

# Vergelijking van verschillende centrifugatieprogramma's voor de screening en identificatie van onregelmatige antistoffen

## AUTEUR

Jodie Boidts

## MENTOREN

dr. A. Muylaert, I. Debruyne

## AFFILIATIE

CELA Rode Kruis-Vlaanderen

## INTRODUCTIE

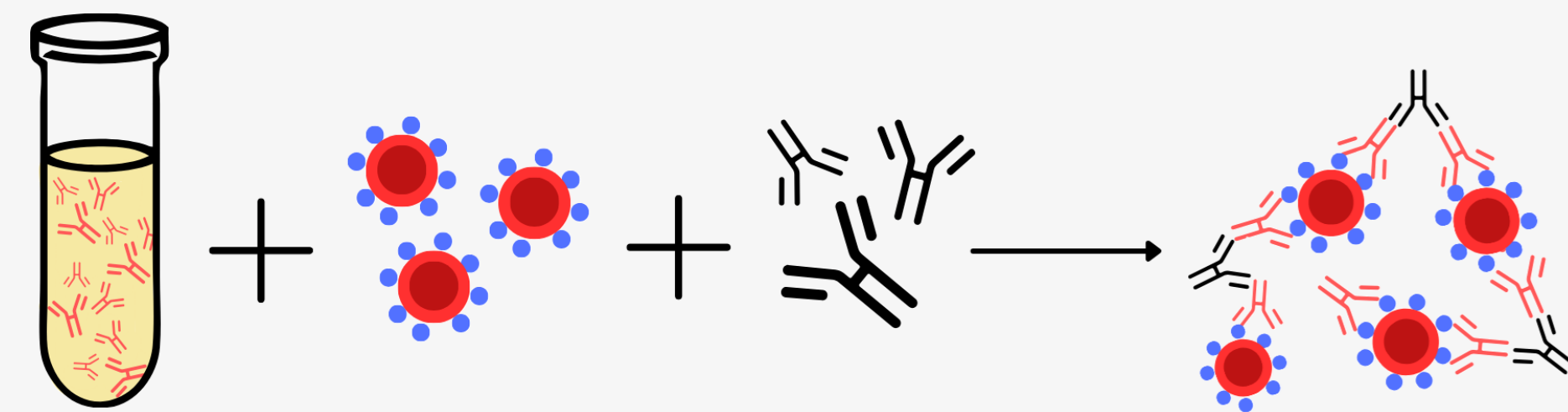
Centrifugatie is een belangrijke pre-analytische stap voor de labo-analyse om efficiënt cellen en plasma te scheiden, zeker voor de screening en identificatie van onregelmatige antistoffen (OAS), gebruik makend van de Ortho Vision Max (QuidelOrtho). Elke analyse heeft zijn eigen centrifugatiecondities met variërende instellingen. In CELA Rode Kruis-Vlaanderen wordt een eerste centrifugatieprogramma (2438g - 12 minuten 30 seconden) gebruikt voor OAS-screening en een tweede (1200g - 10 minuten) voor OAS-identificatie. In de bloedbanklabo's van Rode Kruis-Vlaanderen wordt een derde centrifugatieprogramma (1100g - 3 minuten) gebruikt.

## DOEL

Bepaling van de impact van verschillende centrifugatieprogramma's op de resultaten van OAS-screening en identificatie.

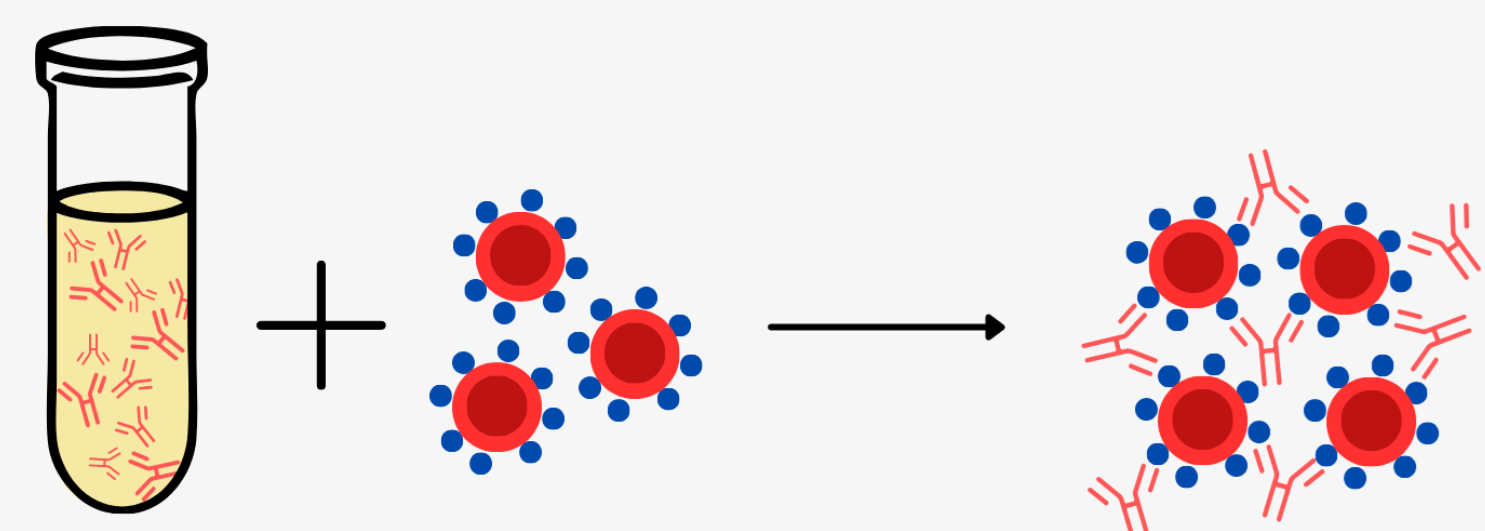
## MATERIAAL EN METHODE

### OAS-SCREENING + IDENTIFICATIE (ONBEHANDELD)

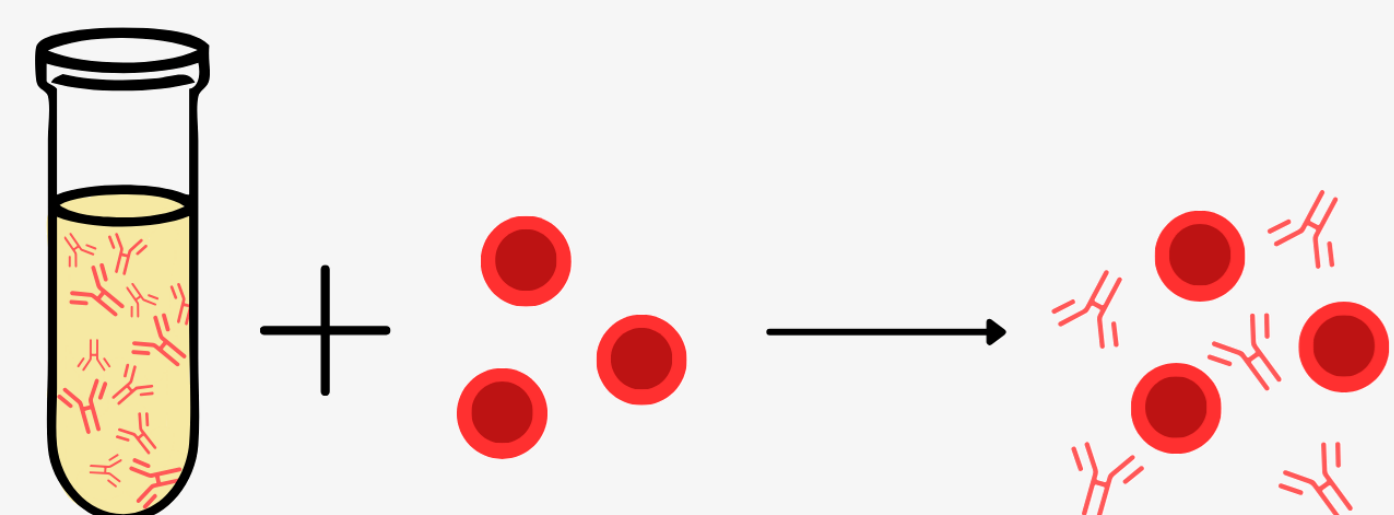


**Figuur 1** OAS binden aan de testcellen (2 testcellen voor OAS-screening en 11 onbehandelde testcellen voor OAS-identificatie). Het AHG-reagens in de kolom van de cassettes bevordert de hemagglutinatie door antistofketenverlenging.

### OAS-IDENTIFICATIE (FICINE BEHANDELD)



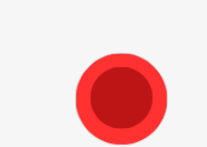

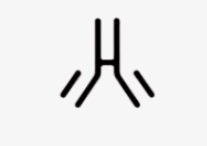


**Figuur 2** Ficine breekt bij bepaalde antigenen (Rhesus, Kidd en Lewis) eiwitten op de RBC membraan af waardoor de negatieve lading daalt en de RBC's dichter bij elkaar komen te liggen.



**Figuur 3** Ficine breekt bepaalde antigenen op de RBC membraan af (Fya, Fyb, M, N, S) waardoor OAS niet aan de testcellen kan binden.

#### Legende

-  0,8% Selectogen testcel met gekende antigenetyping
-  ficine behandelde testcel die agglutinatie bevordert
-  ficine behandelde testcel die antigenen afbreekt
-  OAS in donorplasma
-  AHG reagens uit Poly Cassette (anti-IgG en anti-C3d)

De 20 OAS-positieve plasma donorstalen werden opgemengd en gecentrifugeerd volgens één van de drie centrifugatieprogramma's. Na het samenvoegen van plasma en reagentia, incubatie en centrifugatie door de Vision Max, gaat het toestel de agglutinatiegraad aflezen. De centrifugatieprogramma's werden onderling vergeleken o.b.v. het eindresultaat (positief of negatief) en het verschil in agglutinatiegraad (0, ±, 1+, 2+, 3+, 4+). Het toestel, de controles, materialen en reagentia, gebruikt bij de analyse, zijn afkomstig van QuidelOrtho.

## RESULTATEN

### OAS-SCREENING

Alle donorstalen vertoonden, bij de 3 geteste centrifugatieprogramma's, een uniform eindresultaat voor de OAS-screening, nl. positief. Kwantitatief bekeken kon er geen duidelijk verband vastgesteld worden betreffende welk van de centrifugatieprogramma's meer variaties in agglutinatiegraad vertoonden. Dit gold voor 25% van de resultaten bij centrifugatieprogramma 1, voor 15% bij centrifugatieprogramma 3 en voor 10% bij centrifugatieprogramma 2.

### OAS-IDENTIFICATIE

De 20 OAS-positieve donorstalen gaven, voor de drie programma's, allemaal dezelfde OAS aanwezig en dus dezelfde eindconclusie. 50% van de resultaten vertoonden een uniform kwalitatieve waarde in alle reactiecellen met lichtelijk verschil in agglutinatiegraad zoals zichtbaar in Tabel 1.

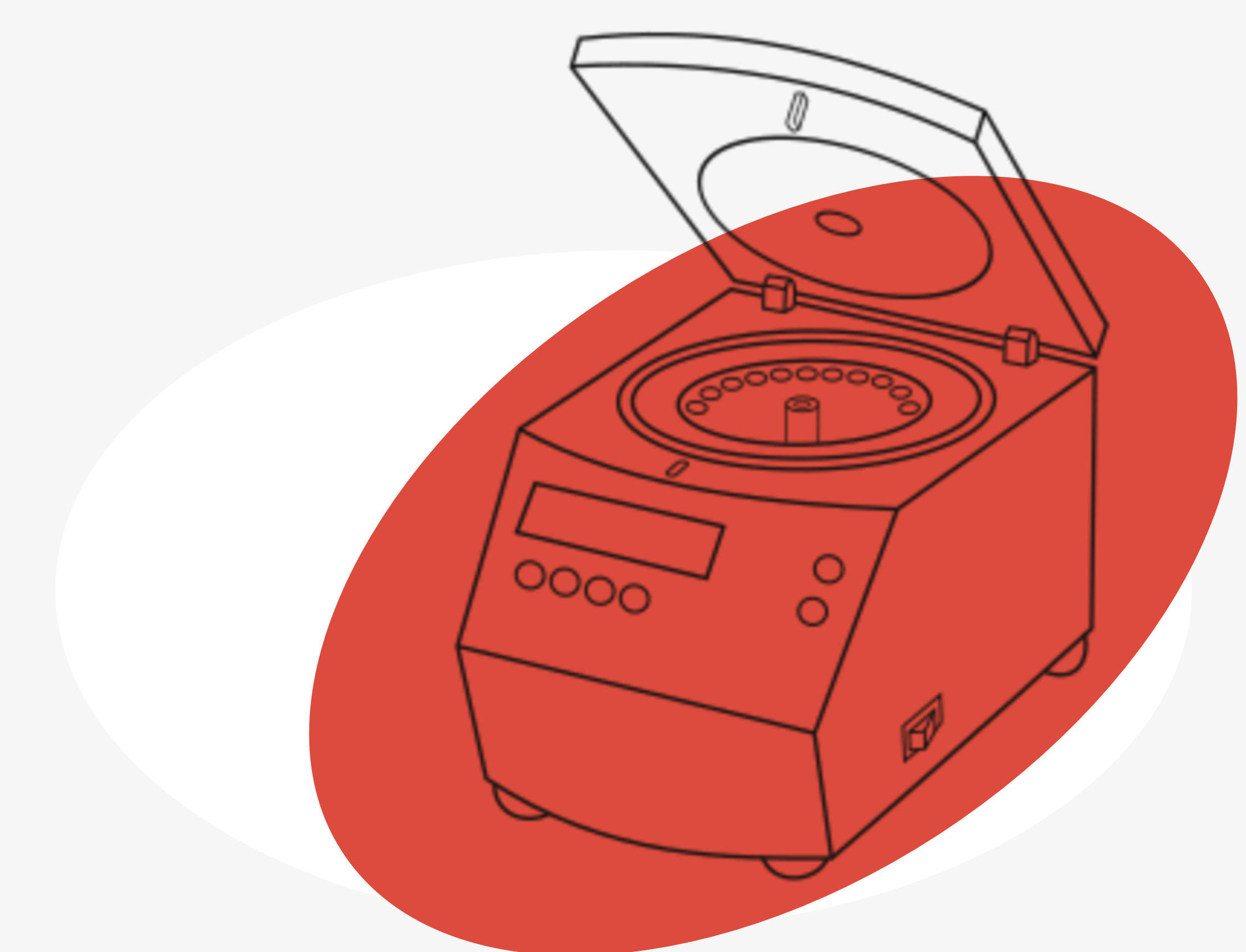
**Tabel 1** Voorbeeld van een staal met uniform kwalitatieve waarden met dezelfde eindconclusie

Panel C onbehandeld	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Panel C ficine	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Progr. 1	3+	3+	3+	2+	0	0	0	0	0	0	3+	Progr. 1	3+	3+	3+	3+	0	0	0	0	0	0	3+
Progr. 2	3+	3+	3+	2+	0	0	0	0	0	0	3+	Progr. 2	3+	3+	3+	3+	0	0	0	0	0	0	3+
Progr. 3	3+	3+	3+	3+	0	0	0	0	0	0	3+	Progr. 3	3+	3+	3+	3+	0	0	0	0	0	0	3+

Bij de andere helft vertoonde minstens één van de kolommen een verschillend kwalitatief eindresultaat, zoals zichtbaar in Tabel 2. Hiermee wordt bedoeld dat één programma een negatief resultaat gaf, terwijl de andere programma's een zwak positief resultaat vertoonde. Dit gebeurde, voor alle 3 programma's in 37% van de gevallen, vooral bij de zwak positieve resultaten omdat deze korter bij de detectiegrens van de methode liggen. Desondanks resulteerde dit, na het invullen en schrappen van de antistoffen in het 0.8% Resolve Panel C in dezelfde eindconclusie voor de identificatie van OAS.

**Tabel 2** Voorbeeld van een staal met verschil in kwalitatieve waarde met dezelfde eindconclusie

Panel C onbehandeld	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Panel C ficine	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Progr. 1	0	0	2+	3+	0	2+	2+	2+	2+	2+	0	Progr. 1	0	0	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	0
Progr. 2	0	0	2+	3+	±	2+	2+	2+	2+	2+	0	Progr. 2	0	0	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	0
Progr. 3	0	0	2+	3+	±	2+	2+	2+	2+	2+	0	Progr. 3	0	0	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	0



## CONCLUSIE

De drie centrifugatieprogramma's uitgevoerd in dit experiment geven vergelijkbare eindresultaten waarbij geen significante verschillen waarneembaar zijn onderling. Alle geteste donorstalen worden als 'positief' geïdentificeerd in het toestel. Bovendien leiden alle programma's tot dezelfde conclusie met betrekking tot de identificatie van aanwezige OAS in de stalen. Deze studie toont aan dat in dit experiment, volgens de drie geteste centrifugatieprogramma's, de centrifugatiesnelheid en duur geen impact hebben op de screening en identificatie van OAS in het donorplasma, gebruik makend van de Vision Max. Om deze hypothese als juist te kunnen beschouwen kunnen andere centrifugatiecondities bijkomend gevalideerd worden om zo de optimale verhouding tussen efficiëntie en scheiding van plasma en cellen te bekomen. Er is dus nog verder onderzoek vereist.

## REFERENTIES

Labicons. Clip Arts of Laboratory Microcentrifuges [Internet]. [Geraadpleegd op 11 januari 2024]. Beschikbaar op <https://www.labicons.net/equipments/centrifuges/microcentrifuges/doc/microcentrifuges-tubes-open.html>.

IStock by Getty Images [Internet]. [Geraadpleegd op 11 januari 2024]. Beschikbaar op <https://www.istockphoto.com/nl/vector/bekermet-bloedoverzichtspictogram-geneeskunde-en-gezondheidszorg-medisch-gm1308927394-398793019?phrase=bloedbuisje>.

