

# 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**

**REF K7011**

**IVD CE**

061\_v02 01/2017 (de)

*Ausschließlich für berufliche  
Zwecke*

Mikrosäulentest zum Nachweis der *in vivo*-Beschichtung von Erythrozyten mit Antikörpern und/oder Komplementkomponenten

## Allgemeine Informationen

Der Cellbind Direct Assay ist ein Mikrosäulentest, bei dem *in vivo* mit Antikörpern und/oder Komplementkomponenten sensitivierte, suspendierte Erythrozyten sich an eine Gelmatrix anlagern in einem reaktionsverstärkenden Medium mit hoher Dichte. Eine Cellbind Direct Karte besteht aus zwei Mikrosäulen mit anti-IgG, zwei Mikrosäulen mit monoklonalem Anti-C3d-Antikörper und zwei Mikrosäulen als Kontrolle (Ctrl.). Der Cellbind Direct eignet sich für manuelle sowie für (halb-)automatische Systeme. Der Cellbind Direct 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 zum oberen Kompartiment der Mikrosäule gegeben. Die Karten werden zentrifugiert. In den anfänglichen Zentrifugationsphasen werden die antikörper- und/oder komplementbeschichteten Erythrozyten agglutiniert und an der Oberseite der Gelmatrix in der Mikrosäule angelagert. In der Schlussphase wandern die unbeschichteten oder sehr schwach beschichteten Erythrozyten zum Boden der Mikrosäule.

## Vorsichtsmaßnahmen

Nur zum Gebrauch für die *in vitro* Diagnostik. Cellbind Directkarten müssen bei 2-8 °C in der Polystyrol-Originalbox aufbewahrt werden. Die Box nach dem Gebrauch schließen. Die Cellbind Directkarten 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 Directkarten, 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 Direct Karten vor dem Gebrauch in der Cellbind Zentrifuge zentrifugiert werden. Cellbind Direct Karten 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:

Es wird empfohlen, nur frisches Blut für den Cellbind Direct Assay zu verwenden (innerhalb von 48 Stunden nach der Blutabnahme). Das Blut sollte vorzugsweise in EDTA abgenommen werden, um eine *in vitro*-Beschichtung von Erythrozyten mit Komplementkomponenten zu verhindern. Es empfiehlt sich, die Proben nach dem Auftauen 5 Minuten lang bei 3000 rcf zu zentrifugieren, bevor der Test durchgeführt wird, um alle Präzipitate zu entfernen.

### Reagenzien:

Cellbind Direct	<b>REF</b> K7011	Schachtel mit 48 Karten mit je 2 x (IgG, C3d, Kontrolle) Tests.
Cellbind LISS	<b>REF</b> K7100	Inkubationsmedium zur Herstellung einer 0,5%igen Erythrozytensuspension von Patienten- oder Spendererythrozyten (250 ml)
	<b>REF</b> K7110	Inkubationsmedium zur Herstellung einer 0,5%igen Erythrozytensuspension von Patienten- oder Spendererythrozyten (100 ml)
	<b>REF</b> K7130	Inkubationsmedium zur Herstellung einer 0,5%igen Erythrozytensuspension von Patienten- oder Spendererythrozyten (25 ml)

### Material:

Cellbind Zentrifuge	<b>REF</b> K7302
Cellbind Rotor	<b>REF</b> K7303
Cellbind Dispenser	<b>REF</b> K7300
Cellbind Workstation	<b>REF</b> K7301

### Erythrozytensuspensionen:

Für den Cellbind Direct Test muss eine 0,5%ige Suspension der Erythrozyten des Patienten in Cellbind LISS hergestellt.

### Herstellung von 0,5%igen Erythrozytensuspensionen:

11 µl gepackte Erythrozyten + 2 ml Cellbind LISS oder  
200 µl 3% Erythrozytensuspension des Patienten + 1 ml Cellbind LISS

### 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 Direct-Karten verwenden, die Luftblasen in der Gelmatrix, beschädigte Versiegelungen oder Anzeichen einer Austrocknung (unregelmäßiger Flüssigkeitsstand oder keine Flüssigkeit oberhalb der Gelmatrix) aufweisen.

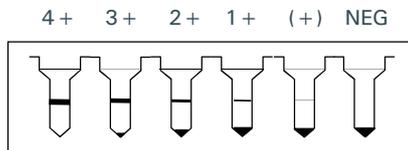
1. Schutzstreifen von der benötigten Anzahl von Säulen entfernen.
2. Einen Tropfen (40–50 µl) der 0,5%igen Suspension der Patientenerthrozyten in das Inkubationskompartiment geben.
3. Karten in die Cellbind Zentrifuge einsetzen (10 Minuten). Die Zentrifugenparameter sind bereits einprogrammiert.
4. Reaktionen ablesen.

### Interpretation

Bei positiven Reaktionen legen sich Erythrozyten in der obersten Schicht der Gelmatrix an. Positive Reaktionen zeigen die *in vivo*-Beschichtung von Erythrozyten mit Antikörpern und/oder Komplementkomponenten an.

Bei negativen Reaktionen ist am Boden der Mikrosäule nur ein einzelner Erythrozytenknopf zu sehen. Zeigt die Kontrollsäule keine negative Reaktion, sind die Testergebnisse nicht zuverlässig.

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 dem Grad der Sensitivierung der Erythrozyten, der Affinität der Antikörper gegenüber den Erythrozytenantigenen oder der Menge von beschichteten Komplementkomponenten auf den Erythrozyten ab. Auch die Dauer des ersten Zentrifugationsschrittes und die Zentrifugalkraft während der Endphase spielen eine Rolle.

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

### Einschränkungen

Unerwartet positive Ergebnisse durch: Pseudoagglutination, Autoagglutination, Mischfeldreaktion, bestimmte Medikamente oder zu hohe Erythrozytenkonzentration. Unerwartet negative oder schwache Ergebnisse durch: Mischfeldreaktion oder verringerte Aktivität der Reagenzien. Falsch positive bzw. falsch negative Ergebnisse können die Folge einer Vorhandensein 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.

### Quellen

1. Issit P.D.; Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
2. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9<sup>th</sup> 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.*