

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 (es)

Sólo para uso profesional

Análisis en microcolumna para la hemoclasificación de antígenos de grupo sanguíneo eritrocitarios incluidos los eritrocitos recubiertos *in vivo* con anticuerpos y/o componentes del complemento.

Información general

Cellbind Direct Type es un sistema de análisis en microcolumna por el que una matriz de gel en un medio potenciador de alta densidad captura los eritrocitos sensibilizados presentes en una suspensión. Cellbind Direct Type se ha concebido para utilizarlo en la hemoclasificación directa e inversa de eritrocitos incluidos los eritrocitos recubiertos *in vivo* con anticuerpos y/o componentes del complemento. Cellbind Direct Type puede utilizarse tanto en sistemas manuales como en sistemas automáticos o semiautomáticos. El ensayo Cellbind Direct Type cumple los requisitos establecidos por las normas y directrices aplicables. Las características de rendimiento se describen en los documentos de venta, que pueden facilitarse con el producto si así se solicita. El análisis se basa en la inmunofijación de los eritrocitos sensibilizados en una microcolumna que contiene una matriz de gel. La suspensión celular se añade al compartimento de incubación de la microcolumna, junto con el reactivo hemoclasificador o el plasma que se desea analizar. Durante la fase de incubación, los eritrocitos positivos al antígeno se unen a los anticuerpos antieritrocitarios correspondientes presentes en el reactivo o el plasma. A continuación, las tarjetas se someten a tres fases de centrifugación. En la primera de estas fases, el medio de alta densidad causa la separación de los eritrocitos del reactivo o el plasma. Durante la segunda fase de centrifugación, se produce la aglutinación de los eritrocitos sensibilizados, que se capturan en la superficie de la matriz de gel en la microcolumna. Por último, en la tercera fase, los eritrocitos no sensibilizados o sensibilizados muy débilmente se desplazan hacia el fondo de la microcolumna. Se recomienda encarecidamente incluir sendos controles positivo y negativo en cada serie de hemoclasificación.

Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro* exclusivamente. Las tarjetas Cellbind Direct Type deben almacenarse en la caja de poliestireno original a 2-8°C. Cierre la caja después del uso. Las tarjetas Cellbind Direct Type deben almacenarse en posición vertical. En caso de no hacerlo así, será preciso mantenerlas en posición vertical durante los 15 minutos inmediatamente anteriores al uso, con el fin de que la matriz de gel se establezca de nuevo. No utilice tarjetas Cellbind Direct Type que muestren signos de sequedad (p. ej., un nivel irregular del medio de alta densidad en las microcolumnas de una tarjeta o niveles bajos del medio de alta densidad en las columnas), signos de condensación (p. ej., gotas en el compartimento de incubación o en la parte inferior de las tiras protectoras), daños en las tiras protectoras o burbujas de aire en el medio de alta densidad o matriz de gel. Las burbujas de aire presentes en el medio de alta densidad o en la matriz de gel generadas durante el transporte pueden eliminarse en la mayoría de los casos haciendo girar las tarjetas Cellbind Direct Type precintadas en la Cellbind Centrifuge antes de utilizarlas. Las tarjetas Cellbind Direct Type no deben utilizarse después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. Una vez leídos los resultados, las tarjetas pueden cubrirse y almacenarse en posición vertical a una temperatura de 2-8°C durante un plazo máximo de una semana. Se utiliza una solución de cloranfenicol <0,1% como conservante. No se puede garantizar que los reactivos estén libres de agentes infecciosos. Por tanto, es preciso adoptar las medidas de precaución necesarias durante el uso y la eliminación de cada envase y el contenido de este. La eliminación de residuos, una vez concluido el análisis, debe realizarse conforme a las normas específicas del laboratorio.

Obtención y preparación de las muestras

Muestras:

Las muestras de sangre deben extraerse utilizando una técnica aséptica y en presencia de EDTA como anticoagulante. Se recomienda encarecidamente centrifugar los tubos de recogida de sangre durante cinco minutos a 3.000 rcf antes de proceder a tomar de estos las muestras de plasma. La recogida de las muestras de plasma debe realizarse mediante una pipeta, y no vertiendo el plasma. Con el fin de evitar el bloqueo de la matriz de gel, es preciso que las muestras de plasma no contengan leucocitos, fragmentos de gel ni residuos de fibrina. Para la hemoclasificación inversa se recomienda utilizar plasma fresco (en el plazo de las 48 horas posteriores a la extracción). Las muestras de plasma que no vayan a analizarse inmediatamente pueden almacenarse durante 48 horas a una temperatura de 2 a 8°C, o durante un periodo de tiempo más prolongado a una temperatura inferior a -18°C. En tal caso, se recomienda centrifugar las muestras de plasma durante cinco minutos a 3.000 rcf una vez descongeladas y antes de analizarlas, con el fin de eliminar cualquier precipitado que haya podido formarse.

Reactivos:

Cellbind Direct Type	REF K7012: caja de 48 tarjetas con 6 microcolumnas cada una
Cellbind LISS	REF K7100: medio de disolución para preparar suspensiones de eritrocitos al 0,5% de eritrocitos de paciente o de donante (250 ml)
	REF K7110: medio de disolución para preparar suspensiones de eritrocitos al 0,5% de eritrocitos de paciente o de donante (100 ml)
	REF K7130: medio de disolución para preparar suspensiones de eritrocitos al 0,5% de eritrocitos de paciente o de donante (25 ml)
Cellbind DILUENT	REF K7180: medio de disolución para preparar suspensiones de eritrocitos al 0,5% de suspensiones de eritrocitos en reactivo Sanquin al 3% (100 ml)
Cellbind A1 reagent red cells	REF K7240: suspensión de eritrocitos al 0,5% en reactivo para la detección de anticuerpos anti-A

Cellbind B reagent red cells	REF K7242: suspensión de eritrocitos al 0,5% en reactivo para la detección de anticuerpos anti-B
Cellbind O, D-positive reagent red cells	REF K7243: suspensión de eritrocitos al 0,5% en reactivo para su uso como control positivo o negativo

Materiales:

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

Suspensiones de eritrocitos:

1. Para la hemoclasificación, es necesario preparar una suspensión de eritrocitos de paciente o de donante al 0,5% en Cellbind LISS (**REF** K7100 **REF** K7110 or **REF** K7130).
2. En el caso de la hemoclasificación inversa, deben utilizarse suspensiones de eritrocitos en reactivo Sanquin (0,5% o 3,0%). Se recomienda utilizar una suspensión de eritrocitos al 0,5% en reactivo Cellbind lista para usar. Si se utilizan suspensiones de eritrocitos en reactivo Sanquin al 3%, debe prepararse una suspensión al 0,5% en Cellbind DILUENT (**REF** K7180), conforme al siguiente protocolo de preparación. Para utilizar eritrocitos en otros reactivos, se requiere la validación por parte del usuario.

Preparación de suspensiones de eritrocitos al 0,5%:

1. 11 µl de concentrado de eritrocitos de paciente o de donante + 2 ml de Cellbind LISS (**REF** K7100, **REF** K7110 o **REF** K7130)
2. 200 µl de suspensión de eritrocitos en reactivo Sanquin al 3% + 1 ml de Cellbind DILUENT (**REF** K7180)

Procedimiento de funcionamiento de la Cellbind Centrifuge

Para utilizar la centrífuga Hettich con tarjetas Cellbind, es preciso seguir los pasos que se indican a continuación:

1. Inserte el Cellbind Rotor según las instrucciones detalladas en el manual de funcionamiento de Hettich.
2. A continuación, la centrífuga reconoce el rotor y se programa automáticamente según el protocolo Cellbind.
3. Para el paso de centrifugación mencionado en el procedimiento de análisis Cellbind descrito a continuación, solo es necesario pulsar "inicio" para que la centrífuga gire durante los siguientes tres pasos:

- 0-2 minutos	75 rcf	780 rpm
- 2-3 minutos	200 rcf	1.280 rpm
- 3-10 minutos	1.790 rcf	3.840 rpm
4. Una vez que la centrifugación ha concluido, ya se puede abrir la tapa y extraer las tarjetas.

Procedimiento de análisis

Espera a que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18 a 25 °C). No utilice aquellas tarjetas Cellbind Direct Type que presenten burbujas de aire en la matriz de gel, precintos herméticos deteriorados o signos de sequedad (sin líquido o nivel de líquido irregular sobre la matriz de gel).

Hemoclasificación de antígenos de grupo sanguíneo

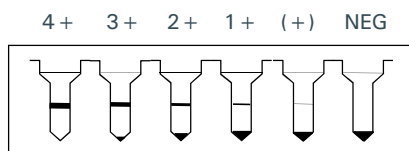
1. Retire la cinta protectora de tantas columnas como vaya a utilizar.
2. Añada 40–50 µl de la suspensión de eritrocitos al 0,5% de células de paciente o de donante en el compartimento de incubación.
3. Añada 20 µl de reactivo hemoclasificador de Sanquin en el compartimento de incubación.
Nota: encontrará la lista de reactivos hemoclasificadores de Sanquin validados en el sitio web www.cellbind.nl. La utilización de cualquier otro reactivo tipificador puede conducir a resultados aberrantes y, por lo tanto, deberá ser validada por el usuario.
4. Introduzca las tarjetas en la Cellbind Centrifuge (10 minutos). Los parámetros de centrifugación ya se han programado.
5. Lea las reacciones.

Hemoclasificación inversa

1. Retire la cinta protectora de tantas columnas como vaya a utilizar.
2. Añada 40–50 µl de la suspensión de eritrocitos al 0,5% en reactivo en el compartimento de incubación.
3. Añada el mismo volumen (40–50 µl) de plasma en el compartimento de incubación.
4. Introduzca las tarjetas en la Cellbind Centrifuge(10 minutos). Los parámetros de centrifugación ya se han programado.
5. Lea las reacciones.

Interpretación

En el caso de las reacciones positivas, los eritrocitos se capturan en la capa superior de la matriz de gel. En las reacciones negativas, únicamente se verá un pequeño botón de eritrocitos en el fondo de la microcolumna. La figura que se muestra a continuación representa los patrones de las reacciones obtenidas:



El número de eritrocitos retenidos en la capa superior de la matriz de gel varía en función de parámetros tales como la densidad antigénica de los eritrocitos y el título y la afinidad de los anticuerpos. Asimismo, está determinada por la duración de las dos fases de centrifugación iniciales y la fuerza centrífuga de la tercera y última fase.

Por lo tanto, si la reacción es más débil que 4+, también aparecerán células en el fondo de la microcolumna. El mismo patrón se observa en las reacciones de aglutinación mixta.

Hemoclasificación de antígenos de grupo sanguíneo

Una reacción positiva con reactivos hemoclasificadores indica la presencia de los antígenos correspondientes en los eritrocitos. Una reacción positiva con el control monoclonal Pelikloon indica que los resultados de hemoclasificación no son válidos, en cuyo caso se recomienda utilizar otra técnica. Una reacción negativa con reactivos hemoclasificadores indica que no se puede detectar la presencia de los antígenos correspondientes en los eritrocitos.

Hemoclasificación inversa

Una reacción positiva con suspensión de eritrocitos en reactivo indica la presencia del aloanticuerpo correspondiente. A su vez, una reacción negativa indica que no se puede detectar la presencia del aloanticuerpo correspondiente.

Limitaciones

Cabe la posibilidad de que se den resultados positivos inesperados como consecuencia de: pseudoaglutinación, autoaglutinación, reacción de aglutinación mixta, concentraciones de eritrocitos demasiado elevadas, eritrocitos recubiertos *in vivo* con anticuerpos IgM o IgA, o presencia de determinados fármacos o de otros aloanticuerpos aparte de aloanticuerpos anti A y/o anti B. Cabe la posibilidad de que se den resultados negativos inesperados como consecuencia de: reacción de aglutinación mixta, quimerismo, actividad reducida de los reactivos interacción insuficiente de la suspensión de eritrocitos y el plasma o el reactivo en el compartimento de incubación y/o interacción prematura entre el contenido del compartimento de incubación y el medio de alta densidad o el hecho de que el plasma analizado pertenezca a un recién nacido, una persona de edad (muy) avanzada o un paciente con hipogammaglobulinemia. Además, los resultados falsos positivos o falsos negativos pueden ser atribuibles a la presencia de burbujas de aire en la matriz de gel, la contaminación de los materiales de análisis o cualquier desviación de las técnicas recomendadas. En caso de utilizar muestras marcadamente hemolíticas, es posible que se produzcan reacciones no específicas. Si una muestra contiene residuos de fibrina, esto puede provocar que se atrapen células no sensibilizadas durante la centrifugación, lo que generaría la aparición de una fina línea roja en la parte superior de la matriz de gel.

Referencias

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.

Se garantiza que los productos Sanquin funcionarán tal como se describe en las instrucciones de uso del fabricante original. Es fundamental el cumplimiento estricto en relación a los procedimientos, los diseños de prueba y los reactivos y equipos recomendados. Sanquin rechaza toda responsabilidad que surja de cualquier desvío de ellos.