

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 (ro)

Doar pentru uz profesional

Test cu microtuburi pentru clasificarea antigenelor grupelor sanguine ale celulele roșii, inclusiv celulele roșii acoperite in vivo cu anticorpi și/sau componente complementare

Informații generale

Cellbind Direct Type este un sistem de testare cu microtuburi, în care celulele roșii sensibilizate dintr-o suspensie sunt imobilizate într-o matrice cu gel într-un mediu de amplificare cu densitate ridicată. Cellbind Direct Type este destinat pentru clasificarea antigenelor grupelor sanguine și clasificarea inversă a celulelor roșii, inclusiv celulele roșii acoperite in vivo cu anticorpi și/sau componente complementare.

Cellbind Direct Type este adecvat pentru utilizarea în sisteme manuale, ca și în sisteme (semi-) automate. Analiza Cellbind Direct Type 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 reactivii pentru determinarea grupei sanguine sau plasma pentru a fi analizată. Pe parcursul fazei de incubare, celulele roșii pozitive la antigenă vor lega anticorpii corespunzători împotriva celulelor roșii prezenți în reactiv sau plasmă. După aceea, cardurile sunt supuse unei centrifugări în trei faze. În prima fază, mediul cu densitate ridicată va provoca separarea celulelor roșii de reactiv sau plasmă. 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 Direct Type cardurile vor fi depozitate în cutia originală din polistiren la 2-8 °C. Închideți cutia după utilizare. Cellbind Direct Type 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 Direct Type 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 Direct Type sigilate în Cellbind Centrifuge înainte de utilizare. Cellbind Direct Type 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 prelevate în mod aseptice, în prezența EDTA cu rol anticoagulant. Se recomandă insistent ca eprubetele pentru colectarea sângelui să fie centrifugate timp de 5 minute la 3000 rcf înainte de colectarea probelor de plasmă. Colectarea probelor de plasmă trebuie efectuată utilizând o pipetă și nu prin turnarea plasmei. Probele de plasmă trebuie să rămână fără celule albe, fragmente de gel și/sau urme de fibrină pentru a evita blocarea matricei de gel. Pentru clasificarea inversă se recomandă utilizarea de plasmă proaspătă (până la 48 de ore de la recoltare). Probele 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 plasmă timp de 5 minute la 3000 rcf înainte de testare, pentru a elimina orice precipitare.

Reactivi:

Cellbind Direct Type
Cellbind LISS

REF K7012: Cutie cu 48 de carduri a câte 6 microtuburi.

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 celule roșii reactive Sanquin (100 ml)

Cellbind A1 reagent red cells

REF K7240: suspensie 0,5% din celule roșii reactive pentru detectarea anticorpilor anti-A.

Cellbind B reagent red cells

REF K7242: suspensie 0,5% din celule roșii reactive pentru detectarea anticorpilor anti-B.

Cellbind O, D-positive
reagent red cells

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 Dispenser **REF** K7300
Cellbind Workstation **REF** K7301

Suspensii de celule roșii:

1. Pentru clasificare, trebuie pregătită o suspensie 0,5% din celulele roșii ale pacientului sau donatorului în Cellbind LISS (**REF** K7100 **REF** K7110 sau **REF** K7130).
2. Pentru clasificarea inversă, trebuie utilizate suspensii (0,5% sau 3,0%) din celule roșii cu reactiv Sanquin. Se recomandă utilizarea suspensiilor Cellbind gata preparate 0,5% din celule roșii cu reactiv. În cazul în care sunt utilizate suspensii 3% din celule roșii cu reactiv Sanquin, o suspensie 0,5% în Cellbind DILUENT (**REF** K7180) trebuie preparată conform protocolului de mai jos. În cazul utilizării altor celule roșii cu reactiv, este obligatorie validarea de către utilizator.

Prepararea suspensiilor 0,5% din celule roșii:

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

Proceduri de utilizare pentru Cellbind Centrifuge

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

1. Introduceți Cellbind Rotor 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.

Procedura testului

Lăsați toți reactivii să ajungă la temperatura camerei (18–25 °C). Nu utilizați Cellbind Direct Type 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).

Clasificarea antigenelor pentru grupa sanguină

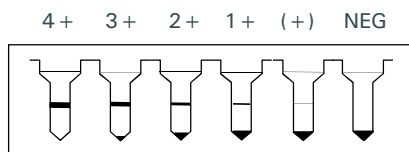
1. Îndepărtați benzile de acoperire de deasupra numărului necesar de tuburi.
2. Adăugați 40–50 μl din suspensia 0,5% din celule roșii de ale pacientului sau donatorului în compartimentul pentru incubare.
3. Adăugați 20 μl reactiv Sanquin pentru stabilirea grupei sanguine în compartimentul de incubare.
Observație: Lista reactivilor Sanquin validați pentru stabilirea grupei sanguine este disponibilă pe website-ul www.cellbind.nl.
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 Cellbind Centrifuge (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 Cellbind Centrifuge (10 minute). Parametrii de centrifugare au fost deja programați.
5. 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 fazei inițiale de centrifugare și de forța de centrifugare din faza finală.

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.

Clasificarea antigenelor pentru grupa sanguină

Reacțiile pozitive cu reactivii pentru determinarea grupei sanguine indică prezența antigenelor respective în celulele roșii. O reacție pozitivă cu controlul monoclonal Pelikloon indică faptul că rezultatele privind determinarea grupei sanguine nu sunt valide, caz în care se

recomandă utilizarea unei tehnici diferite. Reacțiile negative cu reactivii pentru determinarea grupe 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.

Limitări

Rezultate pozitive neașteptate datorate: pseudoaglutinării, autoaglutinării, reacției de câmp mixt, concentrațiilor prea mari de celule roșii, celulelor roșii acoperite in vivo cu anticorpi IgM sau IgA, anumitor medicamente sau prezenței aloanticorpilor anti-A și/sau anti-B. Rezultate negative sau slabe neașteptate datorate: reacției de câmp mixt, himerismului, activității reduse a reactivilor, interacțiunii insuficiente dintre suspensia de celule roșii și plasmă sau reactiv în compartimentul de incubare și/sau interacțiunii premature dintre conținutul compartimentului de incubare și mediul cu densitate ridicată sau faptului că plasma investigată provine de la un nou-născut, o persoană (foarte) în vârstă sau de la un pacient cu hipogamaglobulinemie. 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. Issit 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.

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.