

## Instruks for håndtering af standardsæt blod Regionernes Bio- og GenomBank

### Introduktion

Denne instruks beskriver arbejdsgangen i laboratoriet i forbindelse med indsamling og håndtering af blod til opbevaring i Regionernes Bio- og GenomBank (RBGB). Hvis blodprøverne skal transporteres i længere tid inden håndtering, kan der evt. bruges serum-gel rør i stedet for tørglas til serum. Blodprøvepakken rekvireres af den relevante lokale kliniske afdeling via de lokale prøvebestillingsaftaler. Bemærk at der maksimalt kan tappes 35 ml til et standardsæt.

Instruksen er opdelt i tre:

- A. Instruks for håndtering af standardsæt blod version 1** (overvægt af serum)
- B. Instruks for håndtering af standardsæt blod version 2** (overvægt af plasma)
- C. Definerings af standardsæt blod version 3** (reduceret volumen, egnet til automatisering)

Pr. 22-06-2024 er der foretaget en opdatering af standardpakken, hvorved der blandt andet er oprettet et standardsæt til 2D-stregkodemærkede rør i SBS-plader, som tilgodeser pipettering via robot. Herudover er der foretaget en ændring af fordelingen af rør ved tapning for at afspejle en stigende efterspørgsel på plasma over serum. De nye standardsæt (version 2 og 3) er kun relevante for nye projekter, som indgår en samarbejdsaftale efter 22-06-2024. For allerede eksisterende projekter med en samarbejdsaftale indgået før 22-06-2024, foretages der ingen ændring i indsamlingen/håndteringen, og denne forbliver som hidtil.

## A. INSTRUKS FOR HÅNDBTERING AF STANDARDSÆT BLOD VERSION 1 (figur 1/tabel 1)

### Blodprøvetagning

1. Dato og klokkeslæt for prøvetagning noteres.
2. Veneblod tappes i passende rør (standardsæt fordeles i rør, som ses i figur 1):
  - **2×9/10ml tørtglas eller serum-gel rør (eller andre rør passende for proceduren)**
  - **1×9/10ml-EDTA rør (eller andre rør passende for proceduren)**
3. Veneblod tappes i serumrør/serum-gel rør og i EDTA-rør - i den nævnte rækkefølge hvis kanylen sættes direkte på røret. Hvis der benyttes sommerfugl, betyder rækkefølgen ingenting.
4. Serumrør/serum-gel rør vendes 5 gange og EDTA-røret vendes 8-10 gange lige efter blodprøvetagning.
5. Blodprøverne transporteres til laboratoriet ved stuetemperatur eller på is (transporttemp. registreres i modulet).

### Håndtering i laboratoriet

Blodprøver som modtages udenfor normal arbejdstid, og derfor ikke kan håndteres indenfor den anbefalede tid (3 timer), opbevares ved 4°C, indtil håndtering kan påbegyndes. I forbindelse med håndtering af prøverne noteres dato og klokkeslæt for modtagelse i laboratoriet, håndteringsstart, centrifugering (evt.) samt nedfrysning (status 'I fryser'), og oplysningerne indtastes i modulet. Hvis ikke der er materiale nok til at fylde alle mikrorørene, kan et rør udgå. Alternativt fordeles materialet ligeligt mellem rørene.

#### EDTA rør:

1. 1,5 ml fuldblod overføres med pipette til **1 mikrorør mrk. fuldblod-EDTA**.
2. Centrifuger EDTA-røret ved 4°C (anbefales) eller stuetemperatur, 2000×g\* i 10 min.
3. Afpipetter plasma indtil 0,5 cm over cellelaget og fordel i **2 mikrorør mrk. plasma-EDTA**.
4. Afpipetter 1×EDTA-buffy coat i et mikrorør (nederste del af plasma, hvide mellemlag og øverste del af erythrocytter) og overfør til **1 mikrorør mrk. buffycoat-EDTA**.

\* g-værdien =  $0,00001118 \cdot r \cdot \text{RPM}^2$ , eksempelvis vil 4500 RPM ved rotorradius 9 cm svare til 2038×g

#### Tørtglas/serum-gel rør til serum:

5. Lad serumrørene koagulere i min. 30 min (max. 2 timer) ved stuetemperatur. Hvis producenten anbefaler >30 min. koagulation, følges dette.
6. Centrifuger serumrørene ved 4°C (anbefales) eller stuetemperatur 2000×g i 10 min.
7. Afpipetter serum indtil 0,5 cm over cellelaget og overfør til **4 mikrorør mrk. serum/serum-SST**.

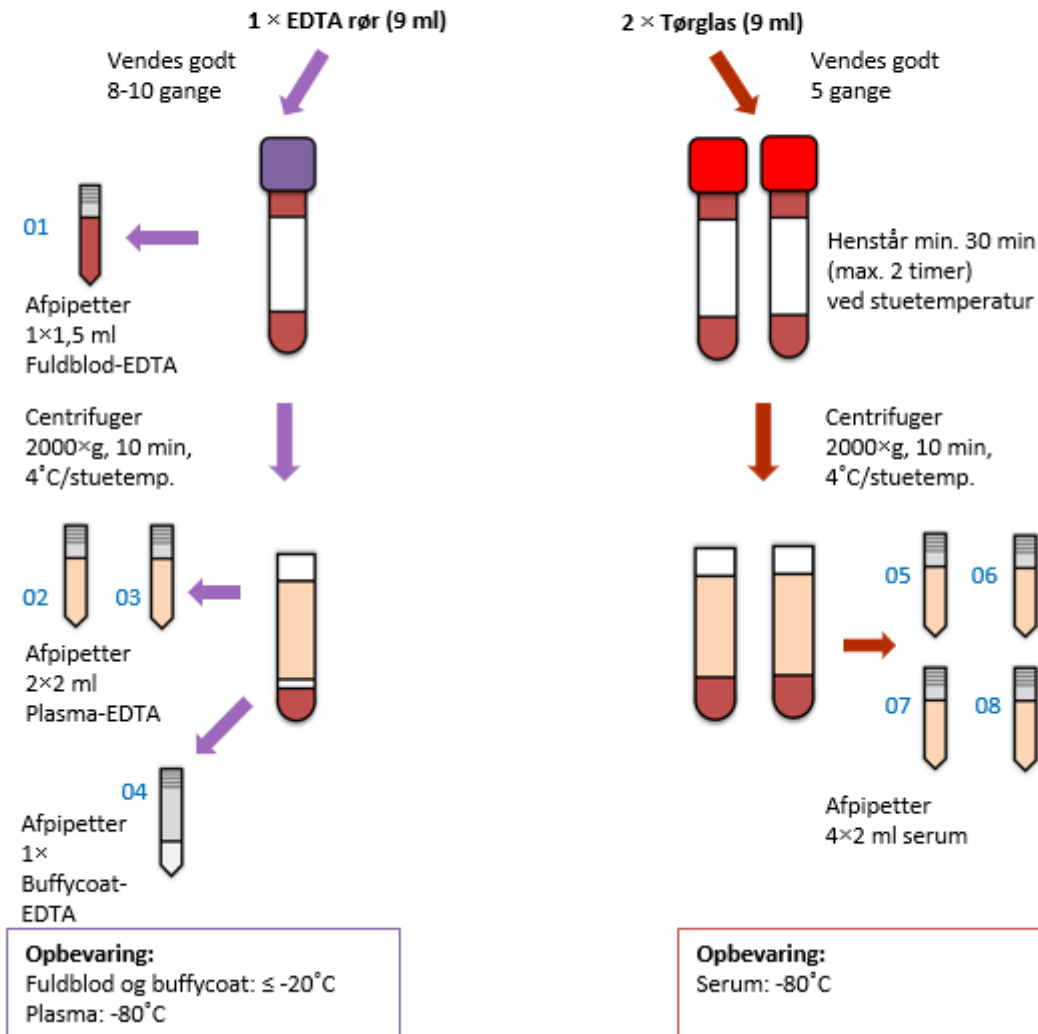
#### Opbevaring:

8. Håndteringen resulterer optimalt i 8 fraktioner (standardpakke). Efter endt håndtering sættes fraktionerne hurtigst muligt i fryseren og opbevares ved følgende temperaturer:
  - Fuldblod-EDTA og buffycoat-EDTA: -20°C eller -80°C
  - Plasma-EDTA: -80°C
  - Serum/serum-SST: -80°C

### Standardsæt blod (version 1)

**Prioritering:**

1. Fuldblod
2. Serum
3. Plasma/buffycoat



**Figur 1.** Instruks for håndtering af standardsæt blod version 1 (eksempel vist med 9 ml primærrør). Ved begrænset kapacitet/materiale er prioriteringsrækkefølgen: fuldblod, serum, plasma/buffycoat. Ved begrænset mængde serum eller EDTA-plasma udgår fraktionsrør. Alternativt fordeles materialet ligeligt i fraktionsrørene.

Prøvetagningsrør	Håndtering	Fraktioner til opbevaring	Slutopbevaring (temperatur)
<b>1×EDTA rør</b> 9/10 ml eller andet for proceduren passende rør	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vendes godt 8-10 gange</li> <li>Afpipettering af 1×1,5 ml velblandet fuldblod</li> <li>Centrifugering: 2000×g, 10 min, 4°C/ stue temp.</li> <li>Afpipettering af 2×2 ml plasma</li> <li>Afpipettering af buffycoat</li> </ul>	=> 1×1,5 ml Fuldblod-EDTA  => 2×2 ml Plasma-EDTA => Buffycoat-EDTA	-20°C eller -80°C  -80°C  -20°C eller -80°C
<b>2×tørglas eller serum-gel</b> 2×9/10 ml eller andet for proceduren passende rør	<ul style="list-style-type: none"> <li>Koagulation ≥ 30 min (max 2 timer) ved stuetemperatur</li> <li>Centrifugering: 2000×g, 10 min, 4°C/ stue temp.</li> <li>Afpipettering af 2×2 ml serum</li> </ul>	=> 4×2 ml serum/serum-SST	-80°C

**Tabel 1.** Håndtering af standardsæt blod version 1 til RBGB. Ved begrænset kapacitet/materiale er prioriteringsrækkefølgen: fuldblod, serum, plasma/buffy coat. Ved begrænset mængde serum eller EDTA-plasma udgår fraktionsrør. Alternativt fordeles materialet ligeligt i fraktionsrørene.

### Etiketter

Ved indregistrering af blodfraktionerne printes etiketter, som påsættes de respektive fraktionsrør (figur 4).



**Figur 4.** Eksempel på etiket til fraktionsrør.

### Anbefalinger til laboratoriet

- Det anbefales at bruge handsker ved håndtering af prøver i laboratoriet.
- Vi henviser til RBGB's utensilieliste 'Oversigt over utensilier og reagenser' vedrørende indkøb af utensilier og reagenser.
- Laboratoriets gængse EDTA- og tørglas/serum-gel rør anvendes og behandles som laboratoriets øvrige blodprøver. Som standard anbefales tørglas til serum. Ved længere tids opbevaring/transport før håndtering kan serum-gel rør anvendes som alternativ; serum-gel rør centrifugeres da før opbevaring/transport.
- Efter modtagelse i laboratoriet opbevares blodprøver optimalt ved 4°C indtil de præpareres.
- Det anbefales, at man tilstræber en maksimal håndteringstid på 3 timer regnet fra blodprøvetagning til indfrysning. Blodprøver der modtages uden for normal arbejdstid bør stå på køl til næste dag.
- Mikrorør til opbevaring af blodfraktioner bør være forsynet med tætsluttende skruelåg med gummi O-ring. Det anbefales at anvende mikrorør og skruelåg, der er certificeret fri for DNase, RNase og humant DNA.

- Frysere tilkobles alarm for temperaturstigning og der udarbejdes en instruks for aktion ved driftsstop. Det anbefales endvidere at udarbejde instruks for manuel overvågning af frysere, samt at tilslutte frysere et system for enten temperaturlogging (hvor den absolutte temperatur henover døgnnet fremgår) eller et system, hvor evt. afvigelser udover de fastsatte grænseværdier kan ses.
- Fyldte vanddunke placeret i en halvtom fryser kan forsinke optøningen af prøver i tilfælde af driftsstop
- En tom -80°C reservefryser skal være til rådighed til brug ved driftsstop. Det anbefales at reservefryseren er afkølet.

## B. INSTRUKS FOR HÅNDBTERING AF STANDARDSÆT BLOD VERSION 2 (figur 2/figur 3/tabel 2)

### Blodprøvetagning

1. Dato og klokkeslæt for prøvetagning noteres.
2. Veneblod tappes i passende rør (standardsæt fordeles i rør, som ses i figur 1):
  - **1×9/10ml tørtglas eller serum-gel rør (eller andre rør passende for proceduren)**
  - **2×9/10ml-EDTA rør (eller andre rør passende for proceduren)**
3. Veneblod tappes i serumrør/serum-gel rør og i EDTA-rør - i den nævnte rækkefølge hvis kanylen sættes direkte på røret. Hvis der benyttes sommerfugl, betyder rækkefølgen ingenting.
4. Serumrør/serum-gel rør vendes 5 gange og EDTA-røret vendes 8-10 gange lige efter blodprøvetagning.
5. Blodprøverne transporteres til laboratoriet ved stuetemperatur eller på is (transporttemp. registreres i modulet).

### Håndtering i laboratoriet

Blodprøver som modtages udenfor normal arbejdstid og derfor ikke kan håndteres med det samme, opbevares ved 4°C, indtil håndtering kan påbegyndes. I forbindelse med håndtering af prøverne noteres dato og klokkeslæt for modtagelse i laboratoriet, håndteringsstart, centrifugering (evt.) samt nedfrysning (status 'I fryser'), og oplysningerne indtastes i modulet. Hvis ikke der er materiale nok til at fylde alle mikrorørene, kan et rør udgå. Alternativt fordeles materialet ligeligt mellem rørene.

EDTA rør:

I det følgende er der to muligheder for fuldblod og buffycoat, som resulterer i (A) to fuldblodsfraktioner eller (B) én fuldblod og én buffycoat:

- A1. 2×1,5 ml fuldblod overføres med engangspipette til **2 mikrorør mrk. fuldblod-EDTA.**
- A2. Centrifuger EDTA-rørene ved 4°C (anbefales) eller stuetemperatur, 2000×g\* i 10 min.
- A3. Afpipetter plasma indtil 0,5 cm over celledaget og fordel i **4 mikrorør mrk. plasma-EDTA.**
- B1. 1,5 ml fuldblod overføres med pipette til **1 mikrorør mrk. fuldblod-EDTA.**
- B2. Centrifuger EDTA-rørene ved 4°C (anbefales) eller stuetemperatur, 2000×g\* i 10 min.
- B3. Afpipetter plasma indtil 0,5 cm over celledaget og fordel i **4 mikrorør mrk. plasma-EDTA.**
- B4. Afpipetter 1×buffycoat i et mikrorør (nederste del af plasma, hvide mellemlag og øverste del af erythrocytter) og overfør til **1 mikrorør mrk. buffycoat-EDTA.**

\* g-værdien =  $0,00001118 \cdot r \cdot \text{RPM}^2$ , eksempelvis vil 4500 RPM ved rotorradius 9 cm svare til 2038×g

Tørtglas/serum-gel rør til serum:

5. Lad serumrørene koagulere i min. 30 min (max. 2 timer) ved stuetemperatur. Hvis producenten anbefaler >30 min. koagulation, følges dette.
6. Centrifuger serumrørene ved 4°C (anbefales) eller stuetemperatur 2000×g i 10 min.
7. Afpipetter serum indtil 0,5 cm over celledaget og overfør til **2 mikrorør mrk. serum/serum-SST.**

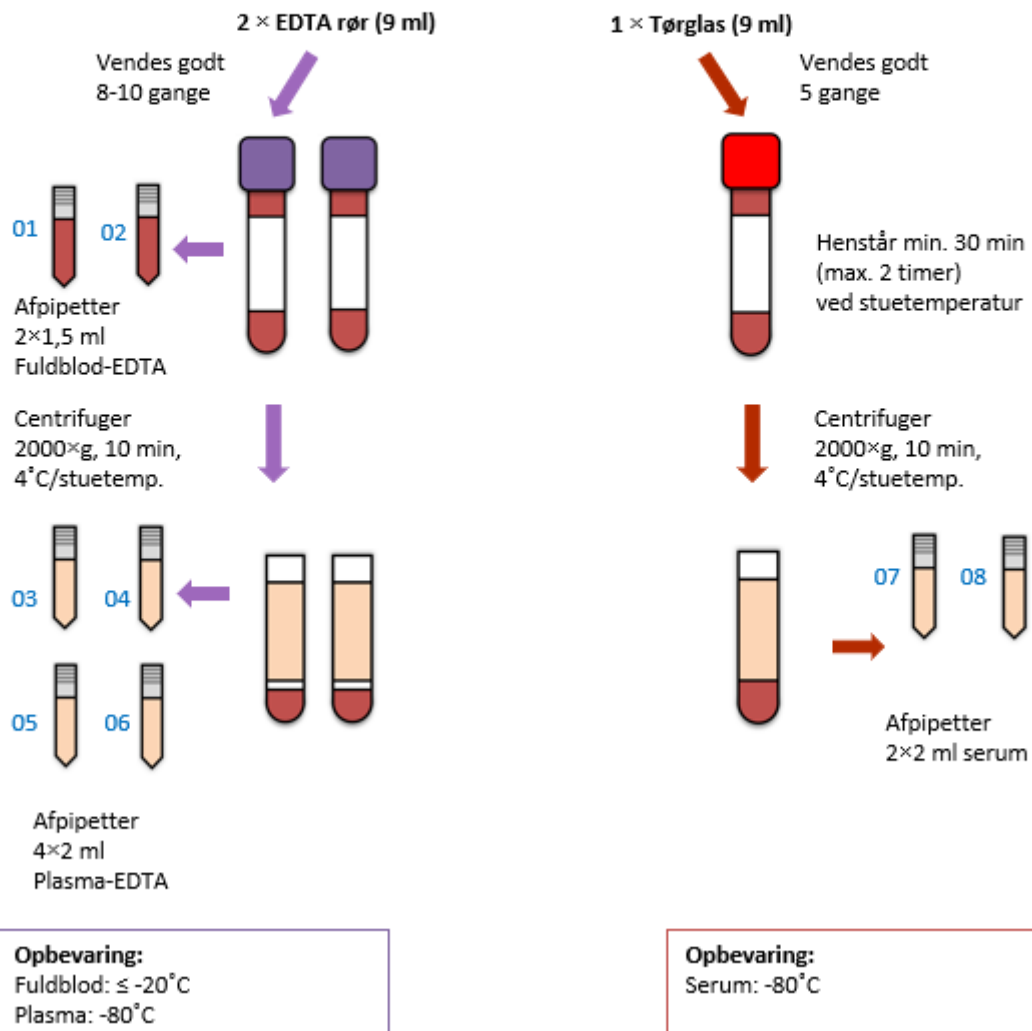
## Opbevaring

8. Håndteringen resulterer optimalt i 8 fraktioner (standardpakke). Efter endt håndtering sættes fraktionerne hurtigst muligt i fryseren og opbevares ved følgende temperaturer:

- Fuldblod-EDTA og buffycoat-EDTA:  $-20^{\circ}\text{C}$  eller  $-80^{\circ}\text{C}$
- Plasma-EDTA:  $-80^{\circ}\text{C}$
- Serum/serum-SST:  $-80^{\circ}\text{C}$

### SOP, standardsæt blod (version 2.A)

**Prioritering:**  
 1. Fuldblod  
 2. Serum  
 3. Plasma

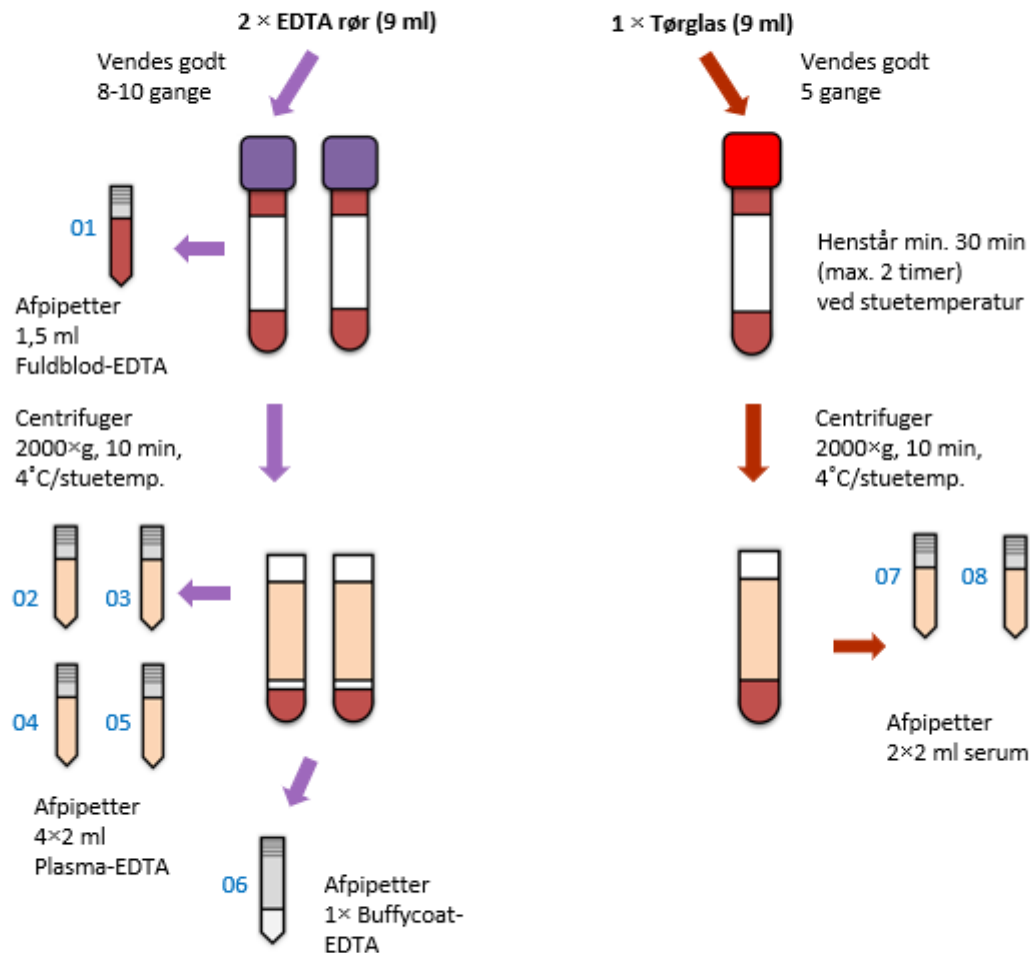


**Figur 2.** Instruks for håndtering af standardsæt blod version 2.A med 2 fuldblodsfraktioner (eksempel vist med 9 ml primærrør). Ved begrænset kapacitet/materiale er prioriteringsrækkefølgen: fuldblod, serum, plasma. Ved begrænset mængde serum eller EDTA-plasma udgår fraktionsrør. Alternativt fordeles materialet ligeligt i fraktionsrørene.

**SOP, standardsæt blod (version 2.B)**

**Prioritering:**

1. Fuldblod
2. Serum
3. Plasma/buffycoat



**Opbevaring:**

Fuldblod og buffycoat: ≤ -20°C  
Plasma: -80°C

**Opbevaring:**

Serum: -80°C

**Figur 3.** Instruks for håndtering af standardsæt blod version 2.B med 1 fuldblod og 1 buffy coat (eksempel vist med 9 ml primærrør). Ved begrænset kapacitet/materiale er prioriteringsrækkefølgen: fuldblod, serum, plasma/buffycoat. Ved begrænset mængde serum eller EDTA-plasma udgår fraktionsrør. Alternativt fordeles materialet ligeligt i fraktionsrørene.



Prøvetagningsrør	Håndtering	Fraktioner til opbevaring	Slutopbevaring (temperatur)
<b>2×EDTA rør</b> 2×9/10 ml eller andet for proceduren passende rør	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vendes godt 8-10 gange</li> <li>Afpipettering af 1-2×1,5 ml velblandet fuldblod</li> <li>Centrifugering: 2000×g, 10 min, 4°C/ stue temp.</li> <li>Afpipettering af 4×2 ml plasma</li> <li>Afpipettering af 0-1×buffycoat</li> </ul>	=> 1-2×1,5 ml Fuldblod-EDTA  => 4×2 ml EDTA-plasma 0-1×Buffycoat-EDTA	-20°C eller -80°C  -80°C -20°C eller -80°C
<b>1×tørglas eller serum-gel</b> 1× 9/10 ml eller andet for proceduren passende rør	<ul style="list-style-type: none"> <li>Koagulation ≥ 30 min (max 2 timer) ved stuetemperatur</li> <li>Centrifugering: 2000×g, 10 min, 4°C/ stue temp.</li> <li>Afpipettering af 2×2 ml serum</li> </ul>	=> 2×2 ml serum/serum-SST	-80°C

**Tabel 2.** Håndtering af standardsæt blod version 2.A og 2.B til RBGB. Ved begrænset kapacitet/materiale er prioriteringsrækkefølgen: fuldblod, serum, plasma/buffy coat. Ved begrænset mængde serum eller EDTA-plasma udgår fraktionsrør. Alternativt fordeles materialet ligeligt i fraktionsrørene.

### Etiketter

Ved indregistrering af blodfraktionerne printes etiketter, som påsættes de respektive fraktionsrør (figur 2).



**Figur 2.** Eksempel på etiketter til fraktionsrør.

### Anbefalinger til laboratoriet

- Det anbefales at bruge handsker ved håndtering af prøver i laboratoriet.
- Vi henviser til RBGB's utensilieliste 'Oversigt over utensilier og reagenser' vedrørende indkøb af utensilier og reagenser.
- Laboratoriets gængse EDTA- og tørglas/serum-gel rør anvendes og behandles som laboratoriets øvrige blodprøver. Som standard anbefales tørglas til serum. Ved længere tids opbevaring/transport før håndtering, kan serum-gel rør anvendes som alternativ; serum-gel rør centrifugeres da før opbevaring/transport.
- Efter modtagelse i laboratoriet opbevares blodprøver optimalt ved 4°C indtil de præpareres.
- Det anbefales, at man tilstræber en maksimal håndteringstid på 3 timer regnet fra blodprøvetagning til indfrysning. Blodprøver der modtages uden for normal arbejdstid, bør stå på køl til næste dag.
- Mikrorør til opbevaring af blodfraktioner bør være forsynet med tætsluttende skruelåg med gummi O-ring. Det anbefales at anvende mikrorør og skruelåg, der er certificeret fri for DNase, RNase og humant DNA.
- Frysere tilkobles alarm for temperaturstigning og der udarbejdes en instruks for aktion ved drifts-stop. Det anbefales endvidere at udarbejde instruks for manuel overvågning af frysere, samt at

tilslutte fryserne et system for enten temperaturlogging (hvor den absolutte temperatur henover døgnet fremgår) eller et system, hvor evt. afvigelser udover de fastsatte grænseværdier kan ses.

- Fyldte vanddunke placeret i en halvtom fryser kan forsinke optøningen af prøver i tilfælde af driftsstop
- En tom -80°C reservefryser skal være til rådighed til brug ved driftsstop. Det anbefales at reservefryseren er afkølet.

### C. DEFINERING AF STANDARDSÆT BLOD VERSION 3

Standardsæt version 3 med reduceret volumen er udarbejdet til automatisering (robotpipettering), men er ikke forbeholdt robot. Det er derfor frit for at benytte version 3 for bedre pladsoptimering, når matrixrør er tilgængelige.

#### Blodprøvetagning

1. Dato og klokkeslæt for prøvetagning noteres.
2. Veneblod tappes i passende rør:
  - **1×3 ml EDTA rør (eller andre rør passende for proceduren) til fuldblod**
  - **1×9 ml EDTA rør (eller andre rør passende for proceduren) til plasma**
  - **3×3,5 ml tørglas eller serum-gel rør (eller andre rør passende for proceduren)**

#### Håndtering i laboratoriet

Blodprøver som modtages udenfor normal arbejdstid, og derfor ikke kan håndteres med det samme, opbevares ved 4°C indtil håndtering kan påbegyndes. I forbindelse med håndtering af prøverne noteres dato og klokkeslæt for modtagelse i laboratoriet, håndteringsstart, centrifugering (evt.) samt nedfrysning (status 'I fryser'), og oplysningerne indtastes i modulet. Hvis ikke der er materiale nok til at fylde alle mikrorørene, kan et rør udgå. Alternativt fordeles materialet ligeligt mellem rørene.

1. Proceduren for pipettering via robot defineres på den pågældende afdeling baseret på robottype. Håndteringen skal resultere i et standardsæt bestående af følgende 9 fraktioner:
  - 2×fuldblod (850 µl)
  - 4×plasma (850 µl)
  - 3×serum (850 µl)

#### Opbevaring:

2. Efter endt håndtering sættes fraktionerne hurtigst muligt i fryseren og opbevares ved følgende temperaturer:
  - EDTA-fuldblod: -20°C eller -80°C
  - EDTA-plasma: -80°C
  - Serum: -80°C

Oplysninger om Regionernes Bio- og GenomBank (RBGB) kan fås ved henvendelse til:

Sekretariatet for Regionernes Bio- og GenomBank, Afdeling for Patologi, Herlev Hospital, Borgmester Ib Juuls Vej 73, Opgang 7, 4. etage, L5, 2730 Herlev. Tlf. (+45): 3868 9132/3868 9812. E-mail: [RBGB.sekretariat.herlev-og-gentofte-hospital@regionh.dk](mailto:RBGB.sekretariat.herlev-og-gentofte-hospital@regionh.dk)