

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 Direct Type

REF K7012

IVD CE

066_v02 02/2017 (no)

Kun til profesjonelt bruk

Mikrokolonne-test for bestemmelse av blodtypeantigener på røde celler, inkludert røde celler belagt in vivo med antistoffer og/eller komplementkomponenter.

Generell informasjon

Cellbind Direct Type er et mikrokolonne-testsystem, hvori sensibiliserte røde celler fra en suspensjon fanges opp av en gelmatrise i et forsterkende medium med høy densitet. Cellbind Direct Type er beregnet for bruk i typebestemmelse av blodtypeantigener og revers blodgruppering av røde celler, inkludert røde celler belagt in vivo med antistoffer og/eller komplementkomponenter. Cellbind Direct Type er egnet for anvendelse i manuelle og (halv-)automatiske systemer. Cellbind Direct Type-analysen oppfylder kravene for relevante standarder og retningslinjer. Ytelsesegenskaper er nevnt i frigivelsesdokumentene som leveres med produktet ved forespørsel. Testen er basert på immunfiksasjon av sensibiliserende røde celler i en mikrokolonne som inneholder en gelmatrise. Cellesuspensjonen tilføres i inkubasjonskammeret i mikrokolonnen, sammen med den blodtypereagens eller plasma som skal testes. Under inkubasjonsfasen vil antigen-positive røde celler binde de korresponderende anti-røde celleantistoffer som er til stede i reagensen eller plasmaet. Deretter utsettes kortene for tre faser med sentrifugering. I den første fasen forårsaker høydensitetsmediet en separasjon av de røde cellene fra reagensen eller plasmaet. I andre fase agglutineres sensibiliserte røde celler og fanges øverst i gelmatrisen i mikrokolonnen, mens i tredje fase vil ikke-sensibiliserte og meget svakt sensibiliserte røde celler bevege seg mot bunnen av mikrokolonnen. Det anbefales sterkt å inkludere både positive og negative kontroller med hver serie av blodtypebestemmelser.

Forholdsregler

Bare for in vitro diagnostisk bruk. Cellbind Direct Type-kort skal oppbevares i den originale isoporboksen ved 2–8°C. Lukk boksen etter bruk. Cellbind Direct Type-kort skal oppbevares stående. Hvis dette ikke er mulig skal de oppbevares stående i ca. 15 minutter før bruk, slik at gelmatrisen kan samle seg igjen. Ikke bruk Cellbind Direct Type-kort med tegn på uttørking (dvs. ujevnt nivå av høydensitetsmedium i mikrokolonnene på ett kort eller lave nivåer av høydensitetsmedium i kolonnene), tegn på kondensasjon (dvs. dråper i inkubasjonskammeret eller på undersiden av dekkstrimlene), skadede dekkstrimler eller luftbobler i høydensitetsmediet eller gelmatrisen. Luftbobler i enten høydensitetsmediet eller gelmatrisen som dannes under transport kan i de fleste tilfeller fjernes ved å rotere de forseglede Cellbind Direct Type-kortene i Cellbind Centrifuge før bruk. Cellbind Direct Type-kort må ikke anvendes etter den utløpsdato som er trykt på kortenes etikett. Etter å ha lest resultatene kan kortene dekkes til og oppbevares i stående stilling ved 2–8°C i opp til en uke. Kloramfenikol <0,1%, brukes som konserveringsmiddel. Det kan ikke antas at reagensene er fri for smittefarlige stoffer. Man skal være forsiktig ved bruk og avhending av hver beholder og deres innhold. Avfallshåndtering, etter gjennomføring av testen, skal utføres i henhold til laboratoriets regulativer.

Innsamling og preparering av prøver

Prøve:

Blodprøver skal tas aseptisk med EDTA som antikoagulant. Det er sterkt anbefalt å sentrifugere blodreagensrør i 5 minutter ved 3000 rcf (relativ sentrifugalkraft) før innsamling av plasmaprøver. Innsamling av plasmaprøver skal utføres ved hjelp av en pipette, og ikke ved å helle plasma. Plasmaprøvene må forbli fri for hvite celler, gelfragmenter og/eller fibrinrester for å unngå blokkering av gelmatrisen. For revers identifisering anbefales det å bruke fersk plasma (innen 48 timer etter prøvetaking). Plasmaprøver som ikke testes umiddelbart kan lagres i 48 timer ved 2–8°C, eller lengre ved <-18°C. Det anbefales å sentrifugere plasmaprøvene etter opptining i 5 minutter ved 3000 rcf (relativ sentrifugalkraft) før testing for å fjerne eventuell bunnfall.

Reagenser:

Cellbind Direct Type	REF K7012: Eske med 48 kort med 6 mikrokolonner i hver
Cellbind LISS	REF K7100: Fortynningsmedium for fremstilling av 0,5% røde cellesuspensjoner med røde celler fra pasient eller donor (250 ml)
	REF K7110: Fortynningsmedium for fremstilling av 0,5% røde cellesuspensjoner med røde celler fra pasient eller donor (100 ml)
	REF K7130: Fortynningsmedium for fremstilling av 0,5% røde cellesuspensjoner med røde celler fra pasient eller donor (25 ml)
Cellbind DILUENT	REF K7180: Fortynningsmedium for fremstilling av 0,5% røde cellesuspensjoner fra 3% Sanquin reagente røde cellesuspensjoner (100 ml)
Cellbind A1 reagent red cells	REF K7240: 0,5% reagent rød cellesuspensjon for deteksjon av anti-A-antistoffer.
Cellbind B reagent red cells	REF K7242: 0,5% reagent rød cellesuspensjon for deteksjon av anti-B-antistoffer.
Cellbind O, D-positive reagent red cells	REF K7243: 0,5% reagent rød cellesuspensjon til bruk som positiv eller negativ kontroll.

Materialer:

Cellbind-Centrifuge	REF K7302
Cellbind-Rotor	REF K7303
Cellbind-Dispenser	REF K7300
Cellbind-Workstation	REF K7301

Røde cellesuspensjoner:

1. For identifisering må det forberedes en 0,5% suspensjon av røde pasient- eller donorceller i Cellbind LISS (**REF** K7100 **REF** K7110 eller **REF** K7130).
2. For revers identifisering må Sanquin (0,5% eller 3,0%) reagente røde cellesuspensjoner benyttes. Det anbefales å bruke ferdige 0,5% Cellbind-reagente røde cellesuspensjoner. Hvis det benyttes 3% Sanquin reagente røde cellesuspensjoner, må en 0,5% suspensjon i Cellbind DILUENT (**REF** K7180) forberedes i overensstemmelse med forberedelsesprotokollen nedenfor. Ved bruk av andre reagente røde celler er brukervalidering påkrevd.

Forberedelse av 0,5% røde cellesuspensjoner:

1. 11 µL pakket røde celler fra pasient eller donor + 2 ml Cellbind LISS (**REF** K7100, **REF** K7110 eller **REF** K7130)
2. 200 µL 3% Sanquin reagent rød cellesuspensjon + 1 ml Cellbind DILUENT (**REF** K7180)

Driftsprosedyre for Cellbind Centrifuge

For å bruke Hettich sentrifuge til Cellbind-kort skal man utføre følgende trinn:

1. Sett inn Cellbind-rotoren i overensstemmelse med Hettich bruksanvisningen.
2. Rotoren gjenkjennes av sentrifugen og programmeres automatisk i overensstemmelse med Cellbindprotokollen.
3. Til sentrifugeringsprosedyren nevnt i Cellbind-testprosedyren herunder, skal man bare trykke på "start" og sentrifugen vil dreie i følgende tre trinn:

- 0–2 minutter	75 rcf	780 rpm
- 2–3 minutter	200 rcf	1280 rpm
- 3–10 minutter	1790 rcf	3840 rpm
4. Etter sentrifugering kan lokket og kortene kan tas ut.

Testprosedyre

La alle reagenser nå romtemperatur (18–25°C). Bruk ikke Cellbind Direct Type-kort med synlige luftbobler i gelmatrisen, brutte forseglinger eller tegn på uttørring (uregelmessig eller intet væsknivå over gelmatrisen).

Identifisering av blodtypeantigener

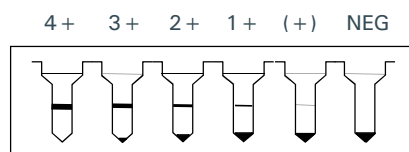
1. Fjern dekkstrimmelen fra det ønskede antall kolonner.
2. Tilsett 40–50 µl av 0,5% -suspensjonen av røde pasient- eller donorceller i inkubasjonskammeret.
3. Tilsett 20 µl av Sanquin blodtypereagens i inkubasjonskammeret.
Merk: En liste over validerte blodtypereagenser fra Sanquin kan fås på nettsiden www.cellbind.nl. Anvendelse av andre typereagenser kan føre til avvikende resultater og skal derfor valideres av brukeren.
4. Introduser kortene i Cellbind Centrifuge (10 minutter). Parameterne for sentrifugering er allerede programmert.
5. Les reaksjonene.

Revers identifisering

1. Fjern dekkstrimmelen fra det ønskede antall kolonner.
2. Tilsett 40–50 µl av 0,5% -suspensjonen av reagente røde celler i inkubasjonskammeret.
3. Tilsett samme volum (40–50 µl) av plasma i inkubasjonskammeret.
4. Introduser kortene i Cellbind Centrifuge (10 minutter). Parameterne for sentrifugering er allerede programmert.
5. Les reaksjonene.

Tolkning

I positive reaksjoner vil røde cellene bli fanget i det øverste laget av gelmatrisen. I negative reaksjoner ses kun en diskret knapp av røde celler i bunnen av mikrokolonnen. De resulterende reaksjonsmønstrene vises i figuren:



Mengden av røde celler som er fanget i det øverste laget av gelmatrisen vil være avhengig av parametere som for eksempel antigen tetthet av de røde cellene og antistoffets titer og affinitet. Den bestemmes også av varigheten av de innledende sentrifugeringsfasene og sentrifugalkraften under den siste fasen.

Derfor, hvis en reaksjon er svakere enn 4+, vil cellene også vises på bunnen av mikrokolonnen. Det samme mønsteret ses i blandede feltreaksjoner.

Identifisering av blodtypeantigener

Positive reaksjoner med blodtypereagenser indikerer tilstedeværelsen av de korresponderende røde celleantigener. En positiv reaksjon med Pelikloon-autokontroll indikerer at resultatene av blodtypebestemmelse ikke er gyldige, og det anbefales så å bruke en annen teknikk. Negative reaksjoner med blodtypereagenser indikerer at tilstedeværelsen av de korresponderende antigenene på de røde blodcellene ikke kan detekteres.

Revers identifisering

Positive reaksjoner med reagente røde celler indikerer tilstedeværelsen av det korresponderende alloantistoff. En negativ reaksjon indikerer at tilstedeværelsen av det korresponderende alloantistoff ikke kan detekteres.

Begrensninger

Uventede positive resultater grunnet: pseudoagglutinasjon, autoagglutinasjon, blandet feltreaksjon, for høye konsentrasjoner av røde celler, røde celler belagt in vivo med IgM eller IgA antistoffer, visse medikamenter eller tilstedeværelse av alloantistoffer utenom anti-A og/eller anti-B. Uventede negative eller svake resultater grunnet: blandet feltreaksjon, kimerisme, nedsatt aktivitet av reagenser, utilstrekkelig interaksjon mellom den røde cellesuspensjonen og plasmaet eller reagenten i inkubasjonskammeret og/eller prematur interaksjon mellom innholdet i inkubasjonskammeret og høydensitetsmediet, eller fordi plasma som undersøkes er fra en nyfødt, en (veldig) gammel person eller fra en pasient med hypogammaglobulinemi. Falske positive eller falske negative resultater kan forekomme på grunn av tilstedeværelse av luftbobler i gelmatrisen, kontaminering av testmaterialene eller ethvert avvik fra anbefalt teknikk. Når det benyttes sterkt hemolytiske prøver, kan det forekomme ikke-spesifikke reaksjoner. Hvis en prøve inneholder fibrinrester, kan det føre til at ikke-sensibiliserte celler fanges under sentrifugering, noe som resulterer i en tynn, rød linje øverst i gelmatrisen.

Referanser

1. Issitt P.D.; Applied Blood Group Serology, 3rd ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
2. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9th ed. Blackwell, Oxford, 1993.

Det garanteres at produkter fra Sanquin virker som beskrevet i produsentens originale bruksanvisning. Det er meget viktig at prosedyrer, testoppstillinger og anbefalte reagenser og utstyr benyttes. Sanquin fraskriver seg ett hvert ansvar som måtte oppstå fra avvik fra dette.