

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 (es)

Sólo para uso profesional

Prueba en microcolumnas para la detección o identificación de anticuerpos de eritrocitos, así como para hemoclasificación

Información general

El ensayo Cellbind Screen es una prueba en microcolumnas por la que una matriz de gel que contiene anti-IgG, anti-IgM, y anti-C3d en un medio potenciador de alta densidad captura los eritrocitos sensibilizados presentes en una suspensión. Cada tarjeta se compone de seis microcolumnas que contienen el gel en un medio de alta densidad. Cellbind Screen está destinado para la detección o identificación de anticuerpos de eritrocitos, así como para hemoclasificación, pruebas cruzadas y el test directo de antíglobulina modificada (DAT, para la detección de recubrimiento *in vivo* de eritrocitos con anticuerpos y componentes de complemento). Cellbind Screen es apropiado tanto para uso manual como en sistemas (semi)automáticos. La prueba Cellbind Screen cumple con los requisitos de las normas y directrices correspondientes. Las características del funcionamiento se detallan en los documentos de venta, que se entregan junto con el producto previa solicitud. La prueba se basa en la inmunofijación de eritrocitos sensibilizados en microcolumnas que contienen una matriz de gel. La suspensión celular se añade al compartimento de incubación de la microcolumna, junto con el plasma, suero o reactivo hemoclasificador a analizar. Durante la fase de incubación, los eritrocitos positivos al antígeno se unen a los anticuerpos antieritrocitos presentes en el plasma, suero o reactivo. A continuación, las tarjetas se someten a tres fases de centrifugación. En la primera fase, el medio de alta densidad causa la separación de los eritrocitos del plasma, suero o reactivo. En la segunda fase, los eritrocitos sensibilizados se aglutinan y quedan retenidos en la parte superior de la matriz de gel en la microcolumna, mientras que en la tercera fase los eritrocitos no sensibilizados o muy débilmente sensibilizados se mueven hacia el fondo de la microcolumna. Se recomienda encarecidamente la inclusión de controles positivos y negativos en cada serie de hemoclasificación.

Precauciones

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*. Las tarjetas Cellbind Screen se deben almacenar en la caja original de poliestireno a una temperatura de entre 2-8 °C. Cierre la caja después de su uso. Se recomienda guardar las tarjetas Cellbind Screen en posición vertical. En caso contrario deben mantenerse en posición vertical durante unos 15 minutos antes de su uso, para permitir que la matriz de gel se vuelva a depositar. No utilice tarjetas Cellbind Screen que muestren signos de sequedad (p. ej., un nivel irregular del medio de alta densidad en las microcolumnas de una tarjeta o unos 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 cintas protectoras), daños en las cintas protectoras o burbujas de aire en el medio de alta densidad o en la matriz de gel. Las burbujas de aire que con el transporte han surgido en el medio de alta densidad o en la matriz de gel pueden eliminarse en la mayoría de los casos centrifugando las tarjetas Cellbind Screen cerradas en la Cellbind Centrifuge antes de su uso. No usar las tarjetas Cellbind Screen después de la fecha de caducidad, que aparece en la etiqueta de las tarjetas. Después de obtener los resultados, las tarjetas pueden ser cubiertas y guardadas en posición vertical a 2-8 °C durante una semana. Usando Cloramfenicol <0,1% como conservante. No se puede garantizar que los reactivos están libres de agentes infecciosos. Usar y desechar cada recipiente y su contenido con cuidado. La eliminación de residuos después de concluir el análisis, debe realizarse conforme a las normativas de su laboratorio.

Obtención y preparación de las muestras

Muestra:

Las muestras de sangre deben retirarse de manera aséptica añadiendo o no anticoagulantes. Se recomienda encarecidamente centrifugar los tubos de muestra durante 5 minutos a 3000 fcr antes de recoger las muestras de suero o (durante 10 minutos) o las muestras de plasma (durante 5 minutos) con el fin de evitar falsos positivos. La recogida de muestras de suero o plasma debe realizarse con una pipeta, y no vertiendo el plasma o suero. Las muestras de plasma o suero deben permanecer libres de células blancas, fragmentos de gel y/o restos de fibrina al objeto de evitar el bloqueo de la matriz de gel. Para la detección o identificación de anticuerpos de células rojas se recomienda usar plasma o suero frescos (dentro de 48 horas después de la toma). Las muestras de suero o plasma que no se analizan inmediatamente pueden guardarse durante 48 horas a 2-8 °C, o durante más tiempo a <-18 °C. Se recomienda centrifugar las muestras de suero o plasma después de su descongelación durante 5 minutos a 3000 fcr antes del análisis, para eliminar posibles precipitados. Para el test directo de antíglobulina modificada debe usarse sangre fresca, (en un plazo de 48 horas desde la obtención), preferentemente recogida en EDTA, para prevenir el recubrimiento *in vitro* de células rojas con componentes de complemento. El plasma no es apropiado para la detección de anticuerpos de fijación de complementos, puesto que los anticoagulantes inhiben la activación del complemento.

Reactivos:

Cellbind Screen
Cellbind LISS

- | | | |
|-----------|---|--|
| REF K7000 | : | Caja con 48 tarjetas con 6 micro columnas por unidad. |
| REF K7100 | : | medio de incubación para preparar suspensiones de células rojas del 0,5% de las células rojas del donante o del paciente (250 mL). |
| REF K7110 | : | medio de incubación para preparar suspensiones de células rojas del 0,5% de las células rojas del donante o del paciente (100 mL). |
| REF K7130 | : | medio de disolución para preparar suspensiones de eritrocitos al 50% de los eritrocitos de donante o de paciente (25 mL). |

Cellbind DILUENT	REF K7180	: medio de incubación para preparar suspensiones de células rojas del 0,5% de suspensiones de células rojas de reactivo de Sanquin (100 mL) o paneles de Sanquin del 3%.
Cellbind P2	REF K7200	: (2 x 10 mL) suspensiones de células rojas del 0,5% de reactivo para la detección de anticuerpos de células rojas.
Cellbind P3	REF K7210	: (3 x 10 mL) suspensiones de células rojas del 0,5% de reactivo para la detección de anticuerpos de células rojas.
Cellbind P3-P (papain)	REF K7211	: (3 x 10 mL) papaína tratada en suspensión de células rojas del 0,5% de reactivo para la detección de anticuerpos.
Cellbind ID16	REF K7230	: (16 x 3 mL) suspensiones de células rojas del 0,5% de reactivo para la identificación de anticuerpos de células rojas.
Cellbind ID16-P (papain)	REF K7231	: (16 x 3 mL) papaína tratada en suspensión de células rojas del 0,5% de reactivo para la identificación de anticuerpos de células rojas.
Cellbind A1 reagent red cells	REF K7240	: suspensión de células rojas de 0,5% de reactivo para la detección de anticuerpos anti-A.
Cellbind A2 reagent red cells	REF K7241	: suspensión de células rojas de 0,5% de reactivo para uso como control positivo o negativo.
Cellbind B reagent red cells	REF K7242	: suspensión de células rojas de 0,5% de reactivo para la detección de anticuerpos anti-B.
Cellbind O, D-positive reagent red cells	REF K7243	: suspensión de células rojas de 0,5% de reactivo para uso como control positivo o negativo.

Materiales:

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

Suspensiones de células rojas:

1. Para la prueba cruzada de hemoclasificación, la prueba directa de anticlorulina modificada y el autocontrol, debe prepararse una suspensión de eritrocitos del paciente o de donante al 0,5% en Cellbind LISS (**REF** K7100, **REF** K7110 o **REF** K7130).
2. Para la detección o identificación de anticuerpos, deben utilizarse suspensiones de células rojas (0,5% o 0,3%) en paneles de Sanquin o reactivo de Sanquin. Si se usan suspensiones de células rojas de reactivo de Sanquin o paneles de Sanquin del 3%, debe prepararse una suspensión del 0,5% en Cellbind DILUENT (**REF** K7180), según el protocolo de preparación que sigue. Para utilizar células rojas en otros paneles o reactivos, se requiere la validación por parte del usuario. Nota: este protocolo no puede aplicarse a células que no hayan sido tratadas con encimas (**REF** K1384 y **REF** K1393). Si se debe realizar un test con células tratadas con encimas, se debe utilizar Cellbind P3-P (**REF** K7211) o Cellbind ID16-P (**REF** K7231).

Preparación de suspensiones de eritrocitos al 0,5%:

1. 11 μ L unidades de concentrado de células rojas del donante o del paciente + 2 mL Cellbind LISS (**REF** K7100, **REF** K7110 o **REF** K7130)
2. 200 μ L suspensión de células rojas de reactivo de Sanquin o panel de Sanquin del 3% + 1 mL Cellbind DILUENT (**REF** K7180)

Procedimiento operativo para la Cellbind Centrifuge

Para usar la centrífuga Hettich para las tarjetas Cellbind, se han de seguir los siguientes pasos:

1. Insertar el Cellbind Rotor según el manual operativo de Hettich.
2. El rotor es reconocido por la centrífuga y automáticamente programado conforme al protocolo Cellbind.
3. Para el paso de centrifugación mencionado en el procedimiento de análisis Cellbind, sólo se ha de presionar "start" y la centrífuga empezará a rotar en los siguientes 3 pasos:

- 0-2 minutos	75 fcr	780 rpm
- 2-3 minutos	200 fcr	1280 rpm
- 3-10 minutos	1790 fcr	3840 rpm
4. Despues de la centrifugación, se puede abrir la tapa y extraer las tarjetas.

Procedimientos de análisis

Permitir que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18–25 °C). No use tarjetas Cellbind Screen que tengan burbujas de aire en la matriz de gel, cierres no herméticos o signos de sequedad (nivel de líquido irregular o nulo arriba de la matriz de gel).

Detección o identificación de anticuerpo

1. Retirar la cinta protectora del número de columnas requerido.
2. Añadir 40–50 μ L de la suspensión del 0,5% de células rojas a analizar en el compartimento de incubación.
3. Añadir el mismo volumen (40–50 μ L) de plasma o suero en el compartimento de incubación.
4. Incubar durante 15 minutos a 37 °C en el Cellbind Incubator.
5. Introducir las tarjetas en la centrífuga Cellbind (10 minutos). Los parámetros de centrifugación ya han sido programados.
6. Examinar las reacciones.

Tipaje de antígenos de grupos sanguíneos

1. Retirar la cinta protectora del número de columnas requerido.
2. Añadir 40–50 μ L de la suspensión de células rojas al 0,5% de células de paciente o de donante en el compartimento de incubación.
3. Añadir 20 μ L de reactivo hemoclasificador Sanquin en el compartimento de incubación. Nota: Encontrará una lista de reactivos hemoclasificadores Sanguin en el sitio web www.cellbind.nl. Para algunos de estos reactivos, que se muestran en esta lista, se requiere un paso adicional de incubación. La utilización de cualquier otro reactivo tipificador puede conducir a resultados aberrantes, y por lo tanto deberá ser validada por el usuario.
4. Introducir las tarjetas en la centrífuga Cellbind (10 minutos). Los parámetros de centrifugación ya han sido programados.

5. Examinar las reacciones.

Hemoclasificación inversa

1. Retire la cinta protectora del número de columnas requerido.
2. Añada 40-50 μ L de la suspensión de eritrocitos al 0,5% en reactivo en el compartimento de incubación.
3. Añada el mismo volumen (40-50 μ L) de plasma en el compartimento de incubación.
4. Introduzca tarjetas en la Cellbind Centrifuge (10 minutos). Los parámetros de centrifugación ya se han programado.
5. Lea las reacciones.

Test Directo de Antiglobulina (DAT) modificado

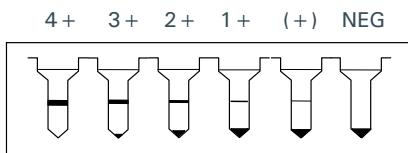
1. Retirar la cinta protectora del número de columnas requerido.
2. Añadir una gota (40-50 μ L) de la suspensión de células rojas al 0,5% de células de paciente en el compartimento de incubación.
3. Introducir las tarjetas en la centrífuga Cellbind (10 minutos). Los parámetros de centrifugación ya han sido programados.
4. Examinar las reacciones.

Prueba cruzada

1. Retirar la cinta protectora del número de columnas requerido.
2. Añadir 40-50 μ L de la suspensión de células rojas al 0,5% de células rojas de donante en el compartimento de incubación.
3. Añadir el mismo volumen (40-50 μ L) de plasma o suero de paciente en el compartimento de incubación.
4. Incubar durante 15 minutos a 37 °C en el Cellbind Incubator.
5. Introducir las tarjetas en la centrífuga Cellbind (10 minutos). Los parámetros de centrifugación ya han sido programados.
6. Examinar las reacciones.

Interpretación

En reacciones positivas las células rojas quedan atrapadas en la capa superior de la matriz de gel. En reacciones negativas sólo se observará un reducido botón de células rojas en el fondo de la micro columna. Los patrones de reacción resultantes se muestran en la figura:



La cantidad de células rojas sensibilizadas que quedan retenidas en la capa superior de la matriz dependerá de parámetros tales como la densidad antigenica de las células rojas, y la titulación y afinidad del anticuerpo. También es determinada por la duración de la segunda fase de centrifugación y de la fuerza centrifugal durante la tercera fase.

Por consiguiente, si la reacción es más débil que 4+, las células también aparecerán en el fondo de la micro columna. El mismo patrón se observará en las reacciones de aglutinación mixta.

Detección o identificación de anticuerpo

Reacciones positivas indican la presencia de anticuerpos de células rojas en el plasma o suero. Reacciones negativas indican la ausencia de anticuerpos de células rojas. Un autocontrol positivo puede indicar la presencia de autoanticuerpos.

Tipaje de antígenos de grupos sanguíneos

Reacciones positivas con reactivos hemoclasificadores indican la presencia de los antígenos correspondientes en las células rojas. Reacciones negativas con reactivos hemoclasificadores indican que la presencia de los antígenos correspondientes en las células rojas no puede detectarse.

Hemoclasificación inversa

Reacciones positivas con células rojas en reactivo indican la presencia del aloanticuerpo correspondiente. Reacciones negativas indican que no puede detectarse la presencia del aloanticuerpo correspondiente.

Test Directo de Antiglobulina (DAT) modificado

Reacciones positivas indican el recubrimiento *in vivo* de células rojas con anticuerpos y/o componentes de complemento.

Prueba cruzada

Reacciones positivas indican incompatibilidad de la sangre del donante con la del receptor. Reacciones negativas indican compatibilidad de la sangre del donante con la del receptor.

Limitaciones

Resultados positivos inesperados a causa de: pseudoaglutinación, autoaglutinación, reacción de aglutinación mixta, determinados fármacos, concentraciones demasiado elevadas de células rojas o células rojas sensibilizadas *in vivo* con anticuerpos y/o componentes complementarios. Resultados negativos o débiles inesperados a causa de: antígenos débiles, anticuerpos débiles, valores de los anticuerpos bajos, reacción de aglutinación mixta, o actividad reducida de los reactivos, interacción insuficiente de la suspensión de eritrocitos y el plasma, suero o reactivo en el compartimento de incubación y/o interacción prematura entre el contenido del compartimento de incubación y el medio de alta densidad. Los resultados positivos o negativos falsos pueden ser originados por la presencia de burbujas de aire en la matriz de contaminación del material de análisis o por diferir del método recomendadas. Si se usan muestras fuertemente hemolíticas, pueden darse reacciones no específicas. Si una muestra contiene restos de fibrina, esto puede causar el atrapamiento de células no sensibilizadas durante la centrifugación, resultando en una fina línea roja en la parte superior de la matriz de gel.

Referencias

1. Race R.R. and Sanger R.; *Blood Groups in Man*, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issit 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.

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.