/dl

**Hémoconcentration simulée en retirant du plasma du tube primaire de 6ml (EDTA) à raison de 250µl à chaque fois.**

**Les cartes témoins en méthode standard :**

- échantillon le moins hémococoncentré (Hb 16,6g/dl – Ht 47,3%)

- échantillon le plus hémococoncentré (Hb 22,5g/dl – Ht 63,6%)

Mdmulticard N°Lot Péremption  
Diluant F 1008 11/2009  
5006.1A 02/2012

**Procédure simplifiée**  
Distribution de 2 gouttes de diluant F  
+ 1 goutte de sang total  
dans la fenêtre de la MDmulticard

**Cartes témoins selon protocole standard**  
Prédilution dans un tube à hémolyse  
4 gouttes diluant F + 1 goutte de sang total  
Distribution de 2 gouttes de sang dilué dans la fenêtre de la MDmulticard



**Echantillon natif**  
Hématocrite 47,3 %  
Hémoglobine 16,6 g/dl



**Tous les résultats sont lisibles et interprétables dans les 2 méthodes**



**Retrait de 1000 µl de plasma**  
Hématocrite 63,6 %  
Hémoglobine 22,5 g/dl

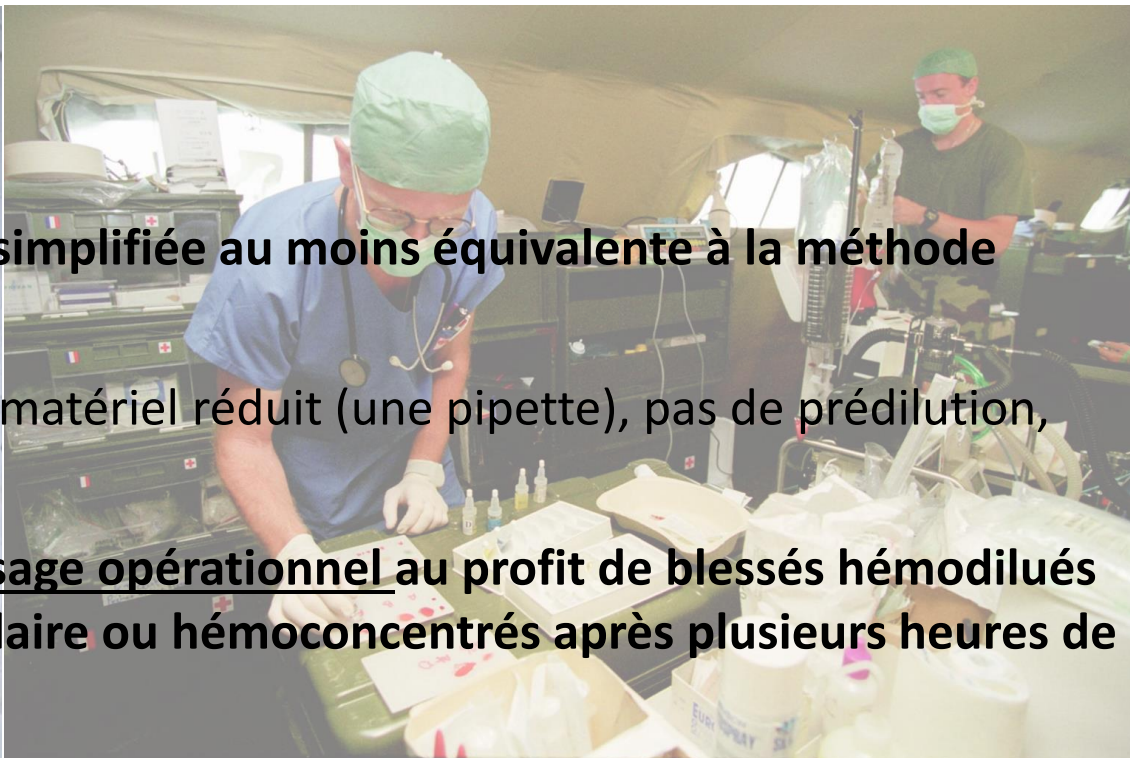
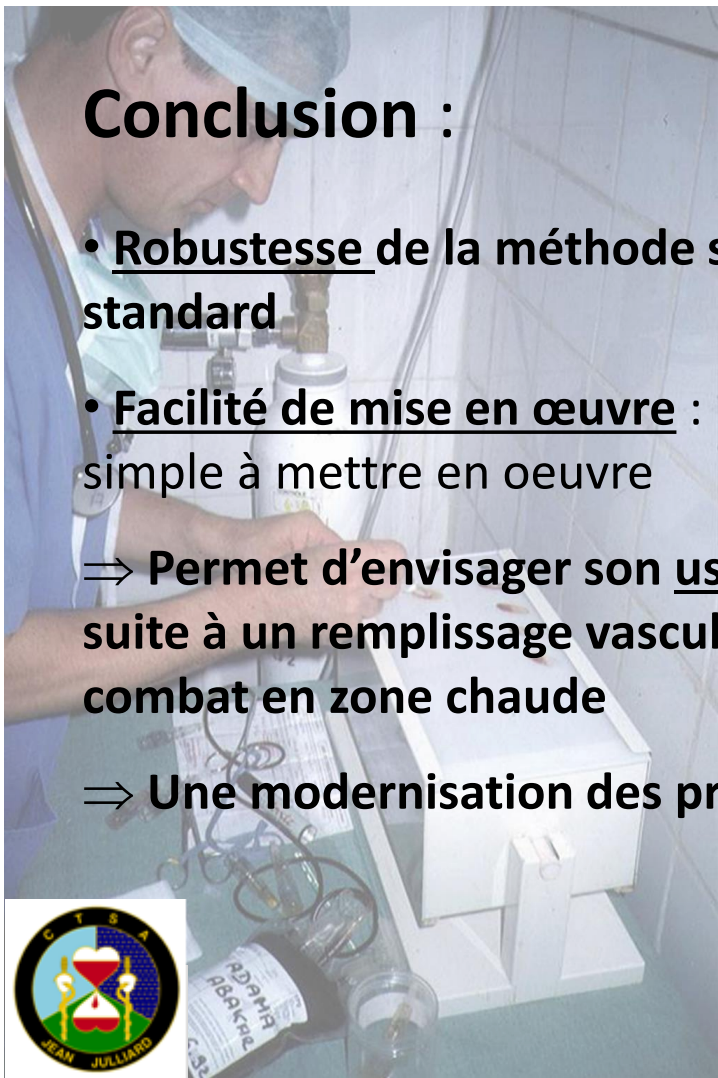


# MISE AU POINT ET ÉVALUATION DE LA ROBUSTESSE DE LA MÉTHODE SIMPLIFIÉE

– SFTS – MONTPELLIER 2015 -

## Conclusion :

- Robustesse de la méthode simplifiée au moins équivalente à la méthode standard
- Facilité de mise en œuvre : matériel réduit (une pipette), pas de prédilution, simple à mettre en oeuvre
  - ⇒ Permet d'envisager son usage opérationnel au profit de blessés hémodilués suite à un remplissage vasculaire ou hémococoncentrés après plusieurs heures de combat en zone chaude
  - ⇒ Une modernisation des pratiques





# EVALUATION DE LA PERFORMANCE ET DE LA FIABILITÉ DE LA MÉTHODE SIMPLIFIÉE sur échantillons natifs, hémodilués et hémococoncentrés

Etude financée par Grifols – Novembre 2015  
Publications : - AABB – Orlando 2016  
- Transfusion 2018; 58; 313-316

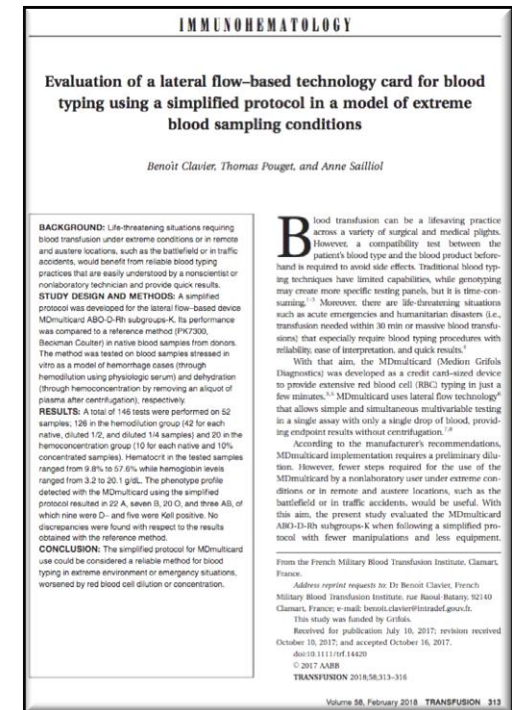
## Contexte :

- Améliorer la prise en charge des blessés en situation extrême : guerre, accident de la voie publique
- Par du personnel non biologiste, non technicien de laboratoire
- Tout en conservant la fiabilité

## Méthode :

- Evaluer la performance de la méthode simplifiée vs méthode de référence PK 7300 Beckman Coulter®, réactifs Diagast;
- Vérifier la fiabilité sur échantillons hémodilués et hémococoncentrés pour reproduire l'état du blessé hémorragique ou celui du combattant hémococoncentré après plusieurs heures de combat en zone chaude.

**Discordances :** MDmulticard® en méthode standard  
ID Diaclon® gel agglutination system (Bio-Rad)



# EVALUATION DE LA PERFORMANCE ET DE LA FIABILITÉ DE LA MÉTHODE SIMPLIFIÉE sur échantillons natifs, hémodilués et hémococoncentrés – N. Dodemand

## Results

### Hemodilution protocol

Group split, 42 samples (of which 7 RH-1)  
 Group A : 18 (out of which 3 RH-1)  
 Group O : 16 (out of which 3 RH-1)  
 Group B : 6 (out of which 1 RH-1)  
 Group AB : 2



Each sample is tested 3 times: native state then diluted 1/2 and then diluted 1/4. Dilutions are performed with physiologic serum.

42 samples	Number of tests performed with simplified method & dilution rate			Total number of tests performed
	Native	1/2	1/4	
	42	42	42	126

### Split of Samples according to hemoglobin rate (Hb)

	Hb average g/dl	Standard deviation g/dl	Hb mini g/dl	Hb maxi g/dl
Native samples	16.3	1.2	13.4	18.9
Samples 1/2 hémodiluted	7.8	0.7	6.1	9.4
Samples 1/4 hemodiluted	3.9	0.3	3.2	4.5

### Hemo-concentration protocol

Group split, 10 samples  
 Group A : 4 (dont 1 RH-1)  
 Group O : 4 (dont 1 RH-1)  
 Group B : 1  
 Group AB : 1



Each sample is tested two times: at native state and then after removing 500µl of plasma.

10 samples	Number of tests performed with simplified method		Total number of tests performed
	Native	Hemo-concentrated	
	10	10	20

### Split of Samples according to hemoglobin rate (Hb)

	Hb average g/dl	Hb mini g/dl	Hb maxi g/dl
Native samples	16.2	13.6	17.7
Hemo-concentrated samples	18.2	15.2	20.1

### Concordance with reference method

146 tests have been performed: - 126 with hemodilution protocol,  
 - 20 with hemo-concentration protocol

No discrepancy has been demonstrated compared to reference method.  
 Three tests required 300 µl additional Diluent F to improve successfully readability.

## Conclusion

### Méthode simplifiée :

- Fiable, rapide, facile à mettre en œuvre;
- Résultats lisibles aussi bien avec du sang hémodilué que du sang hémococoncentré;
- Nombre de manipulations et matériel réduit;
- Mode opératoire compréhensible et facilement reproductible; par un non technicien de laboratoire.

## Perspectives

Confirme l'intérêt en situations extrêmes : théâtres d'opérations, accidents de la voie publique.  
 Au profit de blessés hémorragiques et hémodilués après perfusion de cristaalloïdes ou soldats déshydratés après combat en atmosphère chaude.



# ÉTUDE DE LA FAISABILITÉ OPÉRATIONNELLE EN ZONE CHAUDE – RÔLE 2 – IADE G. Berlier

## CHAÎNE DE SOUTIEN MÉDICAL EN OPÉRATION

### Rôle 1

ASSURER LA SURVIE DU BLESSÉ

### Rôle 2

LES "URGENTES" DU THÉÂTRE

### Rôle 3

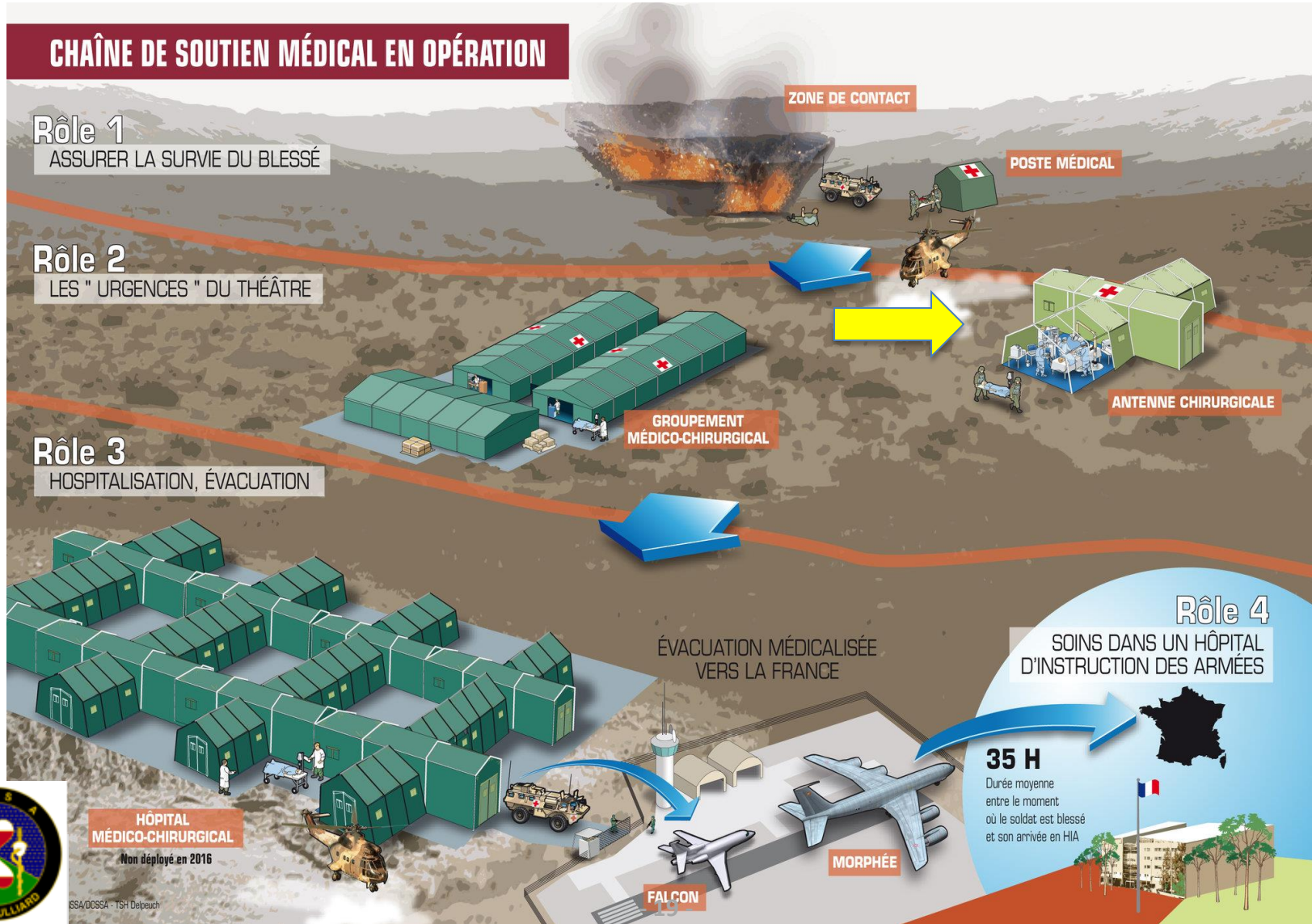
HOSPITALISATION, ÉVACUATION

### Rôle 4

SOINS DANS UN HÔPITAL D'INSTRUCTION DES ARMÉES

**35 H**

Durée moyenne entre le moment où le soldat est blessé et son arrivée en HIA



SSA/DCSCA - TSH Delpeuch





# ÉTUDE DE LA FAISABILITE OPÉRATIONNELLE EN ZONE CHAUDE – ROLE 2



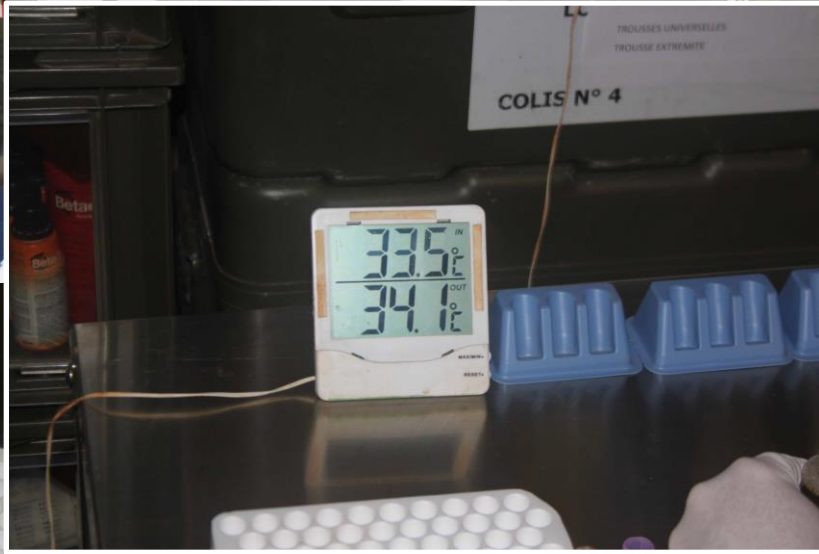


# ÉTUDE DE LA FAISABILITE OPÉRATIONNELLE EN ZONE CHAUDE – ROLE 2

## Méthode comparative

MDmulticard® standard	MDmulticard® simplifiée	vs Références : Réactifs liquides sur plaque (GroupaKit Diagast)	& Résultats sur livret médical
20 échantillons, tests réalisés <72h après le prélèvement. Sous tente, 33-34°C, hygrométrie 15-20%. 40 tests (20 en méthode standard, 20 en méthode simplifiée)			
5 échantillons parmi les 20, tests réalisés entre 72 et 96h après le prélèvement. En extérieur, plein soleil, vers 16h, 31°3, vent de sable, hygrométrie 15-20 %.			
2 cartes sont sorties du blister et laissées en plein soleil pour être testées à la fin. 8 cartes sont laissées dans le blister exposé au soleil et utilisées au fur et à mesure des tests.			







# ÉTUDE DE LA FAISABILITE OPÉRATIONNELLE EN ZONE CHAUDE – ROLE 2

## Résultats

- 100 % conformes aux résultats attendus (réactifs liquides sur plaque et livret médical)
- Méthode standard : lecture plus facile qu'en méthode simplifiée
- Méthode simplifiée : 3 cartes présentent un bruit de fond non spécifique qui disparaît après addition de 6 gouttes de diluent F selon les recommandations du fournisseur.

## Avantages de la MDmulticard®

- Temps de formation aux 2 méthodes = 1h
- Praticabilité : confort d'utilisation vs réactifs liquides en plaque, espace nécessaire réduit, absence de centrifugation
- Rapidité : 10 déterminations en méthode standard en 20 min avec lecture différée => permet la gestion d'un afflux massif de blessés.
- Fournit un groupe complet ABO-D et phénotype Rh Kell
- Relecture  $\leq 72h$  => Lecture à distance au retour en métropole après MEDEVAC



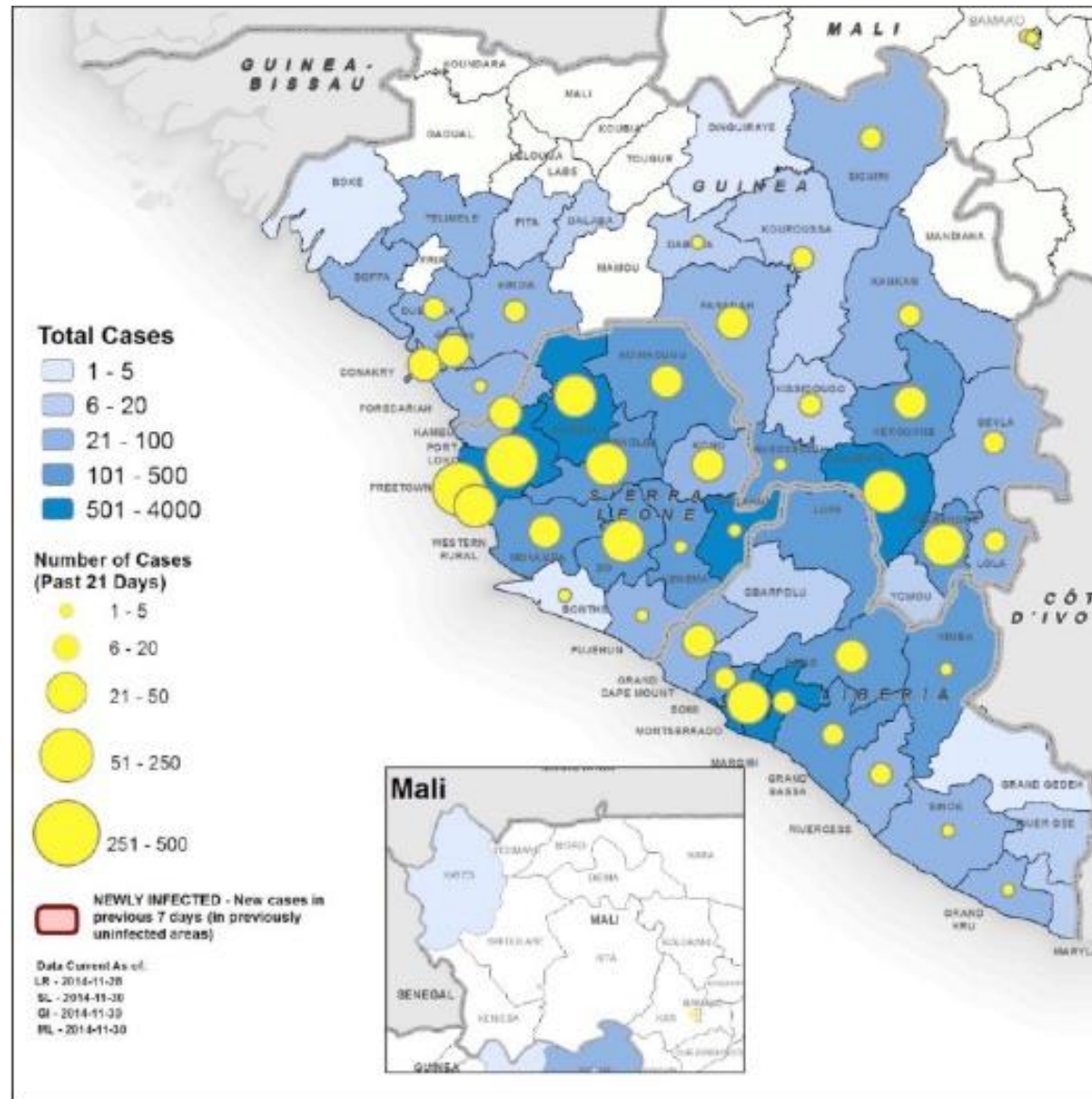
# 2014 : EPIDÉMIE DE FIÈVRE HEMORRAGIQUE À VIRUS EBOLA EN AFRIQUE DE L'OUEST

Guinée

Libéria

Sierra Leone

Nigéria



# PRISE EN CHARGE DES PATIENTS « EBOLA »

## Deux patients rapatriés traités à l'HIA Bégin

Septembre 2014 : infirmière de MSF en mission au Libéria

Novembre 2014 : patient d'une agence de l'ONU en Sierra Leone

Hospitalisé en chambre à pression négative P3

**Contraintes pour les analyses** : manipulations réduites, centrifugation interdites, pas de manipulation sur un automate.

Solution proposée par le CTSA : **MDmulticard®**

Limite par rapport à la réglementation : absence d'épreuve sérique de Simonin

## Mise en œuvre (PC E. Fontan)

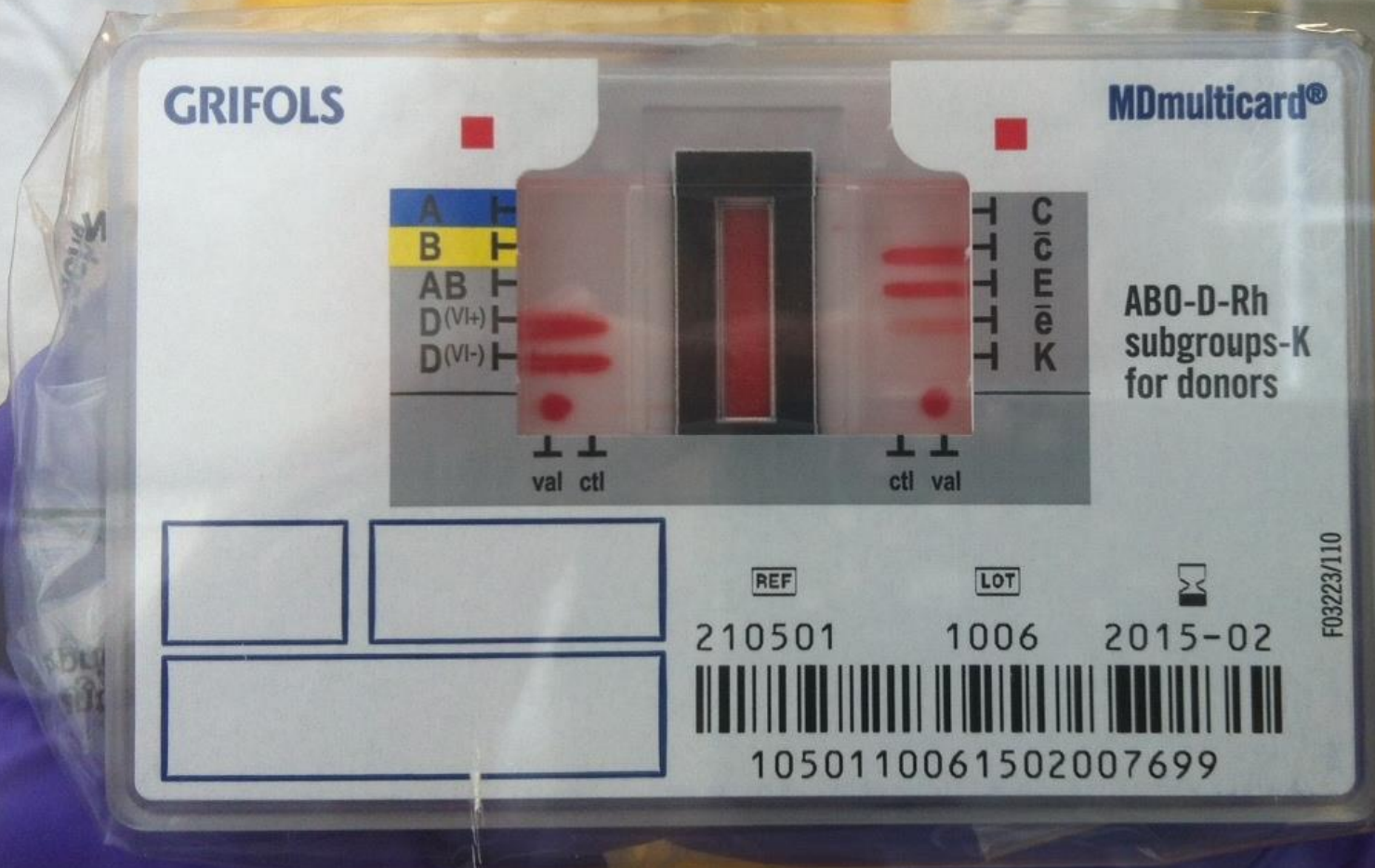
- Au laboratoire : passage des Contrôles de Qualité
  - Dans le P3 :
    - méthode standard réalisée en double pour chaque détermination,
    - carte mise sous sac transparent scellé,
    - carte photographiée à travers la vitre du P3 pour validation biologique à distance,
    - consigne transfusionnelle : transfuser en CGR O en respectant le phénotype Rh Kell
- ... En pratique seuls des Plasmas ont été transfusés.







2<sup>ème</sup> patient : novembre 2014 (photo PC E. Fontan)



# CONCLUSION : MDmulticard® du laboratoire à la situation d'exception

- **Avantages**

- Simple
- Rapide
- Aucune centrifugation
- Adapté en dehors du laboratoire et aux situations d'exception
- Manipulable par un personnel non technicien de laboratoire
- Prise en main rapide
- Produit un résultat de groupage sanguin complet ABO-D et phénotype Rh Kell
- Résultats stables  $\leq 72h$  et souvent bien au-delà.

- **Inconvénients ou limites**

- Absence de contre-épreuve de Simonin : mais non envisageable en situation d'exception
- Absence de kit à usage unique







**Our challenge**  
**Do the best**  
**As far as we can**





**Avec la participation de**

**Chantal**

**Hélène**

**Virginie**

**Je vous remercie de votre attention**

**Nicolas**

**Patrick**

**Sébastien**

**Matthieu**

**Sylvia**

**Jean-Philippe**

**Rachel**

**Tiffany**

**Julia**

