

Instructions for use



Sanquin Reagents B.V.
Plesmanlaan 125
1066 CX Amsterdam
The Netherlands

Phone: +31 20 5123599
Fax: +31 20 5123570
Reagents@sanquin.nl
www.sanquin.org/reagents

Cellbind Screen

REF K7000

IVD CE

060_v02 01/2017 (fr)

Réservé à l'usage professionnel

Test sur micro-colonne pour la détection ou l'identification d'anticorps anti-érythrocytaires et pour les groupages sanguins

Informations générales

Cellbind Screen est un test sur micro-colonne dans lequel les érythrocytes sensibilisés d'une suspension sont capturés par une matrice de gel contenant des anti-IgG, des anti-IgM et des anti-C3d dans un milieu optimisé haute densité. Chaque carte test est composée de six micro-colonnes contenant le gel dans le milieu haute densité. Cellbind Screen est destiné à la détection ou l'identification des anticorps érythrocytaires ainsi que les groupages sanguins, pour les tests de compatibilité et le test de Coombs direct modifié (TDA, pour la détection des antigènes *in vivo* des érythrocytes par des anticorps et des composants du complément). Cellbind Screen peut être utilisé manuellement ou avec des systèmes semi-automatisés ou automatisés. Le test Cellbind Screen est conforme aux normes et directives en vigueur. Les spécifications des performances du test sont indiquées dans les publications fournies avec le produit sur demande. Le test repose sur l'immunofixation d'érythrocytes sensibilisés dans une micro-colonne contenant du gel comme matrice. La suspension cellulaire est ajoutée dans la chambre d'incubation de la micro-colonne en même temps que le plasma, le sérum ou le sang à tester. Au cours de la phase d'incubation, les antigènes érythrocytaires se lient spécifiquement aux anticorps anti-érythrocytaires présents dans le plasma, le sérum ou le réactif. Ensuite, les cartes sont soumises à trois phases de centrifugation. Au cours de la première phase, le milieu haute densité sépare les érythrocytes du plasma, du sérum ou du réactif. Au cours de la seconde phase, les érythrocytes sensibilisés s'agglutinent et sont capturés dans la partie supérieure du gel de la matrice de la micro-colonne, alors qu'au cours de la troisième phase, les érythrocytes non sensibilisés ou faiblement sensibilisés migrent vers le bas de la micro-colonne. L'inclusion de contrôles positifs et négatifs dans chaque série de test de groupage sanguin est fortement recommandée.

Précautions

Usage *in vitro* uniquement. Les cartes Cellbind Screen doivent être conservées dans leur boîte en polystyrène d'origine, à une température comprise entre 2 et 8 °C. Refermer la boîte après usage. Les cartes Cellbind Screen doivent être conservées en position verticale. Dans le cas contraire, les maintenir en position verticale pendant environ 15 minutes avant utilisation, afin de permettre au gel de la matrice de se redéposer. Il ne faut pas utiliser des cartes Cellbind Screen qui présentent des signes de séchage (c'est-à-dire un niveau irrégulier de milieu à haute densité dans les micro-colonnes d'une carte ou des niveaux bas de milieu à haute densité dans les colonnes), des signes de condensation (c'est-à-dire des gouttes dans la chambre d'incubation ou sur le dessous des bandes de recouvrement), des bandes de recouvrement endommagées, ou qui contiennent des bulles d'air dans le milieu à haute densité ou la matrice de gel. Dans la plupart des cas, il est possible d'éliminer les bulles d'air introduites lors du transport dans le milieu haute densité ou le gel de la matrice en centrifugeant les cartes Cellbind Screen non ouvertes dans la centrifugeuse Cellbind avant utilisation. Les cartes Cellbind Screen ne doivent pas être utilisées au-delà de la date de péremption imprimée sur leur étiquette. Une fois les résultats lus, les cartes peuvent être recouvertes et conservées en position verticale entre 2-8 °C pendant une semaine. Une solution de chloramphénicol à <0,1% est utilisée comme conservateur. Les réactifs ne peuvent être garantis exempts d'agents infectieux. Il convient d'agir avec précaution lors de la manipulation et de l'élimination des conteneurs et de leur contenu. Au terme du test, l'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux directives du laboratoire.

Recueil et préparation des échantillons

Echantillon:

Les échantillons de sang doivent être obtenus aseptiquement, avec ou sans ajout d'anticoagulants. Il est fortement conseillé de centrifuger les tubes de sang à 3000g avant tout prélèvement d'échantillons de sérum (pendant 10 minutes) ou d'échantillons de plasma (pendant 5 minutes) afin d'éviter des réactions faussement positives. Le prélèvement d'échantillons de sérum ou de plasma doit être effectué à la pipette et non pas en versant le plasma ou le sérum. Les échantillons de plasma ou de sérum doivent rester exempts de leucocytes, de fragments de gel et/ou de résidus de fibrine afin d'éviter le blocage du gel de la matrice. Pour la détection ou l'identification des anticorps érythrocytaires, il est conseillé d'utiliser du plasma ou du sérum frais (48 heures maximum après le prélèvement). Les échantillons de sérum ou de plasma non testés immédiatement peuvent être conservés pendant 48 heures entre 2-8 °C ou à <-18 °C au delà. Il est conseillé de centrifuger les échantillons de sérum ou de plasma décongelés pendant 5 minutes à 3000g avant tout test afin d'éliminer tout précipité. Utiliser du sang frais pour le test de Coombs direct modifié (dans les 48 heures suivant le prélèvement). Le sang frais doit être de préférence plongé dans de l'EDTA afin d'éviter la sensibilisation *in vitro* des érythrocytes par les composés du complément. Le plasma ne convient pas pour la détection d'anticorps fixant le complément car les anticoagulants inhibent l'activation du complément.

Réactifs:

Cellbind Screen	REF K7000	: Boîte contenant 48 cartes de 6 micro-colonnes.
Cellbind LISS	REF K7100	: Milieu de dilution pour préparer des suspensions d'hématies test à 0,5% issues d'hématies du patient ou du donneur (250 ml).
	REF K7110	: Milieu de dilution pour préparer des suspensions d'hématies test à 0,5% issues d'hématies du patient ou du donneur (100 ml).
	REF K7130	: Milieu de dilution pour préparer des suspensions d'hématies test à 0,5% issues d'hématies du patient ou du donneur (25 ml).

Cellbind DILUENT	REF K7180	: Milieu de dilution pour préparer des suspensions d'hématies test à 0,5% à partir de panneaux Sanquin ou de suspensions d'hématies test Sanquin à 3% (100 ml).
Cellbind P2	REF K7200	: (2 x 10 ml) suspension d'hématies test à 0,5% pour la détection d'anticorps érythrocytaires.
Cellbind P3	REF K7210	: (3 x 10 ml) suspension d'hématies test à 0,5% pour la détection d'anticorps érythrocytaires.
Cellbind P3-P (papain)	REF K7211	: (3 x 10 ml) suspension d'hématies test à 0,5% papainées pour la détection d'anticorps érythrocytaires.
Cellbind ID16	REF K7230	: (16 x 3 ml) suspension d'hématies test à 0,5% pour l'identification des anticorps érythrocytaires
Cellbind ID16-P (papain)	REF K7231	: (16 x 3 ml) suspension d'hématies test à 0,5% papainées pour l'identification d'anticorps érythrocytaires.
Cellbind A ₁ reagent red cells	REF K7240	: Suspension d'hématies test à 0,5% pour la détection des anticorps anti-A.
Cellbind A ₂ reagent red cells	REF K7241	: Suspension d'hématies test à 0,5% à utiliser comme contrôle positif ou négatif.
Cellbind B reagent red cells	REF K7242	: Suspension d'hématies test à 0,5% pour la détection des anticorps anti-B.
Cellbind O, D-positive reagent red cells	REF K7243	: Suspension d'hématies test à 0,5% à utiliser comme contrôle positif ou négatif.

Matériel:

Cellbind Centrifuge	REF K7302
Cellbind Rotor	REF K7303
Cellbind Incubator	REF K7304
Cellbind Dispenser	REF K7300
Cellbind Workstation	REF K7301

Suspensions d'érythrocytes:

1. Pour le typage, la compatibilité croisée, le test antiglobulines directes modifié et l'autocontrôle, il faut préparer une suspension à 0,5% d'hématies issues du patient ou du donneur dans du Cellbind LISS (**REF** K7100, **REF** K7110 ou **REF** K7130).
2. Pour la détection ou l'identification des anticorps, il faut utiliser des panneaux Sanquin (0,5% ou 3,0%) ou des suspensions d'hématies test. Il est conseillé d'utiliser des panneaux Cellbind ou des suspensions d'hématies test Cellbind à 0,5% prêt(e)s à l'emploi. Si l'on utilise des panneaux Sanquin ou des suspensions d'hématies test Sanquin à 0,3%, il faut préparer une suspension dans du Cellbind DILUENT (**REF** K7180) à 0,5% en respectant le protocole de préparation ci-après. Pour l'utilisation d'autres panneaux ou hématies test, la validation par l'utilisateur est obligatoire.

Remarque : ce protocole ne peut pas être appliqué aux cellules ayant été traitées avec des enzymes (**REF** K1384 et **REF** K1393). S'il faut tester des cellules ayant été traitées aux enzymes, il faut utiliser Cellbind P3-P (**REF** K7211) ou Cellbind ID16-P (**REF** K7231).

Préparation de la suspension d'érythrocytes à 0,5%:

1. Pack de 11 µl d'hématies du patient ou du donneur + 2 ml de Cellbind LISS (**REF** K7100, **REF** K7110 ou **REF** K7130)
2. 200 µl de panneaux Sanquin ou de suspensions d'hématies test Sanquin à 3% + 1 ml de Cellbind DILUENT (**REF** K7180)

Procédure d'utilisation de la centrifugeuse Cellbind

Pour utiliser la centrifugeuse Hettich avec les cartes Cellbind, procéder comme suit:

1. Insérer le rotor Cellbind conformément aux instructions du manuel d'utilisation Hettich.
2. La centrifugeuse reconnaît le rotor et se programme automatiquement en fonction du protocole Cellbind.
3. Pour l'étape de centrifugation mentionnée dans la procédure de test suivante, il suffit de presser «start» (Démarrage). La centrifugeuse effectue les trois étapes suivantes:
 - 0-2 minutes 75 fcr 780 tm
 - 2-3 minutes 200 fcr 1280 tm
 - 3-10 minutes 1790 fcr 3840 tm
4. A la fin de la centrifugation, il est possible d'ouvrir le couvercle et de retirer les cartes.

Procédure de test

Ramener tous les réactifs à température ambiante (18-25 °C). Ne pas utiliser des cartes Cellbind Screen dont la matrice de gel présente des bulles d'air, dont les fermetures sont rompues ou qui présentent des signes de dessèchement (absence de liquide ou niveau de liquide irrégulier au-dessus de la matrice de gel).

Détection ou identification des anticorps

1. Retirer la bande de protection des colonnes à utiliser
2. Déposer 40-50 µl de suspension d'hématies test à 0,5% d'hématies dans la chambre d'incubation.
3. Déposer le même volume (40-50 µl) de plasma ou de sérum dans la chambre d'incubation.
4. Incuber à 37 °C pendant 15 minutes dans l'incubateur Cellbind.
5. Insérer les cartes dans la centrifugeuse Cellbind (10 minutes). Les paramètres de centrifugation sont déjà programmés.
6. Effectuer la lecture des réactions.

Typage des antigènes de groupe sanguin

1. Retirer la bande de protection des colonnes à utiliser.
2. Déposer 40-50 µl de la suspension d'hématies à 0,5% issue de cellules du patient ou du donneur dans la chambre d'incubation.
3. Déposer 20 µl de réactif Sanquin pour la détermination des groupes sanguins dans la chambre d'incubation. Remarque: Une liste de réactifs validés de Sanquin pour la détermination des groupes sanguins est disponible sur le site Internet www.cellbind.nl. Pour

certaines de ces réactifs, une étape d'incubation supplémentaire est nécessaire et ces réactifs sont indiqués dans cette liste. L'utilisation de tout autre réactif de typage peut produire des résultats aberrants et doit donc être validée par l'utilisateur.

4. Insérer les cartes dans la centrifugeuse Cellbind (10 minutes). Les paramètres de centrifugation sont déjà programmés.
5. Effectuer la lecture des réactions.

Typage inverse

1. Retirer la bande de protection du nombre de colonnes requis.
2. Ajouter 40-50 µl de la suspension d'hématies test à 0,5% d'hématies dans la chambre d'incubation.
3. Ajouter le même volume (40-50 µl) de plasma dans la chambre d'incubation.
4. Introduire les cartes dans la Cellbind Centrifuge (10 minutes). Les paramètres de centrifugation sont déjà programmés.
5. Effectuer la lecture des réactions.

Test de Coombs direct (TDA) modifié

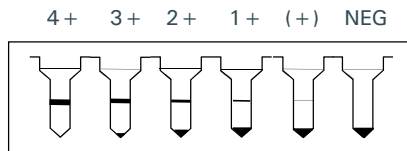
1. Retirer la bande de protection des colonnes à utiliser.
2. Déposer une goutte (40-50 µl) de la suspension à 0,5% d'hématies issue de cellules du patient dans la chambre d'incubation.
3. Insérer les cartes dans la centrifugeuse Cellbind (10 minutes). Les paramètres de centrifugation sont déjà programmés.
4. Effectuer la lecture des réactions.

Test de compatibilité

1. Retirer la bande de protection des colonnes à utiliser.
2. Déposer 40-50 µl de la suspension d'hématies à 0,5% issue d'hématies du donneur dans la chambre d'incubation.
3. Déposer le même volume (40-50 µl) de plasma ou de sérum du patient dans la chambre d'incubation.
4. Incuber à 37 °C pendant 15 minutes dans l'incubateur Cellbind.
5. Insérer les cartes dans la centrifugeuse Cellbind (10 minutes). Les paramètres de centrifugation sont déjà programmés.
6. Effectuer la lecture des réactions.

Interprétation

En cas de réaction positive, les érythrocytes sont capturés dans la partie supérieure du gel de la matrice. En cas de réaction négative, seul un petit culot d'érythrocytes apparaît au fond de la micro-colonne. Les profils réactionnels sont décrits ci-dessous:



Le nombre d'érythrocytes capturés dans la partie supérieure du gel de la matrice dépend de paramètres tels que la densité antigénique des érythrocytes ainsi que du titre et de l'affinité de l'anticorps. Il dépend également de la durée de la seconde phase de centrifugation ainsi que de la force centrifugation de la troisième phase.

En conséquence, si une réaction est inférieure à 4+, des cellules apparaissent également au fond de la micro-colonne. Les réactions de double population présentent le même profil réactionnel.

Détection ou identification des anticorps

Les réactions positives indiquent la présence d'anticorps érythrocytaires dans le plasma ou le sérum. Les réactions négatives indiquent l'absence d'anticorps érythrocytaires. Un auto-contrôle positif peut traduire la présence d'autoanticorps.

Typage des antigènes de groupe sanguin

Les réactions positives avec les réactifs de détermination des groupes sanguins traduisent la présence des antigènes correspondants sur les érythrocytes. Les réactions négatives avec les réactifs de détermination des groupes sanguins indiquent que la présence d'antigènes correspondants sur les érythrocytes est indétectable.

Typage inverse

Les réactions positives avec les érythrocytes réactifs traduisent la présence de l'allo-anticorps correspondant. Une réaction négative indique que la présence de l'allo-anticorps correspondant est indétectable.

Test de Coombs direct (TDA) modifié

Les réactions positives indiquent la sensibilisation *in vivo* des érythrocytes avec des anticorps et/ou des composés du complément.

Test de compatibilité

Les réactions positives indiquent l'incompatibilité du donneur de sang avec le receveur. Les réactions négatives indiquent la compatibilité du donneur de sang avec le receveur.

Limites du test

Résultats positifs inattendus: pseudo-agglutination, auto-agglutination, réaction de double population, certains médicaments, concentration d'érythrocytes trop élevée, érythrocytes sensibilisés *in vivo* avec des anticorps et/ou des composés du complément. Résultats négatifs ou faibles inattendus: faibles réponses des antigènes, faibles réponses des anticorps, titres d'anticorps bas, réaction de double population, activité réduite des réactifs, interaction insuffisante de la suspension d'érythrocytes et du plasma, du sérum ou du réactif dans la chambre d'incubation et/ou interaction prématurée entre le contenu de la chambre d'incubation et le milieu à haute densité. Il existe un risque d'obtenir de faux résultats positifs ou négatifs suite à une présence de bulles d'air dans la matrice de gel, contamination du matériel du test ou à une déviation quelconque par rapport aux techniques recommandées.

En cas d'utilisation d'échantillons dont le taux d'hémolyse est élevé, des réactions non spécifiques peuvent se produire. Si l'échantillon contient des résidus de fibrine, cela peut entraîner la capture de cellules non sensibilisées au cours de la centrifugation, se traduisant par la formation d'une ligne fine et rouge dans la partie supérieure du gel de la matrice.

Références

1. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issit P.D.; Applied Blood Group Serology 3rd ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
3. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
4. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9th ed. Blackwell, Oxford, 1993.

*Nous garantissons que les produits Sanquin produiront les résultats décrits dans le mode d'emploi du fabricant original.
Il est essentiel de respecter rigoureusement les procédures et les schémas d'essai et d'utiliser les réactifs et le matériel recommandés.
Sanquin n'acceptera aucune responsabilité relativement au non-respect de ces indications.*