

# 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 (sk)

*Len na profesionálne použitie*

Mikroštipcový test na detekciu alebo identifikáciu erytrocytových protilátok a na stanovenie krvných skupín

## Všeobecné informácie

Cellbind Screen test je mikroštipcový testovací systém, v ktorom sa senzibilizované erytrocyty obsiahnuté v suspenzii viažu na gélovú matrix, ktorý obsahuje anti-IgG, anti-IgM a anti-C3d v zosilňujúcom médiu s vysokou hustotou.

Každá skrýningová karta sa skladá zo 6 mikroštipcov, ktoré obsahujú gély v médiu s vysokou hustotou. Cellbind Screen je určený na detekciu erytrocytových protilátok, na stanovenie krvných skupín, krížové reakcie a modifikovaný priamy antiglobulínový test (DAT, na detekciu protilátok a zložiek komplementu naviazaných na erytrocyty *in vivo*). Test je vhodný na manuálne i (polo)automatické systémy. Vyhovuje požiadavkám príslušných štandardov a odporúčaní. Parametre sú uvedené v prepúšťacích dokumentoch, ktoré sú s produktom poskytnuté na vyžiadanie. Test je založený na imunofixácii senzibilizovaných krviniek v mikroštipci obsahujúcom gélovú matrix. Suspenzia krviniek sa pridáva do inkubačnej časti mikroštipca spoločne s testovanou plazmou, sérom alebo krvne skupinovým diagnostikom. Počas inkubačnej fázy naviažu antigén pozitívne erytrocyty príslušné anti-erytrocytové protilátky prítomné v plazme, sére alebo diagnostiku. Následne karta prechádza tromi fázami centrifugácie. V prvej fáze prostredie s vysokou hustotou spôsobuje oddelenie erytrocytov od plazmy, séra alebo diagnostika. V druhej fáze sú senzibilizované erytrocyty aglutinované a zachytené na povrchu gélového matrixu, zatiaľ čo v tretej fáze nesenzibilizované alebo slabosenzibilizované erytrocyty klesajú na dno mikroštipcov. Pri stanovení krvných skupín sa odporúča použiť pozitívnu aj negatívnu kontrolu s každou sériou vzoriek.

## Upozornenie

Diagnostikum je určené výhradne na *in vitro* použitie. Cellbind Screen karty sa musia uskladňovať v originálnej polystyrénovej škatuľke pri 2-8 °C. Po použití škatuľku zatvorte. V opačnom prípade sa musia postaviť do zvislej polohy 15 minút pred použitím, aby klesol gélový matrix. Nepoužívajte karty Cellbind Screen, ktoré preukazujú známky vysušenia (t.j. nerovnomerná hladina média vysokej hustoty v mikroštipcoch jednej karty alebo nízke hladiny média vysokej hustoty v štípcoch), známky kondenzácie (t.j. kvapky v inkubačnom priechodku alebo na spodnej strane krycích pásov), poškodené krycie pásiky alebo ktoré majú vzduchové bublinky v médiu s vysokou hustotou alebo gélovom matrixe. Bublinky vzduchu v médiu s vysokou hustotou alebo v gélovom matrixe, ktoré by mohli vzniknúť počas transportu, sa odstránia centrifugáciou kariet v Cellbind centrifúge pred použitím. Cellbind Screen karty sa nesmú použiť po uplynutí času použiteľnosti vyznačeného na etikete. Po vyhodnotení výsledkov je možné karty zakryť a skladovať vo zvislej polohe až 1 týždeň pri 2-8 °C. Ako konzervačná látka sa pridáva <0,1% chloramfenikol. V diagnostikách, i keď s negatívnym testovaním, sa nedá nikdy vylúčiť možná prítomnosť infekčného agens. Venujte pozornosť práci s každým obalom a jeho obsahom. Odstránenie odpadu po testovaní sa prevádza podľa postupov daného laboratória.

## Odber a príprava vzoriek

### Vzorky:

Vzorky krvi sa odoberajú asepticky s alebo bez prídania antikoagulantov. Pred stiahnutím séra (10 minút) alebo plazmy (5 minút) sa odporúča centrifúgovať vzorky krvi pri 3000 rcf, aby sa predišlo falošne pozitívnym reakciám. Odber séra alebo plazmy sa musí urobiť pipetou nie odliatím. Vzorky nesmú obsahovať biele krvinky, fragmenty gélu a/alebo fibrínové zbytky, aby nedošlo k blokovaní gélového matrixu. Na detekciu alebo identifikáciu erytrocytových protilátok sa odporúča použiť čerstvú plazmu alebo sérum (do 48 hodín po odbere). Vzorky, ktoré sa nebudú ihneď testovať, je možné uskladňovať 48 hodín pri 2-8 °C alebo dlhšie pri menej ako <-18 °C. Po rozmrazení pred testovaním sa odporúča vzorky centrifúgovať 5 minút pri 3000 rcf, aby sa odstránil precipitát. Na modifikovaný priamy antiglobulínový test sa používa čerstvá krv (do 48 hodín od odberu), prednostne odobraná do EDTA, aby sa zabránilo *in vitro* väzbe zložiek komplementu na erytrocyty. Plazma nie je vhodná na detekciu komplement viažucich protilátok, vzhľadom k tomu že antikoagulanty inhibujú aktiváciu komplementu.

### Diagnostika:

Cellbind Screen	<b>REF</b> K7000	:	box obsahujúci 48 kariet, z ktorých každá má 6 mikroštipcov.
Cellbind LISS	<b>REF</b> K7100	:	inkubačné médium na prípravu 0,5% suspenzie erytrocytov pacienta alebo erytrocytov darcu (250 mL).
	<b>REF</b> K7110	:	inkubačné médium na prípravu 0,5% suspenzie erytrocytov pacienta alebo erytrocytov darcu (100 mL).
	<b>REF</b> K7130	:	inkubačné médium na prípravu 0,5% suspenzie erytrocytov pacienta alebo erytrocytov darcu (25 mL).
Cellbind DILUENT	<b>REF</b> K7180	:	inkubačné médium na prípravu 0,5% suspenzie erytrocytov z 3% Sanquin panelov alebo Sanquin reagentii suspenzie erytrocytov (100 mL).
Cellbind P2	<b>REF</b> K7200	:	(2 x 10 mL) 0,5% suspenzia erytrocytov na detekciu erytrocytových protilátok.
Cellbind P3	<b>REF</b> K7210	:	(3 x 10 mL) 0,5% suspenzia erytrocytov na detekciu erytrocytových protilátok.
Cellbind P3-P (papain)	<b>REF</b> K7211	:	(3 x 10 mL) 0,5% suspenzia erytrocytov natrávených papainom na detekciu erytrocytových protilátok.

Cellbind ID16	<b>REF</b> K7230	:	(16 x 3 mL) 0,5% suspenzia erytrocytov na identifikáciu erytrocytových protilátok.
Cellbind ID16-P (papain)	<b>REF</b> K7231	:	(16 x 3 mL) 0,5% suspenzia erytrocytov natrávených papainom na identifikáciu erytrocytových protilátok.
Cellbind A <sub>1</sub> reagent red cells	<b>REF</b> K7240	:	0,5% suspenzia erytrocytov na detekciu anti-A protilátok.
Cellbind A <sub>2</sub> reagent red cells	<b>REF</b> K7241	:	0,5% suspenzia erytrocytov na použitie ako pozitívna alebo negatívna kontrola.
Cellbind B reagent red cells	<b>REF</b> K7242	:	0,5% suspenzia erytrocytov na detekciu anti-B protilátok.
Cellbind O, D-positive reagent red cells	<b>REF</b> K7243	:	0,5% suspenzia erytrocytov na použitie ako pozitívna alebo negatívna kontrola.

#### Materiál

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

#### Erytrocytové suspenzie

- Na typizáciu, krížové skúšanie, modifikovaný antiglobulínový test a autokontrolu sa musí pripraviť 0,5% suspenzia erytrocytov pacienta alebo erytrocytov darcu v Cellbind LISS (**REF** K7100, **REF** K7110 alebo **REF** K7130).
- Na detekciu alebo identifikáciu protilátok sa musia použiť suspenzie erytrocytov zo Sanquin panelov alebo reagensí (0,5% alebo 3,0%). Odporúča sa použiť 0,5% Cellbind panelov alebo erytrocytovú suspenziu Cellbind, ktorá je určená na priame použitie. V prípade, že sa použijú 3% Sanquin panelov alebo erytrocytové suspenzie Sanquin, musí sa pripraviť 0,5% suspenzia erytrocytov v Cellbind DILUENT (**REF** K7180) v súlade s nižšie uvedeným postupom prípravy. Na použitie iných panelov alebo erytrocytov reagensí je povinné overenie používateľa.

Poznámka: tento postup sa týka krviniek, ktoré nie sú natrávené enzýmami (**REF** K1384 a **REF** K1393). V prípade, že sa testuje s takto natrávenými krvinkami, je nutné použiť Cellbind P3-P (**REF** K7211) alebo Cellbind ID16-P (**REF** K7231).

#### Príprava 0,5% suspenzie erytrocytov

- 11  $\mu$ L erytrocytového sedimentu pacienta alebo darcu + 2 mL Cellbind LISS (**REF** K7100, **REF** K7110 alebo **REF** K7130)
- 200  $\mu$ L 3% Sanquin panelu alebo erytrocytovej suspenzie + 1 mL Cellbind DILUENT (**REF** K7180)

#### Postup práce s Cellbind centrifúgou

Pri použití centrifúgy firmy Hettich s Cellbind kartami sa musia dodržať uvedené postupy:

- Cellbind rotor sa vloží podľa manuálu.
- Centrifúga rozpozná rotor a automaticky sa naprogramuje podľa Cellbind protokolu.
- Na centrifugáciu sa musí stlačiť iba "start" a tá potom rotuje v 3 nasledujúcich krokoch:

- 0–2 min.	75 rcf	780 ot./min
- 2–3 min.	200 rcf	1280 ot./min
- 3–10 min.	1790 rcf	3840 ot./min
- Po centrifugácii sa otvorí kryt a karty sa vyberú.

#### Postup testu:

Všetky diagnostika sa vytemperujú na izbovú teplotu (18–25 °C). Nepoužívajte karty Cellbind Screen, ktoré majú v gélovej matrici vzduchové bubliny, poškodené tesniace prvky alebo známky vysychania (nepravidelná alebo žiadna hladina kvapaliny nad gélovou matricou).

#### Detekcia alebo identifikácia protilátok

- V požadovanom počte stĺpcov sa zloží ochranný kryt.
- Do inkubačnej časti mikrostĺpca sa pridá 40–50  $\mu$ L 0,5% suspenzie testovaných erytrocytov.
- Pridá sa rovnaký objem (40–50  $\mu$ L) plazmy alebo séra.
- Karta sa inkubuje 15 minút pri 37 °C v Cellbind inkubátore.
- Karta sa preniesie do Cellbind centrifúgy (10 minút). Parametre centrifúgy sú naprogramované.
- Vyhodnotia sa výsledky reakcií.

#### Určenie krvných skupinových antigénov

- V požadovanom počte stĺpcov sa zloží ochranný kryt.
- Do inkubačnej časti mikrostĺpca sa pridá 40–50  $\mu$ L 0,5% suspenzie erytrocytov pacienta alebo erytrocytov darcu.
- Ďalej sa pridá 20  $\mu$ L krvne skupinového diagnostika firmy Sanquin.  
Poznámka: Zoznam validovaných krvne skupinových diagnostík firmy Sanquin je k dispozícii na stránke [www.cellbind.nl](http://www.cellbind.nl). Pre niektoré z týchto činidiel je potrebný dodatočný inkubačný krok, ich názvy sú uvedené v tomto zozname.  
Použitie iných diagnostík môže viesť k odlišným výsledkom a musí byť preto užívateľom validované.
- Karta sa preniesie do Cellbind centrifúgy (10 minút). Parametre centrifúgy sú naprogramované.
- Vyhodnotia sa výsledky reakcií.

#### Opačná typizácia

- Odstráňte krycí pásik z požadovaného množstva stĺpcov
- Pridajte 40–50  $\mu$ L 0,5% suspenzie erytrocytov z erytrocytov reagensie do inkubačného priečinka.
- Pridajte rovnaký objem (40–50  $\mu$ L) plazmy do inkubačného priečinka.
- Karta sa preniesie do Cellbind centrifúgy (10 minút). Parametre centrifúgy sú naprogramované.
- Vyhodnotia sa výsledky reakcií.

#### Modifikovaný priamy antiglobulínový test (DAT)

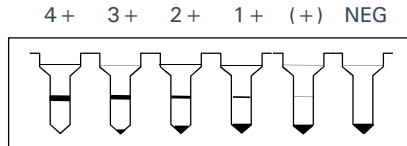
1. V požadovanom počte stĺpcov sa zloží ochranný kryt.
2. Do inkubačnej časti mikrostĺpca sa pridá 1 kvapka (40–50  $\mu\text{L}$ ) 0,5% suspenzie erytrocytov pacienta.
3. Karta sa preniesie do Cellbind centrifúgy (10 minút). Parametre centrifúgy sú naprogramované.
4. Vyhodnotia sa výsledky reakcií.

#### Křížová skúška

1. V požadovanom počte stĺpcov sa zloží ochranný kryt.
2. Do inkubačnej časti mikrostĺpca sa pridá 40–50  $\mu\text{L}$  0,5% suspenzie erytrocytov darcu.
3. Ďalej sa pridá rovnaký objem (40–50  $\mu\text{L}$ ) plazmy alebo séra pacienta.
4. Karta sa inkubuje 15 minút pri 37 °C v Cellbind inkubátore.
5. Karta sa preniesie do Cellbind centrifúgy (10 minút). Parametre centrifugácie sú naprogramované.
6. Vyhodnotia sa výsledky reakcií.

#### Hodnotenie

V prípade pozitívnych reakcií sú erytrocyty zachytené vo vrchnej časti géloveho matrixu. V prípade negatívnych reakcií je vidieť iba malý terčík erytrocytov na dne mikrostĺpca. Charakter výsledkov reakcií vzoriek je na obrázku.



Množstvo erytrocytov zachytených v povrchovej časti géloveho matrixu závisí na parametroch ako sú hustota antigénov na erytrocytoch, titer a afinita protilátok. Toto je tiež ovplyvnené dĺžkou druhej centrifugačnej fázy a rcf počas tretej fázy. Preto ak je reakcia slabšia ako 4+, objavujú sa erytrocyty na dne stĺpca. Ten istý obraz je možné pozorovať v prípade zmiešaného reakčného poľa.

#### Detekcia alebo identifikácia protilátok

Positívne reakcie indikujú prítomnosť erytrocytových protilátok v plazme alebo sére. Negatívne reakcie indikujú ich neprítomnosť. Positívna autokontrola by mohla indikovať prítomnosť autoprotilátok.

#### Určenie krvných skupín

Positívne reakcie so skupinovým diagnostikom indikujú prítomnosť príslušného antigénu na erytrocytoch. Negatívne reakcie indikujú ich neprítomnosť.

#### Opačná typizácia

Positívne reakcie s erytrocytmi reagencie indikujú prítomnosť príslušnej aloprotilátky. Negatívna reakcia indikuje, že prítomnosť príslušnej aloprotilátky nie je možné zistiť.

#### Modifikovaný priamy antiglobulínový test (DAT)

Positívne reakcie indikujú *in vivo* senzibilizáciu krviniek protilátkami a/alebo zložkami komplementu.

#### Křížový pokus

Positívne reakcie indikujú inkompatibilitu krvi darcu s krvou príjemcu. Negatívne reakcie indukujú takúto kompatibilitu.

#### Obmedzenie

Neočakávane pozitívne reakcie by mohli byť zapríčinené: pseudoaglutináciou, autoaglutináciou, zmiešaným reakčným poľom, niektorými liekmi, vysokou koncentráciou erytrocytov alebo krvinkami senzibilizovanými *in vivo* protilátkami a/alebo zložkami komplementu. Neočakávane negatívne alebo slabé reakcie by mohli byť zapríčinené: slabými antigénmi, slabými protilátkami, nízkymi titrami protilátok, zmiešaným reakčným poľom znížením aktivity diagnostík, nedostatočnou interakciou suspenzie erytrocytov a plazmy, séra alebo reagencie v inkubačnom priečinku a/alebo predčasnou interakciou medzi obsahom inkubačného priečinku a média s vysokou hustotou. Falošne pozitívne alebo negatívne výsledky sú možné pri prítomnosti vzduchových bublín v gélovej matrici, kontaminácii testovaného materiálu alebo odchýlke od odporúčaných techník. Ak sú použité silno hemolytické vzorky, sú možné aj nešpecifické reakcie. V prípade obsahu fibrínu vo vzorkách je možný záchyt nesenzibilizovaných erytrocytov počas centrifugácie, čím vzniká tenká červená línia na povrchu stĺpca géloveho matrixu.

#### Referencie

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

Sanquin zaručuje, že funkčné charakteristiky jej výrobkov zodpovedajú popisu v pôvodnom návode na použitie od výrobcu.

Je nevyhnutné presne dodržiavať postupy, rozvrhnutie testov a odporúčania ohľadom činidiel a vybavenia. Nadácia Sanquin sa zrieka akejkoľvek zodpovednosti v prípade akýchkoľvek odchýlok od týchto postupov, rozvrhnutí a odporúčaní.