ALBA Elution Kit

Pour l'élution acide d'anticorps à partir d'hématies intactes

REF **Z313** IVD CE

UTILISATION PRÉVUE

ALBA Elution Kit est destiné à l'élution acide d'anticorps à partir d'hématies intactes afin de permettre une détection ou une identification plus poussée.

Ce kit est destiné à un usage professionnel dans un environnement de don de sang ou de laboratoire clinique pour effectuer l'élution acide d'anticorps liés à la transfusion dans l'ensemble de la population.

Cette procédure préanalytique est effectuée manuellement.

ALBA Elution Kit est un accessoire servant uniquement à la préparation des échantillons et ne permet pas d'obtenir des résultats diagnostiques pour un analyte.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Les anticorps liés aux hématies *in vivo* ou *in vitro* peuvent être dissociés et récupérés par élution acide. Les anticorps élués peuvent ensuite être détectés/identifiés via des méthodes sérologiques.

PRINCIPE DE LA PROCÉDURE

Les anticorps non liés sont éliminés de l'échantillon par un lavage complet en utilisant la solution de lavage de travail. Après le lavage, le complexe antigène-anticorps est dissocié par l'ajout d'une Elution Solution (solution d'élution) à pH faible. L'éluat récupéré est ensuite ramené à un pH approprié par l'ajout d'une Buffering Solution (solution tampon) afin de réaliser des tests sérologiques.

RÉACTIF

ALBA Elution Kit se compose des éléments suivants :

Identifiant du flacon	Nom	Description
1	Concentrated Wash Solution (Solution de lavage concentrée)	Solution tamponnée à la glycine utilisée pour minimiser la dissociation des anticorps pendant le lavage. Flacon 1 x 30 mL. Conservateur : 1,0 % d'azide de sodium.
2	Elution Solution (Solution d'élution)	Solution tamponnée à la glycine à pH faible contenant un indicateur de pH. Flacon 1 x 10 mL.
3	Buffering Solution (Solution tampon)	Solution de tris(hydroxyméthyl)aminométhane contenant de l'albumine sérique bovine. Flacon 1 x 11 mL. Conservateur : < 0,1 % d'azide de sodium.

Les éléments du kit peuvent être interchangés entre les lots, à condition qu'ils ne soient pas périmés.

L'albumine sérique bovine provient d'animaux déclarés exempts d'encéphalopathies spongiformes bovines (ESB) et considérés comme présentant un faible risque d'encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST).

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Destiné à un usage diagnostique *in vitro* uniquement.

L'utilisation de l'équipement/du matériel recommandé et le respect strict des procédures sont essentiels.

Ne pas utiliser si l'intégrité du produit est compromise.

Porter un équipement de protection individuelle approprié et suivre les procédures de sécurité du laboratoire local.

Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption (année, mois, jour : AAAA-MM-JJ).

Ne pas utiliser en cas de produit trouble.

Ce produit contient des composants (compte-gouttes) contenant du caoutchouc naturel sec. Ce composant est certifié sans latex.

Se reporter à la fiche de données de sécurité pour obtenir des informations complètes sur la sécurité.

Mentions de danger et de précaution de l'UE

		Mentions d'avertissement
1	Concentrated Wash Solution (Solution de lavage concentrée) (Contient : azide de sodium, 1 %) 	H312 Nocif par contact cutané. H371 Risque présumé d'effets graves pour les organes. H412 Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P260 Ne pas respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P273 Éviter le rejet dans l'environnement. P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux. P308+P311 En cas d'exposition prouvée ou suspectée : appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin. P312 Appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin en cas de malaise. P501 Éliminer conformément à la réglementation nationale.

Mentions EUH

1	Concentrated Wash Solution (Solution de lavage concentrée) (Contient : azide de sodium, 1 %)	EUH032 Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.
3	Buffering Solution (Solution tampon) (Contient : azide de sodium, < 0,1 %)	EUH032 Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.

© ALBA BIOSCIENCE LIMITED 2023 – TOUS DROITS RÉSERVÉS

STOCKAGE, MANIPULATION ET ÉLIMINATION

ALBA Elution Kit doit être conservé entre 2 et 25 °C lorsqu'il n'est pas utilisé. Un stockage prolongé à des températures en dehors de cette plage peut entraîner une perte accélérée de l'activité du réactif. Ne pas congeler. Se reporter à la section « Préparation du réactif » pour connaître les recommandations de conservation de la solution de lavage de travail préparée.

L'azide de sodium peut être toxique en cas d'ingestion et réagir avec les canalisations en plomb et en cuivre pour former des composés explosifs. En cas d'élimination dans un évier, rincer abondamment à l'eau pour éviter l'accumulation d'azide.

Respecter les réglementations locales en matière d'élimination ainsi que les recommandations et le contenu de la fiche de données de sécurité et/ou se reporter aux informations chimiques fournies dans la section « Réactif » pour déterminer la manière dont ce produit doit être éliminé en toute sécurité.

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Les échantillons doivent être prélevés selon une technique standard. L'échantillon doit être testé dès que possible après le prélèvement. Si le test est retardé, l'échantillon doit être conservé au réfrigérateur. L'utilisation d'hématies de plus de 72 heures peut entraîner une diminution des rendements des anticorps récupérés. Utilisez de préférence les échantillons anticoagulés prélevés dans de l'EDTA.

PRÉPARATION DU RÉACTIF

Préparer la solution de lavage de travail en diluant la Concentrated Wash Solution (solution de lavage concentrée) 1 dans une proportion de 1:10 dans de l'eau distillée ou désionisée (un volume de Concentrated Wash Solution (solution de lavage concentrée) pour neuf volumes d'eau). La solution est stable pendant trois mois lorsqu'elle est conservée entre 2 et 8 °C ou jusqu'à 10 jours lorsqu'elle est conservée entre 20 et 25 °C. L'utilisation d'une solution de lavage de travail froide peut minimiser la dissociation de l'anticorps pendant le lavage.

En cas de préparation du volume complet de 30 mL de la Concentrated Wash Solution (solution de lavage concentrée) fournie, mélanger avec 270 mL d'eau.

Les autres composants du kit sont fournis prêts à l'emploi.

PROCÉDURE

Ce réactif a été standardisé pour être utilisé uniquement selon la procédure décrite ci-dessous.

Matériel fourni

- ALBA Elution Kit

Matériel supplémentaire requis (non fourni)

- Eau distillée ou désionisée
- Solution saline isotonique
- Pipettes
- Centrifugeuse
- Tubes à essai de 12 x 75 mm

Procédure d'élution

Lors de l'utilisation d'équipements de test supplémentaires (par ex. une centrifugeuse), suivre les procédures du manuel d'utilisation fourni par le fabricant du dispositif.

1. Laver une aliquote d'hématies une fois dans une solution saline isotonique. L'aliquote doit être suffisante pour obtenir 1 mL de concentré d'hématies. Retirer autant de solution saline que possible après le lavage.
2. Laver les hématies quatre fois avec la solution de lavage de travail pour éliminer tout anticorps non lié. Retirer autant de surnageant que possible après chaque lavage. Réserver une petite partie du surnageant lors du dernier lavage comme témoin à tester en parallèle avec l'éluat.

   REMARQUE : l'utilisation de la solution de lavage de travail est recommandée pour minimiser la dissociation des anticorps pendant le lavage. Toutefois, une solution saline isotonique peut être utilisée à la place, si nécessaire.
3. Transférer 1 mL (environ 20 gouttes) d'hématies lavées dans un tube propre.
4. Ajouter 1 mL (environ 20 gouttes) d'Elution Solution (solution d'élution) 2 dans le tube et mélanger délicatement en retournant le tube quatre fois.

   REMARQUE : si un autre volume de concentré d'hématies est utilisé pour préparer l'éluat, le volume d'Elution Solution (solution d'élution) doit être égal au volume du concentré d'hématies.
5. Centrifuger immédiatement pendant 60 secondes à une FCR de 1000 (environ 3400 tr/min).*
6. Transférer l'éluat dans un tube propre et jeter les hématies.

   REMARQUE : en cas de présence excessive de débris cellulaires, l'éluat peut être centrifugé à nouveau et transféré dans un second tube propre avant l'ajout de la Buffering Solution (solution tampon).
7. Ajouter la Buffering Solution (solution tampon) 3 à l'éluat goutte à goutte, en mélangeant bien après chaque goutte jusqu'à ce qu'une couleur bleue apparaisse et persiste après le mélange. La couleur bleue indique que le pH de l'éluat a été rétabli dans la plage appropriée pour le test.
8. Centrifuger l'éluat pendant 2 minutes à une FCR de 1000 (environ 3400 tr/min)* pour éliminer tout débris cellulaire résiduel.
9. Transférer l'éluat centrifugé dans un tube propre.
10. Si l'éluat doit être testé par des techniques d'agglutination sur colonne, il doit être centrifugé à nouveau à une durée et une vitesse appropriées à la méthode de test puis transféré dans un tube propre.
11. L'éluat est maintenant prêt pour le test.

L'éluat peut être testé à l'aide d'un test indirect conventionnel à l'antiglobuline, avec ou sans produit d'amplification, ou de techniques d'agglutination sur colonne, conformément aux procédures opérationnelles standard du laboratoire ou à la notice d'utilisation du fabricant.

L'éluat peut être conservé entre 2 et 8 °C et testé jusqu'à sept jours après sa préparation.

* Ou une durée et une vitesse adaptées à la centrifugeuse utilisée.

CONTRÔLE QUALITÉ

Lorsqu'un anticorps est détecté dans l'éluat, une aliquote du surnageant du dernier lavage doit être testée en tant que contrôle. Un résultat de contrôle négatif indique que tout anticorps détecté dans l'éluat a été libéré d'un état lié et non d'un anticorps non lié restant après un lavage inadapté.

QUOTIENT

© ALBA BIOSCIENCE LIMITED 2023 – TOUS DROITS RÉSERVÉS

Si le résultat du test de contrôle est positif, l'élution doit être répétée en prenant soin de laver soigneusement les hématies.

LIMITATIONS

Le rendement d'anticorps obtenu à partir du processus d'élution dépend des variables suivantes :

1. Quantité d'anticorps liée aux hématies.
2. Degré de dissociation de l'anticorps lié pendant le processus de lavage.
3. Degré de recombinaison de l'anticorps qui se produit avant que l'éluat ne soit séparé des hématies.
4. Degré de dénaturation de l'immunoglobuline par la Elution Solution (solution d'élution) à pH faible pendant la dissociation.

Le degré d'hémolyse présent dans l'éluat est affecté par l'exposition prolongée des hématies à l'Elution Solution (solution d'élution), ainsi que par les caractéristiques spécifiques de l'échantillon, telles que l'âge et la fragilité osmotique des hématies utilisées pour préparer l'éluat.

Si le pH de l'éluat n'est pas réglé sur la plage appropriée, il peut en résulter une hémolyse des hématies testées ou une inhibition de l'activité des anticorps lors des tests ultérieurs.

L'ajout d'une quantité excessive de Buffering Solution (solution tampon) lors de l'ajustement du pH peut entraîner la dilution de l'anticorps présent dans l'éluat.

D'autres facteurs peuvent donner lieu à des résultats erronés, notamment l'utilisation de quantités inégales de concentré d'hématies et d'Elution Solution (solution d'élution), une technique incorrecte, des paramètres de centrifugation incorrects, l'utilisation d'échantillons de sang de plus de 72 heures ou l'utilisation d'équipements, de matériels ou d'échantillons contaminés.

Les hématies utilisées dans la procédure d'élution ne doivent pas être utilisées pour le typage des antigènes.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE SPÉCIFIQUES

ALBA Elution Kit est commercialisé après un contrôle qualité satisfaisant effectué par le fabricant.

Étude comparative

Les procédures d'élution ont été effectuées sur des échantillons d'hématies sensibilisées aux IgG *in vivo* et *in vitro* à l'aide du ALBA Elution Kit et d'un kit de comparaison établi. Les éluats obtenus ont été testés en sérologie manuelle sur tube, avec et sans potentialisation au PEG, et en techniques d'agglutination sur colonne, notamment ORTHO BioVue® et Bio-Rad ID-System, et les résultats ont été comparés afin de vérifier l'équivalence.

Type d'échantillon	Nombre testé	Concordance (%) de ALBA Elution Kit avec kit de comparaison
Hématies sensibilisées aux IgG *in vitro*	45	100
Hématies sensibilisées aux IgG *in vivo*	16	100

Une équivalence de 100 % des résultats a été démontrée entre les éluats produits par ALBA Elution Kit et ceux du kit de comparaison.

Étude de précision

Répétabilité : 10 procédures d'élution ont été effectuées sur un échantillon d'hématies sensibilisé *in vitro* avec un anticorps polyclonal humain de groupe sanguin de classe IgG à l'aide du ALBA Elution Kit. Les élutions ont été effectuées le même jour par le même opérateur.

Reproductibilité : une procédure d'élution a été réalisée par deux opérateurs sur un échantillon d'hématies sensibilisé *in vitro* avec un anticorps polyclonal humain de groupe sanguin de classe IgG, en utilisant deux lots de ALBA Elution Kit deux fois par jour pendant cinq jours non consécutifs.

Les éluats obtenus ont été testés dans des tests de dépistage des anticorps par des techniques manuelles de sérologie sur tube et d'agglutination sur colonne (ORTHO BioVue®, Bio-Rad ID-System) et les résultats ont été comparés pour vérifier l'équivalence entre les différents tests afin de démontrer la précision des performances du kit.

Méthode de test	Répétabilité	Reproductibilité
Tube manuel	100 %	100 %
ORTHO BioVue®	100 %	100 %
Bio-Rad ID-System	100 %	100 %

BIBLIOGRAPHIE

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*. 4e éd. Bethesda, MD : AABB Press 2022 : Chapitre 4-E, 130-134.

© ALBA BIOSCIENCE LIMITED 2023 – TOUS DROITS RÉSERVÉS

SYMBOLES

Recyclable	Consulter la notice d'utilisation	Référence catalogue	Numéro de lot	Importateur
Vers le haut	Date limite d'utilisation	Fabricant	Limite de température	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
Danger pour la santé	Danger grave pour la santé	Mandataire européen	Marquage CE	Union européenne
Mandataire suisse				

Pour les utilisateurs de l'Union européenne et dans les pays ayant un cadre réglementaire identique (IVDR), tout incident grave survenu en lien avec le dispositif doit être signalé au fabricant et/ou au mandataire et à l'autorité nationale compétente dans laquelle l'utilisateur est établi. Le fabricant et le mandataire peuvent être contactés via les coordonnées suivantes.

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

Nº tél. : +44 (0) 131 357 3333
E-mail : customer.serviceEU@quotientbd.com
Site Web : www.quotientbd.com

Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT, Arnhem
The Netherlands

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

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

Pour plus d'informations sur le service clientèle, consultez le site www.quotientbd.com ou contactez votre distributeur local.

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

Version	Section	Modification
1	S/O	Nouveau produit

© ALBA BIOSCIENCE LIMITED 2023 – TOUS DROITS RÉSERVÉS