

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 (pl)

Wylącznie do użytku profesjonalnego

Test na mikrokolumnach do wykrywania lub identyfikacji przeciwciał przeciw krwinkom czerwonym, a także do oznaczania grup krwi

Informacje ogólne

Cellbind Screen jest systemem testowania powinowactwa z użyciem mikrokolumny, w którym uczulone krwinki czerwone z zawiesiny są wychwytywane przez żelową macierz, zawierającą anty-IgG, anty-IgM oraz anty-C3d na podłożu wzmacniającym o dużej gęstości. Każda karta testowa składa się z sześciu mikrokolumn, zawierających żel w podłożu o dużej gęstości. Cellbind Screen jest przeznaczony do wykrywania lub identyfikacji przeciwciał przeciw krwinkom czerwonym, a także do oznaczania grup krwi, próby krzyżowej oraz zmodyfikowanego bezpośredniego testu antyglobulinowego (DAT; do wykrywania krwinek czerwonych *in vivo* opłaszczonych przeciwciałami i składnikami dopełniacza). Cellbind Screen można stosować zarówno w systemach ręcznych, jak i (pół-)automatycznych. Odczyn Cellbind Screen spełnia wymagania odpowiednich norm i wytycznych. Charakterystyki działania są opisane w dokumentach dopuszczenia do obrotu, które na prośbę klienta mogą być dostarczone wraz z produktem. Test oparty jest na technice immunofiksacji uczulonych czerwonych krwinek w mikrokolumnie zawierającej macierz żelową. Zawieszoną komórkową dodaje się do przedziału inkubacyjnego mikrokolumny wraz z przeznaczonym do testowania osoczem, surowicą lub odczynnikiem do serologii grup krwi. W fazie inkubacji posiadające antygen krwinki czerwone zwiążą odpowiednie, skierowane przeciw nim przeciwciała, znajdujące się w osoczu, surowicy lub odczynniku. Następnie karty poddawane są wirowaniu w trzech fazach. W fazie pierwszej podłożo o dużej gęstości spowoduje oddzielenie krwinek czerwonych od osocza, surowicy lub odczynnika. W fazie drugiej uczulone krwinki czerwone ulegną aglutynacji i zostaną wychwycone w górnej części macierzy żelowej mikrokolumny, do której wykazują powinowactwo, natomiast w fazie trzeciej nieuczulone i słabo uczulone krwinki czerwone będą się przemieszczać w kierunku dna mikrokolumny. Zdecydowanie zaleca się zastosowanie kontroli dodatniej i ujemnej w każdej serii oznaczania grup krwi.

Środki ostrożności

Stosować jedynie w diagnostyce *in vitro*. Karty Cellbind Screen należy przechowywać w oryginalnym pudle styropianowym w temperaturze od 2-8 °C. Pudło zamknąć po wykorzystaniu. Karty Cellbind Screen należy przechowywać ustawione pionowo w temperaturze. Jeżeli tak nie postąpiono, to na 15 minut przed użyciem należy je ustawić w pozycji pionowej, aby umożliwić ponowne osadzenie się macierzy żelowej. Nie wolno używać kart Cellbind Screen, które wykazują cechy wysuszenia (tj. nierówny poziom podłoża o dużej gęstości w mikrokolumnach jednej karty lub niskie poziomy podłoża o dużej gęstości w kolumnach), cechy kondensacji (np. kropki w przedziale inkubacyjnym lub na spodniej stronie pasków przykrywających), uszkodzenie pasków przykrywających lub obecność pęcherzyków powietrza w podłożu o dużej gęstości lub w macierzy żelowej. Pęcherzyki powietrza w podłożu o dużej gęstości lub w żelowej macierzy, które dostały się tam w czasie transportu, można w większości przypadków usunąć poprzez odwirowanie zapieczętowanych kart Cellbind Screen przed ich użyciem w wirówce Cellbind Centrifuge. Kart Cellbind Screen nie wolno używać po upływie terminu ważności, który jest wydrukowany na etykietce kart. Po odczytaniu wyników karty można przykryć i przechowywać w pozycji pionowej w temperaturze 2-8 °C nie dłużej niż przez jeden tydzień. Środkiem konserwującym jest <0,1% chloramfenikol. Odczynniki są potencjalnie zakaźne. Należy zachować szczególną ostrożność podczas stosowania produktu i usuwania jego pozostałości oraz opakowań po produkcie. Po zakończeniu testu wszelkie pozostałości niewykorzystanego produktu należy usunąć w sposób zgodny z przepisami laboratorium, w którym test przeprowadzano.

Pobieranie i przygotowywanie materiału

Material:

Próbki krwi powinny być pobierane w sposób aseptyczny z/lub bez dodatku antykoagulantów. Zdecydowanie zaleca się odwirowanie próbek do pobierania próbek krwi z prędkością 3000 rcf (względne przyspieszenie odśrodkowe) przed zebraniem próbek surowicy (przez 10 minut) lub osocza (przez 5 minut) w celu zapobieżenia odczynom fałszywie dodatnim. Zbieranie próbek surowicy lub osocza należy przeprowadzać za pomocą pipety, nie poprzez przelewanie osocza lub surowicy. Próbki osocza lub surowicy nie powinny zawierać białych krwinek, fragmentów żelu i/lub złogów włóknika, aby uniknąć zablokowania żelowej macierzy. W celu wykrycia lub identyfikacji przeciwciał przeciwko krwinkom czerwonym zaleca się stosowanie świeżego osocza lub surowicy (do 48 godzin od pobrania). Próbki surowicy lub osocza, które nie zostały zbadane natychmiast, można przechowywać przez 48 godzin w temperaturze 2-8 °C lub przez dłuższy czas w temperaturze niższej niż -18 °C. Zaleca się, aby przed testowaniem, w celu usunięcia wszelkich osadów, próbki surowicy lub osocza po ich rozmrożeniu wirować przez 5 minut z prędkością 3000 rcf. Do zmodyfikowanego bezpośredniego testu antyglobulinowego należy używać świeżej krwi (do 48 godzin od pobrania), najlepiej pobranej do EDTA, aby zapobiec opłaszczeniu *in vitro* krwinek czerwonych składnikami dopełniacza. Osocze nie nadaje się do wykrywania przeciwciał wiążących dopełniacz, gdyż antykoagulanty będą hamowały aktywację dopełniacza.

Odczynniki:

- | | | |
|-----------------|------------------|--|
| Cellbind Screen | REF K7000 | : pudło zawierające 48 kart (6 mikrokolumn w każdej karcie) |
| Cellbind LISS | REF K7100 | : podłożo inkubacyjne do przygotowywania 0,5% zawiesiny krwinek czerwonych z krwinek czerwonych pochodzących od pacjenta lub dawcy (250 ml). |
| | REF K7110 | : podłożo inkubacyjne do przygotowywania 0,5% zawiesiny krwinek czerwonych z krwinek czerwonych pochodzących od pacjenta lub dawcy (100 ml). |

	REF K7130	:	podłoże inkubacyjne do przygotowywania 0,5% zawiesiny krwinek czerwonych z krwinek czerwonych pochodzących od pacjenta lub dawcy (25 ml).
Cellbind DILUENT	REF K7180	:	podłoże inkubacyjne do przygotowania 0,5% zawiesiny krwinek czerwonych z 3% paneli Sanquin lub zawiesiny krwinek czerwonych z odczynnika Sanquin (100 ml).
Cellbind P2	REF K7200	:	(2 x 10 ml) 0,5% zawiesina wzorcowych krwinek czerwonych do wykrywania przeciwciał przeciwko krwinkom czerwonym.
Cellbind P3	REF K7210	:	(3 x 10 ml) 0,5% zawiesina wzorcowych krwinek czerwonych do wykrywania przeciwciał przeciwko krwinkom czerwonym.
Cellbind P3-P (papain)	REF K7211	:	(3 x 10 ml) 0,5% zawiesina wzorcowych krwinek czerwonych wobec, których zastosowano papainę, do wykrywania przeciwciał przeciwko krwinkom czerwonym.
Cellbind ID16	REF K7230	:	16 x 3 ml) 0,5% zawiesina wzorcowych krwinek czerwonych do identyfikacji przeciwciał krwinek czerwonych.
Cellbind ID16-P (papain)	REF K7231	:	(16 x 3 ml) 0,5% zawiesina wzorcowych krwinek czerwonych, wobec których zastosowano papainę, do identyfikacji przeciwciał krwinek czerwonych.
Cellbind A1 reagent red cells	REF K7240	:	0,5% zawiesina wzorcowych krwinek czerwonych do wykrywania przeciwciał anti-A
Cellbind A2 reagent red cells	REF K7241	:	0,5% zawiesina wzorcowych krwinek czerwonych do stosowania jako kontrola dodatnia lub ujemna.
Cellbind B reagent red cells	REF K7242	:	0,5% zawiesina wzorcowych krwinek czerwonych do wykrywania przeciwciał anti-B.
Cellbind O, D- reagent red cells	REF K7243	:	0,5% zawiesina wzorcowych krwinek czerwonych do stosowania jako kontrola dodatnia lub ujemna

Inne materiały:

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

Zawiesiny krwinek czerwonych:

- Do oznaczania grup krwi, prób krzyżowych, zmodyfikowanego bezpośredniego testu antyglobulinowego i autokontroli musi zostać przygotowana 0,5% zawiesina krwinek czerwonych z krwinek czerwonych pochodzących od pacjenta lub dawcy w odczynniku Cellbind LISS (**REF** K7100, **REF** K7110 lub **REF** K7130).
- Do wykrywania lub identyfikacji przeciwciał muszą być używane panele lub zawiesiny wzorcowych krwinek czerwonych Sanguin (0,5% lub 3,0%). Zaleca się stosowanie gotowych 0,5% paneli Cellbind lub zawiesin wzorcowych krwinek czerwonych Cellbind. W przypadku stosowania 3% paneli Sanquin lub zawiesin wzorcowych krwinek czerwonych Sanquin konieczne jest przygotowanie 0,5% zawiesiny w odczynniku Cellbind DILUENT (**REF** K7180), zgodnie z protokołem przygotowania wskazanym poniżej. W przypadku stosowania innych paneli lub wzorcowych krwinek czerwonych konieczna jest walidacja przez użytkownika. Uwaga: protokołu nie wolno stosować do komórek, które wcześniej potraktowano enzymami (**REF** K1384 and **REF** K1393). Jeśli konieczne jest wykonanie testów z wykorzystaniem komórek potraktowanymi enzymami, należy zastosować odczynniki Cellbind P3-P (**REF** K7211) lub Cellbind ID16-P (**REF** K7231).

Przygotowywanie 0,5% zawiesiny krwinek czerwonych:

- 11 μ l koncentratu krwinek czerwonych pacjenta lub dawcy + 2 ml odczynnika Cellbind LISS (**REF** K7100, **REF** K7110 lub **REF** K7130)
- 200 μ l 3% paneli Sanquin lub wzorcowych krwinek czerwonych Sanquin + 1 ml odczynnika Cellbind DILUENT (**REF** K7180)

Obsługa wirówki Cellbind Centrifuge

Aby odwirować karty Cellbind za pomocą wirówki firmy Hettich, należy wykonać następujące czynności:

- Włożyć wirnik Cellbind Rotor zgodnie z instrukcją obsługi, dostarczoną przez firmę Hettich.
- Wirówka rozpoznaje wirnik; urządzenie programuje się automatycznie według protokołu Cellbind.
- Etap wirowania, opisany poniżej w procedurach testu Cellbind, wymaga tylko wciśnięcia przycisku „Start”, po którym wirówka rozpocznie pracę w 3 następujących etapach:
 - 0-2 minut 75 rcf 780 rpm (obr./min)
 - 2-3 minut 200 rcf 1280 rpm
 - 3-10 minut 1790 rcf 3840 rpm
- Po odwirowaniu można otworzyć pokrywę i wyjąć karty.

Procedury testu

Należy odczekać, aż wszystkie odczynniki osiągną temperaturę pokojową (18-25 °C). Nie używać kart Cellbind Screen, które wykazują obecność pęcherzyków powietrza w macierzy żelowej, nieszczelność lub oznaki wyschnięcia (nieregularny płyn lub brak płynu powyżej macierzy żelowej).

Wykrywanie lub identyfikacja przeciwciał

- Zdjąć pasek przykrywający z niezbędnej liczby kolumn.
- Dodać 40-50 μ l 0,5% zawiesiny testowych krwinek czerwonych do przedziału inkubacyjnego.
- Dodać do przedziału inkubacyjnego tę samą objętość (40-50 μ l) osocza lub surowicy.
- Inkubować przez 15 minut w temperaturze 37 °C w inkubatorze Cellbind Incubator.
- Włożyć karty do wirówki Cellbind Centrifuge (10 minut). Parametry wirowania zostały już zaprogramowane.

6. Odczytać wyniki reakcji.

Oznaczanie antygenów grup krwi

1. Zdjąć pasek przykrywający z niezbędnej liczby kolumn.
2. Dodać 40-50 μ l 0,5% zawiesiny krwinek czerwonych pacjenta lub dawcy do przedziału inkubacyjnego.
3. Dodać do przedziału inkubacyjnego 20 μ l odczynnika firmy Sanquin do oznaczania grup krwi.
Uwaga: Wykaz zwalidowanych odczynników firmy Sanquin do oznaczania grup krwi jest dostępny na stronie internetowej www.cellbind.nl. W przypadku niektórych z tych odczynników wymagany jest dodatkowy etap inkubacji, uwzględniony w wykazie. Użycie jakiegokolwiek innego odczynnika do oznaczania może prowadzić do uzyskania nieprawidłowych wyników i z tego względu powinno zostać zwalidowane przez użytkownika.
4. Włożyć karty do wirówki Cellbind Centrifuge (10 minut). Parametry wirowania zostały już zaprogramowane.
5. Odczytać wyniki reakcji.

Oznaczanie grup krwi metodą odwrotną

1. Zdjąć pasek przykrywający z niezbędnej liczby kolumn.
2. Dodać 40-50 μ l 0,5% zawiesiny wzorcowych krwinek czerwonych do przedziału inkubacyjnego.
3. Dodać taką samą objętość (40-50 μ l) osocza do przedziału inkubacyjnego.
4. Włożyć karty do wirówki Cellbind Centrifuge (10 minut). Parametry wirowania zostały już zaprogramowane.
5. Odczytać wyniki reakcji.

Zmodyfikowany bezpośredni test antyglobulinowy (DAT)

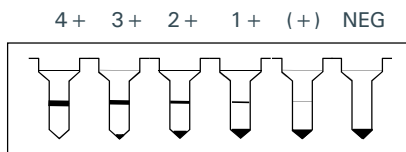
1. Zdjąć pasek przykrywający z niezbędnej liczby kolumn.
2. Dodać jedną kroplę (40-50 μ l) 0,5% zawiesiny krwinek czerwonych pacjenta do przedziału inkubacyjnego.
3. Włożyć karty do wirówki Cellbind Centrifuge (10 minut). Parametry wirowania zostały już zaprogramowane.
4. Odczytać wyniki reakcji.

Próba krzyżowa

1. Zdjąć pasek przykrywający z niezbędnej liczby kolumn.
2. Dodać 40-50 μ l 0,5% zawiesiny krwinek czerwonych dawcy do przedziału inkubacyjnego.
3. Dodać do przedziału inkubacyjnego tę samą objętość (40-50 μ l) osocza lub surowicy pacjenta.
4. Inkubować przez 15 minut w temperaturze 37 °C w inkubatorze Cellbind Incubator.
5. Włożyć karty do wirówki Cellbind Centrifuge (10 minut). Parametry wirowania zostały już zaprogramowane.
6. Odczytać wyniki reakcji.

Interpretacja

W reakcjach dodatnich krwinki czerwone zostaną wychwycone w górnej części żelowej macierzy. W reakcjach ujemnych widzialne będzie jedynie nieznaczne skupisko krwinek czerwonych na dnie mikrokolumny. Powstałe wzorce wyników reakcji zostały przedstawione na rycinie:



Ilość krwinek czerwonych wychwyconych w górnej części macierzy żelowej będzie zależna od takich parametrów, jak gęstość antygenowa krwinek czerwonych oraz miano i powinowactwo przeciwciała. Ilość uczulonych krwinek jest także determinowana przez czas trwania drugiej fazy wirowania oraz siłę wirowania podczas trzeciej fazy. Zatem jeżeli wynik reakcji jest słabszy niż 4+, krwinki pojawią się również na dnie mikrokolumny. Ten sam wzorec wystąpi w mieszanych reakcjach pola.

Wykrywanie lub identyfikacja przeciwciał

Reakcje dodatnie wskazują na obecność przeciwciał przeciwko krwinkom czerwonym w osoczu lub surowicy. Reakcje ujemne wskazują na brak przeciwciał przeciwko krwinkom czerwonym. Dodatni wynik autokontroli może wskazywać na obecność autoprzeciwciał.

Oznaczanie antygenów grup krwi

Dodatnie reakcje z odczynnikami do oznaczania grup krwi wskazują na obecność odpowiednich antygenów na powierzchni krwinek czerwonych. Ujemne reakcje z odczynnikami do oznaczania grup krwi wskazują, że nie można wykryć obecności odpowiednich antygenów na powierzchni krwinek czerwonych.

Oznaczanie grup krwi metodą odwrotną

Dodatnie reakcje z krwinkami wzorcowymi wskazują na obecność odpowiedniego alloprzeciwciała. Reakcja ujemna oznacza, że nie można wykryć obecności odpowiedniego alloprzeciwciała.

Zmodyfikowany bezpośredni test antyglobulinowy (DAT)

Dodatnie reakcje wskazują na opłaszczenie *in vivo* krwinek czerwonych przez przeciwciała i/lub składniki dopełniacza.

Próba krzyżowa

Dodatnie reakcje wskazują na niezgodność krwi dawcy z biorcą. Ujemne reakcje wskazują na zgodność krwi dawcy z biorcą.

Ograniczenia

Niespodziewane wyniki dodatnie z powodu: pseudoaglutynacji, autoaglutynacji, mieszanej reakcji pola, działania pewnych leków, zbyt dużego stężenia krwinek czerwonych lub obecności krwinek czerwonych uczulonych *in vivo* przeciwciałami i/lub składnikami dopełniacza. Niespodziewane wyniki ujemne lub wyniki słabo wyrażone z powodu: słabych antygenów, słabych przeciwciał, niskich mian przeciwciał, mieszanej reakcji pola, zmniejszonej aktywności odczynników, niewystarczającej interakcji zawiesiny krwinek czerwonych i osocza, surowicy lub odczynnika w przedziale inkubacyjnym i/lub przedwczesnej interakcji między zawartością przedziału inkubacyjnego i

podłożem o dużej gęstości. Wyniki fałszywie dodatnie lub fałszywie ujemne mogą mieć miejsce w rezultacie skażenia obecności pęcherzyków powietrza w macierzy żelowej, badanych materiałów lub innych odchyłeń od zalecanych technik. W przypadku użycia próbek z silną hemolizą mogą zachodzić reakcje nieswoiste. Jeżeli próbka zawiera złogi włókna, mogą one powodować uwięzienie nieuczulonych krwinek podczas wirowania, co skutkuje tworzeniem się wąskiej czerwonej linii na szczycie macierzy żelowej.

Literatura

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.

Gwarantujemy działanie produktów Sanquin w sposób opisany w oryginalnej instrukcji obsługi dostarczonej przez producenta. Istotne znaczenie ma ścisłe przestrzeganie procedur, układów testowych i używanie zalecanych odczynników oraz sprzętu. Fundacja Sanquin nie przyjmuje żadnej odpowiedzialności za jakiegokolwiek odchylenia od powyższych wymagań.