



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

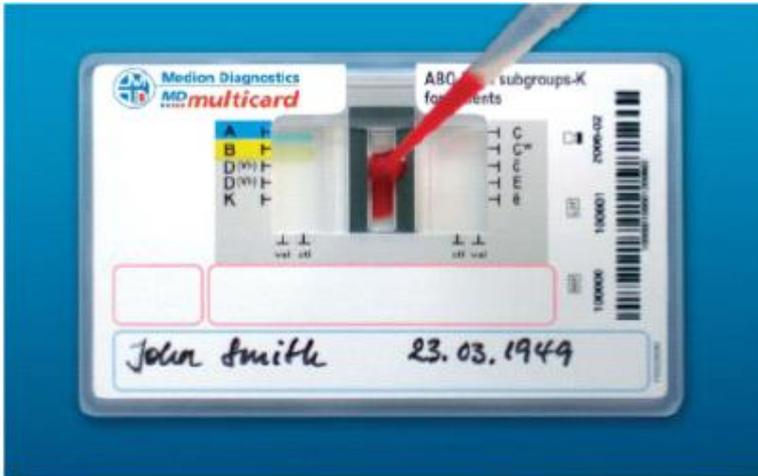


- Test multiparamétrique permet le typage simultané ABO-RH1 et phénotypage Rh-KEL1
- Principe de chromatographie en flux latéral
- Fournit un résultat final stable pendant $\leq 72\text{h}$ (+2 à +8°C). En pratique dans notre expérience, peut atteindre plusieurs années à température ambiante.
- Echantillon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



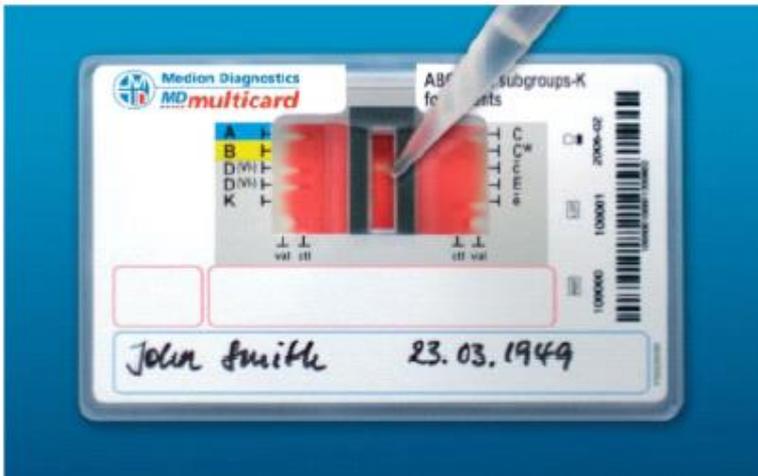
100 μ l cell suspension

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



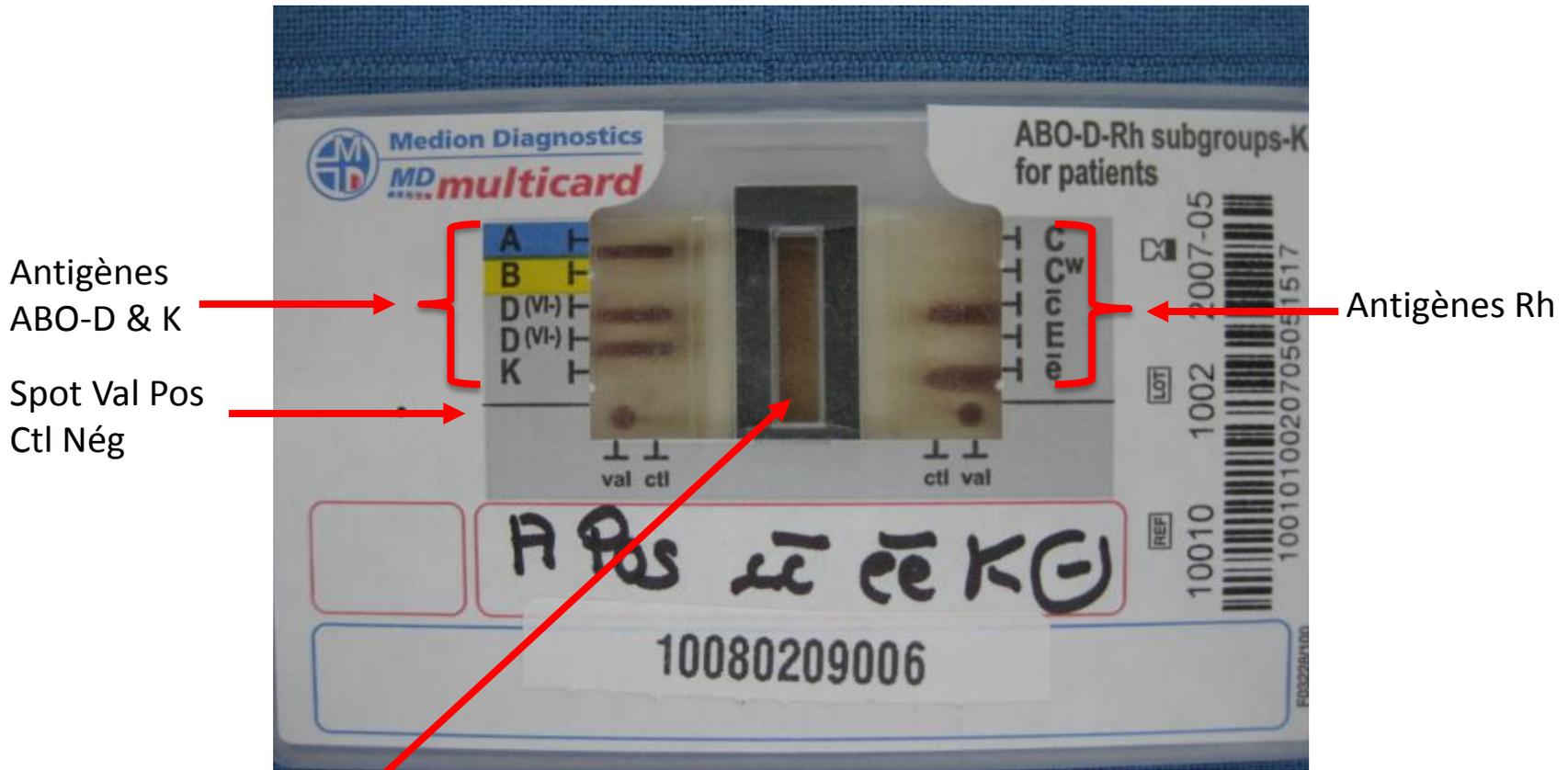
Ajouter au bout de 30 secondes

300 μ 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



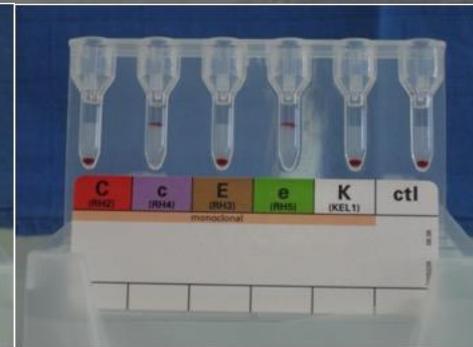
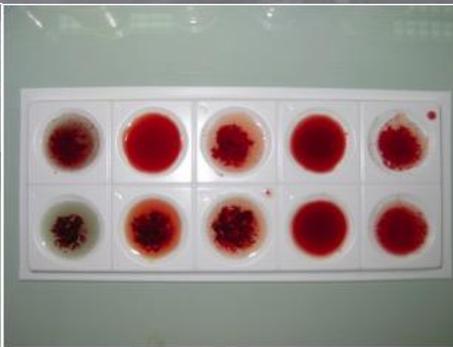
ENQUETE DE FAISABILITE EN ROLE 3, HMC KABUL INTERNATIONAL AIRPORT, 2011



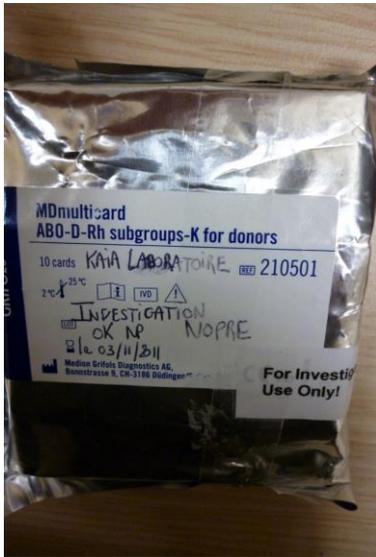
Laboratoire de KAIA,
Adjudant-Chef Nopre,
Novembre 2011



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	Date	Méthode de groupage ABO	Qualité du réactif	Commentaires
groupe	+	ou -	(jour/mois)	ou -	Thé, Méd, Ph, RICE, DCE, BCCD, autre	
				Ex: A-O		
B	24/10/11	A	13H50	B positif	TAB, NOPE	Doubt for C/B on 26/10/11
B	24/10/11	A	13H50	B positif	TAB, NOPE	/RAS
B	24/10/11	A	13H50	B positif	TAB, NOPE	/RAS
D	24/10/11	A	13H50	B positif	TAB, NOPE	/RAS
D	24/10/11	A	13H50	B positif	TAB, NOPE	/RAS
D	24/10/11	A	13H50	B positif	TAB, NOPE	/RAS
B	03/11/11	A	13H50	B positif	TAB, NOPE	Doubt for C/B on 26/10/11
B	03/11/11	A	13H50	B positif	TAB, NOPE	/RAS
B	03/11/11	A	13H50	B positif	TAB, NOPE	/RAS

CTE4, 1 rue de l'Université, Paris 6ème, BP 401, 8141 CLAMART Cedex



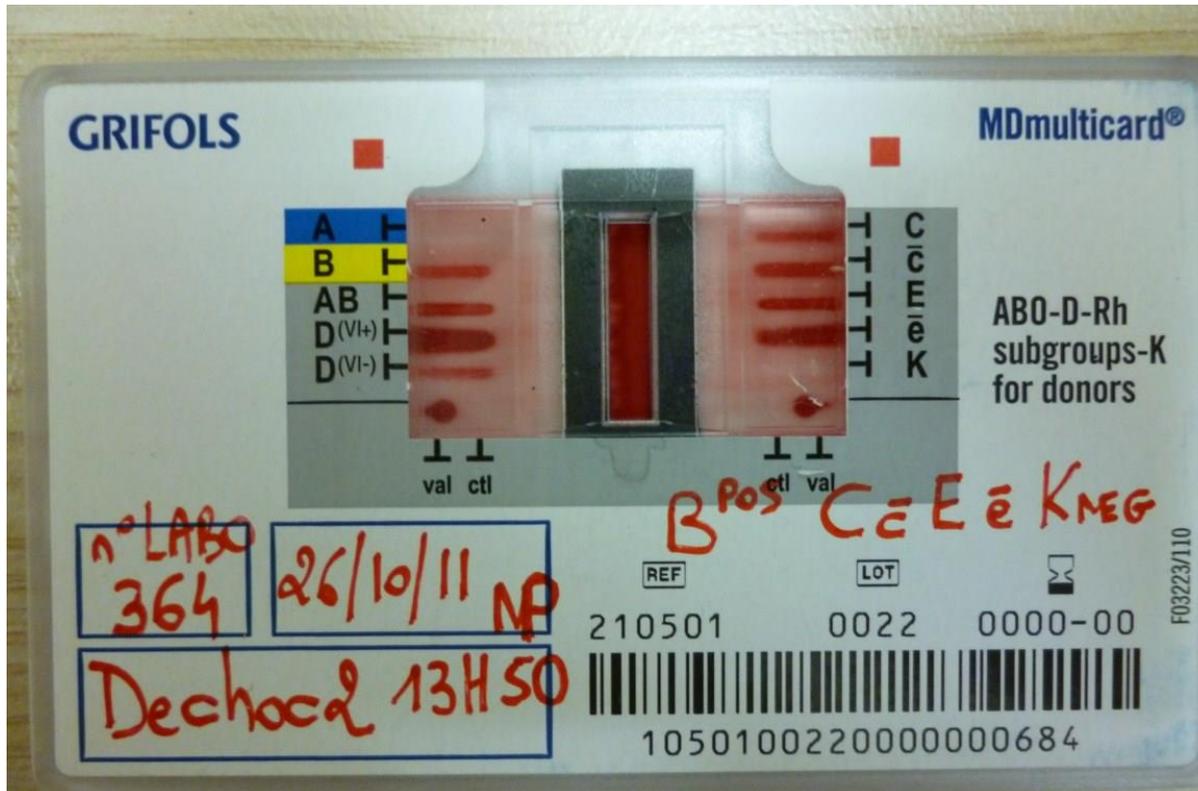
Compte-rendu de l'enquête

- 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 hémocentrés

- **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

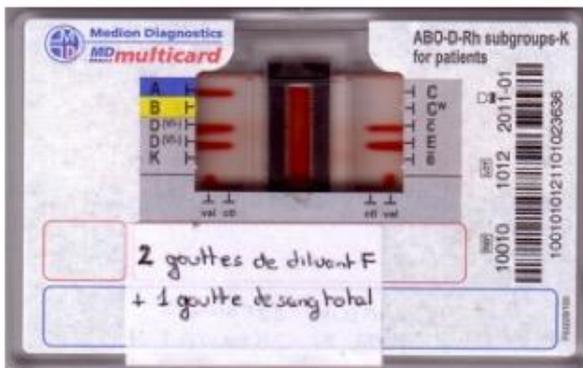


Carte témoin en méthode standard

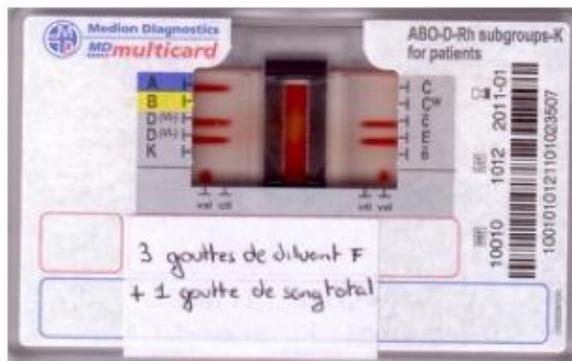
Vidéo disponible

Quelque 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.

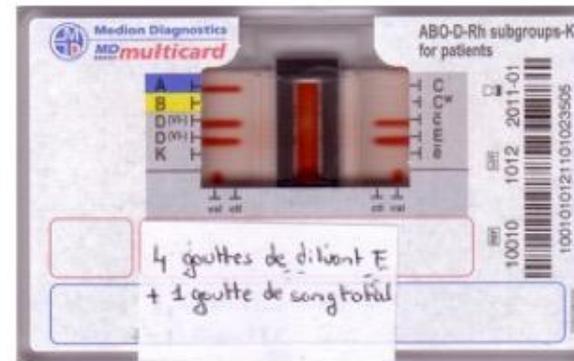
Choix : 2 gouttes de diluant lors du dépôt initial pour la méthode simplifiée.



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 %
 Hémoglobine 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 %
 Hémoglobine 10,2 g/dl



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



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



Dilution 1/8
 Hématocrite 5,1 %
 Hémoglobine 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

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

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

Échantillon choisi : le plus hémodilué
encore lisible : Ht = 14,5% (Hb=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

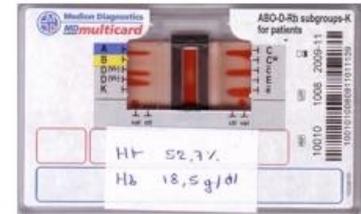
Le résultat est nettement plus lisible et plus net en méthode simplifiée



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 :

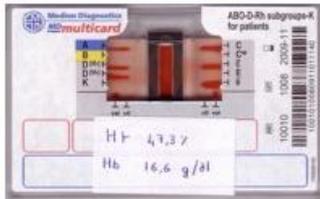
- échantillon le moins hémococoncentré (Hb 16,6g/dl – Ht 47,3%)

- 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

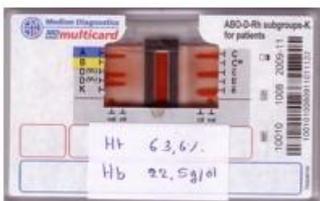
Cartes témoins selon protocole standard
Prédilution dans un tube à hémolyse
4 gouttes diluant F + 1 goutte de sang total
Distribution de 2 gouttes de sang dilué dans la fenêtre de la MDmulticard



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

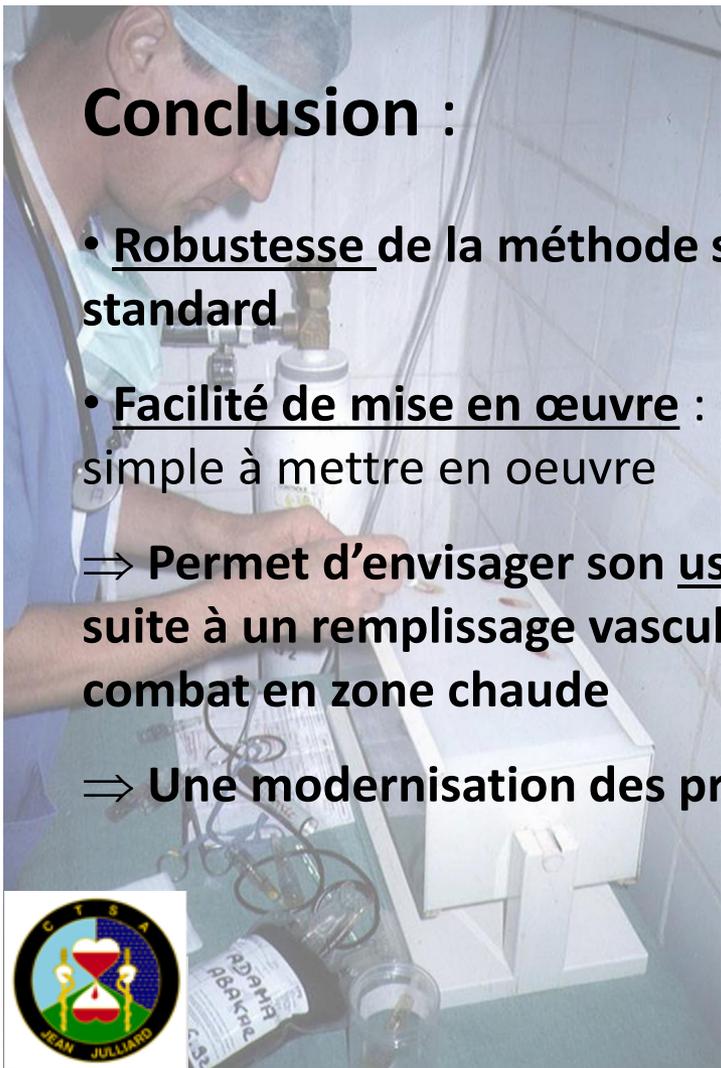


MISE AU POINT ET ÉVALUATION DE LA ROBUSTESSE DE LA MÉTHODE SIMPLIFIÉE

– 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 hémodilué 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

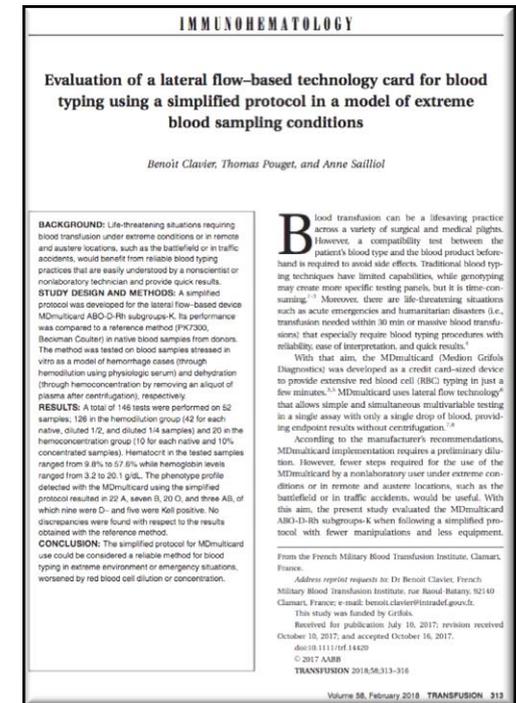
Contexte :

- 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 FAISABILITE 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 " URGENCES " 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

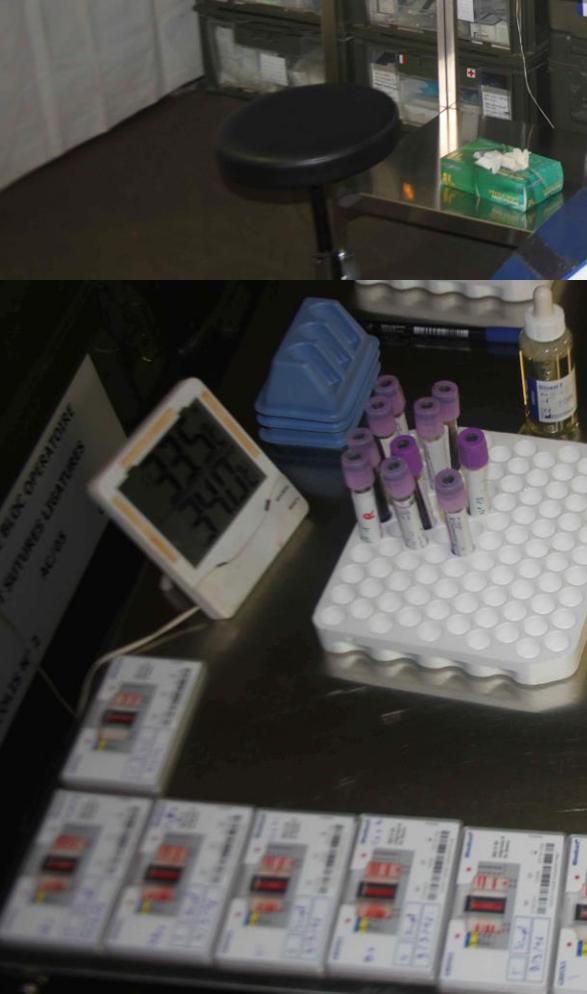
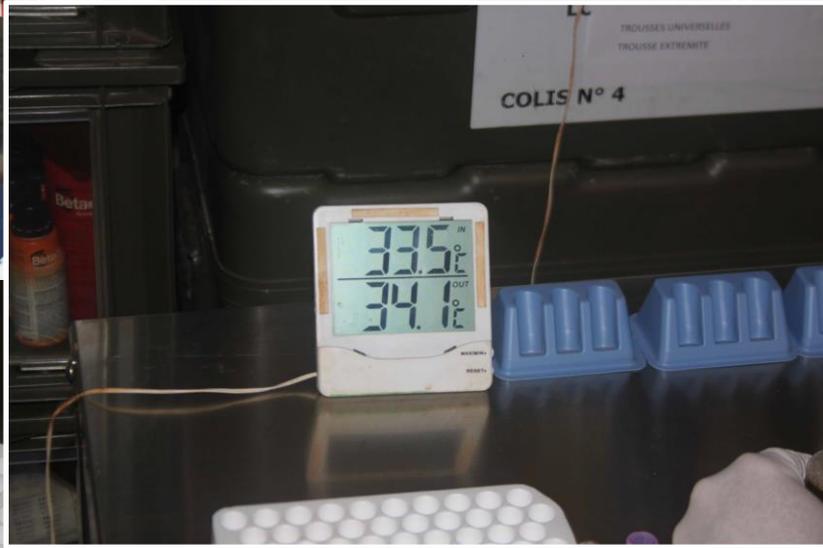


ÉTUDE DE LA FAISABILITE OPÉRATIONNELLE EN ZONE CHAUDE – ROLE 2

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



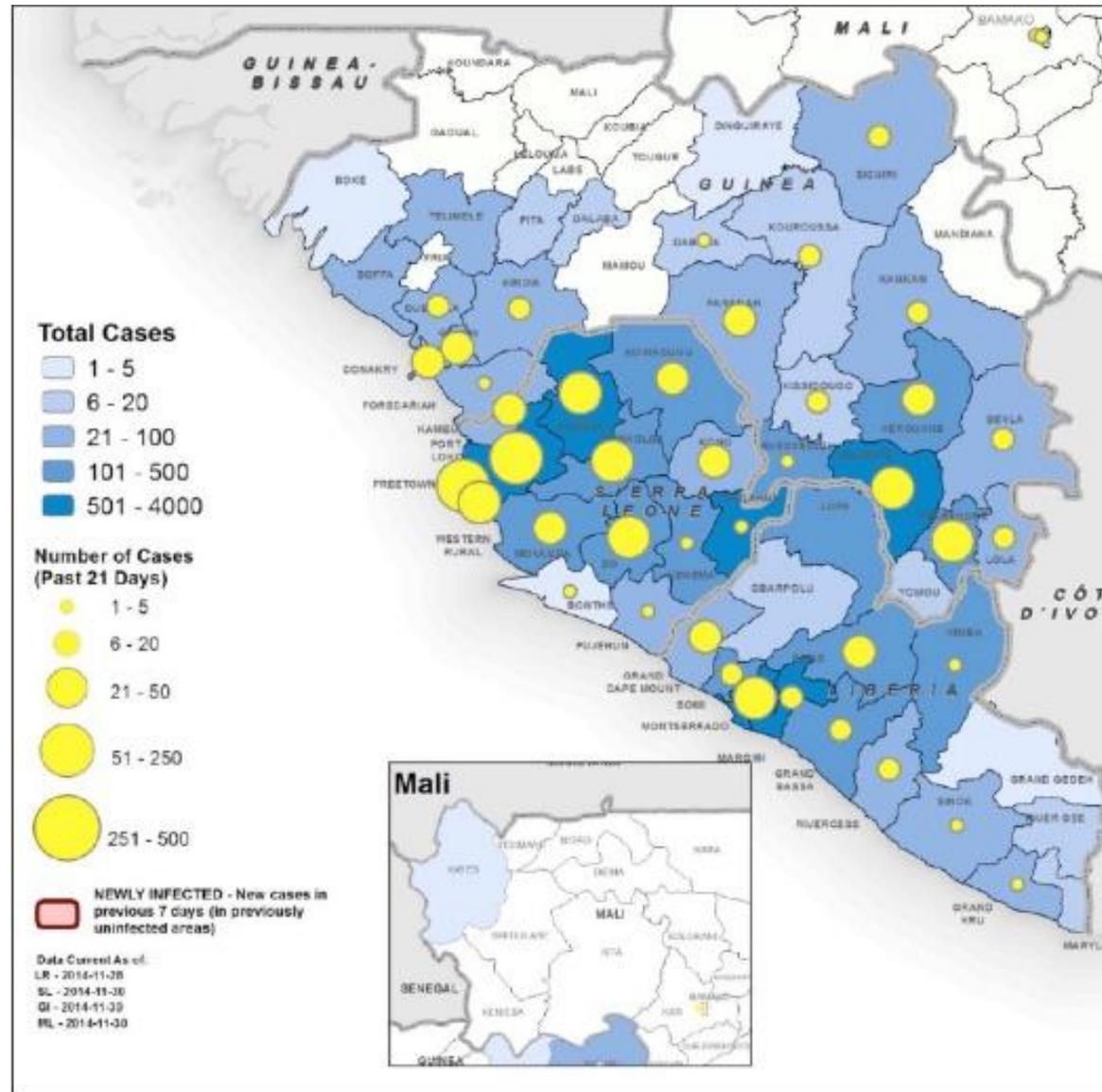
2014 : EPIDÉMIE DE FIÈVRE HEMORRAGIQUE À VIRUS EBOLA EN AFRIQUE DE L'OUEST

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.



1^{er} patient : septembre 2014 (photo PC E. Fontan)

GRIFOLS MDmulticard®

ABO-D-Rh subgroups-K for donors

Antigen	val	ctl
A	-	-
B	-	-
AB	-	-
D(VI+)	+	-
D(VI-)	+	-

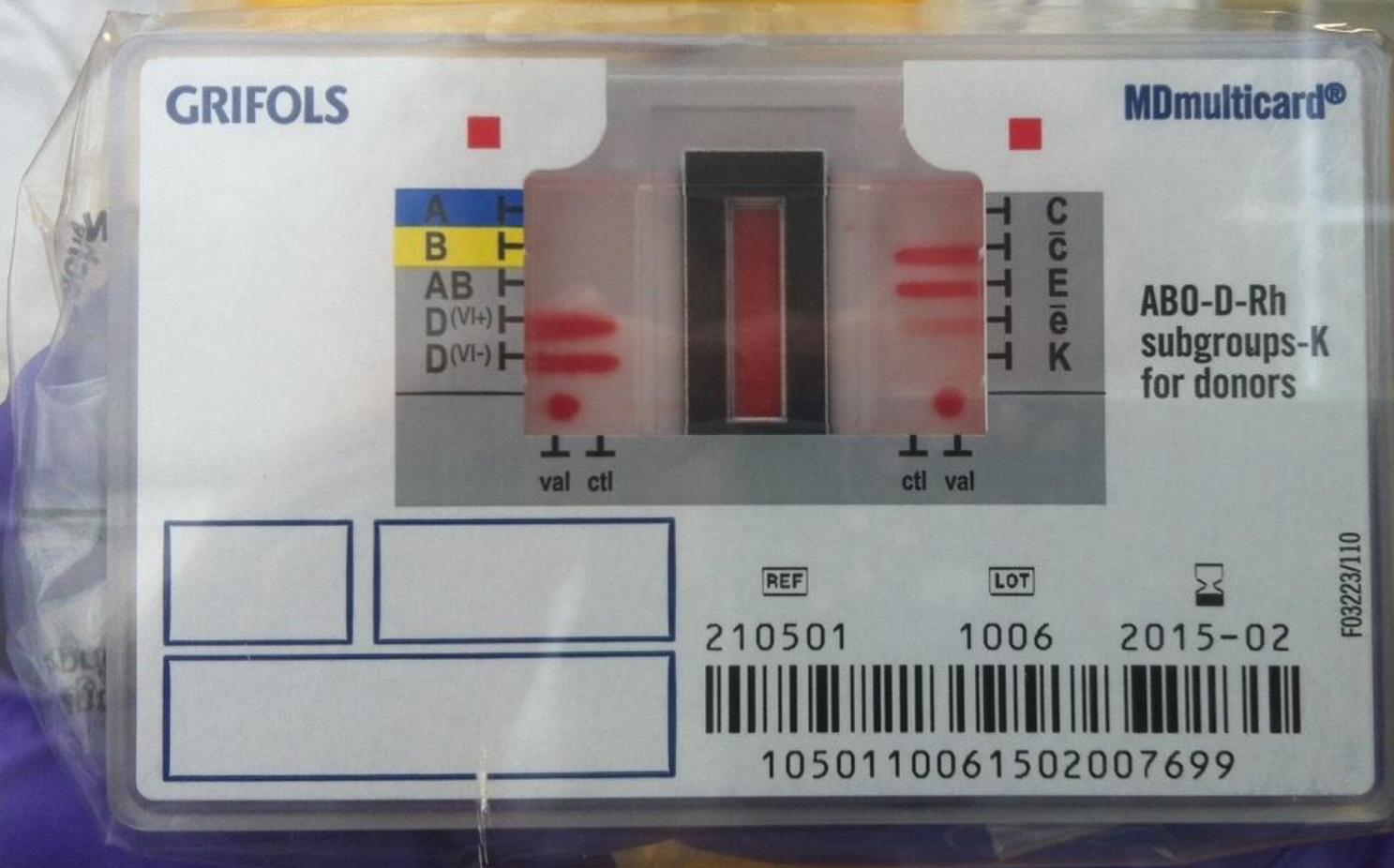
REF: 210501 LOT: 1006 2015-02

Barcode: 1050110061502007702

F03223/110



2^{ème} 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

