

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 C E

060_v02 01/2017 (de)

Ausschließlich für berufliche
Zwecke

Mikrosäulentest zum Nachweis oder zur Identifizierung von Erythrozytenantikörpern und zur Blutgruppenbestimmung

Allgemeine Informationen

Der Cellbind Screen Assay ist ein Mikrosäulentest, bei dem sensibilisierte Erythrozyten aus einer Suspension sich an eine Gelmatrix anlagern, die Anti-IgG, Anti-IgM und Anti-C3d in einem reaktionsverstärkenden Medium mit hoher Dichte enthält. Jede Screenkarte besteht aus sechs Mikrosäulen mit Gel in einem Medium mit hoher Dichte (High-Density-Medium). Der Cellbind Screen-Test ist für den Nachweis oder zur Identifizierung von Erythrozytenantikörpern und zur Blutgruppenbestimmung sowie für Verträglichkeitstests von Blutgruppen und den modifizierten direkten Antiglobulintest (DAT, zum Nachweis der *in vivo*-Beschichtung von Erythrozyten mit Antikörpern und Komplementkomponenten) bestimmt. Der Cellbind Screen-Test eignet sich für manuelle sowie für (halb)automatische Systeme. Der Cellbind Screen-Test erfüllt die Anforderungen der geltenden Standards und Richtlinien. Die Leistungskennzeichen sind in den Freigabedokumenten aufgeführt, die auf Wunsch mit dem Produkt mitgeliefert werden. Der Test beruht auf der Immunfixierung sensibilisierter Erythrozyten in einer Mikrosäule, die eine Gelmatrix enthält. Die Zellsuspension wird gemeinsam mit dem zu testenden Plasma, Serum oder der blutgruppenbestimmenden Reagenz zum Inkubationskompartiment der Mikrosäule gegeben. Während der Inkubationsphase binden antigenpositive Erythrozyten die entsprechenden Anti-Erythrozytenantikörper, die in dem Plasma, Serum oder der Reagenz vorhanden sind. Im nächsten Schritt werden die Karten drei Zentrifugationsschritten unterzogen. Im ersten Schritt bewirkt das High-Density-Medium eine Trennung der Erythrozyten von Plasma, Serum oder Reagenz. Im zweiten Schritt werden die sensibilisierten Erythrozyten agglutiniert und an der Oberseite der Gelmatrix in der Mikrosäule angelagert, während im dritten Schritt nicht sensibilisierte und sehr schwach sensibilisierte Erythrozyten zum Boden der Mikrosäule wandern. Jede Testreihe der Blutgruppenbestimmungen sollte positive und negative Kontrollen enthalten.

Vorsichtsmaßnahmen

Nur zum Gebrauch für die *in vitro* Diagnostik. Cellbind Screenkarten müssen bei 2-8 °C in der Polystyrol-Originalbox aufbewahrt werden. Die Box nach dem Gebrauch schließen. Die Cellbind Screenkarten sollten aufrecht gelagert werden. Ist dies nicht der Fall, sollten sie vor dem Gebrauch ungefähr 15 Minuten aufrecht positioniert werden, damit sich die Gelmatrix absetzen kann. Verwenden Sie keine Cellbind Screenkarten, die Zeichen einer Austrocknung aufweisen (z. B. uneinheitliches Niveau des High-Density-Mediums in den Mikrosäulen einer Karte oder niedrige Niveaus des High-Density-Mediums in den Säulen) oder Zeichen einer Kondensation (d. h. Tropfen in dem Inkubationskompartiment oder auf der Unterseite der Schutzstreifen), beschädigte Schutzstreifen oder Luftblasen in dem High-Density-Medium oder der Gelmatrix. Luftblasen im High-Density-Medium oder in der Gelmatrix, die sich beim Transport gebildet haben, können in den meisten Fällen entfernt werden, indem die verschlossenen Cellbind Screenkarten vor dem Gebrauch in der Cellbind Zentrifuge zentrifugiert werden. Cellbind Screenkarten sollten nur bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfallsdatum verwendet werden. Nach dem Ablesen der Ergebnisse können die Karten abgedeckt und aufrecht bis zu eine Woche lang bei 2-8 °C aufbewahrt werden. Als Konservierungsmittel ist <0,1% Chloramphenicol enthalten. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Reagenzien infektiöse Erreger enthalten. Bei der Verwendung und Entsorgung der Behälter und deren Inhalt sind entsprechende Vorsichtsmaßnahmen zu beachten. Nach Abschluss des Tests sollte der Abfall entsprechend den örtlichen Regelungen entsorgt werden.

Gewinnung und Vorbereitung der Proben

Proben:

Blutproben aseptisch und mit oder ohne Zugabe von Antikoagulantien abnehmen. Es wird dringend empfohlen, die Blutabnehmeröhrchen vor dem Entnehmen von Serumproben (10 Minuten lang) oder von Plasmaproben (5 Minuten lang) bei 3000 rcf zu zentrifugieren, um falsch positive Reaktionen zu vermeiden. Serum- oder Plasmaproben sollten mithilfe einer Pipette und nicht durch Abgießen entnommen werden. Zur Vermeidung einer Blockierung der Gelmatrix dürfen die Plasma- oder Serumproben keine Leukozyten, Gelfragmente und/oder Fibrinreste enthalten. Zum Nachweis oder zur Identifizierung von Erythrozytenantikörpern wird empfohlen, frisches Plasma oder Serum zu verwenden (innerhalb von 48 Stunden nach dem Abnehmen). Serum- oder Plasmaproben, die nicht sofort getestet werden, können 48 Stunden lang bei 2-8 °C oder für längere Zeit bei <-18 °C aufbewahrt werden. Es empfiehlt sich, die Serum- oder Plasmaproben nach dem Auftauen 5 Minuten lang bei 3000 rcf zu zentrifugieren, bevor der Test durchgeführt wird, um alle Präzipitate zu entfernen. Für den modifizierten direkten Antiglobulintest sollte frisches Blut verwendet werden (innerhalb von 48 Stunden nach der Abnahme), vorzugsweise in EDTA abgenommen, um die *in vitro*-Beschichtung von Erythrozyten mit Komplementkomponenten zu verhindern. Plasma eignet sich nicht für den Nachweis von komplementbindenden Antikörpern, da Antikoagulantien die Komplementaktivierung hemmen.

Reagenzien:

Cellbind Screen	REF K7000	:	Schachtel mit 48 Karten mit jeweils 6 Mikrosäulen.
Cellbind LISS	REF K7100	:	Verdünnungsmedium zur Herstellung einer 0,5%igen Erythrozytensuspension von Patienten- oder Spendererythrozyten (250 ml).
	REF K7110	:	Verdünnungsmedium zur Herstellung einer 0,5%igen Erythrozytensuspension von Patienten- oder Spendererythrozyten (100 ml). Verdünnungsmedium zur Herstellung einer 0,5%igen Erythrozytensuspension von Patienten- oder Spendererythrozyten (25 ml)
	REF K7130:		

Cellbind DILUENT	REF K7180	: Verdünnungsmedium zur Herstellung einer 0,5%igen Erythrozytensuspension von 3%igen Sanquin-Panels oder von Sanquin-Erythrozytensuspensionsreagenz (100 ml).
Cellbind P2	REF K7200	: (2 x 10 ml) 0,5%ige Erythrozytensuspensionsreagenz zum Nachweis von Erythrozytenantikörpern.
Cellbind P3	REF K7210	: (3 x 10 ml) 0,5%ige Erythrozytensuspensionsreagenz zum Nachweis von Erythrozytenantikörpern.
Cellbind P3-P (papain)	REF K7211	: (3 x 10 ml) Mit Papain behandelte 0,5%ige Erythrozytensuspensionen zum Nachweis von Erythrozytenantikörpern.
Cellbind ID16	REF K7230	: (16 x 3 ml) 0,5%ige Erythrozytensuspensionsreagenz zur Identifizierung von Antikörpern.
Cellbind ID16-P (papain)	REF K7231	: (16 x 3 ml) Mit Papain behandelte 0,5%ige Erythrozytensuspensionen zur Identifizierung von Antikörpern.
Cellbind A ₁ reagent red cells	REF K7240	: 0,5%iges Erythrozytensuspensionsreagenz zum Nachweis von Anti-A-Antikörpern.
Cellbind A ₂ reagent red cells	REF K7241	: 0,5%iges Erythrozytensuspensionsreagenz zur Verwendung als Positiv- und Negativkontrolle.
Cellbind B reagent red cells	REF K7242	: 0,5%iges Erythrozytensuspensionsreagenz zum Nachweis von Anti-B-Antikörpern.
Cellbind O, D-positive reagent red cells	REF K7243	: 0,5%iges Erythrozytensuspensionsreagenz zur Verwendung als Positiv- und Negativkontrolle.

Material:

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

Erythrozytensuspensionen:

1. Für die Typisierung, Verträglichkeitstests von Blutgruppen, den modifizierten direkten Antiglobulintest und die Autokontrolle muss eine 0,5%ige Suspension von Patienten- oder Spendererythrozyten in Cellbind LISS ([REF](#) K7100, [REF](#) K7110 oder [REF](#) K7130) hergestellt werden.
2. Zum Nachweisen oder Identifizieren von Antikörpern müssen (0,5%ige oder 3%ige) Sanquin-Panels oder Erythrozytensuspensionsreagenz verwendet werden. Es wird empfohlen, gebrauchsfertige 0,5%ige Cellbind-Panels oder Cellbind-Erythrozytensuspensionsreagenz zu verwenden. Wenn 3%ige Sanquin-Panels oder Sanquin-Erythrozytensuspensionsreagenz verwendet werden, muss nach dem nachstehenden Herstellungsprotokoll eine 0,5%ige Suspension in Cellbind DILUENT ([REF](#) K7180) hergestellt werden. Für die Verwendung von anderen Panels oder Erythrozytenreagenz ist eine Validierung durch den Anwender obligatorisch.

Hinweis: Dieses Protokoll kann nicht bei Zellen angewendet werden, die mit Enzymen behandelt worden sind ([REF](#) K1384 und [REF](#) K1393). Sollte es erforderlich sein, enzymbehandelte Zellen zu verwenden, muss Cellbind P3-P ([REF](#) K7211) oder Cellbind ID16-P ([REF](#) K7231) verwendet werden.

Herstellung von 0,5%igen Erythrozytensuspensionen:

1. 11 µL Patienten- oder Spendererythrozytenkonzentrat + 2 mL Cellbind LISS ([REF](#) K7100, [REF](#) K7110 oder [REF](#) K7130)
2. 200 µL 3%iges Sanquin-Panel oder Sanquin-Erythrozytensuspensionsreagenz + 1 mL Cellbind DILUENT ([REF](#) K7180)

Betriebsanleitung für die Cellbind Zentrifuge

Zur Verwendung der Hettich Zentrifuge für Cellbind Karten sind die folgenden Schritte durchzuführen:

1. Den Cellbind Rotor entsprechend den Angaben im Betriebshandbuch von Hettich einsetzen.
2. Der Rotor wird von der Zentrifuge erkannt und automatisch entsprechend dem Cellbind Protokoll programmiert.
3. Für den nachfolgend im Cellbind Testverfahren erwähnten Zentrifugationsschritt muss „Start“ gedrückt werden und die Rotation der Zentrifuge erfolgt entsprechend den folgenden 3 Stufen:

- 0-2 Minuten	75 rcf	780 rpm
- 2-3 Minuten	200 rcf	1280 rpm
- 3-10 Minuten	1790 rcf	3840 rpm
4. Nach der Zentrifugation kann der Deckel geöffnet und die Karten herausgenommen werden.

Testverfahren

Alle Reagenzien sollten Raumtemperatur annehmen (18-25 °C). Keine Cellbind Screen-Karten verwenden, die Luftblasen in der Gelmatrix, beschädigte Versiegelungen oder Anzeichen einer Austrocknung (unregelmäßiger Flüssigkeitsstand oder keine Flüssigkeit oberhalb der Gelmatrix) aufweisen.

Nachweis oder Identifizierung von Antikörpern

1. Schutzstreifen von der benötigten Anzahl von Säulen entfernen.
2. 40-50 µl der 0,5%igen Erythrozytensuspension von Testzellen in das Inkubationskompartiment geben.
3. Das gleiche Volumen (40-50 µl) Plasma oder Serum in das Inkubationskompartiment geben.
4. 15 Minuten bei 37 °C im Cellbind Inkubator inkubieren.
5. Karten in die Cellbind Zentrifuge einsetzen (10 Minuten). Die Zentrifugenparameter sind bereits einprogrammiert.
6. Reaktionen ablesen.

Typisierung von Blutgruppenantigenen

1. Schutzstreifen von der benötigten Anzahl von Säulen entfernen.
2. 40-50 µl der 0,5%igen Erythrozytensuspension von Patienten- oder Spenderzellen in das Inkubationskompartiment geben.

- 20 µl der Sanquin Reagenz zur Blutgruppenbestimmung in das Inkubationskompartiment geben.
Hinweis: Eine Liste validierter Blutgruppenreagenzien ist auf der Website www.cellbind.nl erhältlich. Bei einigen dieser Reagenzien ist ein zusätzlicher Inkubationsschritt erforderlich. Diese Reagenzien sind in dieser Liste entsprechend gekennzeichnet. Die Verwendung anderer Reagenzien zur Blutgruppenbestimmung kann zu falschen Ergebnissen führen und solche Reagenzien sind daher vom Anwender selbst zu validieren.
- Karten in die Cellbind Zentrifuge einsetzen (10 Minuten). Die Zentrifugenparameter sind bereits einprogrammiert.
- Reaktionen ablesen.

Serumgegenprobe

- Schutzstreifen von der benötigten Anzahl von Säulen entfernen.
- 40-50 µl der 0,5%igen Erythrozytensuspensionsreagenz in das Inkubationskompartiment geben.
- Das gleiche Volumen (40-50 µl) Plasma in das Inkubationskompartiment geben.
- Karten in die Cellbind Zentrifuge einsetzen (10 Minuten). Die Zentrifugenparameter sind bereits einprogrammiert.
- Reaktionen ablesen.

Modifizierter direkter Antiglobulintest (DAT)

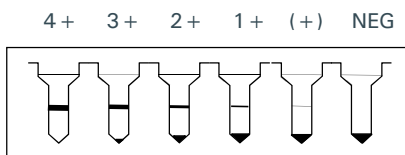
- Schutzstreifen von der benötigten Anzahl von Säulen entfernen.
- Einen Tropfen (40-50 µl) der 0,5%igen Erythrozytensuspension von Patientenzellen in das Inkubationskompartiment geben.
- Karten in die Cellbind Zentrifuge einsetzen (10 Minuten). Die Zentrifugenparameter sind bereits einprogrammiert.
- Reaktionen ablesen.

Verträglichkeitstest

- Schutzstreifen von der benötigten Anzahl von Säulen entfernen.
- 40-50 µl der 0,5%igen Erythrozytensuspension von Spendererythrozyten in das Inkubationskompartiment geben.
- Das gleiche Volumen (40-50 µl) Plasma oder Serum des Patienten in das Inkubationskompartiment geben.
- 15 Minuten bei 37 °C im Cellbind Inkubator inkubieren.
- Karten in die Cellbind Zentrifuge einsetzen (10 Minuten). Die Zentrifugenparameter sind bereits einprogrammiert.
- Reaktionen ablesen.

Interpretation

Bei positiven Reaktionen legen sich Erythrozyten in der obersten Schicht der Gelmatrix an. Bei negativen Reaktionen ist am Boden der Mikrosäule nur ein einzelner Erythrozytenknopf zu sehen. Die resultierenden Reaktionsmuster sind in der Abbildung dargestellt:



Wie viele der Erythrozyten sich in der obersten Schicht der Gelmatrix anlegen, hängt von Parametern wie beispielsweise der Antigendichte der Erythrozyten und dem Titer und der Affinität des Antikörpers ab. Auch die Dauer des zweiten Zentrifugationsschrittes und die Zentrifugalkraft während des dritten Schrittes spielen eine Rolle.

Ist daher eine Reaktion schwächer als 4+, befinden sich die Zellen ebenfalls am Boden der Mikrosäule. Dasselbe Muster ist bei Mischfeldagglutination zu erkennen.

Nachweis oder Identifizierung von Antikörpern

Positive Reaktionen zeigen das Vorhandensein von Erythrozytenantikörpern in dem Plasma oder Serum an. Negative Reaktionen zeigen das Nichtvorhandensein von Erythrozytenantikörpern an. Eine positive Autokontrolle kann das Vorhandensein von Autoantikörpern anzeigen.

Typisierung von Blutgruppenantigenen

Positive Reaktionen mit Reagenzien zur Blutgruppenbestimmung zeigen das Vorhandensein der entsprechenden Antigene auf den Erythrozyten an. Negative Reaktionen mit Reagenzien zur Blutgruppenbestimmung zeigen, dass die entsprechenden Antigene auf den Erythrozyten nicht nachgewiesen werden konnten.

Serumgegenprobe

Positive Reaktionen mit Erythrozytensuspensionsreagenz zeigen das Vorhandensein des entsprechenden Alloantikörpers an. Eine negative Reaktion zeigt, dass der entsprechende Alloantikörper nicht nachgewiesen werden konnte.

Modifizierter direkter Antiglobulintest (DAT)

Positive Reaktionen zeigen die *in vivo*-Beschichtung von Erythrozyten mit Antikörpern und/oder Komplementkomponenten an.

Verträglichkeitstest

Positive Reaktionen zeigen die Unverträglichkeit des Spenderbluts mit dem Empfänger an. Negative Reaktionen zeigen die Verträglichkeit des Spenderbluts mit dem Empfänger an.

Einschränkungen

Unerwartet positive Ergebnisse durch: Pseudoagglutination, Autoagglutination, Mischfeldagglutination, bestimmte Medikamente, zu hohe Erythrozytenkonzentration oder Erythrozyten, die *in vivo* mit Antikörpern und/oder Komplementkomponenten sensibilisiert wurden.

Unerwartet negative oder schwache Ergebnisse durch: Schwache Antigene, schwache Antikörper, niedrige Antikörper-Titer, Mischfeldagglutination, verringerte Aktivität der Reagenzien, unzureichende Interaktion der Erythrozytensuspension und des Plasmas, Serum oder Reagenz in dem Inkubationskompartiment und/oder vorzeitige Interaktion zwischen dem Inhalt des Inkubationskompartiments und dem High-Density-Medium. Falsch positive bzw. falsch negative Ergebnisse können die Folge eines Vorhandenseins von Luftblasen in der Gelmatrix, Verunreinigung von Testmaterialien oder einer etwaigen Abweichung von der empfohlenen Technik sein. Bei Verwendung stark hämolytischer Proben kann es zum Auftreten unspezifischer Reaktionen kommen. Wenn eine Probe Fibrinreste

enthält, kann dies zu einem Trapping nicht sensibilisierter Zellen bei der Zentrifugation führen, woraufhin sich oben an der Gelmatrix eine dünne rote Linie bildet.

Quellen

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.

Sanquin garantiert, dass die Funktionsweise seiner Produkte der Beschreibung in der Originalgebrauchsanweisung des Herstellers entspricht. Die strikte Einhaltung der Verfahren und Testanordnungen sowie die Verwendung der empfohlenen Reagenzien und Gerätschaften ist unerlässlich. Falls der Anwender von diesen Maßgaben abweicht, lehnt Sanquin jegliche Verantwortung ab.