

# 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 (lv)

Tikai profesionālai lietošanai

Mikrokolonnas tests eritrocitāro antiviēlu noteikšanai vai identifikācijai, kā arī asins grupas noteikšanai

### Vispārējā informācija

Tests Cellbind Screen ir mikrokolonnas testa sistēma, kurā anti-IgG, anti-IgM un anti-C3d saturoša gēla matrica uzlabotā augsta blīvuma vidē uztver sensibilizētus eritrocītus no suspensijas. Katra analīzes karte sastāv no sešām mikrokolonnām, kas satur gēlu augsta blīvuma vidē. Cellbind Screen ir paredzēta eritrocitāro antiviēlu noteikšanai vai identifikācijai, kā arī asins grupas noteikšanai, krusteniskās saderības proves un modificētā tiešā antiglobulīna testa (DAT, lai noteiktu eritrocītu *in vivo* pārklāšanos ar antiviēlām un komplementa komponentiem) veikšanai. Cellbind Screen ir piemērota lietošanai manuālās un (pus-)automātiskās sistēmās. Cellbind Screen analīze atbilst attiecīgo standartu un vadlīniju prasībām. Efektivitātes raksturojumi ir minēti izlaiduma dokumentos, kas pēc pieprasījuma tiek izsniegti kopā ar produktu. Testa laikā notiek sensibilizēto eritrocītu imūnfiksācija gēla matricu saturošā mikrokolonnā. Šūnu suspensija tiek pievienota mikrokolonnas inkubācijas nodalījumā kopā ar testējamo plazmu, serumu vai asins grupas noteikšanas reaģentu. Inkubācijas fāzes laikā antigēna pozitīvi eritrocīti saistīs plazmā, serumā vai reaģentā esošās attiecīgās antieritrocitārās antiviēlas. Pēc tam kartes tiek pakļautas trīs centrifugēšanas fāzēm. Pirmās fāzes laikā augsta blīvuma vide izraisīs plazmā, serumā vai reaģentā esošo eritrocītu atdalīšanos. Otrajā fāzē sensibilizēti eritrocīti tiks aglutinēti un uztverti mikrokolonnas gēla matricas augšpusē, bet trešajā fāzē nesensibilizēti un ļoti vāji sensibilizēti eritrocīti pārvietosies uz mikrokolonnas apakšu. Ir stingri ieteicams iekļaut pozitīvas un negatīvas kontroles elementus katras asins grupas sērijas noteikšanas laikā.

### Piesardzības pasākumi

Paredzēts lietošanai tikai *in vitro* diagnostikā. Cellbind Screen kartes jāglabā oriģinālajā polistirēna kastē 2-8 °C temperatūrā. Pēc lietošanas aizveriet kastī. Ja tās netiek uzglabātas vertikāli, tās pirms lietošanas jāpatur vertikālā pozīcijā 15 minūtes, lai ļautu gēla matricai nostabilizēties. Neizmantojiet Cellbind Screen kartes ar nožūšanas pazīmēm (t.i. nevienmērīgu augsta blīvuma vidi vienas kartes mikrokolonnās vai augsta blīvuma vides zemu līmeni kolonnās), kondensācijas pazīmēm (t.i. pilieni inkubācijas nodalījumā vai zem pārseguma strēmēlītēm), bojātām pārseguma strēmēlītēm vai gaisa burbuļiem augsta blīvuma vidē vai gēla matricā. Transportēšanas laikā radušos gaisa burbuļus augsta blīvuma vidē vai gēla matricā lielākoties var likvidēt, pirms lietošanas pagriežot noblīvētas Cellbind Screen kartes centrifūgā Cellbind Centrifuge. Cellbind Screen kartes nedrīkst lietot pēc derīguma termiņa beigām, kas ir norādīts uz kartes etiķetes. Pēc rezultātu nolaišanas kartes var pārklāt un uzglabāt vertikāli 2-8 °C temperatūrā laika posmā līdz vienai nedēļai. Kā konservants tiek izmantots hloramfenikols <0,1%. Netiek pieņemts, ka reaģentos nav infekcijas aģentu. Lietojot un utilizējot katru konteineru un tā saturu, ir jārikojas piesardzīgi. Atkritumu utilizācija pēc testa pabeigšanas ir jāveic saskaņā ar laboratorijas noteikumiem.

### Paraugu savākšana un sagatavošana

#### Paraugs.

Asins paraugi jāņem aseptiski ar vai bez antikoagulantu pievienošanas. Pirms seruma vai plazmas paraugu savākšanas ir stingri ieteicams pie 3000 rcf centrifugēt asins savākšanas stobriņu (asinis - 10 minūtes, plazmu - 5 minūtes), lai novērstu kļūdaini pozitīvas reakcijas.. Seruma vai plazmas paraugu savākšana jāveic, izmantojot pipeti, nevis izlejot plazmu vai serumu. Plazmas vai seruma paraugos nedrīkst būt balto šūnu, gēla fragmentu un/vai fibrīna aplikuma, lai gēla matrica netiktu aizsprostota. Eritrocitāro antiviēlu noteikšanai vai identifikācijai ir ieteicams izmantot svaigu plazmu vai serumu (48 stundu laikā pēc parauga ņaņemšanas). Seruma vai plazmas paraugus, kuri netiek testēti uzreiz, var uzglabāt 48 stundas 2-8 °C temperatūrā, vai ilgāk <-18 °C temperatūrā. Pirms analīzes veikšanas pēc seruma vai plazmas paraugu atsaldēšanas tos nogulšņu likvidēšanai ir ieteicams 5 minūtes centrifugēt pie 3000 rcf. Modificētā tiešā antiglobulīna testa veikšanai ir jāizmanto svaigas asinis (48 stundu laikā pēc atlasīšanas), ieteicams tās, kuras ir ņaņemtas EDTA, lai novērstu eritrocītu *in vitro* pārklāšanos ar komplementa komponentiem. Plazma nav piemērota komplementu saistošo antiviēlu noteikšanai, jo antikoagulanti kavēs komplementa aktivitāti.

#### Reaģenti:

Cellbind Screen	REF K7000	: kastē ir 48 kartes, katrā kartē ir 6 mikrokolonnas.
Cellbind LISS	REF K7100	: atšķaidīšanas vide 0,5% pacienta eritrocītu vai donora eritrocītu suspensiju pagatavošanai (250 ml).
	REF K7110	: atšķaidīšanas vide 0,5% pacienta eritrocītu vai donora eritrocītu suspensiju pagatavošanai (100 ml).
	REF K7130	: atšķaidīšanas vide 0,5% pacienta eritrocītu vai donora eritrocītu suspensiju pagatavošanai (25 ml).
Cellbind DILUENT	REF K7180	: atšķaidīšanas vide 0,5% eritrocītu suspensiju pagatavošanai no 3% Sanquin paneļiem vai Sanquin reaģenta eritrocītu suspensijām (100 ml).
Cellbind P2	REF K7200	: (2 x 10 ml) 0,5% reaģenta eritrocītu suspensijas eritrocitāro antiviēlu noteikšanai.
Cellbind P3	REF K7210	: (3 x 10 ml) 0,5% reaģenta eritrocītu suspensijas eritrocitāro antiviēlu noteikšanai.
Cellbind P3-P (papain)	REF K7211	: (3 x 10 ml) ar papainu apstrādātas 0,5% reaģenta eritrocītu suspensijas eritrocitāro antiviēlu noteikšanai.

Cellbind ID16	<b>REF</b> K7230	: (16 x 3 ml) 0,5% reaģenta eritrocītu suspensijas eritrocitāro antivienu noteikšanai.
Cellbind ID16-P (papain)	<b>REF</b> K7231	: (16 x 3 ml) ar papaiņu apstrādātas 0,5% reaģenta eritrocitāro suspensijas antivienu noteikšanai.
Cellbind A <sub>1</sub> reagent red cells	<b>REF</b> K7240	: 0,5% reaģenta eritrocītu suspensija anti-A antivienu noteikšanai.
Cellbind A <sub>2</sub> reagent red cells	<b>REF</b> K7241	: 0,5% reaģenta eritrocītu suspensija, lai to izmantotu pozitīvai vai negatīvai kontrolei.
Cellbind B reagent red cells	<b>REF</b> K7242	: 0,5% reaģenta eritrocītu suspensija anti-B antivienu noteikšanai.
Cellbind O, D-positive reagent red cells	<b>REF</b> K7243	: 0,5% reaģenta eritrocītu suspensija, lai to izmantotu pozitīvai vai negatīvai kontrolei.

#### Materiāli:

Cellbind Centrifuge	<b>REF</b> K7302
Cellbind Rotor	<b>REF</b> K7303
Cellbind Incubator	<b>REF</b> K7304
Cellbind Dispenser	<b>REF</b> K7300
Cellbind Workstation	<b>REF</b> K7301

#### Eritrocītu suspensijas.

1. Tipa noteikšanai, krusteniskās saderības provei, modificētajam tiešajam antiglobulīna testam un automātiskajai kontrolei ir jāpagatavo 0,5% pacienta un donora eritrocītu suspensija Cellbind LISS (**REF** K7100 **REF** K7110 vai **REF** K7130)
2. Antivienu noteikšanai vai identifikācijai ir jāizmanto Sanquin (0,5% vai 0,3%) paneļi vai reaģenta eritrocītu suspensijas. Ir ieteicams izmantot lietošanai sagatavotus 0,5% Cellbind paneļus vai Cellbind reaģenta eritrocītu suspensijas. Ja tiek izmantoti 3% Sanquin paneļi vai Sanquin reaģenta eritrocītu suspensijas, tad 0,5% suspensija Cellbind DILUENT (**REF** K7180) ir jāpagatavo atbilstoši tālāk tekstā aprakstītajam pagatavošanas protokolam. Citu paneļu vai reaģenta eritrocītu izmantošanai obligāti ir jāsaņem lietotāja apstiprinājumu.

Piezīme: šo protokolu nevar izmantot attiecībā uz šūnām, kuras netika apstrādātas ar fermentiem (**REF** K1384 and **REF** K1393). Ja testu nepieciešams veikt ar šūnām, kas apstrādātas ar fermentiem, ir jāizmanto Cellbind P3-P (**REF** K7211) vai Cellbind ID16-P (**REF** K7231).

#### 0,5% eritrocītu suspensiju pagatavošana:

1. 11  $\mu$ l pacienta vai donora eritrocitārās masas + 2 ml Cellbind LISS (**REF** K7100, **REF** K7110 vai **REF** K7130))
2. 200  $\mu$ l 3% Sanquin paneļa vai Sanquin reaģenta eritrocītu suspensija + 1 ml Cellbind DILUENT (**REF** K7180)

#### Cellbind Centrifuge darbības procedūra

Lai izmantotu Hettich centrifuge Cellbind kartēm, ir jāveic šādas darbības:

1. ievietojiet Cellbind Rotor atbilstoši Hettich ekspluatācijas rokasgrāmatai;
2. centrifūga atpazīst rotoru un tā tiek automātiski ieprogrammēta atbilstoši Cellbind protokolam;
3. lai izpildītu Cellbind testa procedūrās minēto centrifugēšanas soli, ir jānospiež "sākt", un centrifūga griezīsies 3 soļos:
  - 0-2 minūtes 75 rcf 780 apgr./min.
  - 2-3 minūtes 200 rcf 1280 apgr./min.
  - 3-10 minūtes 1790 rcf 3840 apgr./min.
4. pēc centrifugēšanas var atvērt vāku un izņemt kartes.

#### Testa procedūras

Ļaujiet reaģentu temperatūrai sasniegt istabas temperatūras līmeni (18-25 °C). Neizmantojiet Cellbind Screen kartes, kuru gēla matricā ir redzami gaisa burbuļi, kurām ir bojāti blīvējumi vai ir redzamas izžūšanas pazīmes (nevienmērīgs šķidrums līmenis virs gēla matricas vai pilnīgs šķidrums zudums).

#### Antivienu noteikšana un identifikācija

1. Noņemiet pārseguma strēmelīti no nepieciešamā kolonnu skaita.
2. Pievienojiet 40-50  $\mu$ l 0,5% parauga šūnu eritrocītu suspensijas inkubācijas nodaļījumā.
3. Pievienojiet tādu pašu daudzumu (40-50  $\mu$ l) plazmas vai seruma inkubācijas nodaļījumā.
4. Inkubējiet 15 minūtes 37 °C temperatūrā Cellbind Incubator.
5. Ievietojiet kartes Cellbind Centrifuge (10 minūtes). Centrifugēšanas parametri jau tika ieprogrammēti.
6. Nolasiet reakcijas.

#### Asins grupas antigēnu tipa noteikšana

1. Noņemiet pārseguma strēmelīti no nepieciešamā kolonnu skaita.
2. Pievienojiet 40-50  $\mu$ l 0,5% pacienta vai donora šūnu eritrocītu suspensijas inkubācijas nodaļījumā.
3. Pievienojiet 20  $\mu$ l Sanquin asins grupas noteikšanas reaģenta inkubācijas nodaļījumā.  
Piezīme: apstiprināto Sanquin asins grupas noteikšanas reaģentu saraksts ir pieejams vietnē [www.cellbind.nl](http://www.cellbind.nl). Dažiem no šiem reaģentiem ir nepieciešams papildu inkubācijas solis, kas ir norādīts šajā sarakstā. Cita tipa noteikšanas reaģenta izmantošana var radīt neprecīzus rezultātus un tādēļ tie ir jāapstiprina lietotājam.
4. Ievietojiet kartes Cellbind Centrifuge (10 minūtes). Centrifugēšanas parametri jau tika ieprogrammēti.
5. Nolasiet reakcijas.

#### Grupu noteikšana pretējā virzienā

1. Noņemiet pārsedzošo sloksni no nepieciešamā kolonnu skaita.
2. Pievienojiet 40-50  $\mu$ l 0,5% reaģenta eritrocītu suspensijas inkubācijas nodaļījumā.
3. Pievienojiet tādu pašu plazmas tilpumu (40-50  $\mu$ l) inkubācijas nodaļījumā.
4. Ievietojiet kartes Cellbind Centrifuge (10 minūtes). Centrifugēšanas parametri jau ir ieprogrammēti.
5. Nolasiet reakcijas rezultātus.

#### *Modificētais tiešais antiglobulīna tests (DAT)*

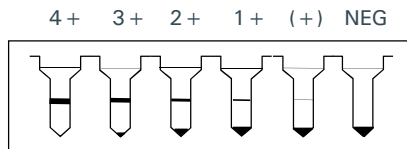
1. Noņemiet pārseguma strēmelīti no nepieciešamā kolonnu skaita.
2. Pievienojiet vienu pilienu (40-50  $\mu$ l) 0,5% pacienta eritrocītu suspensijas inkubācijas nodalījumā.
3. Ievietojiet kartes Cellbind Centrifuge (10 minūtes). Centrifugēšanas parametri jau tika ieprogrammēti.
4. Nolasiet reakcijas.

#### *Krusteniskās saderības prove*

1. Noņemiet pārseguma strēmelīti no nepieciešamā kolonnu skaita.
2. Pievienojiet 40-50  $\mu$ l 0,5% donora eritrocītu suspensijas inkubācijas nodalījumā.
3. Pievienojiet tādu pašu daudzumu (40-50  $\mu$ l) pacienta plazmas vai seruma inkubācijas nodalījumā.
4. Inkubējiet 15 minūtes 37 °C temperatūrā Cellbind Incubator.
5. Ievietojiet kartes Cellbind Centrifuge (10 minūtes). Centrifugēšanas parametri jau tika ieprogrammēti.
6. Nolasiet reakcijas.

#### **Interpretācija**

Pozitīvas reakcijas gadījumā eritrocīti tiks uztverti gēla matricas augšējā slānī. Negatīvas reakcijas gadījumā mikrokolonnas apakšā būs redzams tikai atsevišķs eritrocītu punktiņš. Rezultātā iegūtie reakcijas parametri ir parādīti attēlā:



Gēla matricas augšējā līmenī uztverto eritrocītu daudzums būs atkarīgs no tādiem parametriem kā eritrocitāro antigēnu blīvums un antivielu titrs un afinitāte. To arī nosaka otrās centrifugēšanas fāzes ilgums un centrifugēšanas spēks trešajā fāzē. Tādēļ arī šūnas parādīsies mikrokolonnas apakšā, ja reakcija ir vājāka nekā 4+. Tāda paša shēma būs redzama jauktu lauku reakcijās.

#### *Antivielu noteikšana un identifikācija*

Pozitīvas reakcijas norāda uz eritrocitāro antivielu klātbūtni plazmā vai serumā. Negatīvas reakcijas norāda uz eritrocitāro antivielu neesamību. Pozitīva automātiskā kontrole norāda uz automātisko antivielu klātbūtni.

#### *Asins grupas antigēnu tipa noteikšana*

Pozitīvas reakcijas ar asins grupas noteikšanas reaģentiem norāda uz attiecīgo antigēnu klātbūtni eritrocītos. Negatīvas reakcijas ar asins grupas noteikšanas reaģentiem norāda uz to, ka attiecīgo antigēnu klātbūtni eritrocītos nevar noteikt.

#### *Grupu noteikšana pretējā virzienā*

Pozitīvas reakcijas ar reaģenta eritrocītiem norāda uz atbilstošu alogēno antivielu klātbūtni. Negatīva reakcija norāda, ka atbilstošo alogēno antivielu klātbūtni nevar noteikt.

#### *Modificētais tiešais antiglobulīna tests (DAT)*

Pozitīvas reakcijas norāda uz eritrocītu *in vivo* pārklāšanos ar antivielām un/vai komplementa komponentiem.

#### *Krusteniskās saderības prove*

Pozitīvas reakcijas norāda uz donora asiņu nesaderību ar saņēmēja asinīm. Negatīvas reakcijas norāda uz donora asiņu saderību ar saņēmēja asinīm.

#### **Ierobežojumi**

Negaidīti pozitīvi rezultāti, ko izraisa: pseidoaglutinācija, autoaglutinācija, jaukto lauku reakcija, noteikti medikamenti, pārāk augsta eritrocītu koncentrācija vai eritrocītu *in vivo* sensibilizācija ar antivielām un/vai komplementu komponentiem. Negaidīti negatīvi vai vāji rezultāti, ko izraisa: vāji antigēni, vājas antivielas, zemi antivielu titri, jaukto lauku reakcija vai reaģentu samazināta aktivitāte, nepietiekama eritrocītu suspensijas un plazmas, seruma vai reaģenta mijiedarbība inkubācijas nodalījumā un/vai priekšlaicīga inkubācijas nodalījuma satura un augsta blīvuma vides mijiedarbība. Kļūdaini pozitīvi vai kļūdaini negatīvi rezultāti vai parādīties gaisa burbuļu klātbūtnes dēļ gēla matricā, testa materiālu kontaminācijas vai novirzes no ieteiktās metodes dēļ. Izmantojot ļoti hemolītiskus paraugus, var rasties nespecifiskas reakcijas. Ja paraugs satur fibrīna aplikumus, centrifugēšanas laikā var ieķerties nesensibilizētas šūnas, radot plānu sarkanu līniju gēla matricas augšpusē.

#### **Izmantotā literatūra**

1. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6<sup>th</sup> ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issit P.D.; Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> 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, 9<sup>th</sup> ed. Blackwell, Oxford, 1993.

*Tiek garantēts, ka Sanguin izstrādājumi darbosies atbilstoši oriģinālajās ražotāja instrukcijās aprakstītajam. Ir svarīga stingra procedūru, testa izkārtojumu ievērošana, ieteikto reaģentu un aprīkojuma izmantošana. Sanguin neuzņemas atbildību gadījumos, kad šie noteikumi netiek ievēroti.*