

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 (ro)

Doar pentru uz profesional

Test cu microtuburi pentru detectarea sau identificarea anticorpilor de celule roșii, ca și pentru stabilirea grupei sanguine

Informații generale

Analiza Cellbind Screen este un sistem de testare cu microtuburi, în care celulele roșii sensibilizate dintr-o suspensie sunt imobilizate într-o matrice cu gel care conține anti-IgG, anti-IgM și anti-C3d, într-un mediu de amplificare cu densitate ridicată. Fiecare card de monitorizare constă din șase microtuburi ce conțin gel într-un mediu cu densitate ridicată. Cellbind Screen este destinat pentru utilizare în detectarea sau identificarea anticorpilor de celule roșii, ca și pentru stabilirea grupei sanguine, evaluarea compatibilității încrucișate și testul pentru antiglobulină directă modificată (DAT, pentru detectarea *in vivo* a anticorpilor și componentelor complementare atașate pe celulele roșii). Cellbind Screen este adecvat pentru utilizarea în sisteme manuale, ca și în sisteme (semi-) automate. Analiza Cellbind Screen corespunde cerințelor privind standardele și instrucțiunile respective. Caracteristicile de performanță sunt menționate în documentele de punere pe piață, care sunt furnizate la cerere împreună cu produsul. Testul se bazează pe imunofixarea celulelor roșii sensibilizate într-un microtub ce conține o matrice cu gel. Suspensia celulară este adăugată în compartimentul de incubare al microtubului, împreună cu plasma, serul și reactivii pentru determinarea grupei sanguine pentru a fi analizată. Pe parcursul fazei de incubare, celulele roșii pozitive la antigenă vor lega anticorpul împotriva celulelor roșii prezente în plasmă, ser sau reactiv. După aceea, cardurile sunt supuse unei centrifugări în trei faze. În prima fază, mediul cu densitate ridicată va provoca separarea celulelor roșii de plasmă, ser sau reactiv. În a doua fază, celulele roșii sensibilizate vor fi aglutinate și imobilizate la suprafața matricei cu gel din microtub, iar în a treia fază celulele roșii nesensibilizate și cele foarte puțin sensibilizate se vor deplasa către partea de jos a microtubului. Se recomandă insistent includerea unor substanțe de control pozitive și negative cu fiecare serie de stabilire a grupei sanguine.

Atenție

Doar pentru *utilizare pentru* diagnosticare in vitro. Cellbind Screen cardurile vor fi depozitate în cutia originală din polistiren la 2-8°C. Închideți cutia după utilizare. Cellbind Screen cardurile trebuie depozitate în poziție verticală. În caz contrar, ele trebuie ținute în poziție verticală timp de aproximativ 15 minute înainte de utilizare, pentru a permite matricei cu gel să se așeze din nou. Nu se vor utiliza Cellbind Screen carduri care prezintă semne de uscare (ex. nivel inegal al mediului cu densitate ridicată în microtuburile unui card sau niveluri reduse ale mediului cu densitate ridicată în tuburi), semne de condensare (ex. picături în compartimentul de incubare sau sub benzile de acoperire), benzi de acoperire deteriorate sau bule de aer în mediul cu densitate ridicată sau în matricea de gel. Bulele de aer prezente în mediul cu densitate ridicată sau în matricea cu gel, introduse în timpul transportului, pot fi eliminate în majoritatea cazurilor prin centrifugarea cardurilor Cellbind Screen sigilate în Centrifuga Cellbind înainte de utilizare. Cellbind Screen cardurile nu vor fi utilizate după data de expirare, care este tipărită pe eticheta cardurilor. După citirea rezultatelor, cardurile pot fi acoperite și depozitate în poziție verticală la 2-8°C pentru o perioadă de maximum o săptămână. Cloramfenicol <0,1% este utilizat cu rol de conservant. Reactivii nu pot fi considerați lipsiți de agenți infecțioși. Trebuie manifestată precauție în ce privește utilizarea și eliminarea fiecărui recipient și a conținutului acestuia. Eliminarea deșeurilor, după încheierea testului, se va realiza conform reglementărilor laboratorului dumneavoastră.

Recoltarea și pregătirea specimenului

Specimen:

Probele de sânge trebuie recoltate în mod aseptice, cu sau fără adăugarea de anticoagulante. Se recomandă insistent ca eprubetele pentru colectarea sângelui să fie centrifugate la 3000 rcf înainte de colectarea probelor de sânge (timp de 10 minute) sau a probelor de plasmă (timp de 5 minute) pentru a preveni reacțiile fals pozitive. Colectarea probelor de plasmă sau ser trebuie efectuată utilizând o pipetă și nu prin turnarea plasmei sau serului. Probele de plasmă sau ser trebuie să rămână fără celule albe, fragmente de gel și/sau urme de fibrină pentru a evita blocarea matricei de gel. Pentru detectarea sau identificarea anticorpilor de celule roșii se recomandă utilizarea de plasmă sau ser proaspete (până la 48 de ore de la recoltare). Probele de ser sau de plasmă care nu sunt testate imediat pot fi depozitate timp de 48 de ore la 2-8°C sau pentru o perioadă mai lungă la <-18°C. După dezghețare, se recomandă centrifugarea probelor de ser sau plasmă timp de 5 minute la 3000 rcf înainte de testare, pentru a elimina orice precipitare. Pentru testul pentru antiglobulină directă modificată trebuie folosit sânge proaspăt (până la 48 de ore de la recoltare), recoltat de preferință în recipiente cu EDTA, pentru a preveni acoperirea *in vitro* a celulelor roșii cu componente complementare. Plasma nu este adecvată pentru detectarea anticorpilor care se leagă de complement, deoarece anticoagulantele vor inhiba activarea complementului.

Reactivi:

Cellbind Screen	REF K7000	: Cutie cu 48 de carduri a câte 6 microtuburi.
Cellbind LISS	REF K7100	: Mediu de diluare pentru prepararea suspensiei de celule roșii 0,5% din celulele roșii ale pacientului sau donatorului (250 ml).
	REF K7110	: Mediu de diluare pentru prepararea suspensiei de celule roșii 0,5% din celulele roșii ale pacientului sau donatorului (100 ml).
	REF K7130	: Mediu de diluare pentru prepararea suspensiei de celule roșii 0,5% din celulele roșii ale pacientului sau donatorului (25 ml).
Cellbind DILUENT	REF K7180	: Mediu de diluare pentru prepararea suspensiei de celule roșii 0,5% din suspensii 3% din plachete Sanquin sau celule roșii reactive Sanquin (100 ml).

Cellbind P2	REF K7200	: (2 x 10 ml) suspensie 0,5% din celule roșii reactive pentru detectarea anticorpilor de celule roșii.
Cellbind P3	REF K7210	: (3 x 10 ml) suspensie 0,5% din celule roșii reactive pentru detectarea anticorpilor de celule roșii.
Cellbind P3-P (papain)	REF K7211	: (3 x 10 ml) suspensie 0,5% din celule roșii reactive tratate cu papaină pentru detectarea anticorpilor de celule roșii.
Cellbind ID16	REF K7230	: (16 x 3 ml) suspensie 0,5% din celule roșii reactive pentru identificarea anticorpilor de celule roșii.
Cellbind ID16-P (papain)	REF K7231	: (16 x 3 ml) suspensie 0,5% din celule roșii reactive tratate cu papaină pentru identificarea anticorpilor de celule roșii.
Cellbind A ₁ reagent red cells	REF K7240	: suspensie 0,5% din celule roșii reactive pentru detectarea anticorpilor anti-A.
Cellbind A ₂ reagent red cells	REF K7241	: suspensie 0,5% din celule roșii reactive pentru utilizarea ca și control pozitiv sau negativ.
Cellbind B reagent red cells	REF K7242	: suspensie 0,5% din celule roșii reactive pentru detectarea anticorpilor anti-B.
Cellbind O, D-positive celule roșii reactive	REF K7243	: suspensie 0,5% din celule roșii reactive pentru utilizarea ca și control pozitiv sau negativ.

Materiale:

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

Suspensii de celule roșii:

1. Pentru clasificare, evaluarea compatibilității încrucișate, testul pentru antiglobulină directă modificată și autocontrol, trebuie pregătită o suspensie 0,5% în Cellbind LISS (**REF** K7100 **REF** K7110 sau **REF** K7130) din celulele roșii ale pacientului sau donatorului.
2. Pentru detectarea sau identificarea anticorpilor, trebuie utilizate suspensii din plachete Sanquin (0,5% sau 3,0%) sau celule roșii cu reactiv. Se recomandă utilizarea suspensiilor gata preparate 0,5% Cellbind din plachete sau Cellbind celule roșii cu reactiv. În cazul în care sunt utilizate suspensii 3% din plachete Sanquin sau celule roșii cu reactiv Sanquin, o suspensie 0,5% Cellbind DILUENT (**REF** K7180) trebuie preparată conform protocolului de mai jos. În cazul utilizării altor plachete sau celule roșii cu reactiv, este obligatorie validarea de către utilizator.

Observație: acest protocol nu se aplică celulelor care au fost tratate cu enzime (**REF** K1384 și **REF** K1393). Dacă este necesară testarea cu celule tratate cu enzime, trebuie utilizate Cellbind P3-P (**REF** K7211) sau Cellbind ID16-P (**REF** K7231).

Prepararea suspensiilor 0,5% din celule roșii:

1. 11 μl pachet celule roșii de la pacient sau donator + 2 ml Cellbind LISS (**REF** K7100, **REF** K7110 sau **REF** K7130)
2. 200 μl suspensie 3% din plachete Sanquin sau celule roșii cu reactiv Sanquin + 1 ml Cellbind DILUENT (**REF** K7180)

Proceduri de utilizare pentru Centrifuga Cellbind

Pentru a utiliza centrifuga Hettich pentru cardurile Cellbind, trebuie efectuate următoarele etape:

1. Introduceți rotorul Cellbind conform manualului de funcționare Hettich.
2. Rotorul este recunoscut de centrifugă și este programat automat conform protocolului Cellbind.
3. Pentru etapa de centrifugare menționată în procedurile de testare Cellbind de mai jos, trebuie apăsat „start” și centrifuga se va roti în următoarele 3 faze:
 - 0–2 minute 75 rcf 780 rpm
 - 2–3 minute 200 rcf 1280 rpm
 - 3–10 minute 1790 rcf 3840 rpm
4. După centrifugare, capacul poate fi deschis, iar cardurile pot fi scoase.

Procedurile testului

Lăsați toți reactivii să ajungă la temperatura camerei (18–25°C). Nu utilizați Cellbind Screen carduri care prezintă bule de aer în matricea de gel, sigilii rupte sau semne de uscare (nivel neregulat sau lipsa lichidului deasupra matricei de gel).

Detectarea sau identificarea anticorpilor

1. Îndepărtați benzile de acoperire de deasupra numărului necesar de tuburi.
2. Adăugați 40–50 μl din suspensia 0,5% din celule roșii pentru testare în compartimentul pentru incubare.
3. Adăugați același volum (40-50 μl) de plasmă sau ser în compartimentul de incubare.
4. Incubați timp de 15 minute la 37°C în incubatorul Cellbind.
5. Introduceți cardurile în centrifuga Cellbind (10 minute). Parametrii de centrifugare au fost deja programați.
6. Citiți reacțiile.

Clasificarea antigenelor pentru grupa sanguină

1. Îndepărtați benzile de acoperire de deasupra numărului necesar de tuburi.
2. Adăugați 40–50 μl din suspensia 0,5% din celule roșii de ale pacientului sau donatorului în compartimentul pentru incubare.
3. Adăugați 20 μl reactiv Sanquin pentru stabilirea grupei sanguine în compartimentul de incubare.
Observație: Lista reactivilor Sanquin validați pentru stabilirea grupei sanguine este disponibilă pe website-ul www.cellbind.nl. Pentru unii din acești reactivi, este necesară o etapă suplimentară de incubare; acești reactivi sunt precizați în listă. Utilizarea oricărui alt reactiv pentru stabilirea grupei sanguine poate duce la rezultate incorecte și, din acest motiv, trebuie validată de utilizator.
4. Introduceți cardurile în centrifuga Cellbind (10 minute). Parametrii de centrifugare au fost deja programați.
5. Citiți reacțiile.

Clasificare inversă

1. Îndepărtați benzile de acoperire de deasupra numărului necesar de tuburi.
2. Adăugați 40–50 µl din suspensia 0,5% din celule roșii reactive în compartimentul pentru incubare.
3. Adăugați același volum (40-50 µl) de plasmă în compartimentul de incubare.
4. Introduceți cardurile în centrifuga Cellbind (10 minute). Parametrii de centrifugare au fost deja programați.
5. Citiți reacțiile.

Testul pentru antiglobulină directă modificată (DAT)

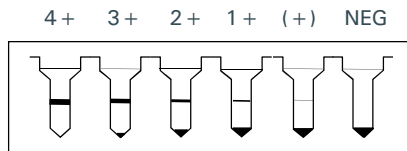
1. Îndepărtați benzile de acoperire de deasupra numărului necesar de tuburi.
2. Adăugați o picătură (40–50 µl) din suspensia 0,5% din celule roșii ale pacientului în compartimentul pentru incubare.
3. Introduceți cardurile în Cellbind Centrifuge (10 minute). Parametrii de centrifugare au fost deja programați.
4. Citiți reacțiile.

Compatibilitatea încrucișată

1. Îndepărtați benzile de acoperire de deasupra numărului necesar de tuburi.
2. Adăugați 40–50 µl din suspensia 0,5% din celule roșii ale donatorului în compartimentul pentru incubare.
3. Adăugați același volum (40-50 µl) de plasmă sau ser de la pacient în compartimentul de incubare.
4. Incubați timp de 15 minute la 37°C în incubatorul Cellbind.
5. Introduceți cardurile în Cellbind Centrifuge (10 minute). Parametrii de centrifugare au fost deja programați.
6. Citiți reacțiile.

Interpretarea

În reacțiile pozitive, celulele roșii vor fi imobilizate în stratul superior al matricei de gel. În reacțiile negative, se va vedea doar o cantitate mică de celule roșii în partea de jos a microtubului. Modelele de reacții rezultate sunt prezentate în figura:



Cantitatea de celule roșii imobilizate în stratul superior al matricei de gel va depinde de parametri precum densitatea antigenică a celulelor roșii și titrul și afinitatea anticorpilor. De asemenea, aceasta este determinată de durata celei de a doua faze de centrifugare și de forța de centrifugare din faza a treia.

Prin urmare, dacă o reacție este mai slabă de 4+, celulele vor apărea și în partea de jos a microtubului. Același model va fi observat și reacțiile de câmp mixt.

Detectarea sau identificarea anticorpilor

Reacțiile pozitive indică prezența anticorpilor de celule roșii în plasmă sau ser. Reacțiile negative indică absența anticorpilor de celule roșii. Un autocontrol pozitiv poate indica prezența autoanticorpilor.

Clasificarea antigenelor pentru grupa sanguină

Reacțiile pozitive cu reactivii pentru determinarea grupei sanguine indică prezența antigenelor respective în celulele roșii. Reacțiile negative cu reactivii pentru determinarea grupei sanguine indică faptul că prezența antigenelor respective în celulele roșii nu poate fi detectată.

Clasificare inversă

Reacțiile pozitive cu celulele roșii cu reactiv indică prezența aloanticorpilor respectivi. O reacție negativă indică faptul că prezența aloanticorpilor respectivi nu poate fi detectată.

Testul pentru antiglobulină directă modificată (DAT)

Reacțiile pozitive indică acoperirea *in vivo* a celulelor roșii cu anticorpi și/sau componente complementare.

Compatibilitatea încrucișată

Reacțiile pozitive indică incompatibilitatea sângelui donatorului cu primitorul. Reacțiile negative indică compatibilitatea sângelui donatorului cu primitorul.

Limitări

Rezultate pozitive neașteptate datorate: pseudoaglutinării, autoaglutinării, reacției de câmp mixt, anumitor medicamente, concentrațiilor prea mari de celule roșii sau celule roșii sensibilizate *in vivo* cu anticorpi și/sau componente complementare. Rezultate negative sau slabe neașteptate datorate: antigenelor slabe, anticorpilor slabi, titrului redus al anticorpilor, reacției de câmp mixt, activității reduse a reactivilor, interacțiunii insuficiente dintre suspensia de celule roșii și plasmă, ser sau reactiv în compartimentul de incubare și/sau interacțiunii premature dintre conținutul compartimentului de incubare și mediul cu densitate ridicată. Rezultate fals pozitive sau fals negative pot apărea ca urmare a prezenței bulelor de aer în matricea de gel, a contaminării materialelor testate sau a oricărei nerespectări a tehnicii recomandate. Când sunt utilizate probe puternic hemolitice, pot apărea reacții nespecifice. Dacă o probă conține urme de fibrină, aceasta poate cauza colectarea celulelor nesensibilizate în timpul centrifugării, având ca rezultat o linie roșie subțire deasupra matricei de gel.

Referințe

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.

Produsele Sanquin sunt garantate privind funcționarea conform descrierii din instrucțiunile de utilizare originale ale producătorului. Este esențială respectarea strică a procedurilor, a desfășurării testului și a reactivilor și echipamentelor recomandate. Sanquin nu își asumă nicio responsabilitate pentru nerespectarea acestora.