

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 (no)

Kun til profesjonelt bruk

Mikrokolonnetest til bestemmelse eller identifikasjon av erytrocyttantistoffer og/eller blodtypebestemmelse

Generell informasjon

Cellbind Screen-analysen er et mikrokolonne-testsystem, der sensibiliserte erytrocytter fra en suspensjon fanges av en gelmatrise som inneholder anti-IgG, anti-IgM og anti-C3d i et utvidet medium med høy tetthet. Hvert skjermkort består av seks mikrokolonner som inneholder gelen i et medium med høy tetthet. Cellbind Screen er tiltenkt å skulle brukes for deteksjon eller identifikasjon av erytrocyttantistoffer, i tillegg til blodtypebestemmelse, kryssmatching og modifisert direkte antiglobulintest (DAT, for deteksjon av *in vivo* coating av erytrocytter med antistoffer og komplementkomponenter). Cellbind Screen er velegnet til bruk i både manuelle og (halv)automatiserte systemer. Cellbind Screen-analysen oppfylder kravene til gjeldende standarder og retningslinjer. Ytelsesegenskaper er nevnt i utgivelsesdokumentene, som leveres sammen med produktet etter forespørsel. Testen er basert på immunofisering av sensibiliserte erytrocytter i en mikrokolonne, som inneholder en gelmatrise. Cellesuspensjonen tilføres inkubasjonskammeret i mikrokolonnen sammen med det plasmaet, serumet eller den blodtypereagensen som skal testes. Under inkubasjonsfasen vil antigen-positive erytrocytter binde de korresponderende anti-erytrocyttantistoffene som er til stede i plasmaet, serumet eller reagensen. Deretter utsettes kortene for tre faser med sentrifugering. I den første fasen vil høytetthetsmediet føre til separasjon av erytrocyttene fra plasmaet, serumet eller reagensen. I den andre fasen agglutineres sensibiliserte erytrocytter og fanges øverst i gelmatrisen i mikrokolonnen, mens i den tredje fasen vil ikke-sensibiliserte og veldig svakt sensibiliserte erytrocytter bevege seg mot bunnen av mikrokolonnen. Det anbefales sterkt å ta med positive og negative kontroller med hver serie av blodtypebestemmelser.

Forsiktighetsregler

Kun til *in vitro*-diagnose. Cellbind Screen-kort skal oppbevares i den originale isoporboksen ved 2-8 °C. Lukk boksen etter bruk. Cellbind Screen-kort skal oppbevares stående. Hvis ikke dette er mulig skal de oppbevares stående i ca. 15 minutter før bruk, så gelmatrisen kan sette seg igjen. Ikke bruk Cellbind Screen-kort med tegn på uttørking (dvs. ujevnt nivå av høytetthetsmedium i mikrokolonnene på ett kort eller lave nivåer av høytetthetsmedium i kolonnene), tegn på kondensasjon (dvs. dråper i inkubasjonskammeret eller på undersiden av dekkstrimlene), skadede dekkstrimler eller luftbobler i høytetthetsmediet eller gelmatrisen. Luftbobler i enten høytetthetsmediet eller gelmatrisen, som har oppstått under transport, kan i de fleste tilfeller fjernes ved å rotere de forseglede Cellbind Screen-kortene i Cellbind Centrifuge før bruk. Cellbind Screen-kort må ikke brukes etter den utløpsdatoen som er trykket på etikettene til kortene. Etter å ha avlest resultatene kan kortene dekkkes til og oppbevares i oppreist stilling ved 2-8 °C i opptil 1 uke. Kloramfenikol <0,1% benyttes som konserveringsmiddel. Reagentene kan ikke antas å være fri for smittefarlige stoffer. Vær forsiktig ved bruk og avfallshåndtering av beholderne og innholdet i dem. Avfallshåndtering etter at testen er fullført skal utføres i henhold til ditt laboratories regler.

Prøvetakning og preparering

Prøve:

Blodprøver skal tas aseptisk med eller uten tilsetning av antikoagulanter. Det anbefales sterkt å sentrifugere blodinnsamlingsglassene ved 3000 rcf (relativ sentrifugalkraft) før innsamling av serumprøver (10 minutter) eller plasmaprøver (5 minutter) for å unngå falske positive reaksjoner. Innsamling av serum- eller plasmaprøver skal utføres med en pipette og ikke ved å tømme plasmaet eller serumet. Plasma- eller serumprøvene skal være fri for hvite blodlegemer, gelfragmenter og/eller fibrinrester for å unngå blokkering av gelmatrisen. Til deteksjon eller identifikasjon av erytrocyttantistoffer anbefales det å bruke friskt plasma eller serum (brukt innen 48 timer etter prøvetakingen). Serum- eller plasmaprøver som ikke testes umiddelbart, kan oppbevares i 48 timer ved 2-8 °C eller lengre ved <-18 °C. Det anbefales å sentrifugere serum- eller plasmaprøvene etter tining i 5 minutter ved 3000 rcf før testing for å fjerne eventuelt bunnfall. Til den modifiserte direkte antiglobulintesten skal det benyttes friskt blod, (brukt innen 48 timer etter prøvetakingen), helst tatt i EDTA for å forhindre *in vitro*-coating av erytrocytter med komplementkomponenter. Plasma er ikke velegnet til deteksjon av komplementbindende antistoffer, idet antikoagulanter vil forhindre komplementaktivering.

Reagenser:

Cellbind Screen	REF K7000	: Eske med 48 kort med 6 mikrokolonner i hver.
Cellbind LISS	REF K7100	: Inkuberingsmedium til forberedelse av 0,5% erytrocytt suspensjoner for pasient- eller donorerytrocytter (250 ml).
	REF K7110	: Inkuberingsmedium til forberedelse av 0,5% erytrocytt suspensjoner for pasient- eller donorerytrocytter (100 ml).
	REF K7130	: Fortynningsmedium til forberedelse av 0,5% erytrocytt suspensjoner for pasient- eller donorerytrocytter (25 ml).
Cellbind DILUENT	REF K7180	: Fortynningsmedium til forberedelse av 0,5% erytrocytt suspensjoner fra 3% Sanquin-paneler eller Sanquin reagente erytrocytt suspensjoner (100 ml).
Cellbind P2	REF K7200	: (2 x 10 ml) 0,5% reagente erytrocytt suspensjoner til deteksjon av erytrocyttantistoffer.
Cellbind P3	REF K7210	: (3 x 10 ml) 0,5% reagente erytrocytt suspensjoner til deteksjon av erytrocyttantistoffer.

Cellbind P3-P (papain)	REF K7211	: (3 x 10 ml) papain-behandlede 0,5% reagente erythrocyttsuspensjoner til deteksjon av erythrocyttantistoffer.
Cellbind ID16	REF K7230	: (16 x 3 ml) 0,5% reagente erythrocyttsuspensjoner til identifikasjon av erythrocyttantistoffer.
Cellbind ID16-P (papain)	REF K7231	: (16 x 3 ml) papain-behandlede 0,5% reagente erythrocyttsuspensjoner til identifikasjon av erythrocyttantistoffer.
Cellbind A ₁ reagent red cells	REF K7240	: 0,5% reagent erythrocyttsuspensjon til deteksjon av anti-A-antistoffer.
Cellbind A ₂ reagent red cells	REF K7241	: 0,5% reagent erythrocyttsuspensjon til bruk som positiv eller negativ kontroll.
Cellbind B reagent red cells	REF K7242	: 0,5% reagent erythrocyttsuspensjon til deteksjon av anti-B-antistoffer.
Cellbind O, D-positive reagent red cells	REF K7243	: 0,5% reagent erythrocyttsuspensjon til bruk som positiv eller negativ kontroll.

Materialer:

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

Erythrocyttsuspensjoner:

1. Til bestemmelse, kryssmatch, modifisert direkte antiglobulintest og autokontroll må det klargjøres en 0,5% suspensjon av pasient- eller donorerythrocytter i Cellbind LISS (**REF** K7100 **REF** K7110 eller **REF** K7130).
2. Til antistoffdeteksjon eller -identifisering må Sanquin-paneler (0,5% eller 3,0%) eller reagente erythrocyttsuspensjoner brukes. Det anbefales å bruke bruksklare 0,5% Cellbind-paneler eller Cellbind-reagente erythrocyttsuspensjoner. Hvis det benyttes 3% Sanquin-paneler eller Sanquin reagente erythrocyttsuspensjoner, må en 0,5% suspensjon i Cellbind DILUENT (**REF** K7180) forberedes i overensstemmelse med forberedelsesprotokollen nedenfor. Ved bruk av andre paneler eller reagente erythrocytter er brukervalidering påkrevd.

Merk: Denne protokollen kan ikke anvendes på celler som er behandlet med enzymer (**REF** K1384 og **REF** K1393). Hvis det er behov for å teste med enzymbehandlede celler må Cellbind P3-P (**REF** K7211) eller Cellbind ID16-P (**REF** K7231) benyttes.

Forberedelse av 0,5% erythrocyttsuspensjon.

1. 11 µl pakkede pasient- eller donorerythrocytter + 2 ml Cellbind LISS (**REF** K7100, **REF** K7110 eller **REF** K7130)
2. 200 µl 3% Sanquin-panel eller Sanquin reagent erythrocyttsuspensjon + 1 ml Cellbind DILUENT (**REF** K7180)

Arbeidsprosedyre for Cellbind Centrifuge

For å bruke en Hettich centrifuge for Cellbind-kort må man utføre følgende trinn:

1. Sett Cellbind Rotor i overensstemmelse med Hettich-bruksanvisningen.
2. Rotoren gjenkjennes av sentrifugen og programmeres automatisk i henhold til Cellbind-protokollen.
3. Til sentrifugeringsprosedyren som er nevnt i Cellbind-testprosedyren nedenfor skal man kun trykke på "start", og sentrifugen vil så rotere i følgende tre trinn:
 - 0-2 minutter 75 rcf 780 rpm (o/min)
 - 2-3 minutter 200 rcf 1280 rpm
 - 3-10 minutter 1790 rcf 3840 rpm
4. Etter sentrifugeringen kan lokket åpnes og kortene tas ut.

Testprosedyrer

La alle reagensene nå romtemperatur (18-25 °C). Ikke bruk Cellbind Screen-kort med synlige luftbobler i gelmatrisen, brutte forseglinger eller med tegn på uttørring (ujevnt eller ikke noe væsknivå over gelmatrisen).

Antistoffdeteksjon eller identifisering

1. Fjern dekkstrimlen fra ønsket antall kolonner.
2. Tilsett 40-50 µl av 0,5%-erythrocyttsuspensjonen med testceller i inkubasjonskammeret.
3. Tilsett samme volum (40-50 µl) med plasma eller serum til inkubasjonskammeret.
4. Inkuber i 15 minutter ved 37 °C i Cellbind Incubator.
5. Sett kortene i Cellbind Centrifuge (10 minutter). Sentrifugeparametrene er allerede programmert.
6. Avles reaksjonene.

Bestemmelse av blodtypeantigener

1. Fjern dekkstrimmelen fra ønsket antall kolonner.
2. Tilsett 40-50 µl av 0,5%-erythrocyttsuspensjonen med pasient- eller donorceller i inkubasjonskammeret.
3. Tilsett 20 µl av Sanquin blodtypereagens i inkubasjonskammeret.

Merk: En liste over validerte blodtypereagenser fra Sanquin er tilgjengelig på nettsiden www.cellbind.nl. For noen av disse reagensene er det nødvendig med et ekstra inkubasjonstrinn som vises i denne listen. Bruken av alle andre typereagenser kan føre til avvikende resultater og bør derfor valideres av brukeren.
4. Sett kortene i Cellbind Centrifuge (10 minutter). Sentrifugeparametrene er allerede programmert.
5. Avles reaksjonene.

Revers bestemmelse

1. Fjern dekkstrimmelen fra det ønskede antall kolonner.
2. Tilsett 40-50 µl av 0,5% erythrocyttsuspensjonen av reagente erythrocytter i inkubasjonskammeret.
3. Tilsett samme volum (40-50 µl) av plasma i inkubasjonskammeret.
4. Sett kortene i Cellbind Centrifuge (10 minutter). Sentrifugeparametrene er allerede programmert.
5. Avles reaksjonene.

Modifisert Direkte Antiglobulintest (DAT)

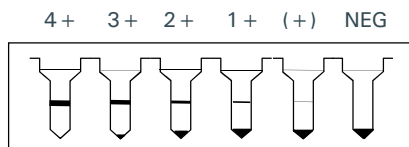
1. Fjern dekkstrimmelen fra ønsket antall kolonner.
2. Tilsett en dråpe (40-50 μ l) av 0,5%-erytrocytt suspensjonen av pasientens celler i inkubasjonskammeret.
3. Sett kortene i Cellbind Centrifuge (10 minutter). Sentrifugeparametrene er allerede programmert.
4. Avles reaksjonene.

Kryssmatch

1. Fjern dekkstrimmelen fra ønsket antall kolonner.
2. Tilsett 40-50 μ l av 0,5%-erytrocytt suspensjonen med donorens erytrocytter i inkubasjonskammeret.
3. Tilsett samme volum (40-50 μ l) med pasientplasma eller serum til inkubasjonskammeret.
4. Inkuber i 15 minutter ved 37 °C i Cellbind Incubator.
5. Sett kortene i Cellbind Centrifuge (10 minutter). Sentrifugeparametrene er allerede programmert.
6. Avles reaksjonene.

Tolkning

I positive reaksjoner vil erytrocytter bli fanget i det øverste laget til gelmatrisen. I negative reaksjoner ses kun en diskret knapp av erytrocytter i bunnen av mikrokolonnen. De resulterende reaksjonsmønstrene vises i figuren:



Mengden erytrocytter som er fanget øverst i gelmatrisen avhenger av parametre som f. eks. antigen tettheten til erytrocyttene, og antistoffets titer og affinitet. Den bestemmes også av varigheten av den andre sentrifugeringsfasen og sentrifugeringskraften under tredje fase.

Derfor vil cellene også vises på bunnen av mikrokolonnen hvis reaksjonen er svakere enn 4+. Det samme mønsteret vil vises i mixed field-reaksjoner.

Antistoffdeteksjon eller identifisering

Positive reaksjoner indikerer tilstedeværelse av erytrocyttantistoffer i plasmaet eller serumet. Negative reaksjoner indikerer fravær av erytrocyttantistoffer. En positiv autokontroll indikerer tilstedeværelse av autoantistoffer

Bestemmelse av blodtypeantigener

Positive reaksjoner med blodtypereagenser indikerer tilstedeværelse av de korresponderende antistoffene på erytrocyttene. Negative reaksjoner med blodtypereagenser indikerer at tilstedeværelse av de korresponderende antistoffene på erytrocyttene ikke kan oppdages.

Revers bestemmelse

Positive reaksjoner med reagent erytrocytter indikerer tilstedeværelsen av det korresponderende alloantistoff. En negativ reaksjon indikerer at tilstedeværelsen av det korresponderende alloantistoffet ikke kan påvises.

Modifisert Direkte Antiglobulintest (DAT)

Positive reaksjoner indikerer *in vivo*-coating av erytrocytter med antistoffer og/eller komplementkomponenter.

Kryssmatch

Positive reaksjoner indikerer inkompatibilitet mellom donorblodet og mottakeren. Positive reaksjoner indikerer kompatibilitet mellom donorblodet og mottakeren.

Begrensninger

Uventede resultater som skyldes: pseudoagglutinasjon, autoagglutinasjon, blandet feltreaksjon, visse medikamenter, for høye erytrocyttkonsentrasjoner eller erytrocytter som er sensibilisert *in vivo* med antistoffer og/eller komplementkomponenter. Uventede negative eller svake resultater som skyldes: svake antigener, svake antistoffer, lave titer med antistoffer, mixed field-reaksjon, nedsatt aktivitet i reagenser, utilstrekkelig interaksjon mellom erytrocytt suspensjonen og plasmaet, serumet eller reagenten i inkubasjonskammeret og/eller prematur interaksjon mellom innholdet i inkubasjonskammeret og høy tetthetsmediet. Falske positive eller falske negative resultater kan forekomme på grunn av tilstedeværelse av luftbobler i gelmatrisen, kontaminering av testmaterialene, eller avvik fra den anbefalte teknikken. Når det benyttes sterke hemolytiske prøver kan ikke-spesifikke reaksjoner oppstå. Hvis en prøve inneholder fibrinrester, kan det føre til at ikke-sensibiliserte celler fanges under sentrifugering, noe som resulterer i en tynn, rød linje øverst i gelmatrisen.

Referanser

1. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issitt 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.

Det garanteres at produkter fra Sanquin virker som beskrevet i produsentens originale bruksanvisning. Det er meget viktig at prosedyrer, testoppstillinger og anbefalte reagenser og utstyr benyttes. Sanquin fraskriver seg ett hvert ansvar som måtte oppstå fra avvik fra dette.