

# 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 (da)

Kun til professionelt brug

Mikrokolonne-test til bestemmelse eller identifikation af røde celler med antistoffer og/eller til blodtypebestemmelse

### Generel information

Analysen Cellbind Screen er et mikrokolonne-testsystem, hvori sensibiliserede røde celler fra en suspension fanges af en gel-matrice, der indeholder anti-IgG, anti-IgM og anti-C3d i et udvidet medium med høj densitet. Hvert skærmbord består af seks mikrokolonner, som indeholder gelen i mediet med høj densitet. Cellbind Screen er beregnet til at blive brugt til detektering eller identifikation af røde celleantistoffer såvel som til blodtypebestemmelse, krydsmatch og modificeret direkte antiglobulintest (DAT, til detektion af *in vivo*-coating af røde celler med antistoffer og komplementkomponenter). Cellbind Screen er velegnet til brug i manuelle såvel som i (halv)automatiserede systemer. Cellbind Screen-analysen opfylder kravene for de pågældende standarder og retningslinjer. Ydelsesegenskaber er nævnt i frigivelsesdokumenterne, der leveres med produktet ved forespørgsel. Testen er baseret på immunofiksation af sensibiliserede røde celler i en mikrokolonne, der indeholder en gel-matrice. Cellesuspensionen tilføjes til inkubationskammeret i mikrokolonnen sammen med den plasma, det serum eller det blodtypereagens, der skal testes. Under inkuberingsfasen vil antigen-positive røde celler binde de korresponderende anti-røde celleantistoffer, der er til stede i plasmaet, serumet eller reagenset. Dernæste udsættes kortene for tre faser af centrifugering. I første fase forårsager højdensitetsmediet en separation af de røde celler fra plasmaet, serumet eller reagenset. I anden fase agglutineres sensibiliserede røde celler og fanges øverst i gel-matricen i mikrokolonnen, mens i tredje fase ikke-sensibiliserede og meget svagt sensibiliserede røde celler vil bevæge sig mod bunden af mikrokolonnen. Det anbefales stærkt at medtage positive og negative kontroller med hver serie af blodtypebestemmelser.

### Forholdsregler

Kun til *in-vitro*-diagnose. Cellbind Screen-kort skal opbevares i den originale polystyrenkasse ved 2-8 °C. Luk kassen efter brug. Cellbind Screen-kort skal opbevares oprejst. Hvis det ikke er muligt, skal de opbevares oprejst i ca. 15 minutter før brug, så gel-matricen kan lejre sig igen. Brug ikke Cellbind Direct Type-kort, der viser tegn på tørring (dvs. ujævnt niveau af high-density-medium i mikrokolonnerne på et kort eller lave niveauer af high-density-medium i søjlerne), tegn på kondens (dvs. dråber i inkubationsrummet eller udvendigt på dækstrips), beskadigede dækstrips eller luftbobler i high-density-medium eller gelmatrix. Luftbobler i enten højdensitetsmediet eller gel-matricen, der er dannet under transport, kan i de fleste tilfælde fjernes ved at rotere de forseglede Cellbind Screen-kort i Cellbind-centrifugen før brug. Cellbind Screen-kort må ikke anvendes efter den udløbsdato, der er trykt på kortenes etiket. Efter at have læst resultaterne kan kortene dækkes til og opbevares i oprejst stilling ved 2-8 °C i op til 1 uge. Der benyttes chloramphenicol <0,1% som konserveringsmiddel. Det kan ikke antages, at reagenterne er fri for smittefarlige stoffer. Man skal være forsigtig ved brugen og bortskaffelsen af alle beholdere og deres indhold. Bortskaffelsen af spild efter fuldførelse af testen skal udføres i henhold til laboratoriets regulativer.

### Prøveindsamling og forberedelse

#### Prøve:

Blodprøver skal tages aseptisk med eller uden tilsætning af antikoagulanter. Det anbefales kraftigt at centrifugere blodindsamlingsglassene i 5 minutter ved 3000 rcf før indsamling af serumprøver (i 10 minutter) eller plasmaprøver (i 5 minutter) for at forebygge falsk positive resultater. Indsamling af serum- eller plasmaprøver skal udføres med en pipette og ikke ved at hælde plasmaet eller serumet. Plasma- eller serumprøverne skal være fri for hvide blodlegemer, gelfragmenter og/eller fibrinrester for at undgå blokering af gel-matricen. Til detektering eller identifikation af røde celleantistoffer anbefales det at bruge friskt plasma eller serum (inden for 48 timer efter prøvetagningen). Serum- eller plasmaprøver, der ikke testes øjeblikkeligt, kan opbevares i 48 timer ved 2-8°C eller længere ved <-18°C. Det anbefales at centrifugere serum- eller plasmaprøverne efter nedfrysning i 5 minutter ved 3000 rcf før testning for at fjerne eventuelt bundfald. Til den modificerede direkte antiglobulintest skal der benyttes friskt blod (inden for 48 timer efter blodprøvetagning), helst taget i EDTA for at forhindre *in vitro*-coating af røde celler med komplementkomponenter. Plasma er ikke velegnet til detektering af komplementbindende antistoffer, idet antikoagulanter vil forhindre komplementaktivering.

#### Reagenser:

Cellbind Screen	REF K7000	: Æske med 48 kort med 6 mikrokolonner i hver.
Cellbind LISS	REF K7100	: inkuberingsmedium til forberedelse af 0,5% røde blodlegemesuspensioner af røde blodlegemer fra patient eller donor (250 mL).
	REF K7110	: til forberedelse af 0,5% røde blodlegemesuspensioner af røde blodlegemer fra patient eller donor (100 mL)
	REF K7130	: Fortyndingsmedium til klargøring af 0,5% erythrocytsuspensioner af patient- eller donorerythrocytter (25 mL)
Cellbind DILUENT	REF K7180	: Fortyndingsmedie til forberedelse af 0,5 % røde blodlegemesuspensioner fra 3 % Sanquin-paneler eller Sanquin-reagente røde blodlegemesuspensioner (100 mL).
Cellbind P2	REF K7200	: 2 x 10 mL) 0,5% reagente røde blodlegemesuspensioner til detektering af røde celleantistoffer.
Cellbind P3	REF K7210	: (3 x 10 mL) 0,5% reagente røde blodlegemesuspensioner til detektering af røde celleantistoffer.

Cellbind P3-P (papain)	<b>REF</b> K7211	: (3 x 10 mL) papain-behandlede 0,5% reagente røde blodlegemesuspensioner til detektering af røde celleantistoffer.
Cellbind ID16	<b>REF</b> K7230	: (16 x 3 mL) 0,5% til identifikation af røde celleantistoffer.
Cellbind ID16-P (papain)	<b>REF</b> K7231	: (16 x 3 mL) papain-behandlede 0,5% reagente røde blodlegemesuspensioner til identifikation af røde celleantistoffer.
Cellbind A <sub>1</sub> reagenserythrocytter	<b>REF</b> K7240	: 0,5% til detektering af anti-A-antistoffer.
Cellbind A <sub>2</sub> reagent red cells	<b>REF</b> K7241	: 0,5% reagent rød blodlegemesuspension til brug som positiv eller negativ kontrol.
Cellbind B reagent red cells	<b>REF</b> K7242	: 0,5% reagent rød blodlegemesuspension til detektering af anti-B-antistoffer.
Cellbind O, D-positive reagent red cells	<b>REF</b> K7243	: 0,5% reagent rød blodlegemesuspension til brug som positiv eller negativ kontrol.

#### Materialer:

Cellbind Centrifuge	<b>REF</b> K7302
Cellbind Rotor	<b>REF</b> K7303
Cellbind Incubator	<b>REF</b> K7304
Cellbind Dispenser	<b>REF</b> K7300
Cellbind Workstation	<b>REF</b> K7301

#### Røde blodlegemesuspensioner:

- Til typebestemmelse og krydsmatchning af den modificerede direkte antiglobulintest og autokontrollen skal der klargøres en 0,5% suspension af patient- eller donorerythrocytter i Cellbind LISS (**REF** K7100 **REF** K7110 eller **REF** K7130).
- Til påvisning eller bestemmelse af antistoffer anbefales det at bruge brugsklare 0,5% Cellbind-paneler eller Cellbind-reagenserythrocytsuspensioner. Hvis der bruges 3% Sanquin-paneler eller Sanquin-reagente røde blodlegemesuspensioner, skal der klargøres en 0,5% suspension i Cellbind DILUENT (**REF** K7180) i overensstemmelse med klargøringsprotokollen herunder. Ved anvendelse af andre reagenserythrocytter skal de valideres af brugeren.  
Bemærk: Denne protokol kan ikke anvendes på celler, der har været behandlet med enzymer (**REF** K1384 og **REF** K1393). Hvis der er behov for test med enzymbehandlede celler, skal Cellbind P3-P (**REF** K7211) eller Cellbind ID16-P (**REF** K7231) anvendes.

#### Klargøring af 0,5% erythrocytsuspensioner:

- 11 µl pakkede patient- eller donorerythrocytter + 2 ml Cellbind LISS (**REF** K7100, **REF** K7110 eller **REF** K7130)
- 200 µl 3% Sanquin reagenserythrocytsuspension + 1 ml Cellbind DILUENT (**REF** K7180)

#### Driftsprocedure for Cellbind centrifuge

For at bruge Hettich centrifuge til Cellbind-kort skal man udføre følgende trin:

- Indsæt Cellbind rotoren i overensstemmelse med Hettich brugsanvisningen.
- Rotoren genkendes af centrifugen og programmeres automatisk i overensstemmelse med Cellbind-protokollen.
- Til centrifugeringsproceduren, der er nævnt i Cellbind testproceduren herunder, skal man blot trykke på "start", og centrifugen vil dreje i følgende tre trin:

- 0-2 minutter	75 rcf	780 rpm
- 2-3 minutter	200 rcf	1280 rpm
- 3-10 minutter	1790 rcf	3840 rpm
- Efter centrifugering kan låget åbnes, og kortene kan tages ud.

#### Testprocedure

Lad alle reagenser få stuetemperatur (18-25°C). Brug ikke Cellbind Screen-kort med synlige luftbobler i gelmatrixen, brudte forseglinger eller tegn på udtørring (uregelmæssigt eller intet væskniveau over gelmatrixen).

#### Påvisning eller bestemmelse af antistoffer

- Fjern dækstrimlen fra det ønskede antal kolonner.
- Tilsæt 40-50 µL af 0,5%-erythrocytsuspensionen af testceller i inkubationsrummet.
- Tilsæt samme mængde (40-50 µL) af plasma eller serum i inkubationsrummet.
- Inkubér i 15 minutter ved 37°C i Cellbind inkubator.
- Introducér kortene i Cellbind centrifugen (10 minutter). Centrifugeparametrene er allerede programmeret.
- Læs reaktionerne.

#### Bestemmelse af blodtypeantigener

- Fjern dækstrimlen fra det ønskede antal kolonner.
- Tilsæt 40-50 µL af 0,5% af suspensionen af patient- eller donorerythrocytter i inkubationskammeret.
- Tilsæt 20 µL af Sanquin blodtypereagens i inkubationskammeret.  
Bemærk: En liste over validerede blodtypereagenser fra Sanquin er tilgængelig på webstedet [www.cellbind.nl](http://www.cellbind.nl). For nogle af disse reagenser kræves der et yderligere inkubationstrin, som er vist på denne liste. Anvendelse af andre typereagenser kan føre til afvigende resultater og skal derfor valideres af brugeren.
- Introducér kortene i Cellbind centrifugen (10 minutter). Centrifugeparametrene er allerede programmeret.
- Aflæs reaktionerne.

#### Antistofblodtypebestemmelse

- Fjern dækstrippen fra det ønskede antal søjler.
- Tilsæt 40-50 µL af 0,5% suspensionen af reagenserythrocytter i inkubationsrummet.
- Tilsæt samme volumen (40-50 µL) plasma i inkubationsrummet.
- Sæt kortene i Cellbind Centrifuge (10 minutter). Centrifugeringsparametrene er allerede programmeret.
- Aflæs reaktionerne.

#### Modificeret direkte antiglobulintest (DAT)

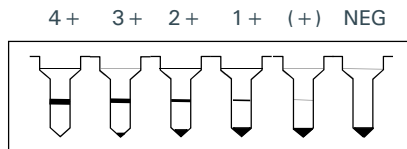
1. Fjern dækstrimlen fra det ønskede antal kolonner.
2. Tilsæt én dråbe (40-50  $\mu$ L) af 0,5% suspensionen af patienterythrocytter i inkubationskammeret.
3. Introducér kortene i Cellbind centrifugen (10 minutter). Centrifugeparametrene er allerede programmeret.
4. Aflæs reaktionerne.

#### Krydsmatch

1. Fjern dækstrimlen fra det ønskede antal kolonner.
2. Tilsæt 40-50  $\mu$ L af 0,5%-suspensionen af donorerythrocytter i inkubationskammeret.
3. Tilsæt samme mængde (40-50  $\mu$ L) af patientens plasma eller serum i inkubationskammeret.
4. Inkubér i 15 minutter ved 37°C i Cellbind inkubator.
5. Introducér kortene i Cellbind centrifugen (10 minutter). Centrifugeparametrene er allerede programmeret.
6. Læs reaktionerne.

#### Tydning

I positive reaktioner vil røde celler blive fanget øverst i gel-matricen. I negative reaktioner ses kun en diskret knap af røde celler i bunden af mikrokolonnen. De resulterende reaktionsmønstre vises i figuren:



Mængden af røde celler, der er fanget øverst i gel-matricen, afhænger af parametre som f.eks. antigen densitet af de røde celler og antistoffets titer og affinitet. Den bestemmes også af varigheden af anden centrifugeringsfase og centrifugeringskraften under tredje fase.

Derfor, hvis en reaktion er svagere end 4+, vil cellerne også vises i bunden af mikrokolonnen. Det samme mønster ses i blandende feltreaktioner.

#### Antistofdetektering eller identifikation

Positive reaktioner indikerer tilstedeværelsen af røde celleantistoffer in plasma eller serum. Negative reaktioner indikerer mangel på røde celleantistoffer. En positiv autokontrol indikerer tilstedeværelse af auto-antistoffer.

#### Bestemmelse af blodtypeantigener

Positive reaktioner med blodtypereagenser indikerer tilstedeværelsen af de korresponderende antigener på de røde blodlegemer. Negative reaktioner med blodtypereagenser indikerer, at tilstedeværelse af de korresponderende antigener på de røde blodlegemer ikke kan detekteres.

#### Antistofblodtypebestemmelse

Positive reaktioner med reagenserythrocytter angiver tilstedeværelse af det tilsvarende alloantistof. En negativ reaktion angiver, at det tilsvarende alloantistof ikke kan påvises.

#### Modificeret direkte antiglobulintest (DAT)

Positive reaktioner indikerer *in vivo*-coating af røde celler med antistoffer og/eller komplementkomponenter.

#### Krydsmatch

Positive reaktioner indikerer, at donorblodet ikke er kompatibelt med recipienten. Negative reaktioner indikerer, at donorblodet er kompatibelt med recipienten.

#### Begrænsninger

Uventede positive resultater grundet: pseudoagglutination, autoagglutination, blandet feltreaktion, visse medikamenter, for høje røde blodlegemekoncentrationer eller røde celler, der er sensibiliseret *in vivo* med antistoffer og/eller komplementkomponenter. Uventet negative eller svage resultater grundet: svage antigener, svage antistoffer, lave titre af antistoffer, blandet feltreaktion eller nedsat aktivitet i reagenser, utilstrækkelig interaktion mellem erythrocytsuspensionen og plasmaet eller reagenset i inkubationsrummet og/eller for tidlig interaktion mellem indholdet i inkubationsrummet og high-density-mediet. Falsk positive eller falsk negative resultater kan forekomme på grund af tilstedeværelse af luftbobler i gelmatrix'en, kontaminering af testmaterialerne, eller hvis der afviges fra den anbefalede teknik. Hvis der benyttes stærkt hæmolytiske prøver, kan der forekomme non-specifikke reaktioner. Hvis en prøve indeholder fibrinrester, kan det medføre udløsning af ikke-sensibiliserede celler under centrifugering, hvilket resulterer i en tynd, rød linje øverst i gel-matricen.

#### Referencer

1. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6<sup>th</sup> ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issitt P.D.; Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> 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, 9<sup>th</sup> ed. Blackwell, Oxford, 1993.

Det garanteres, at produkter fra Sanquin virker som beskrevet i producentens originale brugsanvisning. Det er af afgørende betydning, at procedurerne, testlayouts samt anbefalede reagenser og udstyr overholdes nøje. Sanquin fraskriver sig ethvert ansvar, som opstår som følge af nogen afvigelse heraf.