QUOTIENT

ALBA Elution Kit

Pro kyselou eluci protilátek z intaktních červených krvinek

REF **Z313** IVD CE

URČENÉ POUŽITÍ

Eluční souprava ALBA Elution Kit je určena pro použití při kyselé eluci protilátek z intaktních červených krvinek, aby bylo možné provést další detekci a/nebo identifikaci.

Je určena pro profesionální použití v zařízeních pro dárce krve nebo v klinických laboratořích k provádění kyselé eluce protilátek souvisejících s transfuzí u běžné populace.

Tento postup preanalytické fáze se provádí ručně.

Eluční souprava ALBA Elution Kit představuje pouze příslušenství pro přípravu vzorků a neposkytuje diagnostické výsledky pro analyt.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Protilátky navázané na červené krvinky *in vivo* nebo *in vitro* mohou být disociovány a získány kyselou elucí. Eluované protilátky pak mohou být dále detekovány/identifikovány sérologickými metodami.

PRINCIP POSTUPU

Nenavázané protilátky se ze vzorku odstraní důkladným promytím pracovním promývacím roztokem. Po promytí je komplex antigen-protilátka disociován přidáním elučního roztoku s nízkým pH. Získaný eluát se poté vrátí na vhodné pH pro sérologické testování přidáním pufrovacího roztoku.

REAGENCIE

Souprava ALBA Elution Kit se skládá z následujících součástí:

Označení lahvičky	Název	Popis
1	Concentrated Wash Solution (Koncentrovaný promývací roztok)	Glycinem pufrovaný roztok používaný k minimalizaci disociace protilátek během promývání. Lahvička 1 x 30 ml. Konzervační činidlo: 1,0% azid sodný.
2	Elution Solution (Eluční roztok)	Glycinový pufr s nízkým pH obsahující indikátor pH. Lahvička 1 x 10 ml.
3	Buffering Solution (Pufrační roztok)	Roztok Tris (hydroxymethyl aminomethan) obsahující hovězí sérový albumin. Lahvička 1 x 11 ml. Konzervační činidlo: < 0,1% azid sodný.

Součásti soupravy mohou být libovolně zaměňovány z různých šarží, pokud nemají prošlé datum použitelnosti.

Hovězí sérový albumin pochází ze zvířat prohlášených za prosté onemocnění bovinní spongiformní encefalopatií (BSE) a u nichž se má za to, že mají nízké riziko výskytu přenosných spongiformních encefalopatií (TSE).

VAROVÁNÍ A UPOZORNĚNÍ

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.

Nezbytné je použití doporučeného vybavení/materiálu a důsledné dodržování postupů.

Výrobek nepoužívejte, pokud je narušena jeho integrita.

Používejte vhodné osobní ochranné prostředky a dodržujte místní laboratorní bezpečnostní postupy.

Nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti (rok, měsíc, den: RRRR-MM-DD).

Nepoužívejte v zakaleném stavu.

Tento výrobek obsahuje součásti (kapací baňky) obsahující suchý přírodní kaučuk. Tato součást je certifikována jako neobsahující latex.

Veškeré podrobnosti o bezpečnostních informacích naleznete v bezpečnostním listu.

EU prohlášení o nebezpečnosti a preventivních opatřeních

		Signální slovo – varování
1	Concentrated Wash Solution (Koncentrovaný promývací roztok) (Obsahuje: azid sodný 1%)	H312 Zdraví škodlivý při styku s kůží. H371 Může způsobit poškození orgánů. H412 Škodlivý pro vodní organismy s dlouhodobými účinky. P260 Nevdechujte mlhu/páry/aerosoly. P273 Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P280 Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle. P308+P311 Při expozici nebo podezření na expozici: Volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO / lékaře. P312 Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO / lékaře. P501 Likvidujte v souladu s vnitrostátními předpisy.

EUH věty

1	Concentrated Wash Solution (Koncentrovaný promývací roztok) (Obsahuje: azid sodný 1%)	EUH032 Při kontaktu s kyselinami se uvolňuje velmi toxický plyn.
3	Buffering Solution (Pufrační roztok) (Obsahuje: azid sodný < 0,1%)	EUH032 Při kontaktu s kyselinami se uvolňuje velmi toxický plyn.

SKLADOVÁNÍ, MANIPULACE A LIKVIDACE

Když se eluční souprava ALBA Elution Kit nepoužívá, měla by být skladována při teplotě 2–25 °C. Delší skladování při teplotách mimo tento rozsah může urychlit ztrátu aktivity činidla. Chraňte před mrazem. Doporučené skladování připraveného pracovního promývacího roztoku naleznete v části Příprava reagencií.

© ALBA BIOSCIENCE LIMITED 2023 – VŠECHNA PRÁVA VYHRAZENA

Azid sodný může být při požití toxický a může reagovat s olovem a mědí za vzniku výbušných sloučenin. V případě likvidace do dřezu spláchněte velkým množstvím vody, abyste zabránili hromadění azidu.

Dodržujte místní předpisy o likvidaci platné ve vaší lokalitě spolu s doporučeními a informacemi v bezpečnostním listu a/nebo se řiďte informacemi o chemických látkách v části Reagencie, abyste určili bezpečnou likvidaci tohoto produktu.

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

Vzorky by měly být odebírány standardní odběrovou technikou. Vzorek by měl být testován co nejdříve po odběru. Pokud je testování odloženo, měl by být vzorek uchováván při teplotách chlazení. Použití červených krvinek starších než 72 hodin může vést k nižším výtěžkům získaných protilátek. Preferovány jsou antikoagulované vzorky odebrané do EDTA.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Připravte si pracovní promývací roztok zředěním koncentrovaného promývacího roztoku **1** v poměru 1:10 v destilované nebo deionizované vodě (jeden díl koncentrovaného promývacího roztoku plus devět dílů vody). Roztok je stabilní po dobu až tří měsíců při skladování při teplotě 2–8 °C nebo až 10 dnů při skladování při teplotě 20–25 °C. Použití studeného pracovního promývacího roztoku může minimalizovat disociaci protilátek během promývání.

Pokud připravujete celý 30ml objem dodaného koncentrovaného promývacího roztoku, smíchejte ho s 270 ml vody.

Ostatní součásti soupravy jsou dodávány připravené k použití.

POSTUP

Tato reagencie byla standardizována pouze při použití postupu popsaného níže.

Poskytnutý materiál

- ALBA Elution Kit

Požadované, avšak neposkytnuté materiály

- Destilovaná nebo deionizovaná voda
- Izotonický fyziologický roztok
- Pipety
- Centrifuga
- Testovací zkumavky 12 x 75 mm

Postup eluce

Při použití doplňkového testovacího zařízení (např. centrifuga) dodržujte postupy, které jsou uvedeny v návodu k obsluze dodaném výrobcem zařízení.

1. Alikvot červených krvinek promyjte jednou v izotonickém fyziologickém roztoku. Alikvot by měl být dostatečný k získání 1 ml koncentrátu červených krvinek. Po promytí odstraňte co nejvíce fyziologického roztoku.
2. Promyjte červené krvinky čtyřikrát pracovním promývacím roztokem, abyste odstranili veškeré nenavázané protilátky. Po každém promytí odstraňte co nejvíce supernatantu. Ponechte si malý alikvot supernatantu z posledního promytí jako kontrolu, která by měla být testována paralelně s eluátem.

   POZNÁMKA: Pro minimalizaci disociace protilátek během promývání se doporučuje použití pracovního promývacího roztoku; místo něho lze však použít i izotonický fyziologický roztok, pokud je to žádoucí.
3. Přeneste 1 ml (přibližně 20 kapek) promytých červených krvinek do čisté zkumavky.
4. Do zkumavky přidejte 1 ml (přibližně 20 kapek) elučního roztoku **2** a opatrně promíchejte tak, že zkumavku čtyřikrát převrátíte.

   POZNÁMKA: Pokud se k přípravě eluátu používá alternativní objem koncentrátu červených krvinek, měl by se objem použitého elučního roztoku rovnat objemu promytého koncentrátu červených krvinek.
5. Ihned centrifugujte po dobu 60 sekund při 1 000 rcf (přibližně 3 400 ot./min).*
6. Přeneste eluát do čisté zkumavky a zlikvidujte červené krvinky.

   POZNÁMKA: Pokud je přítomno nadměrné množství buněčných zbytků, lze eluát před přidáním pufrovacího roztoku znovu centrifugovat a přenést do druhé čisté zkumavky.
7. K eluátu po kapkách přidávejte pufrovací roztok **3**, každou kapku dobře promíchejte, dokud se po promíchání neobjeví modrá barva, která nemizí. Modrá barva znamená, že bylo obnoveno pH eluátu v rozmezí vhodném pro testování.
8. Centrifugujte eluát po dobu 2 minut při 1 000 rcf (přibližně 3 400 ot./min)*, abyste odstranili veškeré buněčné zbytky.
9. Odstředěný eluát přeneste do čisté zkumavky.
10. Pokud má být eluát testován technikami sloupcové aglutinace, měl by být znovu centrifugován po dobu a při rychlosti odpovídající testovací metodě a přenesen do čisté zkumavky.
11. Eluát je nyní připraven k testování.

Eluát lze testovat pomocí konvenčního nepřímého antiglobulinového testu, s nebo bez obohacujícího média, nebo pomocí technik sloupcové aglutinace podle standardních pracovních postupů vaší laboratoře nebo pokynů výrobce k použití.

Eluát lze skladovat při teplotě 2-8 °C a testovat až sedm dnů po přípravě.

*Nebo po dobu a při rychlosti odpovídající použité centrifuze.

KONTROLA KVALITY

Když jsou v eluátu detekovány protilátky, měl by být jako kontrola testován alikvot supernatantu z posledního promytí. Negativní výsledek kontroly ukazuje, že veškeré protilátky detekované v eluátu byly uvolněny z navázaného stavu a nejde o nenavázané protilátky, které zbyly po nedostatečném promytí.

Pokud je výsledek kontrolního testu pozitivní, eluci je třeba opakovat, přičemž je třeba dbát na důkladné promytí červených krvinek.

OMEZENÍ

Výtěžek protilátek získaný z postupu eluce závisí na následujících proměnných:

1. Množství protilátek navázaných na červené krvinky.
2. Stupeň disociace navázaných protilátek během promývacího procesu.
3. Stupeň rekombinace protilátek, ke kterému dochází před oddělením eluátu od červených krvinek.

© ALBA BIOSCIENCE LIMITED 2023 – VŠECHNA PRÁVA VYHRAZENA

4. Stupeň denaturace imunoglobulinu elučním roztokem s nízkým pH během disociace.

Stupeň hemolýzy přítomné v eluátu je ovlivněn prodlouženou expozicí červených krvinek elučnímu roztoku a také vlastnostmi specifickými pro vzorek, jako je stáří a osmotická křehkost červených krvinek použitých k přípravě eluátu.

Pokud se neupraví pH eluátu na správný rozsah může to mít za následek hemolýzu testovaných červených krvinek nebo inhibici aktivity protilátek při následném testování.

Přidání nadměrného množství pufrovacího roztoku při úpravě pH může vést k naředění protilátek přítomných v eluátu.

Mezi další faktory, které mohou vést k falešným výsledkům, patří použití nestejného množství koncentrátu červených krvinek a elučního roztoku, nesprávná technika, nesprávné parametry centrifugace, použití vzorků krve po překročení doby 72 hodin nebo kontaminované zařízení, materiály nebo vzorky.

Červené krvinky použité v elučním postupu nesmí být použity pro typizaci antigenu.

SPECIFICKÉ VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Eluční souprava ALBA Elution Kit je uvolněna na trh po uspokojivém testování kontroly kvality provedeném výrobcem.

Srovnávací prostředek studie

Eluční postupy byly prováděny na vzorcích červených krvinek (RBC) senzibilizovaných IgG *in vivo* a *in vitro* za použití eluční soupravy ALBA Elution Kit a zavedené srovnávací soupravy. Získané eluáty byly testovány manuálním sérologickým vyšetřením ve zkumavkách, s a bez potenciace PEG, a technikami sloupcové aglutinace, včetně systémů ORTHO BioVue® a Bio-Rad ID-System, a výsledky byly porovnány ohledně ekvivalence.

Typ vzorku	Počet testovaných vzorků	Shoda (%) eluční soupravy ALBA Elution Kit se srovnávací soupravou
Erytrocyty senzibilizované IgG *in vitro*	45	100
Erytrocyty senzibilizované IgG *in vivo*	16	100

Mezi eluáty připravenými eluční soupravou ALBA Elution Kit a eluáty připravenými srovnávací soupravou byla prokázána 100% ekvivalence výsledků.

Studie přesnosti

Opakovatelnost: Bylo provedeno 10 postupů eluce na jednom vzorku červených krvinek senzibilizovaném *in vitro* lidskou polyklonální protilátkou proti krevní skupině třídy IgG za použití eluční soupravy ALBA Elution Kit. Eluce byly provedeny ve stejný den stejným pracovníkem.

Reprodukovatelnost: Dva pracovníci prováděli jeden eluční postup na jednom vzorku červených krvinek senzibilizovaných *in vitro* lidskou polyklonální protilátkou proti krevní skupině třídy IgG za použití dvou šarží eluční soupravy ALBA Elution Kit dvakrát denně po dobu pěti dnů, které nešly po sobě.

Získané eluáty byly testovány ve screeningových testech protilátek manuálním sérologickým vyšetřením ve zkumavkách a technikami sloupcové aglutinace (ORTHO BioVue®, Bio-Rad ID-System) a výsledky byly porovnány z hlediska ekvivalence mezi testovacími událostmi, aby se prokázala přesnost fungování soupravy.

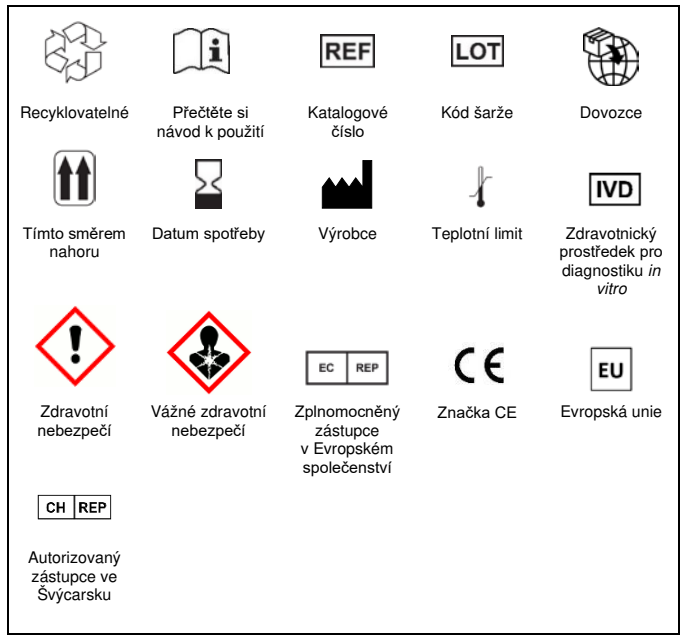
Testovací metoda	Opakovatelnost	Reprodukovatelnost
Manuálně ve zkumavkách	100 %	100 %
Systém ORTHO BioVue®	100 %	100 %
Systém Bio-Rad ID-System	100 %	100 %

BIBLIOGRAFIE

Rekvig OP, Hannestad K. Acid Elution of Blood Group Antibodies from Intact Erythrocytes. Vox Sang 1977; 33:280-285.

Judd WJ, Johnson ST, Storry J. Judd's Methods in Immunohematology. 4th ed. Bethesda, MD: AABB Press 2022: Chapter 4-E, 130-134.

SYMBOLY



© ALBA BIOSCIENCE LIMITED 2023 – VŠECHNA PRÁVA VYHRAZENA

Pro uživatele v Evropské unii a v zemích s identickým regulačním rámcem (IVDR) musí být jakýkoli závažný incident, ke kterému došlo v souvislosti s prostředkem, hlášen výrobci a/nebo zplnomocněnému zástupci a příslušnému vnitrostátnímu orgánu, ve kterém je uživatel usazen. Výrobce a autorizovaného zástupce lze kontaktovat pomocí následujících kontaktních informací.

Alba Bioscience Limited
5 James Hamilton Way
Milton Bridge
Penicuik
EH26 0BF - UK

Telefon: +44 (0) 131 357 3333
E-mail: customer.serviceEU@quotientbd.com
WWW: www.quotientbd.com

EC REP
Emergo Europe B.V.
Westervoortedijk 60
6827 AT, Arnhem
The Netherlands

EU
MedEnvoy Global BV
Prinses Margrietplantsoen
33 – Suite 123
2595 AM The Hague
The Netherlands

CH REP
Quotient Suisse SA
Business Park Terre Bonne
Route de Crassier 13
1262 Eysins
Switzerland

Informace o zákaznických službách najdete na: www.quotientbd.com nebo se obraťte na místního distributora.

HISTORIE REVIZÍ

Verze	Oddíl	Změna
1	Není relevantní	Nový produkt

© ALBA BIOSCIENCE LIMITED 2023 – VŠECHNA PRÁVA VYHRAZENA