

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 (sv)

Endast för professionellt bruk

Mikrokolonntest för detektering eller identifikation av erythrocytantikroppar och för blodgruppering

Allmän information

Cellbind Screen-analysen är ett mikrokolonntestsystem i vilket sensibiliserade erythrocyter från en suspension fångas av en gelmatris innehållande anti-IgG, anti-IgM och anti-C3d i ett förbättrat medium med hög densitet. Varje screencard består av sex mikrokolonner som innehåller gel i mediet med hög densitet. Cellbind Screen är avsedd för användning vid detektering eller identifikation av erythrocytantikroppar liksom för blodgruppering, cross matching och det modifierade direkta antiglobulintestet (DAT, att detektera om antikroppar och kompletterande komponenter har bundit till erythrocyterna *in vivo*). Cellbind Screen är lämplig för användning i manuella liksom (halv-) automatiserade system. Cellbind Screen-analysen uppfyller kraven för gällande standarder och riktlinjer. Produktens egenskaper finns specificerade i de analyscertifikat som medföljer produkten på begäran. Testet bygger på immunofixering av sensibiliserade erythrocyter i en mikrokolonn som innehåller en gelmatris. Cellsuspensionen tillsätts i inkubationsfacket i mikrokolonnen, tillsammans med plasmata, serumet eller blodgrupperingsreagensen som ska testas. Under inkubationsfasen kommer antigen-positiva erythrocyter att binda motsvarande anti-erythrocytantikroppar som finns närvarande i plasmata, serumet eller reagensen. Därefter utsätts korten för tre centrifugeringsfaser. Under den första fasen kommer mediet med hög densitet att göra att erythrocyter separeras från plasmata, serumet eller reagensen. Under den andra fasen agglutinerar sensibiliserade erythrocyter och fångas överst i gelmatrisen i mikrokolonnen. Under den tredje fasen kommer de icke sensibiliserade och mycket svagt sensibiliserade erythrocyterna att flytta sig mot mikrokolonns botten. Införlivandet av positiva och negativa kontroller med varje serie av blodgruppsbestämningar rekommenderas starkt.

Säkerhetsföreskrifter

Reagenserna skall endast användas för in-vitro-diagnostik. Cellbind Screen-kort måste förvaras i originallådan av polystyren vid 2-8 °C. Stäng lådan efter användning. Cellbind Screen-kort ska förvaras i upprätt position. Om inte, bör de befinna sig i upprätt position i ca. 15 minuter före användning så att gelmatrisen ska kunna sätta sig igen. Använd inte Cellbind Screen-kort som visar tecken på att ha torkat (dvs. ojämnt lager av medium med hög densitet i mikrokolonnerna för ett kort eller låga nivåer av medium med hög densitet i kolonnerna), tecken på kondensering (dvs. droppar i inkubationsfacket eller på undersidan av skyddsremssorna), skadade skyddsremssor eller luftbubblor i medium med hög densitet eller gelmatrisen. Luftbubblor i mediet med hög densitet eller gelmatrisen som införts under transport kan avlägsnas i de flesta fall genom att de förslutna Cellbind Screen-korten snurras i Cellbind Centrifuge före användning. Cellbind Screen-kort bör inte användas efter det utgångsdatum som är tryckt på kortens etikett. Efter att resultaten har avlästs kan korten täckas över och förvaras i upprätt position i 2-8 °C i upp till en vecka. Kloramfenikol <0,1% används som konserveringsmedel. Det kan inte uteslutas att reagenserna innehåller några smittfarliga ämnen. Lakttag försiktighet vid användning och hantering av behållare och deras innehåll. Bortförskaffande av avfall, efter testets slutförande, ska ske i enlighet med laboratoriets egna föreskrifter.

Provtagning och förberedelser

Prover:

Blodprov ska tas aseptiskt med eller utan tillsats av antikoagulanter. Vi rekommenderar starkt att blodprovstagningsrören centrifugeras vid 3000 rcf före tagning av serumprover (i 10 minuter) eller plasmaprover (i 5 minuter) för att förhindra falska positiva reaktioner. Tagning av serum- eller plasmaprover bör genomföras med hjälp av en pipett och inte genom att hålla plasmata eller serumet. Plasma- eller serumproverna måste vara fria från vita celler, gelfragment och/eller fibrinrester för att undvika att gelmatrisen blockeras. För detektering eller identifikation av erythrocytantikroppar rekommenderar vi att färskt plasma eller serum används (inom 48 timmar efter tagningen). Serum- eller plasmaprover som inte omedelbart testas kan förvaras i 48 timmar i 2-8 °C, eller längre i <-18 °C. Vi rekommenderar att serum- eller plasmaproverna centrifugeras efter att de tinats upp i 5 minuter vid 3000 rcf före testet görs för att avlägsna eventuell utfällning. För det modifierade direkta antiglobulintestet bör färskt blod användas (inom 48 timmar efter provtagning), företrädesvis avtappat i EDTA för att förhindra att kompletterande komponenter har bundit till erythrocyterna *in vivo*. Plasma är inte lämpligt för detektering av komplementbindande antikroppar, eftersom antikoagulanter kommer att hämma komplementaktivering.

Reagenser:

Cellbind Screen	REF K7000	: Lådan innehåller 48 kort med 6 mikrokolonner var.
Cellbind LISS	REF K7100	: Inkubationsmedium för preparering av 0,5% erythrocytsuspensioner av donator- eller patienterythrocyter (250 ml).
	REF K7110	: Inkubationsmedium för preparering av 0,5% erythrocytsuspensioner av donator- eller patienterythrocyter (100 ml).
	REF K7130	: Inkubationsmedium för preparering av 0,5% erythrocytsuspensioner av donator- eller patienterythrocyter (25 ml).
Cellbind DILUENT	REF K7180	: Inkubationsmedium för preparering av 0,5% från 3% Sanguin paneler eller Sanguin reagens erythrocytsuspension (100 ml).
Cellbind P2	REF K7200	: (2 x 10 ml) 0,5% reagens erythrocytsuspensioner för detektering av erythrocytantikroppar.
Cellbind P3	REF K7210	: (3 x 10 ml) 0,5% reagens erythrocytsuspensioner för detektering av erythrocytantikroppar.

Cellbind P3-P (papain)	REF K7211	: (3 x 10 ml) papainbehandlad 0,5% erythrocytsuspensioner för detektering av erythrocytantikroppar.
Cellbind ID16	REF K7230	: (16 x 3 ml) 0,5% reagens erythrocytsuspensioner för identifikation av erythrocytantikroppar.
Cellbind ID16-P (papain)	REF K7231	: (16 x 3 ml) papainbehandlad 0,5% erythrocytsuspensioner för identifikation av erythrocytantikroppar.
Cellbind A ₁ reagent red cells	REF K7240	: 0,5% reagens erythrocytsuspension för detektion av anti-A antikroppar.
Cellbind A ₂ - reagent red cells	REF K7241	: 0,5% reagens erythrocytsuspension för användning som positiv eller negativ
Cellbind B- reagent red cells	REF K7242	: 0,5% reagens erythrocytsuspension för detektion av anti-B antikroppar.
Cellbind O, D-positive reagent red cells	REF K7243	: 0,5% reagens erythrocytsuspension för användning som

Material:

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

Erythrocytsuspensioner:

- För typbestämning, crossmatch, måste det direkta antiglobulintestet och autokontrollen, en 0,5-procentig suspension med erythrocyter från patient eller donator, prepareras i Cellbind LISS (**REF** K7100, **REF** K7110 eller **REF** K7130).
- För detektering eller identifikation av antikroppar måste Sanquin (0,5 % eller 3,0 %) paneler eller reagens erythrocytsuspensioner användas. Vi rekommenderar att man använder användningsredo 0,5% Cellbind paneler eller Cellbind reagens erythrocytsuspensioner. Om 3% Sanguin paneler eller Sanguin reagens erythrocytsuspensioner används måste en 0,5% suspension i Cellbind DILUENT (**REF** K7180) framställas i enlighet med preparationsinstruktionerna nedan. För användning av andra paneler eller reagens med erythrocyter krävs validering av användaren.
Obs! Detta protokoll kan endast användas på celler som inte har behandlats med enzymer (**REF** K1384 och **REF** K1393). Om enzymsbehandlade celler måste testas ska Cellbind P3-P (**REF** K7211) eller Cellbind ID16-P (**REF** K7231) användas.

Preparation av 0,5% erythrocytsuspensioner:

- 11 µl donator- eller patienterythrocytkoncentrat + 2 ml Cellbind LISS (**REF** K7100, **REF** K7110 eller **REF** K7130)
- 200 µl 3% Sanguin panel eller Sanguin reagens erythrocytsuspension + 1 ml Cellbind DILUENT (**REF** K7180)

Arbetsprocedur för Cellbind Centrifuge

För att använda Hettich-centrifugen för Cellbind-kort måste följande steg utföras:

- För in Cellbind Rotor enligt Hettichs bruksanvisning.
- Centrifugen känner igen rotorn och programmeras automatiskt enligt Cellbind-protokollet.
- För centrifugeringssteget som omnämns i Cellbinds testprocedurer nedan, trycker man helt enkelt på "start" så roterar centrifugen i följande 3 steg:

- 0-2 minuter	75 rcf	780 vpm
- 2-3 minuter	200 rcf	1280 vpm
- 3-10 minuter	1790 rcf	3840 vpm
- Efter centrifugeringen kan locket öppnas och kortet tas ut.

Testutförande

Låt alla reagenser nå rumstemperatur (18-25 °C). Använd inte Cellbind Screen-kort som har luftbubblor i gelématriken, skadad försegling eller som uppvisar tecken på uttorkning (oberoende av vätskenivån över gelématriken).

Detektering eller identifikation av antikroppar

- Ta bort skyddsremsan från önskat antal kolonner.
- Tillsätt 40-50 µl av den 0,5% erythrocytsuspensionen av testceller i inkubationsfacket.
- Tillsätt samma volym (40-50 µl) plasma eller serum i inkubationsfacket.
- Inkubera i 15 minuter i 37 °C i Cellbind Incubator.
- För in korten i Cellbind Centrifuge (10 minuter). Centrifugparametrarna har redan programmerats.
- Avläs reaktionerna.

Typbestämning av blodgruppsantigener

- Ta bort skyddsremsan från önskat antal kolonner.
- Tillsätt 40-50 µl av den 0,5% suspensionen av erythrocyter från patient eller donator i inkubationsfacket.
- Tillsätt 20 µl av Sanquin blodgrupperingsreagens i inkubationsfacket.
Obs! En lista med validerade Sanquin blodgrupperingsreagenser finns på webbplatsen www.cellbind.nl. För vissa av dessa reagenser krävs ytterligare inkubationssteg som redovisas i denna lista. Om någon annan typ av reagens används kan det leda till avvikande resultat och därför måste de valideras av användaren.
- För in korten i Cellbind Centrifuge (10 minuter). Centrifugparametrarna har redan programmerats.
- Avläs reaktionerna.

Omvänd typbestämning

- Ta bort skyddsremsan från önskat antal kolonner.
- Tillsätt 40-50 µl av den 0,5-procentiga erythrocytsuspensionen av reagenserythrocyter i inkubationsfacket.
- Tillsätt samma volym (40-50 µl) plasma i inkubationsfacket.
- För in korten i Cellbind Centrifuge (10 minuter). Centrifugparametrarna har redan programmerats.

5. Avläs reaktionerna.

DAT (modifierat direkt antiglobulintest)

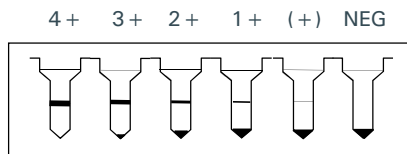
1. Ta bort skyddsremsan från önskat antal kolonner.
2. Tillsätt en droppe (40-50 µl) av den 0,5% patientsuspensionen av erythrocyter i inkubationsfacket.
3. För in korten i Cellbind Centrifuge (10 minuter). Centrifugparametrarna har redan programmerats.
4. Avläs reaktionerna.

Crossmatch

1. Ta bort skyddsremsan från önskat antal kolonner.
2. Tillsätt 40–50 µl av den 0,5% suspensionen av donatorns erythrocyter i inkubationsfacket.
3. Tillsätt samma volym (40–50 µl) patientplasma eller serum i inkubationsfacket.
4. Inkubera i 15 minuter i 37 °C i Cellbind Incubator.
5. För in korten i Cellbind Centrifuge (10 minuter). Centrifugparametrarna har redan programmerats.
6. Avläs reaktionerna.

Tolkning

I positiva reaktioner fångas erythrocyter att fastna på gelmatrisen. I negativa reaktioner kommer endast en diskret erythrocytknapp att ses i mikrokolonnens botten. Resultterande reaktionsmönster visas nedan i figuren:



Mängden sensibiliserade erythrocyter som fångas i det översta lagret av gelmatrisen kommer att bero på parametrar som exempelvis antigen densitet av erythrocyter och antikroppens titer och affinitet. Den bestäms även av den andra centrifugeringsfasens varaktighet och centrifugalkraften under den tredje fasen.

Om en reaktion är svagare än 4+ kommer därför celler att uppträda i mikrokolonnens botten. Samma mönster kommer att ses i mixed field-reaktioner.

Detektering eller identifikation av antikroppar

Positiva reaktioner indikerar närvaro av erythrocytantikroppar i plasmat eller serumet. Negativa reaktioner indikerar frånvaro av erythrocytantikroppar. En positiv autokontroll kan indikera närvaro av auto-antikroppar.

Typbestämning av blodgruppsantigener

Positiva reaktioner med blodgrupperingsreagenser indikerar närvaro av motsvarande antigener på erythrocyter. Negativa reaktioner med blodgrupperingsreagenser indikerar att närvaro av motsvarande antigener på erythrocyter inte kan detekteras.

Omvänd typbestämning

Positiva reaktioner med erythrocytreagens indikerar förekomst av den motsvarande allo-antikroppen. En negativ reaktion indikerar att förekomsten av den motsvarande allo-antikroppen inte kan detekteras.

DAT (modifierat direkt antiglobulintest)

Positiva reaktioner indikerar att antikroppar och/eller kompletterande komponenter har bundit till erythrocyterna *in vivo*.

Crossmatch

Positiva reaktioner indikerar inkompatibilitet mellan donatorns och mottagarens blod. Negativa reaktioner indikerar kompatibilitet mellan donatorns och mottagarens blod.

Begränsningar

Oväntade positiva reaktioner kan bero på: pseudoagglutination, autoagglutination, mixed field-reaktion, vissa läkemedel, för höga koncentrationer av erythrocyter eller erythrocyter som har sensibiliserats *in vivo* med antikroppar och/eller andra komponenter. Öväntade negativa eller svaga resultat kan bero på: svaga antigener, svaga antikroppar, låga titrar av antikroppar, mixed field-reaktion, minskad reagensaktivitet, otillräcklig interaktion mellan erythrocytsuspensionen och plasman, serumet eller reagenset i inkubationsfacket och/eller prematur interaktion mellan innehållet i inkubationsfacket och mediet med hög densitet. Falska positiva eller falska negativa resultat kan uppstå genom att det finns luftbubblor i gelmatrisen, kontamination av testmaterial eller vid avvikelser från rekommenderade tekniker. När starkt hemolytiska prover används, kan ospecifika reaktioner uppstå. Om ett prov innehåller fibrinrester, kan det leda till att icke sensibiliserade celler fångas under centrifugeringen, vilket resulterar i en smal röd linje på gelmatrisen.

Referenser

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.

Sanquin produkter ger garanterat de prestanda som beskrivs i originaltillverkarens bruksanvisning. Det är mycket viktigt att strängt följa beskrivna procedurer, testupställningar och rekommenderade reagensmedel och apparatur. Sanquin fransäger sig allt ansvar till följd av att detta försummas