QUOTIENT

ALBA Elution Kit

Za kislinsko elucijo protiteles z nepoškodovanih rdečih krvniček

REF **Z313** IVD CE

PREDVIDENA UPORABA

Komplet ALBA Elution Kit je namenjen za uporabo pri kislinski eluciji protiteles z nepoškodovanih rdečih krvniček, da se omogoči nadaljnje odkrivanje in/ali določanje.

Namenjen je profesionalni uporabi v krvodajalskem okolju ali kliničnih laboratorijih za kislinsko elucijo protiteles v povezavi s transfuzijo pri splošni populaciji.

Ta predanalitični postopek se izvaja ročno.

Komplet ALBA Elution Kit je pripomoček, ki se uporablja samo za pripravo vzorca in ne daje diagnostičnih rezultatov za noben analit.

POVZETEK IN RAZLAGA

Protitelesa, vezana na rdeče krvničke *in vivo* ali *in vitro*, je mogoče disociirati in obnoviti s kislinsko elucijo. Eluirana protitelesa se nato lahko nadalje odkrivajo/določajo s serološkimi metodami.

NAČELO POSTOPKA

Nevezana protitelesa se odstranijo iz vzorca s temeljitim izpiranjem z delovno raztopino za izpiranje. Po izpiranju se doda raztopina Elution Solution (raztopina za elucijo) z nizkim pH, da se kompleks antigen-protitelo disociira. Nato se z dodajanjem raztopine Buffering Solution (raztopina pufra) znova uravna vrednost pH pridobljenega eluata tako, da je primerna za serološko testiranje.

REAGENT

Komplet ALBA Elution Kit vključuje:

Identifikator viale	Ime	Opis
1	Concentrated Wash Solution (koncentrirana raztopina za izpiranje)	Raztopina, pufrana z glicinom, ki se uporablja za zmanjšanje disociacije protiteles med izpiranjem. 1 × 30-ml viala. Konzervans: 1,0-odstotni natrijev azid.
2	Elution Solution (raztopina za elucijo)	Glicinski pufer z nizko vrednostjo pH in indikatorjem pH. 1 × 10-ml viala.
3	Buffering Solution (raztopina pufra)	Raztopina tris (hidroksimetil) aminometana z govejim serumskim albuminom. 1 × 11-ml viala. Konzervans: < 0,1-odstotni natrijev azid.

Komponente kompleta so medsebojno zamenljive s komponentami iz drugih lotov znotraj roka uporabe.

Goveji serumski albumin je bil pridobljen iz živali, razglašenih za proste bolezni goveje spongiformne encefalopatije (BSE) in pri katerih je bilo ugotovljeno nizko tveganje za okužbo s transmisivno spongiformno encefalopatijo (TSE).

OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI

Samo za diagnostično uporabo *in vitro*.

Nujno je treba uporabljati priporočeno opremo/material in natančno upoštevati postopke.

Izdelka ne uporabljajte, če je bila ogrožena njegova celovitost.

Uporabljajte ustrezno osebno zaščitno opremo in upoštevajte lokalne laboratorijske varnostne postopke.

Ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti (leto, mesec, dan: LLLL-MM-DD).

Ne uporabljajte, če je izdelek moten.

Ta izdelek ima komponente (črpalke kapalk), ki vsebujejo suho naravno gumo. Ta komponenta potrjeno ne vsebuje lateksa.

Za podrobnejše varnostne informacije glejte varnostni list.

Stavki EU o nevarnosti in previdnostni stavki

		Opozorilna beseda – opozorilo
1	Concentrated Wash Solution (koncentrirana raztopina za izpiranje) (vsebuje: 1-odstotni natrijev azid) 	H312 – Zdravju škodljivo v stiku s kožo. H371 – Lahko škoduje organom. H412 – Škodljivo za vodne organizme, z dolgotrajnimi učinki. P260 – Ne vdihavati meglice/hlapov/razpršila. P273 – Preprečiti sproščanje v okolje. P280 – Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za oči. P308+P311 – Pri izpostavljenosti ali sumu izpostavljenosti: pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE/zdravnika. P312 – Ob slabem počutju pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE/zdravnika. P501 – Odstraniti v skladu z nacionalnimi predpisi.

Stavki EUH

1	Concentrated Wash Solution (koncentrirana raztopina za izpiranje) (vsebuje: 1-odstotni natrijev azid)	EUH032 – V stiku s kislinami se sprošča zelo strupen plin.
3	Buffering Solution (raztopina pufra) (vsebuje: < 0,1-odstotni natrijev azid)	EUH032 – V stiku s kislinami se sprošča zelo strupen plin.

SHRANJEVANJE, RAVNANJE IN ODSTRANJEVANJE

Kadar komplet ALBA Elution Kit ni v uporabi, ga je treba hraniti pri temperaturi 2–25 °C. Dolgotrajno shranjevanje pri temperaturah zunaj tega območja lahko pospeši izgubo aktivnosti reagenta. Ne zamrzujte. Za priporočeno shranjevanje pripravljene delovne raztopine za izpiranje glejte razdelek Priprava reagentov.

© ALBA BIOSCIENCE LIMITED 2023 – VSE PRAVICE PRIDRŽANE

Natrijev azid je lahko strupen, če ga zaužijemo, ter lahko reagira s svinčenimi in bakrenimi cevmi, pri čemer se tvorijo eksplozivne spojine. Če ga zavržete v umivalnik, splaknite z veliko količino vode, da preprečite nakopičenje azida.

Pri določanju varnega načina odstranjevanja tega izdelka upoštevajte lokalne predpise o odstranjevanju odpadkov glede na vašo lokacijo ter priporočila in vsebino varnostnega lista in/ali preberite informacije o kemikalijah v razdelku o reagentih.

ODVZEM IN PRIPRAVA VZORCEV

Vzorce je treba odvzeti s standardno tehniko odvzema. Vzorec je treba testirati čim prej po njegovem odvzemu. Če se testiranje odloži, je treba vzorec hraniti pri temperaturi za hlajenje. Če se uporabijo rdeče krvničke, starejše od 72 ur, je lahko količina pridobljenih protiteles manjša. Najboljši so antikoagulirani vzorci, zbrani v EDTA.

PRIPRAVA REAGENTOV

Pripravite delovno raztopino za izpiranje tako, da reagent Concentrated Wash Solution (koncentrirana raztopina za izpiranje) **1** razredčite v razmerju 1 : 10 z destilirano ali deionizirano vodo (en del reagenta Concentrated Wash Solution (koncentrirana raztopina za izpiranje) in devet delov vode). Raztopina je stabilna do tri mesece, če je shranjena pri temperaturi 2–8 °C, oziroma do 10 dni, če je shranjena pri temperaturi 20–25 °C. Disociacijo protiteles med izpiranjem je mogoče zmanjšati z uporabo hladne delovne raztopine za izpiranje.

Če boste pripravili vseh 30 ml priloženega reagenta Concentrated Wash Solution (koncentrirana raztopina za izpiranje), ga zmešajte z 270 ml vode.

Druge komponente kompleta so ob dobavi pripravljene za uporabo.

POSTOPEK

Ta reagent je standardiziran za uporabo samo po spodaj opisanem postopku.

Priložen material

- ALBA Elution Kit

Potreben material, ki ni priložen

- Destilirana ali deionizirana voda
- Izotonična solna raztopina
- Pipete
- Centrifuga
- Testne epruvete velikosti 12 × 75 mm

Postopek elucije

Pri uporabi dodatne opreme za testiranje (npr. centrifuge) je treba upoštevati postopke, navedene v uporabniškem priročniku, ki ga zagotovi proizvajalec naprave.

1. Alikvot rdečih krvničk enkrat izperite v izotonični fiziološki raztopini. Alikvot bi moral zadostovati za 1 ml koncentriranih celic. Po izpiranju odstranite čim več fiziološke raztopine.
2. Rdeče krvničke štirikrat izperite z delovno raztopino za izpiranje, da odstranite vsa nevezana protitelesa. Po vsakem izpiranju odstranite čim več supernatanta. Majhen alikvot supernatanta iz zadnjega izpiranja rezervirajte za kontrolo, ki jo boste testirali vzporedno z eluatom.

   OPOMBA: Priporočljiva je uporaba delovne raztopine za izpiranje, da se med izpiranjem zmanjša disociacija protiteles, vendar lahko po želji namesto nje uporabite izotonično fiziološko raztopino.
3. Prenesite 1 ml (približno 20 kapljic) opranih eritrocitov v čisto epruveto.
4. V epruveto dodajte 1 ml (približno 20 kapljic) reagenta Elution Solution (raztopina za elucijo) **2** in nežno premešajte tako, da epruveto štirikrat obrnete.

   OPOMBA: Če za pripravo eluata uporabljate drugačno količino koncentriranih rdečih krvničk, upoštevajte, da mora biti uporabljena količina reagenta Elution Solution (raztopina za elucijo) enaka količini opranih koncentriranih rdečih krvničk.
5. Takoj 60 sekund centrifugirajte pri 1000 rcf (približno 3400 vrtljajev na minuto).*
6. Eluat prenesite v čisto epruveto in zavrzite rdeče krvničke.

   OPOMBA: Če je prisotnih preveč celičnih ostankov, lahko eluat ponovno centrifugirate in prenesete v drugo čisto epruveto, preden dodate reagent Buffering Solution (raztopina pufra).
7. V eluat po kapljicah dodajajte reagent Buffering Solution (raztopina pufra) **3**, pri čemer po vsaki kapljici dobro premešajte, dokler se ne pojavi modra barva, ki ostane tudi po mešanju. Modra barva pomeni, da se je vrednost pH eluata vrnila v območje, primerno za testiranje.
8. Eluat centrifugirajte 2 minuti pri 1000 rcf (približno 3400 vrtljajev na minuto)*, da odstranite preostale celične ostanke.
9. Centrifugirani eluat prenesite v čisto epruveto.
10. Če nameravate eluat testirati s tehnikami kolonske aglutinacije, ga morate ponovno centrifugirati v primernem trajanju in pri primerni hitrosti glede na testno metodo ter prenesti v čisto epruveto.
11. Eluat je zdaj pripravljen za testiranje.

Eluat lahko testirate s konvencionalnim posrednim antiglobulinskim testom, z ojačevalnim medijem ali brez njega, ali s tehnikami kolonske aglutinacije v skladu s standardnimi delovnimi postopki vašega laboratorija ali proizvajalčevimi navodili za uporabo.

Eluat se lahko shranjuje pri 2–8 °C, testira pa se ga lahko v roku sedmih dni po pripravi.

* Ali čas in hitrost, primerna za uporabljeno centrifugo.

NADZOR KAKOVOSTI

Ko v eluatu odkrijete protitelo, morate kot kontrolo testirati alikvot supernatanta iz zadnjega izpiranja. Negativen rezultat kontrolnega testa pomeni, da je bilo protitelo, odkrito v eluatu, sproščeno iz vezanega stanja in da ne gre za preostanek nevezanega protitelesa po nezadostnem izpiranju.

Če je rezultat kontrolnega testa pozitiven, je treba elucijo ponoviti in pri tem zagotoviti, da so bile rdeče krvničke temeljito oprane.

OMEJITVE

Količina protiteles, pridobljena v postopku elucije, je odvisna od naslednjih spremenljivk:

1. Količina protitelesa, vezanega na rdeče krvničke.
2. Stopnja disociacije vezanega protitelesa med postopkom izpiranja.
3. Stopnja rekombinacije protiteles, ki poteče, preden se eluat loči od rdečih krvničk.
4. Stopnja denaturacije imunoglobulina med disociacijo z reagentom Elution Solution (raztopina za elucijo) z nizkim pH.

Na stopnjo hemolize v eluatu vplivajo dolgotrajnejša izpostavljenost rdečih krvničk reagentu Elution Solution (raztopina za elucijo) ter značilnosti vzorca, kot sta starost in osmotska krhkost rdečih krvničk, uporabljenih za pripravo eluata.

© ALBA BIOSCIENCE LIMITED 2023 – VSE PRAVICE PRIDRŽANE

Če vrednost pH eluata ni uravnana na ustrezno območje, lahko pride do hemolize testiranih rdečih krvničk ali inhibicije aktivnosti protiteles pri nadaljnjem testiranju.

Če pri uravnavanju vrednosti pH dodate preveliko količino reagenta Buffering Solution (raztopina pufra), lahko pride do razredčenja protiteles v eluatu.

Ostali dejavniki, ki lahko povzročijo napačne rezultate, so med drugim uporaba neenake količine koncentriranih eritrocitov in reagenta Elution Solution (raztopina za elucijo), neustrezna tehnika, neustrezni parametri centrifugiranja, uporaba vzorcev krvi, starejših od 72 ur, in kontaminirana oprema, materiali ali vzorci.

Rdečih krvničk, uporabljenih v postopku elucije, se ne sme uporabiti za tipizacijo antigenov.

SPECIFIČNE ZNAČILNOSTI DELOVANJA

Komplet ALBA Elution Kit je dan na trg po uspešno opravljenem testiranju za nadzor kakovosti, ki ga izvede proizvajalec.

Primerjalna študija

Postopki elucije so bili izvedeni z vzorci rdečih krvničk (RBC), senzibiliziranih z IgG *in vivo* in *in vitro*, z uporabo kompleta ALBA Elution Kit ter uveljavljenega primerjalnega kompleta. Pridobljeni eluati so bili testirani z ročno serologijo v epruveti, s potenciacijo PEG in brez nje, ter s tehnikami kolonske aglutinacije, vključno s sistemoma ORTHO BioVue® in Bio-Rad ID, rezultati pa so bili primerjani glede enakovrednosti.

Vrsta vzorca	Število testiranih	Skladnost (%) kompleta ALBA Elution Kit s primerjalnim kompletom
Rdeče krvničke, senzibilizirane z IgG *in vitro*	45	100
Rdeče krvničke, senzibilizirane z IgG *in vivo*	16	100

Dokazana je bila 100-odstotna enakovrednost rezultatov med eluati, pridobljenimi s kompletom ALBA Elution Kit, in eluati, pridobljeni s primerjalnim kompletom.

Študija natančnosti

Ponovljivost: Na enem vzorcu rdečih krvničk, senzibiliziranem *in vitro* s človeškim poliklonskim protitelesom krvne skupine razreda IgG, je bilo izvedenih 10 postopkov elucije z uporabo kompleta ALBA Elution Kit. Postopke elucije je izvedel isti izvajalec v istem dnevu.

Obnovljivost: Dva izvajalca sta izvedla en postopek elucije na enem vzorcu rdečih krvničk, senzibiliziranem *in vitro* s človeškim poliklonskim protitelesom krvne skupine razreda IgG, pri čemer sta bila v petih nezaporednih dnevih po dvakrat dnevno uporabljena dva lota kompleta ALBA Elution Kit.

Pridobljeni eluati so bili testirani s presejalnimi testi za določanje protiteles z ročno serologijo v epruveti in tehnikami kolonske aglutinacije (ORTHO BioVue®, sistem Bio-Rad ID), pri čemer so bili rezultati posameznih testiranj medsebojno primerjani glede enakovrednosti za dokazovanje natančnosti delovanja kompleta.

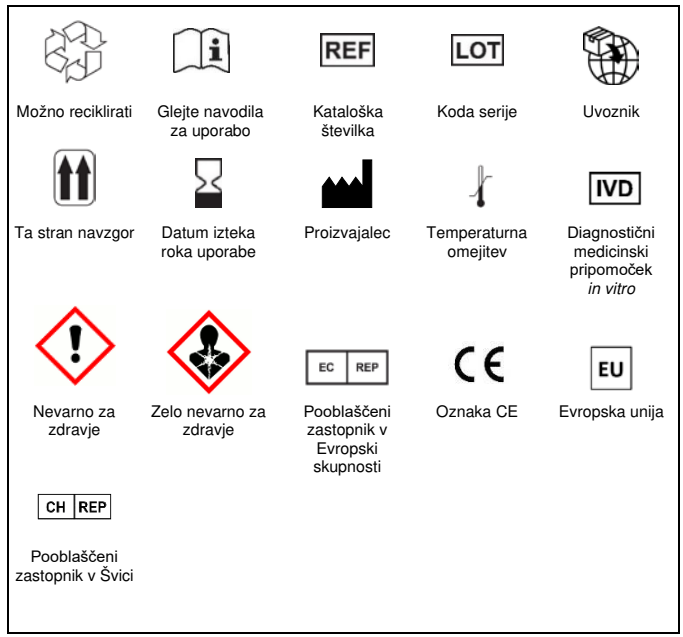
Testna metoda	Ponovljivost	Obnovljivost
Ročno v epruveti	100 %	100 %
ORTHO BioVue®	100 %	100 %
Sistem Bio-Rad ID	100 %	100 %

SEZNAM LITERATURE

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: poglavje 4-E, 130–134.

SIMBOLI



© ALBA BIOSCIENCE LIMITED 2023 – VSE PRAVICE PRIDRŽANE

V Evropski uniji in državah z enakim regulativnim okvirom (IVDR) morajo uporabniki o vsakem resnem incidentu, ki se zgodi v povezavi s pripomočkom, obvestiti proizvajalca in/ali pooblaščenega zastopnika ter pristojni nacionalni organ v državi stalnega prebivališča uporabnika. S proizvajalcem in pooblaščenim zastopnikom lahko stopite v stik prek naslednjih kontaktnih podatkov.

Alba Bioscience Limited
5 James Hamilton Way
Milton Bridge
Penicuik
EH26 0BF – ZK

Telefon: +44 (0) 131 357 3333
E-pošta: customer.serviceEU@quotientbd.com
Splet. stran: www.quotientbd.com

EC REP
Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT, Arnhem
Nizozemska

EU
MedEnvoy Global BV
Prinses Margrietplantsoen
33 – Suite 123
2595 AM Haag
Nizozemska

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

Za informacije o službi za pomoč strankam glejte www.quotientbd.com ali se obrnite na lokalnega distributerja.

ZGODOVINA REVIZIJE

Različica	Razdelek	Sprememba
1	Ni smiselno	Nov izdelek

© ALBA BIOSCIENCE LIMITED 2023 – VSE PRAVICE PRIDRŽANE