

ALBA Elution Kit

Za eluciju protutijela kiselinom iz intaktnih eritrocita

REF

Z313

IVD



NAMJENA

ALBA Elution Kit namijenjen je za upotrebu pri eluciji protutijela kiselinom iz intaktnih eritrocita kako bi se omogućilo daljnje otkrivanje i/ili identifikacija.

Namijenjen je za profesionalnu upotrebu unutar klinike za darivanje krvi ili kliničkog laboratorija radi obavljanja elucije protutijela kiselinom u vezi s transfuzijom u općoj populaciji.

Ovaj se pred-analitički postupak obavlja ručno.

ALBA Elution Kit dodatan je pribor za pripremu uzorka i ne daje dijagnostičke rezultate za analit.

SAŽETAK I OBJAŠNJENJE

Protutijela vezana za eritrocite *in vivo* ili *in vitro* mogu se razdvojiti i izolirati putem elucije kiselinom. Eluirana protutijela mogu se zatim dalje otkrivati/identificirati serološkim metodama.

NAČELA POSTUPKA

Nevezana protutijela uklanjanju se iz uzorka ispiranjem radnom otopinom za ispiranje. Nakon ispiranja, kompleks antigen-protutijelo razdvaja se dodavanjem otopine Elution Solution (Otopina za eluciju) niskog pH. Izolirani eluat tada se vraća u prikladni pH radi serološkog testiranja dodavanjem otopine Buffering Solution (Puferska otopina).

REAGENS

ALBA Elution Kit sastoji se od sljedećeg:

Identifikator boćice	Naziv	Opis
1	Concentrated Wash Solution (Koncentrirana otopina za ispiranje)	Puferska otopina glicina upotrebljava se za smanjenje razdvajanja protutijela tijekom ispiranja. 1 boćica od 30 mL. Konzervans: 1,0 % natrijeva azida.
2	Elution Solution (Otopina za eluciju)	Puferska otopina glicina niskog pH s indikatorom pH. 1 boćica od 10 mL.
3	Buffering Solution (Puferska otopina)	Tris (hidroksimetil aminometan) otopina koja sadrži govedi serumski albumin. 1 boćica od 11 mL. Konzervans: < 0,1 % natrijeva azida.

Djelovi kompleta mogu se mijenjati između različitih serija, pod uvjetom da nije prošao rok upotrebe.

Govedi serumski albumin porijeklom je od životinja za koje je izjavljeno da nemaju govedu spongiformnu encefalopatiju (BSE) i za koje se smatra da imaju nizak rizik od prijenosnih spongiformnih encefalopatija (TSE).

UPOZORENJA I MJERE OPREZA

Samo za primjenu u *in vitro* dijagnostici.

Ključna je upotreba preporučene opreme/materijala i strogo pridržavanje postupaka.

Nemojte upotrebljavati ako je cijelovitost proizvoda narušena.

Nosite odgovarajuću osobnu zaštitnu opremu i slijedite sigurnosne postupke lokalnog laboratorija.

Nemojte upotrebljavati nakon isteka roka valjanosti (godina, mjesec, dan: GGGG-MM-DD).

Nemojte upotrebljavati ako je zamrućeno.

Ovaj proizvod ima komponente (pumpice kapaljke) koje sadržavaju suhu prirodnu gumu. Ova komponenta ne sadrži lateks.

Potpune pojedinosti o sigurnosti potražite u sigurnosno-tehničkom listu.

EU označke upozorenja i opasnosti

		Signalna riječ – upozorenje
1	Concentrated Wash Solution (Koncentrirana otopina za ispiranje) (sadrži: 1 % natrijeva azida)	H312 – Stetno u dodiru s kožom. H371 – Može uzrokovati oštećenje organa. H412 – Štetno za voden okoliš s dugotrajnim učincima. P260 – Ne udasiti maglu/pare/aerosol. P273 – Izbjegavati ispuštanje u okoliš. P280 – Nosići zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice. P308+P311 U slučaju izloženosti ili sumnje na izloženost: nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA/Ilijecnika. P312 – U slučaju zdravstvenih tegoba nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA/Ilijecnika. P501 – Odložiti u skladu s državnim propisima.

EUH označke

1	Concentrated Wash Solution (Koncentrirana otopina za ispiranje) (sadrži: 1 % natrijeva azida)	EUH032 – U dodiru s kiselinama oslobađa vrlo otrovni plin.
3	Buffering Solution (Puferska otopina) (sadrži: < 0,1 % natrijeva azida)	EUH032 – U dodiru s kiselinama oslobađa vrlo otrovni plin.

SKLADIŠTENJE, RUKOVANJE I ODLAGANJE

Kada se ne upotrebljava, ALBA Elution Kit treba pohraniti na temperaturi od 2 do 25 °C. Produljena pohrana na temperaturama izvan ovog raspona može rezultirati ubrzanim gubitkom aktivnosti reagensa. Nemojte zamrzavati. Pogledajte odjeljak Priprema reagensa za preporučenu pohranu pripremljene radne otopine za ispiranje.

Natrijev azid može biti toksičan ako se proguta te može reagirati s olovnim i bakrenim cijevima i stvoriti eksplozivne spojeve. Ako ga bacite u umivaonik, isperite velikom količinom vode da ne bi došlo do nakupljanja azida.

Slijedite lokalne propise o odlaganju na svojoj lokaciji zajedno s preporukama i sadržajem iz sigurnosno-tehničkog lista i/ili pogledajte informacije o kemikaliji navedene u odjeljku Reagens kako biste odredili sigurno odlaganje ovoga proizvoda.

PRIKUPLJANJE I PRIPREMA UZORAKA

Uzorke treba prikupljati standardnom tehnikom prikupljanja. Testirajte uzorak što prije nakon prikupljanja. Ako se testiranje ne vrši odmah, čuvajte uzorak pri temperaturama u hladnjaku. Upotreba eritrocita starijih od 72 sata može rezultirati niskim prinosom izoliranih protutijela. Preferiraju se antikoagulirani uzorci prikupljeni u EDTA.

PRIPREMA REAGENSA

Pripremite radnu otopinu za ispiranje razblaživanjem otopine Concentrated Wash Solution (Koncentrirana otopina za ispiranje) **1** u omjeru 1:10 u destiliranoj ili deioniziranoj vodi (jedan dio otopine Concentrated Wash Solution (Koncentrirana otopina za ispiranje) i devet dijelova vode). Otopina je stabilna do tri mjeseca kada se pohrani na temperaturi od 2 do 8 °C ili najviše 10 dana kada se pohrani na temperaturi od 20 do 25 °C. Upotreba hladne radne otopine za ispiranje može smanjiti razdvajanje protutijela tijekom ispiranja.

Ako pripremate cijelu količinu isporučene otopine Concentrated Wash Solution (Koncentrirana otopina za ispiranje) od 30 mL, kombinirajte s 270 mL vode.

Ostale komponente kompleta isporučuju se spremne za upotrebu.

POSTUPAK

Ovaj je reagens standardiziran za upotrebu samo u postupku opisanom u nastavku.

Isporučeni materijal

- ALBA Elution Kit

Potrebni materijali koji nisu isporučeni

- Destilirana ili deionizirana voda
- Izotonična fiziološka otopina
- Pipete
- Centrifuga
- Testne epruve 12 x 75 mm

Postupak elucije

Kad upotrebljavate dodatnu opremu za testiranje (npr. centrifugu), slijedite postupke iz priručnika za rukovatelja koji je pružio proizvođač uređaja.

1. Isperite alikvot eritrocita jednom u izotoničnoj fiziološkoj otopini. Alikvot treba biti dovoljan da dobijete 1 mL staničnog koncentrata. Nakon ispiranja uklonite što je više moguće fiziološke otopine.
 2. Isperite eritrocite četiri puta radnom otopinom za ispiranje kako biste uklonili nevezano protutijelo. Nakon svakog ispiranja uklonite što je više moguće supernatanta. Zadržite mali alikvot supernatanta iz zadnjeg ispiranja kao kontrolu koju ćete testirati paralelno s eluatom.
- NAPOMENA: upotreba radne otopine za ispiranje preporučuje se radi smanjenja odvajanja protutijela tijekom ispiranja, međutim, umjesto toga može se upotrijebiti izotonična fiziološka otopina ako to želite.
3. Prenesite 1 mL (približno 20 kapi) ispranih eritrocita u čistu epruvetu.
 4. Dodajte 1 mL (približno 20 kapi) otopine Elution Solution (Otopina za eluciju) **2** u epruvetu i pažljivo izmiješajte preokretanjem epruve četiri puta.

NAPOMENA: ako se upotrebljava alternativna količina eritrocitnog koncentrata za pripremu eluata, volumen otopine Elution Solution (Otopina za eluciju) koja se upotrebljava treba biti jednak volumenu ispranog eritrocitnog koncentrata.

5. Centrifugirajte odmah u trajanju od 60 sekundi pri 1000 relativne centrifugalne sile (približno 3400 o/min).*

6. Prenesite eluat u čistu epruvetu i bacite eritrocite.

NAPOMENA: ako su prisutni prekomerni stanični ostaci, eluat se može ponovno centrifugirati i prenjeti u drugu čistu epruvetu prije dodavanja otopine Buffering Solution (Puferška otopina).

7. Dodajte otopinu Buffering Solution (Puferška otopina) **3** u eluat kap po kap, dobro promiješajte nakon dodavanja svake kapi sve dok se ne pojavi plava boja koja ostaje nakon miješanja. Plava boja znači da je pH eluata vraćen unutar raspona pogodnog za testiranje.

8. Centrifugirajte eluat 2 minute pri 1000 relativne centrifugalne sile (približno 3400 o/min) kako biste uklonili preostale stanične ostatke.

9. Prenesite centrifugirani eluat u čistu epruvetu.

10. Ako eluat treba testirati tehnikom aglutinacije u kolonama, treba ga ponovno centrifugirati u trajanju i brzinom prikladnom za metodu testiranja te prenjeti u čistu epruvetu.

11. Eluat je sada spreman za testiranje.

Eluat se može testirati konvencionalnim neizravnim antiglobulinskim testom, s medijem za poboljšanje ili bez njega ili tehnikama aglutinacije u kolonama u skladu sa standardnim operativnim postupcima vašeg laboratoriјa ili proizvođačevim uputama za upotrebu.

Eluat se može pohraniti na temperaturi od 2 do 8 °C i testirati do sedam dana nakon pripreme.

*Ili u trajanju i brzinom prikladnom za centrifugu koja se upotrebljava.

KONTROLA KVALITETE

Kada se protutijelo otkrije u eluatu, alikvot supernatanta iz zadnjeg ispiranja treba testirati kao kontrolu. Negativan rezultat kontrole ukazuje na to da je protutijelo u eluatu otpušteno iz vezanog stanja, a ne iz nevezanog protutijela koje preostaje nakon neodgovarajućeg ispiranja.

Ako je rezultat kontrole pozitivan, eluciju treba ponoviti pazeci da se eritrociti temeljito isperu.

OGRANIČENJA

Prinos protutijela dobiven iz postupka elucije ovisi o sljedećim varijablama:

1. Količina protutijela vezanog za eritrocite.
2. Stupanj razdvajanja vezanog protutijela tijekom postupka ispiranja.
3. Stupanj rekombinacije protutijela do koje dolazi prije odvajanja eluata od eritrocita.
4. Stupanj denaturacije imunoglobulina otopinom Elution Solution (Otopina za eluciju) s niskim pH tijekom razdvajanja.

Na stupanj hemolize prisutne u eluatu utječe produženo izlaganje eritrocita otopini Elution Solution (Otopina za eluciju) kao i karakteristike specifične za uzorak, kao što je starost i osmotska krhkost eritrocita korištenih za pripremu eluata.

Ako ne prilagodite pH eluata prema odgovarajućem rasponu, može doći do hemolize testiranih eritrocita ili inhibicije aktivnosti protutijela u dalnjem testiranju.

Dodavanje pretjerane količine otopine Buffering Solution (Puferska otopina) pri prilagođavanju pH može rezultirati razblaživanjem protutijela koje se nalazi u elatu.

Ostali čimbenici koji mogu utjecati na lažne rezultate uključuju upotrebu nejednakne količine eritrocitnog koncentrata i otopine Elution Solution (Otopina za eluciju), nepravilnu tehniku, nepravilne parametre za centrifugu, upotrebu uzorka krvi starijih od 72 sata ili kontaminiranu opremu, materijale ili uzorce.

Eritrociti koji se upotrebljavaju u postupku elucije ne smiju se upotrebljavati za tipizaciju antiga.

POSEBNE RADNE ZNAČAJKE

ALBA Elution Kit izdaje se nakon zadovoljavajuće kontrole kvalitete koju obavlja proizvođač.

Ispitivanje s komparatorima

Postupci elucije obavljeni su na *in vivo* i *in vitro* uzorcima IgG senzibiliziranih eritrocita (RBC) s pomoću kompleta ALBA Elution Kit i utvrđenog kompletata komparatora. Dobiveni eluti testirani su u ručnom serološkom testu s epruvetom, s PEG potencijacijom ili bez nje te tehnikama aglutinacije u kolonama, uključujući ORTHO BioVue® i sustav Bio-Rad ID, a rezultati su uspoređeni radi ekvivalentnosti.

Vrsta uzorka	Broj testiranih	Sukladnost (%) kompleta ALBA Elution Kit s kompletom komparatora
<i>In vitro</i> IgG senzibilizirani RBC	45	100
<i>In vivo</i> IgG senzibilizirani RBC	16	100

100-postotna ekvivalentnost u rezultatima pokazana je između eluata proizvedenih kompletom ALBA Elution Kit i onih iz kompleta komparatora.

Ispitivanje preciznosti

Ponovljivost: obavljeno je 10 postupaka elucije na jednom uzorku eritrocita senzibiliziranom *in vitro* s humanim poliklonalnim protutijelom za određivanje krvne grupe IgG klase uz upotrebu kompleta ALBA Elution Kit. Elucije su obavljene isti dan i obavio ih je isti rukovatelj.

Obnovljivost: jedan postupak elucije obavila su dva rukovatelja na jednom uzorku eritrocita senzibiliziranih *in vitro* s humanim poliklonalnim protutijelom za određivanje krvne grupe IgG klase uz upotrebu dvije serije kompleta ALBA Elution Kit dvaput dnevno pet uzastopnih dana.

Dobiveni eluti testirani su u testovima probira na protutijela u ručnom serološkom testu s epruvetom i tehnikama aglutinacije u kolonama (ORTHO BioVue®, sustav Bio-Rad ID), a rezultati su uspoređeni radi ekvivalentnosti između testiranja kako bi se pokazala preciznost radnog učinka kompletata.

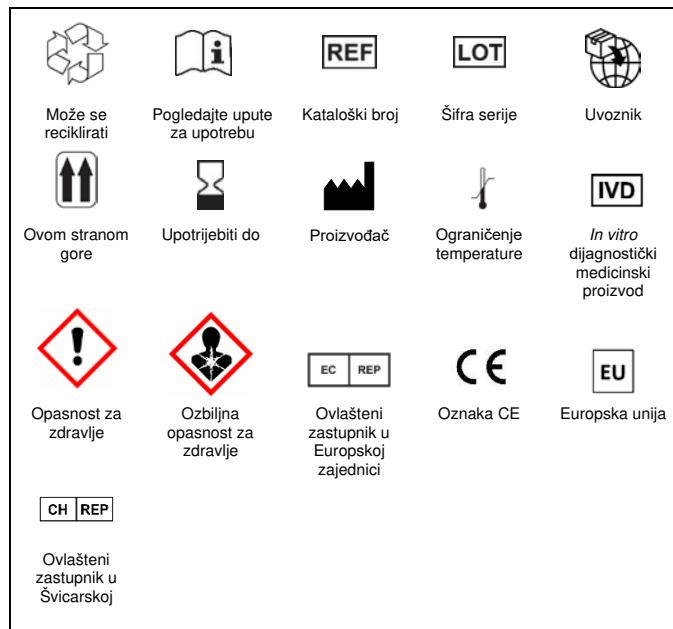
Metoda testiranja	Ponovljivost	Obnovljivost
Ručno u epruveti	100 %	100 %
ORTHO BioVue®	100 %	100 %
Sustav Bio-Rad ID	100 %	100 %

LITERATURA

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.

SIMBOLI



Za korisnike u Evropskoj uniji i zemljama s identičnim zakonskim okvirom (IVDR) sve ozbiljne incidente koji su se dogodili u vezi s proizvodom treba prijaviti proizvođaču i/ili ovlaštenom zastupniku i nadležnom tijelu u državi u kojoj korisnik ima poslovni nastan. Proizvođač i ovlašteni zastupnik mogu se kontaktirati putem sljedećih podataka o kontaktu.



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

Br. telefona: +44 (0) 131 357 3333
E-pošta: customer.serviceEU@quotientbd.com
Internet: 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

Informacije za korisnike pogledajte na stranici: www.quotientbd.com ili se obratite lokalnom distributeru.

POVIJEST REVIZIJA

Verzija	Odjeljak	Promjena
1	N/P	Novi proizvod