

# 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
<b>Cellbind Screen</b>	<b>REF K7000</b> <b>IVD CE</b>
060_v02 01/2017 (tr)	<i>Yalnızca profesyonel kullanım için</i>

Eritrosit antikorlarının ve yanı sıra kan grubunun tespiti veya tanımlanması için mikro kolon testi

## Genel bilgiler

Cellbind Screen testi, süspansiyona ait duyarlaştırılmış eritrositlerin, yüksek düzeyde yoğunluk artırıcı ortam içinde anti-IgG, anti-IgM ve anti-C3d içeren bir jel matrisi tarafından tutulduğu bir mikro kolon test sistemidir. Her Screen kartı, yüksek yoğunluklu ortam içindeki jeli içeren altı mikro kolondan oluşur. Cellbind Screen, eritrosit antikorları ve bunun yanı sıra kan grubu, çapraz karşılaştırma ve modifiye direkt antiglobülin testinin (DAT, antikorlar ve kompleman bileşenleri ile *in vivo* kaplı eritrositlerin belirlenmesi için) tespiti veya tanımlanmasında kullanılmaya yöneliktir. Cellbind Screen, manuel ve ayrıca (yarı)otomatik sistemlerde kullanım için uygundur. Cellbind Screen testi, ilgili standartların ve yönergelerin gerekliliklerini karşılamaktadır. Performans özelliklerine, talep üzerine ürünle birlikte verilen sürüm belgelerinde değinilmektedir. Test, jel matrisi içeren bir mikro kolonda duyarlaştırılmış eritrositlerin immünofiksasyonuna dayanır. Hücre süspansiyonu, test edilecek olan plazma, serum veya kan grubu reaktifi ile birlikte mikro kolonun inkübasyon bölgesine eklenir. Inkübasyon aşaması sırasında, antijen pozitif eritrositler plazma, serum veya reaktif içindeki ilgili anti-eritrosit antikorlarına bağlanır. Daha sonra, kartlar üç santrifüj aşamasına tabi tutulur. İlk aşamada, yüksek yoğunluklu ortam, eritrositlerin plazma, serum veya reaktiften ayrılmasına neden olur. İkinci aşamada, duyarlaştırılmış eritrositler aglütine olup mikro kolon içindeki jel matrisin üstünde tutulurken, üçüncü aşamada, duyarlaştırılmamış ve çok zayıf ölçüde duyarlaştırılmış eritrositler, mikro kolonun alt tarafına doğru hareket eder. Her bir kan grubu tespit serisi ile birlikte pozitif ve negatif kontrollerin dahil edilmesi önemle tavsiye edilir.

## Önlemler

Yalnızca *in vitro* tanı amaçlı kullanım içindir. Cellbind Screen kartları 2-8 °C'de ve orijinal polistiren kutusu içinde saklanmalıdır. Kullanımdan sonra kutu kapatılmalıdır. Aksi halde, jel matrisin tekrar dibe çökmesini sağlamak için, kullanılmadan yaklaşık 15 dakika önce dik konumda tutulmalıdır. Taşıma sırasında yüksek yoğunluklu ortam veya jel matriste ortaya çıkan hava kabarcıkları birçok durumda, kullanılmadan önce, kapalı Cellbind Screen kartları Cellbind Santrifüjünde çevrilerek giderilebilir. Cellbind Screen kartları, kartların etiketi üzerine basılmış olan son kullanma tarihi geçtikten sonra kullanılmamalıdır. Sonuçları okuduktan sonra, kartlar kapatılıp, dik konumda 2-8 °C'de bir haftaya kadar süreyle saklanabilir. Koruyucu olarak kloramfenikol < %0,1 kullanılır. Reaktiflerin enfeksiyon ajanları içermediği varsayılmaz. Her bir kutu ve içeriği kullanılırken ve atılırken dikkatli olunmalıdır. Atık imhası, testin tamamlanmasından sonra, laboratuvar yönetmeliğinize göre gerçekleştirilmelidir.

## Numune alma ve hazırlama

### Numune:

Kan numuneleri, antikoagülanlar eklenerek veya eklenmeden aseptik olarak alınmalıdır. Serum veya plazma numuneleri alınmadan önce, kan alma tüplerinin 5 dakika süreyle 3000 rcf'de (bağıl merkezkaç kuvveti) santrifüjlenmesi kesinlikle önerilir. Serum veya plazma numunelerinin alınması, plazma veya serum dökülerek değil, bir pipet kullanılarak gerçekleştirilmelidir. Plazma veya serum numuneleri, jel matrisin bloke olmasını önlemek için lökositler, jel parçaları ve/veya fibrin kalıntıları içermemelidir. Eritrosit antikorlarının tespiti veya tanımlanması için, (numune alındıktan sonraki 48 saat içinde) taze plazma veya serum kullanılması önerilir. Hemen test edilmeyen serum veya plazma numuneleri, 48 saat süreyle 2-8 °C'de ve daha uzun bir süre boyunca < -18 °C'de saklanabilir. Herhangi bir çökeltiyi gidermek için, test edilmeden önce serum veya plazma numunelerinin çözüldükten sonra 5 dakika süreyle 3000 rcf'de santrifüjlenmesi önerilir. Modifiye direkt antiglobülin testi için, eritrositlerin kompleman bileşenleri ile *in vitro* kaplanmasını önlemek için, tercihen EDTA içine alınan taze kan kullanılmalıdır. Antikoagülanlar kompleman aktivasyonunu inhibe edeceğinden, kompleman bağlayıcı antikorların belirlenmesi için plazma uygun değildir.

### Reaktifler:

Cellbind Screen	<b>REF</b> K7000	: Her birinde 6 mikro kolon ile birlikte 48 kart içeren kutu.
Cellbind LISS	<b>REF</b> K7100	: Hastadan veya donör eritrositlerinden %0,5'lik eritrosit süspansiyonu hazırlamaya yönelik inkübasyon ortamı (250 mL).
	<b>REF</b> K7110	: Hastadan veya donör eritrositlerinden %0,5'lik eritrosit süspansiyonu hazırlamaya yönelik inkübasyon ortamı (100 mL).
Cellbind DILUENT	<b>REF</b> K7180	: %3'lük Sanquin panellerinden veya Sanquin reaktif eritrositlerinden %0,5'lik eritrosit süspansiyonu hazırlamaya yönelik inkübasyon ortamı (100 mL).
Cellbind P2	<b>REF</b> K7200	: (2 x 10 mL) Eritrosit antikorlarını belirlemeye yönelik %0,5'lik reaktif eritrosit süspansiyonları.
Cellbind P3	<b>REF</b> K7210	: (3 x 10 mL) Eritrosit antikorlarını belirlemeye yönelik %0,5'lik reaktif eritrosit süspansiyonları.
Cellbind P3-P (papain)	<b>REF</b> K7211	: (3 x 10 mL) eritrosit antikorlarını belirlemeye yönelik, papainle muamele edilmiş %0,5'lik reaktif eritrosit süspansiyonları.
Cellbind ID16	<b>REF</b> K7230	: (16 x 3 mL) Eritrosit antikorunu tespitine yönelik %0,5'lik reaktif eritrosit süspansiyonları.

Cellbind ID16-P (papain)	<b>REF</b> K7231	:	(16 x 3 mL) Eritrosit antikorlu tespitine yönelik papainle muamele edilmiş %0,5'lik reaktif eritrosit süspansiyonları.
Cellbind A <sub>1</sub> reagent red cells	<b>REF</b> K7240	:	Anti-A antikorlarının tespitine yönelik %0,5'lik reaktif eritrosit süspansiyonu.
Cellbind A <sub>2</sub> reagent red cells	<b>REF</b> K7241	:	Pozitif veya negatif kontrol olarak kullanılmaya yönelik %0,5'lik reaktif eritrosit süspansiyonu.
Cellbind B reagent red cells	<b>REF</b> K7242	:	Anti-B antikorlarının tespitine yönelik %0,5'lik reaktif eritrosit süspansiyonu.
Cellbind O, D-positive reagent red cells	<b>REF</b> K7243	:	Pozitif veya negatif kontrol olarak kullanılmaya yönelik %0,5'lik reaktif eritrosit süspansiyonu.

**Malzemeler:**

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

**Eritrosit süspansiyonları:**

Antikor tespiti veya tanımlanması için, kullanıma hazır %0,5'lik Cellbind panelleri veya Cellbind reaktif eritrosit süspansiyonlarının kullanılması önerilir. %3'lük Sanquin panelleri veya Sanquin reaktif eritrosit süspansiyonlarının kullanılması halinde, aşağıdaki hazırlama protokolüne göre Cellbind DILUENT (**REF** K7180) içinde %0,5'lik süspansiyon hazırlanmalıdır.

Not: Bu protokol enzimlerle (**REF** K1384 and **REF** K1393) muamele edilmiş hücrelere uygulanamaz. Enzimle muamele edilmiş hücrelerle test etme gereksinimi varsa, Cellbind P3-P (**REF** K7211) veya Cellbind ID16-P (**REF** K7231) kullanılmalıdır.

Otokontrol ve modifiye direkt antiglobülin testi için, mutlaka Cellbind LISS (**REF** K7100 or **REF** K7110) içinde %0,5'lik bir hasta eritrositleri süspansiyonu hazırlanmalıdır. Aynı durum, kan grubu ve çapraz karşılaştırmadaki donör veya hasta eritrositleri için de geçerlidir.

**%0,5'lik eritrosit süspansiyonlarının hazırlanması:**

1. 11 µL hastaya veya donöre ait eritrosit süspansiyonu + 2 mL Cellbind LISS (**REF** K7100 veya **REF** K7110)
2. 200 µL %3'lük Sanquin paneli veya Sanquin reaktif eritrosit süspansiyonu + 1 mL Cellbind LISS (**REF** K7180)

**Cellbind Santrifüj çalıştırma prosedürü**

Cellbind kartları için Hettich santrifüjünün kullanılması amacıyla şu adımlar gerçekleştirilmelidir:

1. Hettich çalıştırma kılavuzuna göre Cellbind Rotor'u yerleştirin.
2. Rotor, santrifüj tarafından tanınır ve Cellbind protokolüne göre otomatik olarak programlanır.
3. Aşağıdaki Cellbind test prosedürlerinde bahsedilen santrifüjleme adımı için, sadece "başlat" tuşuna basılması ile santrifüj şu 3 aşamada dönecektir:
  - 0-2 dakika 75 rcf 780 rpm (d/dak)
  - 2-3 dakika 200 rcf 1280 rpm
  - 3-10 dakika 1790 rcf 3840 rpm
4. Santrifüjlemeden sonra, kapak açılabilir ve kartlar çıkarılabilir.

**Test prosedürleri**

Tüm reaktiflerin oda sıcaklığına (18-25 °C) gelmesini sağlayın. Jel matriks içinde hava kabarcıkları olan, sızdırmazlığı bozulmuş veya kuruma belirtileri (jel matriks üzerinde düzensiz sıvı seviyesinin olması veya sıvı seviyesinin olmaması) gösteren Cellbind Screen kartlarını kullanmayın.

**Antikor tespiti veya tanımlanması**

1. Gereken sayıda kolondan kapak şeridini çıkarın.
2. %0,5'lik test hücreleri süspansiyonundan 40-50 µL'lik bölümü inkübasyon bölmesine ekleyin.
3. İnkübasyon bölmesine aynı hacimde (40-50 µL) plazma veya serum ekleyin.
4. Cellbind İnkübatör'de 37 °C'de 15 dakika süreyle inkübe edin.
5. Kartları Cellbind Santrifüj (10 dakika) içine yerleştirin. Santrifüj parametreleri halihazırda önceden programlanmıştır.
6. Reaksiyonları okuyun.

**Kan grubu antijenlerinin tiplendirilmesi**

1. Gereken sayıda kolondan kapak şeridini çıkarın.
2. %0,5'lik eritrosit süspansiyonundan 40-50 µL'lik bölümü inkübasyon bölmesine ekleyin.
3. İnkübasyon bölmesine 20 µL'lik Sanquin kan grubu reaktifini ekleyin.

Not: Onaylanmış Sanquin kan grubu reaktiflerinin listesine [www.cellbind.nl](http://www.cellbind.nl) adresinden ulaşabilirsiniz. Bu reaktiflerden bazıları için ek bir inkübasyon aşamasına ihtiyaç duyulmaktadır ve söz konusu reaktifler listede gösterilmiştir. Herhangi bir farklı tiplendirme reaktifinin kullanımı anormal sonuçlara neden olabilir ve bu nedenle kullanıcı tarafından onaylanmalıdır.

4. Kartları Cellbind Santrifüj (10 dakika) içine yerleştirin. Santrifüj parametreleri halihazırda önceden programlanmıştır.
5. Reaksiyonları okuyun.

**Modifiye Direkt Antiglobülin Testi (DAT)**

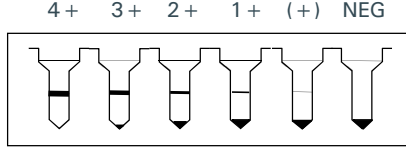
1. Gereken sayıda kolondan kapak şeridini çıkarın.
2. İnkübasyon bölmesine %0,5'lik hasta eritrositi süspansiyonundan bir damla (40-50 µL) ekleyin.
3. Kartları Cellbind Santrifüj (10 dakika) içine yerleştirin. Santrifüj parametreleri halihazırda önceden programlanmıştır.
4. Reaksiyonları okuyun.

### Çapraz Karşılaştırma

1. Gereken sayıda kolondan kapak şeridini çıkarın.
2. İnkübasyon bölmesine %0,5'lik donör eritrosit süspansiyonundan 40-50 µL ekleyin.
3. İnkübasyon bölmesine aynı hacimde (40-50 µL) hasta plazması veya serumu ekleyin.
4. Cellbind İnkübatör'de 37 °C'de 15 dakika süreyle inkübe edin.
5. Kartları Cellbind Santrifüj (10 dakika) içine yerleştirin. Santrifüj parametreleri halihazırda önceden programlanmıştır.
6. Reaksiyonları okuyun.

### Yorumlama

Pozitif reaksiyonlarda, eritrositler jel matriksinin en üst tabakasında tutulur. Negatif reaksiyonlarda, sadece mikro kolonun altında eritrositlerden oluşan ayrı bir düğme görülür. Sonuçta oluşan reaksiyon örnekleri şekilde gösterilmiştir :



Jel matriksin en üst tabakasında tutulan eritrosit miktarı, eritrositlerin antijenik yoğunluğu ve antikor titrasyonu ile afinitesi gibi parametrelere bağlıdır. Bu miktar aynı zamanda, ikinci santrifüleme aşamasının süresi ve üçüncü aşama sırasındaki santrifüj kuvveti ile de belirlenir.

Bu nedenle, bir reaksiyon 4+ 'den zayıfsa, hücreler mikro kolonun alt tarafında da görünür. Aynı örnek, karma saha reaksiyonlarında da görülür.

### Antikor tespiti veya tanımlanması

Pozitif reaksiyonlar, plazma veya serumdaki eritrosit antikorlarının varlığını gösterir. Negatif reaksiyonlar, eritrosit antikorlarının bulunmadığını gösterir. Pozitif bir otokontrol, otoantikorların varlığını gösterebilir.

### Kan grubu antijenlerinin tiplendirilmesi

Kan grubu reaktifleri ile pozitif reaksiyonlar, eritrositlerdeki ilgili antijenlerin varlığını gösterir. Kan grubu reaktifleri ile negatif reaksiyonlar, eritrositlerdeki ilgili antijenlerin varlığının belirlenemediğini gösterir.

### Modifiye Direkt Antiglobülin Testi (DAT)

Pozitif reaksiyonlar, eritrositlerin antikorlar ve/veya kompleman bileşenleri ile *in vivo* kaplı olduğunu gösterir.

### Çapraz Karşılaştırma

Pozitif reaksiyonlar, donör kanının alıcı ile uyumadığını gösterir. Negatif reaksiyonlar, donör kanının alıcı ile uyumadığını gösterir.

### Kısıtlamalar

Beklenmeyen pozitif sonuçlar şunlardan kaynaklanır: psödoaglutinasyon, otoaglutinasyon, karma saha reaksiyonu, belirli ilaçlar, çok yüksek eritrosit konsantrasyonları veya antikorlar ve/veya kompleman bileşenleri ile *in vivo* duyarlaştırılmış eritrositler. Beklenmeyen negatif veya zayıf sonuçlar şunlardan kaynaklanır: zayıf antijenler, karma saha reaksiyonu veya reaktiflerin azalmış etkinliği. Yanlış pozitif veya yanlış negatif sonuçlar, jel matriks içinde hava kabarcıklarının varlığı, test malzemelerinin kontaminasyonu veya önerilen yöntemlerde herhangi bir değişiklik yapılmasından dolayı meydana gelebilir. Aşırı derecede hemolitik numuneler kullanıldığında, non-spesifik reaksiyonlar meydana gelebilir. Numune fibrin kalıntıları içeriyorsa, bu durum, jel matriksin üstünde ince kırmızı bir çizgiye neden olacak şekilde, santrifüleme sırasında duyarlaştırılmamış olan hücrelerin yakalanmasına neden olabilir.

### Referanslar

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 ürünlerinin, orijinal üreticinin kullanım talimatlarında açıklandığı şekilde performans göstereceği garanti edilir. Prosedürlere, test planlarına ve önerilen reaktiflere ve ekipmana tam uyulması esastır. Sanquin bunlara uyulmadığı durumlarda tüm sorumluluğu reddeder.*