

ALBA Elution Kit

Per l'eluizione acida di anticorpi da globuli rossi intatti

REF Z313 IVD CE

USO PREVISTO

ALBA Elution Kit è destinato all'uso nella eluizione acida di anticorpi da globuli rossi intatti per consentire rilevamento e/o identificazione ulteriori.

È destinato all'uso professionale all'interno di laboratori di donazione di sangue o clinici, per l'eluizione acida di anticorpi correlati alla trasfusione nella popolazione generale.

Questa procedura pre-analitica viene eseguita manualmente.

ALBA Elution Kit è un kit accessorio destinato esclusivamente alla preparazione dei campioni e non restituisce risultati diagnostici per un'analisi.

RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

Gli anticorpi legati ai globuli rossi *in vivo* o *in vitro* possono essere dissociati e recuperati mediante eluizione acida. Gli anticorpi eluiti possono quindi essere ulteriormente rilevati/identificati mediante metodi sierologici.

PRINCIPIO PROCEDURALE

Gli anticorpi non legati vengono rimossi dal campione mediante lavaggio accurato con la soluzione di lavaggio di lavoro. Dopo il lavaggio, il complesso antigene-anticorpo viene dissociato aggiungendo una Elution Solution (Soluzione di eluizione) a pH basso. L'eluato recuperato viene quindi riportato a un pH adeguato per le analisi sierologiche aggiungendo una Buffering Solution (Soluzione tampone).

REAGENTE

ALBA Elution Kit è composto da:

Identificatore della fiala	Nome	Descrizione
1	Concentrated Wash Solution (Soluzione di lavaggio concentrata)	Una Buffering Solution (Soluzione tampone) di glicina utilizzata per ridurre al minimo la dissociazione degli anticorpi durante il lavaggio. 1 fiala da 30 mL. Conservante: azoturo di sodio all'1,0%.
2	Elution Solution (Soluzione di eluizione)	Un tampone di glicina a pH basso contenente un indicatore di pH. 1 fiala da 10 mL.
3	Buffering Solution (Soluzione tampone)	Una soluzione di tris(idrossimetil)aminometano contenente albumina sierica bovina. 1 fiala da 11 mL. Conservante: azoturo di sodio a <0,1%.

I componenti del kit possono essere scambiati tra i lotti, a condizione che questi non siano scaduti.

L'albumina sierica bovina è stata ricavata da animali dichiarati privi di encefalopatie spongiformi bovine (BSE) e ritenuti a basso rischio di encefalopatie spongiformi trasmissibili (TSE).

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

È essenziale utilizzare le attrezzature/i materiali raccomandati e attenersi scrupolosamente alle procedure.

Non utilizzare se l'integrità del prodotto è compromessa.

Indossare dispositivi di protezione individuale adeguati e attenersi alle procedure di sicurezza di laboratorio locali.

Non utilizzare oltre la data di scadenza (anno, mese, giorno: AAAA-MM-GG).

Non utilizzare se torbido.

In questo prodotto sono inclusi componenti (pipette contagocce) contenenti gomma naturale secca. Questo componente è certificato privo di lattice.

Fare riferimento alla scheda dati di sicurezza per i dettagli completi delle informazioni di sicurezza.

Indicazioni di pericolo e di precauzione per l'UE

1	Concentrated Wash Solution (Soluzione di lavaggio concentrata) (contiene: azoturo di sodio all'1%) 	Avvertenza - Attenzione
		H312 Nocivo a contatto con la pelle. H371 Può provocare danni agli organi. H412 Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P260 Non respirare la nebbia/ i vapori/ gli aerosol. P273 Non disperdere nell'ambiente. P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/protezione degli occhi. P308+P311 In caso di esposizione o di possibile esposizione: contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. P312 In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. P501 Smaltire in conformità alla regolamentazione nazionale.

FraSI EUH

1	Concentrated Wash Solution (Soluzione di lavaggio concentrata) (contiene: azoturo di sodio all'1%)	EUH032 A contatto con acidi libera un gas molto tossico.
3	Buffering Solution (Soluzione tampone) (contiene: azoturo di sodio a <0,1%)	EUH032 A contatto con acidi libera un gas molto tossico.

CONSERVAZIONE, MANIPOLAZIONE E SMALTIMENTO

ALBA Elution Kit deve essere conservato a 2-25 °C quando non in uso. La conservazione prolungata a temperature al di fuori di questo intervallo può provocare una perdita accelerata dell'attività del reagente. Non congelare. Fare riferimento alla sezione Preparazione dei reagenti per le raccomandazioni di conservazione della soluzione di lavaggio di lavoro.

L'azoturo di sodio può essere tossico se ingerito e a contatto con tubature in piombo e rame può reagire e formare composti esplosivi. In caso di smaltimento in un lavandino, sciacquare con abbondante acqua per evitare l'accumulo di azoturi.

Attenersi alle normative locali sullo smaltimento in base alla propria area geografica, nonché alle raccomandazioni e al contenuto della scheda dati di sicurezza e/o consultare le informazioni sulle sostanze chimiche fornite nella sezione Reagenti per determinare lo smaltimento sicuro del prodotto.

PRELIEVO E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni devono essere prelevati mediante tecnica di prelievo standard. Il campione deve essere analizzato il prima possibile dopo il prelievo. Se l'analisi viene ritardata, il campione deve essere conservato a temperature di refrigerazione. L'uso di globuli rossi prelevati da più di 72 ore può determinare una minore resa di anticorpi recuperati. Sono preferibili campioni prelevati in anticoagulante EDTA.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Preparare la soluzione di lavaggio di lavoro diluendo la Concentrated Wash Solution (Soluzione di lavaggio concentrata) **1** 1:10 in acqua distillata o deionizzata (una parte di Concentrated Wash Solution (Soluzione di lavaggio concentrata) più nove parti di acqua). La soluzione è stabile fino a tre mesi se conservata a 2-8 °C o fino a 10 giorni se conservata a 20-25 °C. L'uso di una soluzione di lavaggio di lavoro fredda può ridurre al minimo la dissociazione degli anticorpi durante il lavaggio.

Se si prepara l'intero volume di 30 mL della Concentrated Wash Solution (Soluzione di lavaggio concentrata) fornita, aggiungerla a 270 mL di acqua.

Gli altri componenti del kit sono forniti pronti all'uso.

PROCEDURA

Questo reagente è stato standardizzato per l'uso esclusivamente mediante la procedura descritta di seguito.

Materiale fornito

- ALBA Elution Kit

Materiali necessari ma non forniti

- Acqua distillata o deionizzata
- Soluzione salina isotonica
- Pipette
- Centrifuga
- Provette per test da 12 x 75 mm

Procedura di eluizione

Quando si utilizzano apparecchiature analitiche supplementari (ad es. centrifuga), attenersi alle procedure riportate nel manuale per l'operatore fornito dal produttore del dispositivo.

1. Lavare un'aliquota di globuli rossi una volta in soluzione salina isotonica. L'aliquota deve essere sufficiente per ottenere 1 mL di globuli rossi concentrati. Dopo il lavaggio, rimuovere quanta più soluzione salina possibile.

2. Lavare i globuli rossi quattro volte con la soluzione di lavaggio di lavoro per rimuovere eventuali anticorpi non legati. Dopo ogni lavaggio, rimuovere quanto più surnatante possibile. Riservare una piccola aliquota di surnatante dell'ultimo lavaggio come controllo da analizzare in parallelo con l'eluato.

NOTA: si raccomanda l'uso della soluzione di lavaggio di lavoro per ridurre al minimo la dissociazione degli anticorpi durante il lavaggio; tuttavia, se lo si desidera, è possibile utilizzare una soluzione salina isotonica.

3. Trasferire 1 mL (circa 20 gocce) di globuli rossi lavati in una provetta pulita.

4. Aggiungere 1 mL (circa 20 gocce) di Elution Solution (Soluzione di eluizione) **2** alla provetta e miscelare delicatamente capovolgendo la provetta quattro volte.

NOTA: se si utilizza un volume alternativo di globuli rossi concentrati per preparare l'eluato, il volume di Elution Solution (Soluzione di eluizione) utilizzata deve essere uguale al volume di globuli rossi concentrati lavati.

5. Centrifugare immediatamente per 60 secondi a 1.000 rcf (circa 3.400 rpm).*

6. Trasferire l'eluato in una provetta pulita e smaltire i globuli rossi.

NOTA: se sono presenti quantità eccessive di detriti cellulari, l'eluato può essere nuovamente centrifugato e trasferito in una seconda provetta pulita prima di aggiungere la soluzione tampone.

7. Aggiungere la Buffering Solution (Soluzione tampone) **3** all'eluato una goccia alla volta, mescolando bene dopo ogni goccia fino a quando non appare un colore blu che permane dopo la miscelazione. Il colore blu indica che il pH dell'eluato è stato riportato entro l'intervallo adatto per l'analisi.

8. Centrifugare l'eluato per 2 minuti a 1.000 rcf (circa 3.400 rpm)* per rimuovere eventuali detriti cellulari residui.

9. Trasferire l'eluato centrifugato in una provetta pulita.

10. Se l'eluato deve essere analizzato mediante tecniche di agglutinazione su colonna, deve essere nuovamente centrifugato con tempistiche e velocità appropriate per il metodo di test e quindi trasferito in una provetta pulita.

11. L'eluato è ora pronto per l'analisi.

L'eluato può essere analizzato utilizzando un test dell'antiglobulina indiretto convenzionale, con o senza mezzi di enhancement, o tecniche di agglutinazione su colonna secondo le procedure operative standard del laboratorio o le istruzioni per l'uso del produttore.

L'eluato può essere conservato a 2-8 °C e analizzato fino a sette giorni dopo la preparazione.

*Oppure con tempistiche e velocità appropriate per la centrifuga utilizzata.

CONTROLLO DELLA QUALITÀ

Quando vengono rilevati anticorpi nell'eluato, è necessario analizzare un'aliquota di surnatante dell'ultimo lavaggio come controllo. Un risultato negativo del controllo indica che gli anticorpi rilevati nell'eluato sono stati rilasciati da uno stato legato e non da anticorpi non legati rimanenti dopo un lavaggio inadeguato.

Se il risultato del test di controllo è positivo, l'eluizione deve essere ripetuta prestando attenzione a lavare accuratamente i globuli rossi.

LIMITAZIONI

La resa degli anticorpi ottenuti dal processo di eluizione dipende dalle seguenti variabili:

1. La quantità di anticorpi legati ai globuli rossi.
2. Il grado di dissociazione degli anticorpi legati durante il processo di lavaggio.
3. Il grado di ricombinazione degli anticorpi, che si verifica prima che l'eluato venga separato dai globuli rossi.
4. Il grado di denaturazione dell'immunoglobulina da parte della Elution Solution (Soluzione di eluizione) a pH basso durante la dissociazione.

Il grado di emolisi presente nell'eluato è influenzato dall'esposizione prolungata dei globuli rossi alla Elution Solution (Soluzione di eluizione), nonché dalle caratteristiche specifiche del campione, quali l'età e la fragilità osmotica dei globuli rossi utilizzati per preparare l'eluato.

Se il pH dell'eluato non viene regolato all'intervallo corretto, potrebbe verificarsi l'emolisi dei globuli rossi di test o l'inibizione dell'attività degli anticorpi nelle analisi successive.

L'aggiunta di una quantità eccessiva di Buffering Solution (Soluzione tampone) durante la regolazione del pH può causare la diluizione degli anticorpi presenti nell'eluato.

Altri fattori che possono portare a falsi risultati includono l'uso di quantità disuguali di globuli rossi concentrati ed Elution Solution (Soluzione di eluizione), tecniche improprie, parametri di centrifugazione impropri, uso di campioni di sangue prelevati da oltre 72 ore oppure apparecchiature, materiali o campioni contaminati.

I globuli rossi utilizzati nella procedura di eluizione non devono essere utilizzati per la tipizzazione degli antigeni.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI SPECIFICHE

ALBA Elution Kit viene rilasciato a seguito di test di controllo qualità soddisfacenti eseguiti dal produttore.

Studio comparativo

Le procedure di eluizione sono state eseguite su campioni di globuli rossi (RBC) sensibilizzati con IgG *in vivo* e *in vitro* utilizzando ALBA Elution Kit e un kit di confronto consolidato. Gli eluati ottenuti sono stati analizzati con sierologia manuale in provetta, con e senza potenziamento PEG, e tecniche di agglutinazione su colonna, inclusi ORTHO BioVue® e sistema Bio-Rad ID, e i risultati sono stati confrontati per l'equivalenza.

Tipo di campione	Numero di campioni analizzati	Concordanza (%) di ALBA Elution Kit con il kit di confronto
RBC sensibilizzati con IgG <i>in vitro</i>	45	100
RBC sensibilizzati con IgG <i>in vivo</i>	16	100

È stata dimostrata un'equivalenza del 100% nei risultati tra gli eluati prodotti da ALBA Elution Kit e quelli prodotti dal kit di confronto.

Studio di precisione

Ripetibilità: sono state eseguite 10 procedure di eluizione su un campione di globuli rossi sensibilizzato *in vitro* con anticorpo di gruppo sanguigno policlonale umano di classe IgG

utilizzando ALBA Elution Kit. Le eluizioni sono state eseguite nello stesso giorno dallo stesso operatore.

Riproducibilità: è stata eseguita una procedura di eluizione da due operatori su un campione di globuli rossi sensibilizzato *in vitro* con anticorpo di gruppo sanguigno policlonale umano di classe IgG, utilizzando due lotti di ALBA Elution Kit due volte al giorno per cinque giorni non consecutivi.

Gli eluati ottenuti sono stati analizzati in test di screening degli anticorpi mediante sierologia manuale in provetta e tecniche di agglutinazione su colonna (ORTHO BioVue®, sistema Bio-Rad ID) e i risultati sono stati confrontati per l'equivalenza tra le esecuzioni dei test per dimostrare la precisione delle prestazioni del kit.

Metodo di test	Ripetibilità	Riproducibilità
Provetta manuale	100%	100%
ORTHO BioVue®	100%	100%
Sistema Bio-Rad ID	100%	100%

BIBLIOGRAFIA

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

				
Riciclabile	Consultare le istruzioni per l'uso	Numero di catalogo	Numero di lotto	Importatore
				
Questo lato in alto	Data di scadenza	Produttore	Limite di temperatura	Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>
				
Pericolo per la salute	Grave pericolo per la salute	Rappresentante autorizzato nella Comunità europea	Marchio CE	Unione europea
	Rappresentante autorizzato in Svizzera			

Per gli utenti nell'Unione europea e nei Paesi soggetti a quadro normativo identico (IVDR), qualsiasi incidente grave che si sia verificato in relazione al dispositivo dovrà essere segnalato al produttore e/o al rappresentante autorizzato e all'autorità nazionale competente in cui risiede l'interessato. Il produttore e il rappresentante autorizzato possono essere contattati utilizzando i seguenti recapiti.

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

Tel.: +44 (0) 131 357 3333
E-mail: customer.serviceEU@quotientbd.com
Sito 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 Crasier 13
1262 Eysins
Switzerland

Per informazioni sull'assistenza clienti, visitare il sito Web all'indirizzo: www.quotientbd.com o contattare il distributore locale.

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Sezione	Modifica
1	N/A	Nuovo prodotto